Ю.Я. Кривко, О.П. Корнійчук, У.М. Федорович

МІКРОБІОЛОГІЯ З ОСНОВАМИ ІМУНОЛОГІЇ ТА ТЕХНІКОЮ МІКРОБІОЛОГІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

ЛЬВІВ - 2021

УДК 579.083(075.8)
К82

Електронний посібник з дисципліни “Мікробіологія з основами імунології та технікою мікробіологічних досліджень” укладений доктором медичних наук, професором, ректором Львівської медичної Академії імені Андрея Крупинського Ю. Я. Кривко, професором, завідувачем кафедри мікробіології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького О. П. Корнійчук та завідувачем кафедри лабораторної медицини Львівської медичної Академії імені Андрея Крупинського, Заслуженим працівником освіти України У. М. Федорович.

Розглянуто і схвалено на засіданні кафедри лабораторної медицини. Протокол №9 від 13.01.2021 року.

Рецензенти:
професор кафедри мікробіології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького О. П. Корнійчук.
Завідувач бактеріологічної лабораторії комунального некомерційного підприємства ЛОР “Західноукраїнський спеціалізований дитячий медичний центр” Л. С. Хім’як

Кривко Ю.Я., Корнійчук О.П., Федорович У.М. Мікробіологія з основами імунології та технікою мікробіологічних досліджень: Електронний посібник. – Львів. 2021. – 540 с.

Матеріал посібника подано відповідно до навчальної програми з курсу “Мікробіологія з основами імунології та технікою мікробіологічних досліджень” для студентів спеціалізації лабораторна діагностика, освітньо-кваліфікаційного рівня - молодший бакалавр. У посібнику висвітлений теоретичний матеріал в поєднанні з практичними рекомендаціями і методиками мікробіологічної діагностики збудників інфекцій і захворювань, спричинених умовно-патогенними мікроорганізмами.

Для студентів вищих медичних навчальних закладів І–ІІІ рівня акредитації. Може бути використаний працівниками бактеріологічних лабораторій.

ISBN

З М І С Т

ВСТУП……6

ЗАГАЛЬНА МІКРОБІОЛОГІЯ
Історія розвитку мікробіології……..7
Основ класифікації та морфологія мікроорганізмів…….21
Будова бактеріальної клітини…….24
Характеристика спірохет, грибів, актиноміцет, рикетсій, хламідій, мікоплазм, простіших, вірусів……..30
Хімічний склад мікроорганізмів…….41
Фізіологія мікроорганізмів……..43
Ріст і розмноження мікроорганізмів……...46
Сучасні методи біохімічної ідентифікації бактерій……..46
Інновації в мікробіології……..47
Утворення мікроорганізмами пігментів, фотогенних і ароматичних речовин……...49
Екологія мікробів……..52
Поширення мікробів у природі……53
Охорона навколишнього середовища. Мікрофлора тіла людини……54
Вплив факторів навколишгього середовища на мікроорганізми…….58
Дезінфекція……62
Вплив біологічних факторів…….64
Поживні середовища…….66
Бактеріологічний метод дослідження……..70
Бактеріофаги……..73
Генетика мікроорганізмів. Генна інженерія……80
Антибіотики. Класифікація, механізм дії……95
Мікробіологічні та молекулярно-біологічні основи хіміотерапії інфекційних хвороб……..109
Вчення про інфекцію. Експериментальний метод дослідження…….117
Вчення про імунітет…….132
Антигени. Антитіла. Імунологічні методи дослідження……..146
Специфічна імунопрофілактика та імунотерапія інфекційних хвороб……164
Алергія……174
Методи алергодіагностики……180

СПЕЦІАЛЬНА МІКРОБІОЛОГІЯ
Загальна характеристика патогенних коків……183

Стафілококи……183
Стрептококи……188
Стрептококи пневмонії……..192
Менінгококи……196
Гонококи……..200
Профілактика і лікування хвороб, спричинених патогенними коками…….203
Загальна характеристика родини кишкових бактерій…….206
Ешерихії…….207
Сальмонели……218
Шигели……233
Умовно-патогенні бактерії……..242
Клебсієли……242
Протей……246
Синьогнійна паличка……249
Кишкові єрсиніози……255
Збудники особливо-небезпечних інфекцій……..263
Холерні вібріони……..263
Єрсинії чуми……..273
Франсісели тулярмії……..279
Бруцели……..285
Бацили сибірської виразки……..293
Загальна характеристика клостридій……303
Збудник правця……304
Ранова анаеробна інфекція (газова гангрена)……311
Збудник ботулізму……331
Неклостридіальні анаероби……340
Збудники бактерійних повітряно-краплинних інфекцій
Бордетели коклюшу і паракоклюшу…… 351
Коринебактерії дифтерії…….360
Мікобактерії туберкульозу…….371
Мікобактерії лепри (прокази)……381
Загальна характеристика патогенних спірохет……..386
Трепонема сифілісу……387
Борелії поворотного тифу…….397
Збудник хвороби Лайма……404
Лептоспіри……..408
Рикетсії……419
Хламідії……429
Патогенні мікоплазми……432

МІКОЛОГІЯ
Патогенні гриби…….437
Актиноміцети……..447

ВІРУСОЛОГІЯ
Віруси. Загальна характеристика і класифікація. Пріони……..451

РНК-геномні віруси……472
Родина ортоміксовіруси. Віруси грипу……472
Родина параміксовірусів……478
Вірус кору……480
Вірус епідемічного паротиту…….483
Родина рабдовірусів……....485
Вірус сказу……..486
Родина пікорнавірусів……491
Віруси поліомієліту……492
Віруси КОКСАКИ……..496
Віруси ЕСНО……..497
Родина флавівірусів…….500
Вірус кліщового енцефаліту…….501

ДНК-геномні віруси. Загальна характеристика……505
Родина герпесвірусів……...506
Альфа-герпесвіруси……507
Вірус вітряної віспи оперізуючого лишаю……..509
Бета-герпесвіруси……..510
Гамма-герпесвіруси……511
Родина поксвірусів. Вірус натуральної віспи……513
Гепаднавіруси……...519
Віруси гепатиту А…….520
Віруси гепатиту В, С, Е……522
Ретровіруси. Вірус ВІЛ-інфекції……529

САНІТАРНА МІКРБІОЛОГІЯ
Санітарно-бактеріологічні дослідження……536

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ…….543

ВСТУП

Всесвіт складається з живої і неживої матерії. Наша планета Земля заселена великою кількістю різноманітних живих істот, які разом з продуктами своєї життєдіяльності складають біосферу. Представників живої природи умовно можна розділити на дві великі гупи: **макросвіт і мікросвіт.** До **макросвіту** відносять людину, савців, тварин, птахів, рослини, комахи, гельмінти та інше. До мікросвіту багаточисленні мікроби (бактерії, гриби, простіші, віруси, пріони) яких невидно неозброєним оком, але можна побачити під мікроскопом. Їх розрізняють за розмірами і складністю будови, за біологічною організацією, за фізіологією, біохімією, генетикою, за паразитизмом і екологією, за патогенністю та іншими ознаками.

Одноклітинні складно побудовані організми – це бактерії, гриби, простіші – тому вони названі "мікроорганізми" – самостійні, здатні до автономного існування організми. Мікроорганізми розрізняють за складністю будови і життєвими функціями. Ядро бактерії немає ядерної оболонки, тому їх називають прокаріотами (від грецького *karyon* – ядро); інші (гриби, простіші) мають окреслене ядро, тому їх називають еукаріотами. До мікроорганізмів відносяться не лише мікроби тваринного походження (простіші), але і рослинного (бактерії, гриби).

Більш прості представники мікросвіту віруси і пріони по суті – це частинки (віруси) та інфекційні макромолекули (пріони) або нуклеїнові кислоти (інфекційні ДНК і РНК). Вони не є організмами в повному розумінні цього слова, оскільки не мають структур органел, не володіють власним обміном речовин, а живуть і розмножуються в клітинах тварин, людини, рослин, бактерій, використовуючи для життєдіяльності ресурси і обмінні процеси цих клітин. Тому вони є внутрішньоклітинними паразитами і не здатні існувати поза живою клітиною. Тому віруси, пріони та інфекційні нуклеїнові кислоти не можна називати мікроорганізмами, правильніше мікробами.

Лише бактерій на нашій планеті нараховується 10^{30}. В організмі кожної людини живе не менше 10^{14} бактерій, а в популяції людей на планеті біля 10^{24}. В процесі своєї життєдіяльності мікроби мають великий вплив на неживу і живу природу.

ІСТОРІЯ РОЗВИТКУ МІКРОБІОЛОГІЇ

Після відкриття мікроорганізмів пройшло три століття. Наука, яка займається вивченням мікроорганізмів називається **мікробіологією** (***mikros*** – малий, ***bios*** – життя, ***logos*** – наука, вчення), зайняла ведуче місце серед інших біологічних і медичних дисциплін.

Вперше термін "мікроби" для позначення великої групи маленьких, більшість одноклітинних організмів рослинного і тваринного походження введений вченим Седільо в 1878 році. Загальним принципом, за яким їх назвали "мікроби" послужив малий розмір цих організмів, який видно лише під мікроскопом.

Вони настільки маленькі, писав Фердінанд Кон (1828-1898 рр.), що на 1 $мм^3$ приходиться 633 мільйони і що 636 мільярдів їх важить лише один грам.

Наука, яка займається вивченням мікробів, була за ініціативою Дюкло названа мікробіологією. Тепер ця назва стала загальноприйнятою.

Мікробіологія – це розділ біології, який вивчає закономірності життя і розвитку мікроорганізмів в їх єдності з навколишнім середовищем. Мікроорганізми широко розповсюджені в природі. Вони знаходяться в повітрі, грунті, воді, їжі, на оточуючих їх предметах, на поверхні і всередині нашого тіла і інших організмів тваринного і рослинного світу. Таке широке розповсюдження мікробів свідчить про їх значну роль в природі і житті людини. Без перебільшення можна сказати, що якби не було мікробів, життя на Землі було б неможливим або існувало б в якій-небудь іншій формі. Нехвороботворні мікроби живуть в неживій природі (грунті, воді, атмосфері).

Мікроорганізми обумовлюють кругообіг речовин в природі, здійснюють розщеплення органічних сполук і синтез білку. За допомогою мікроорганізмів проходять важливі виробничі процеси: випікання хліба, виноробство, виробництво органічних кислот, ферментів, харчових білків, гормонів, антибіотиків і інших лікарських речовин. Вони відіграють роль в підвищенні родючості грунту, утворенні кам'яного вугілля і нафти, підтримують газовий склад атмосфери і ряд інших процесів, які проходять в природі. Тобто це група непатогенних, тобто ***сапрофітних*** (від грецького *saptos* – гнилий і *phyron* – рослина) мікробів.

Поряд з корисними мікроорганізмами існує група ***патогенних*** (від грецького *patos* – хвороба) або хвороботворних мікробів – збудників різних захворювань людини, тварин, рослин і комах. Вони викликають епідемії хвороб у людей, періодично охоплюючи багато країн світу.

Існує група умовно-патогенних мікробів біля 500 видів, які при певних умовах (ослаблений організм; фактори, що активізують життєдіяльність мікробів) викликають хвороби.

В XIX столітті у всьому світі у війнах загинуло біля 19 млн. чоловік, а лише від туберкульозу померло майже 35 млн. чоловік. В 1918-20 роках під час пандемії грипу іспанки перехворіло більше 500 млн. і загинуло не менше 15 млн. чоловік.

Мікроорганізми були відкриті в кінці XVII століття, але мікробіологія як самостійна наука сформувалась лише в II половині XIX століття після геніального відкриття великого французького вченого Луї Пастера.

По розробці теоретичних проблем і результатів практичної діяльності мікробіологія до кінця минулого століття випередила багато з розділів біології.

Великі завдання стоять перед мікробіологією. Вони не могли і не можуть бути вирішені в межах однієї наукової дисципліни, спеціалістами одного профілю. А тому, у відповідності з потребами і запитаннями практики проходила і проходить диференціація мікробіології на самостійні наукові дисципліни. Мікробіологія ділиться на **загальну і спеціальну.**

Загальна мікробіологія ділиться на анатомію (будову), фізіологію, біохімію, генетику, екологію і еволюцію мікробів. **Спеціальна** мікробіологія – на медичну, ветеринарну, сільськогосподарську, морську, космічну, технічну (промислову).

В завдання **технічної мікробіології** входить вивчення мікроорганізмів, які використовуються у виробництві антибіотиків, спиртів, цукрів, вітамінів, вуглеводів, білків, ферментів, харчових продуктів і т.д. Вона розробляє методи захисту різних матеріалів, які застосовуються в промисловості, від руйнуючої дії мікроорганізмів. На базі технічної мікробіології виникла біотехнологія.

Сільськогосподарська мікробіологія вивчає роль і значення мікробів у формуванні структури грунту, її плодючості, в розкладанні і мінералізації органічних речовин в грунті і живленні рослин. Вона розробляє методи застосування бактерій для удобрення грунту і консервації кормів, методи боротьби з фітопатогенними мікроорганізмами.

Ветеринарна мікробіологія вивчає збудників захворювань тварин, розробляє методи специфічної профілактики і терапії інфекційних захворювань. Ветеринарна мікробіологія тісно зв'язана з медичною, оскільки багато мікроорганізмів, патогенних для тварин, викликають захворювання і в людини (зоонозні інфекції).

Як самостійна гілка біології медична мікробіологія виникла значно раніше, ніж інші мікробіологічні дисципліни.

Медична мікробіологія вивчає будову мікробів, властивості патогенних і умовно-патогенних мікроорганізмів, їх роль в розвитку інфекційного процесу та імунної відповіді макроорганізму, розробляє методи лабораторної діагностики, специфічної профілактики і терапії інфекційних захворювань, а також епідеміологічні особливості. Розділи, які раніше входили до складу медичної мікробіології виділились в самостійні дисципліни: **бактеріологію, імунологію, вірусологію, санітарну мікробіологію, мікологію, протозоологію**.

Імунологія (від латинського *immunitas* – звільнення від чого-небудь, недоторканість) – це спосіб захисту організму від генетично чужерідних речовин (в тому числі мікробів) з метою збереження структурної і функціональної цілісності організму і біологічної індивідуальності, тобто гомеостазу. Імунологія як фундаментальна наука користується методами

молекулярної біології, генетики, фізико-хімічними, біохімічними, гістологічними та іншими методами.

Вірусологія вивчає неклітинні мікроорганізми – віруси, їх природу, хімічний склад, взаємовідношення з клітиною господаря, механізми внутрішньоклітинного паразитизму. Це зв'язано з тим, що віруси викликають багато захворювань в людей, тварин і рослин, а також уражують бактерії (бактеріофаги). Разом з тим віруси є однією з основних моделей для вивчення проблем генетики і молекулярної біології. Вірусологія має свої методи дослідження.

Санітарна мікробіологія вивчає санітарно-мікробіологічний стан об'єктів навколишнього середовища, харчових продуктів і напоїв, вирішує питання виживання патогенних і умовно-патогенних мікроорганізмів в оточуючому середовищі, розробляє санітарно-мікробіологічні норми і методи індикації патогенних мікроорганізмів в різних об'єктах навколишнього середовища, вивчає мікробну забрудненість води, повітря, грунту, харчових продуктів і інше.

Космічна мікробіологія вивчає вплив космічних умов на властивості мікроорганізмів і мікрофлору організму людини, розробляє методи попередження попадання мікробів з земної поверхні в космос та інші проблеми.

Важливими завданнями медичної мікробіології, вірусології і імунології є дальше вивчення ролі окремих видів патогенних агентів в етіології і патогенезі різних захворювань людей, в тому числі у виникненні пухлин, а також механізмів формування спадкового і набутого імунітету, розробка методів лікування і профілактики інфекційних захворювань за допомогою імунологічних і хіміотерапевтичних засобів і методів специфічної діагностики, в тому числі експрес-методів.

Велике значення мікробіології в боротьбі з інфекційними захворюваннями. Відомо, що такі захворювання, як віспа, поліоміеліт, чума, холера, дифтерія, скарлатина і інші були ще недавно стихією людства. Як полум'я вогнища в суху літню погоду, вони перекидались з одного населеного пункту на інший, забираючи з собою мільйони людей. Зараз повністю ліквідована віспа на всій планеті. Великі досягнення в боротьбі з епідемічними захворюваннями в нашій країні. За останні десятиріччя не зареєстреровані епідемії поліоміеліту, поворотнього тифу і інші інфекції. Різко знижена захворюваність кором, паротитом і іншими інфекційними хворобами дорослих і дітей. Такі захворювання як грип, масові гострі кишкові та інші захворювання, внутрішньолікарняні інфекції дорослих і дітей, збудниками яких є умовно-патогенні бактерії, стійкі до антибіотиків. В зв'язку з тим, зараз виник новий розділ спеціальної медичної мікробіології – **клінічна мікробіологія**, в якому вивчається лабораторна діагностика захворювань, що викликається умовно-патогенними мікроорганізмами та їх диференціація з патогенними.

Для розвитку медичної мікробіології в нашій країні створено добрі умови. Зараз працює більше як 50 науково-дослідницьких мікробіологічних, вірусологічних і імунологічних інститутів, біля 90 кафедр мікробіології в медичних інститутах. Всю країну охоплює мережа лабораторних центрів, до

складу яких входять мікробіологічні, вірусологічні та імунологічні лабораторії. Вони здійснюють контроль за мікробіологічною забрудненістю навколишнього середовища, а також весь комплекс профілактичних і протиепідемічних заходів, необхідних для попередження, запобігання та ліквідування інфекційних захворювань.

Існуть різноманітні **методи дослідження**: мікроскопічний, бактеріологічний, імунологічний (серологічний), біологічний, алергічний та сучасні експрес-методи дослідження – це імуноферментний метод, радіоімунний метод, люмінесцентний, імуноблотинг, полімеразна ланцюгова реакції та інші.

Основні етапи історичного розвитку мікробіології

Історію розвитку мікробіології можна розділити на п’ять етапів: **еврістичний, морфологічний, фізіологічний, імунологічний і молекулярно-генетичний.**

Еврістичний період (евріка – це неочікувана знахідка). Ще в III-IV столітті до нашої ери Гіпократ, в XIV-XV столітті нашої ери італійський лікар Джіраламо Фракасторо і на початку XVII століття Афанасій Кірхер висловили думку, що причиною захворювань є невидимі живі істоти “живі контагії”. Але в них не було доказів. Першим побачив мікроорганізми голандський натураліст Антоній Левенчук (1632-1723 рр.). На гранильних фабриках Амстердама він навчився шліфувати збільшувальні лінзи (х 300) і сконструював простий мікроскоп, за допомогою нього йому вдалося виявити дрібних анімалькулісів “живих звірків” в дощовій воді, зубному нальоті, слині, настоях, випорожненнях, крові, спермі, харчових продуктах. Левенчук пред'явив малюнки кулькоподібних, паличкоподібних і кручених форм бактерій, описав плісінь і дріжджі, еритроцити і сперматозоїди. Свої спостереження він опублікував у вигляді 120 листів в Лондонське наукове королівське суспільство. Пізніше вони були узагальнені в книзі “Таємниці природи, відкриті Антонієм Левенгуком”. Першим побачив мікроби Петро І, який в цей час працював в Голандії на кораблі, він і привіз в Росію перший мікроскоп. Відкриття Левенчука поклало початок **морфологічному** періоду в історії розвитку мікробіології (тривав 2 століття) і продовжується до тепер, оскільки наука відкриває все більше мікробів.

Д.Фракасторо описав принципи боротьби з контагіозними хворобами і став основоположником мікробіології.

Другий період – **фізіологічний** період. Одним з перших шукачів за мікроорганізмами в Україні був український лікар-епідеміолог Данило Самойлович (Сушинський, син сільського священника з Чернігівщини). Під час епідемії чуми в Москві в 1771 році він робив спроби знайти збудника цього захворювання. Щоб довести можливість охорони людей від чуми за допомогою щеплень, він заразив себе гноєм від хворих чумою. Помер Самойлович під час епідемії чуми в Таганрозі. Подібні експерименти провели: М. Петтенкоффер, І.І.Мечніков, Н.Ф.Гамалея, І.І.Савченко, Д.К.Заболотний, М.С.Балоян та інші. Таким чином народилась наука **деонтологія** – наука про обов’язок (використання чогось на собі).

Французький вчений Луї Пастер поклав початок **фізіологічному** періоду розвитку мікробіології з вивчення біохімічної діяльності мікроорганізмів, їх ролі в природі і житті людства що поклало початок бурхливому розвитку загальної, а пізніше медичної мікробіології (1822-1895). Л.Пастер помістив стерильний бульйон в колбу, яка була з'єднана з атмосферним повітрям через S-подібну трубку. В такій відкритій колбі при тривалому зберіганні бульйон залишався прозорим, оскільки зігнута трубка не давала можливості мікроорганізмам проникати з пилюкою з повітря в колбу. Таким чином він довів про неможливість *самозародження*. Ним було встановлено, що мікроорганізми здатні змінювати середовище, в якому живуть і викликати різноманітні хімічні перетворення. Було встановлено, що *різні види бродіння (маслянокисле, спиртове* і інші) викликаються конкретно визначеними мікроорганізмами, які відрізняються один від одного за своїми морфологічними і фізіологічними властивостями. На основі цих дослідів Л.Пастер робить висновок, що бродіння не є чисто хімічним процесом, як це стверджував Ю.Лібіх і інші хіміки, а нерозривно зв'язано з життєдіяльністю мікроорганізмів. Він відкрив *явище анаеробіозу* – розвиток мікроорганізмів без доступу кисню. Це дозволило з'ясувати роль мікробів в кругообігу речовин в природі та в гнитті. Розробив *методи стерилізації*. На основі цих методів Лістер запропонував *антисептичний і асептичний* методи.

Був запропонований Л.Пастером *метод пастеризації*. Наступним етапом Л.Пастера є вивчення *хвороби шовкопрядних черв'яків* (великої втрати по виробництву шовку в Франції). Він вивчав *бактерії сибірської* виразки в 1850 р. шляхом зараження тварин і довів, що ці бактерії є збудниками сибірки. Виявив *стафілокок* у хворих фурункульозом і остеоміелітом, де різна клінічна картина, але один і той самий збудник. Досліджував виділення і кров жінок, які родили під час родильної гарячки (виявив *збудників стрептококів*). Почалася зароджуватися *ідея про мікробну природу інфекційних захворювань*, яка стала основою для вироблення лікувальних і профілактичних заходів. Пастер винайшов *збудника курячої холери*. Прийшов до висновку, що старі культури збудника втрачають можливість викликати захворювання в кур, але цим самим сприяють імунітету проти повторного інфікування свіжими культурами цих бактерій.

В першій половині XIX ст. було відкрито деякі мікроорганізми – збудники інфекційних захворювань: 1839 р. І.Шенлейн довів, що фавус (парша) спричинюється хвороботворним *грибом*, у 1843 р. Д.Грубі виявив збудника *трихофітії* (стригучий лишай), у 1849 – 1854 рр. А.Полендер, К.Давен і Ф.А.Брауль відкрили *бацилу сибірки*.

Важливою подією в історії мікробіології і природознавства було відкриття ботаніком Д.І.Івановським в 1892 році *вірусів*. Вивчав мозаїчну хворобу листя тютюну і прийшов до висновку, що її викликає маленький агент. Він не росте на поживних середовищах і проходить через фільтри. До цього висновку він прийшов шляхом дослідження, викликаючи захворювання здорових рослин соком з пошкоджених листків тютюну, після фільтрування його через дрібні пори (які не пропускають інші мікроорганізми). Це була

перша праця, яка довела вірусну природу інфекційних захворювань. Д.І.Івановський став засновником вірусології.

Фізіологічний період розвитку медичної мікробіології тісно зв'язаний з працями німецького вченого Роберта Коха (1843-1910 рр.).

При вирішенні питання про роль мікробів в етіології інфекційних захворювань Р.Кох виходив з положень "тріади Генле-Коха":

1. Мікроорганізм, який пропонується збудником завжди повинен виявлятися лише при даному захворюванні і не виділятися при інших захворюваннях і від здорових людей.
2. Даний мікроорганізм повинен бути виділений в чистій культурі.
3. Виділена чиста культура даного збудника повинна викликати у заражених експерементальних тварин захворювання з симптомокомплексом і паталогоанатомічними змінами, аналогічними захворюванню у людини.

Практика показала, що це є відносно.

Кох довів, що виявлений в тварин мікроорганізм, які хворі сибірською виразкою, відповідає цій тріаді і є збудником даного захворювання. В 1876 році вчений опублікував свою працю про *сибірську виразку.*

Кох вперше ввів в практику *метод виділення чистих культур* на щільних поживних середовищах, що і зараз застосовується; вперше застосував *анілінові барвники* для фарбування мікробів і застосував при мікроскопуванні *імерсійну систему*; *мікрофотографування*, *освічення* (конденсор Аббе).

Коху належить відкриття в березні 1882 року в Берлінському фізіологічному суспільстві *збудника туберкульозу* – палички Коха (демонстрував під мікроскопом); *збудника холери* – вібріон Коха під час спалаху холери в Єгипті в 1883 році.

Учні Коха винайшли збудників інфекційних захворювань. У 80-х роках XIX століття Клебс і Ф.Лефлер виділили збудника *дифтерії*. Еберт і Гафкі – збудника *черевного тифу*, Ніколайєр і Кітазато – збудника *правцю,* Вексельбаум – збудника *менінгіту*, Ешерих – *кишкову паличку*.

В 90-ті роки були відкриті збудники дизентерії, чуми, ботулізму, паратифозних захворювань, бруцельозу. В перше десятиріччя XX століття були виділені збудники інфекційних захворювань: спірохети поворотнього тифу і сифілісу, холерний вібріон Ель-Тор, паличка коклюшу, трипаносоми, токсоплазми, рикетсії, мікоплазми, хламідії орнітозу (1933 р.)

Засновником мікробіології на Україні є Л.С.Ценковський (1822-1887), який довів рослинне походження бактерій і в 1855 році опублікував працю "Про нижчі водорості та інфузорії". Він на основі принципу атенуації мікробів, розроблений Л.Пастером, одержав свій варіант *вакцинного штаму бацил сибірської виразки* і налагодив виробництво сибіркової вакцини. В 1883 році використав її для вакцинації тварин. Ця вакцина використовувалась до 1960 року.

Роботи Л.Пастера по вакцинації відкрили новий етап в розвитку мікробіології – **імунологічний період.** Пастер з учнями розробив *теорію ослаблення (атенуації)* хвороботворних властивостей мікробів і принципи

застосування ослаблених мікробів для профілактики інфекційних захворювань. В честь першовідкривача запобіжних щеплень Е.Дженнера Л.Пастер назвав ослаблені культури мікроорганізмів *вакцинами* (від латинського слова "vacca" - корова), від якої був отриманий матеріал для щеплень *проти віспи* людини. Пізніше Л.Пастер отримав *вакцину проти сибірської виразки*. В результаті культивування сибіркововиразкових бацил при температурі 42,5^{o} С був отриманий вакцинний штам, який мав низьку вірулентність.

Вершина діяльності – дослідження по боротьбі з *сказом.* Він вакцинував дитину, яку вкусила собака. Для одержання вакцини брав мозок кроликів, заражав суспензією мозку собаки, який загинув від сказу. В Париж з усіх країн приїзджали люди. Вперше виробництво антирабічної вакцини за методом Л.Пастера було налагоджено в Росії.

Ця ідея не була новою. За багато років до робіт Л.Пастера англійський лікар Е.Дженнер (1749-1823) розробив *метод щеплень проти віспи*, заражаючи людей коров'ячою віспою. Дженнер по суті вирішив проблему боротьби з віспою людини. Але суть цього методу була розгадана Пастером більш ніж через 100 років.

В червні 1886 р. І.І.Мечніков і М.Ф.Гамалія організували в Одесі Пастерівську станцію. Людство пам'ятає про Пастера. На гроші, зібрані по міжнародній підписці, в 1888 році в Парижі був відкритий Пастерівський інститут, який став до сьогоднішнього часу великим центром мікробіологічних досліджень.

П.Ерліх – німецький хімік, висунув гуморальну теорію імунітету. Він вважав, що імунітет виникає в результаті утворення в крові антитіл, які нейтралізують отруту. Підтвердженням цьому було відкриття антитоксинів – антитіл, які нейтралізують токсини у тварин, яким вводили дифтерійний або правцевий токсин (Е.Берінг, С.Кітазато).

І.І.Мечніков (1845-1916 рр.) – один з основоположників імунології. Дискримінація зі сторони царського уряду змусила його емігрувати в Париж, де він впродовж 28 років (1888-1916 рр.) працював в Пастерівському інституті. Разом з Н.Ф.Гамалея заснував в 1886 році першу в Росії бактеріологічну станцію (в Одесі), не раз приїзджав в Україну, допомагав в роботі мікробіологів.

В 1892 році І.І.Мечніков опублікував свої лекції “Про зрівняльну патологію запалення”, а в 1901 році – класичну монографію “Несприйнятливість до інфекційних захворювань”. В цих працях він виклав свої дослідження про *запалення, захисні властивості організму* і *фагоцитарну теорію імунітету*. Дослідження І.І.Мечнікова по фагоцитозу довели, що крім гуморального, існує клітинний імунітет. Виявив також *патогенез холери і біологію холероподібних вібріонів*, показав можливість зараження шимпанзе *сифілісом,* до якого несприйнятливі інші тварини. Шукав засоби боротьби *зі старістю*, вважаючи, що старість є хронічним захворюванням, яке виникає в результаті життєдіяльності гнилісних бактерій, що виробляють отруйні продукти в кишківнику.

Мечніков був засновником першої Одеської *школи мікробіологів*. Після виїзду за кордон, керівна роль перейшла Н.Р.Гамалея. Учнями Мечнікова були відомі вчені – мікробіологи Ж.Борде, М.Вайнберг, Л.А.Тарасевич і П.В.Циклінська. Багато інститутів та лабораторій в нашій країні носять його ім'я – І.І.Мечнікова, інститут контролю вакцин і сироваток імені Л.А.Тарасевича.

Імунологічний період характеризується відкриттям основних реакцій імунної системи на генетично чужерідні речовини (антигени): антитілоутворення і фагоцитозу, гіперчутливісті сповільненого і негайного типу, толерантності, імунологічної пам'яті. В 1915 році лікар М.Райський вперше спостерігав *явище імунологічної пам'яті*, тобто швидке енергійне вироблення антитіл на повторне введення того ж антигена. Ф.Бернет зв'язав це з формуванням в організмі *клітин пам'яті* – Т-лімфоцитів – після первинної зустрічі з антигеном. В 1953 році англійськитй вчений П.Медавар і чешський вчений М.Гашек відкрили *явище толерантності*, терпимості, стійкості до антигену, тобто стану, при якому імунна система не реагує на антиген. Толерантність до власних антигенів формується в ембріональному періоді, і її можна штучно створити, вводячи антиген під час ембріонального періоду або зразу ж після народження дитини, або тварини. Явище імунологічної толерантності використовується в хірургії при вирішенні проблеми пересадки органів і тканин. В цей період були відкриті антигени нормальних органів і тканин людини і тварин (Чистович Ф.Я., 1898; Ландштейнер К., 1900) та індивідуальних, антигенних відмінностей в людей і тварин (групи крові у людей).

В імунологічний період були створені *теорії імунітету*: гуморальна теорія П.Ерліха, фагоцитарна теорія І.І.Мечнікова, теорія ідіотипових взаємодій Н.Ерне, гіпофізарно-гіпоталамо-адреналінова теорія регуляції імунітету П.Ф.Здродовського і ін. Але найбільше пояснює явища і механізми імунітету клонально-селекційна теорія, створена австралійським імунологом Ф.Бернетом (1899-1986). Американський вчений С.Танегава розробив генетичні аспекти цієї теорії. В 1908 р. за розробку вчення про імунітет І.І.Мечнікову і П.Ерліху присуджено Нобелівську премію.

Велика заслуга належить в розвитку загальної мікробіології С.Н.Виноградському (1858-1953 рр.), який впродовж трьох десятиліть проводив свої дослідження в Інституті експериментальної медицини в Петербурзі. Він розробив і впровадив в практику метод елективних культур, за допомогою якого була встановлена роль мікробів в кругообігу азоту, вуглеводів, фосфору, сірки, заліза. Праці його стали основою для створення сучасної мікробіології. Його учнями були В.Л.Омелянський (1867-1928 рр.), який працював в галузі загальної і технічної мікробіології, відкрив збудника бродіння целюльози. Написане ним керівництво "Основи мікробіології" (1909 р.) впродовж багатьох десятиріч було настільною книгою вітчизняних мікробіологів.

Важливу роль відіграли вітчизняні вчені у розвиток медичної протозоології. Ф.О.Леш (1840-1903) виявив у 1875 р. у випорожненнях хворого

на дизентерію *амеби,* які Ф.Шаудін ідентифікував як *Entamoeba coli* і *Entamoeba histolytica*. У 1898 р. П.Ф.Боровський (1863-1932) відкрив збудника *шкірного лейшманіозу* і французький лікар Лаверан описав збудника малярії.

Формуванню і загальному розвитку медичної мікробіології в нашій країні сприяли дослідження Н.Ф.Гамалеї (1859-1949). Йому належать праці по вивченню *сказу, холери, віспи, туберкульозу*. Він відкрив вібріон і назвав його в честь І.І.Мечнікова – *вібріоном Мечнікова*. Займався питаннями *імунології і епідеміології* інфекційних захворювань. В перші роки радянської влади і в період громадянської війни він організував масове виробництво віспового детриту і розробив оригінальний метод одержання віспяної вакцини.

Н.Ф.Гамалея вперше подав ідею про виділення з бактерій найбільш повноцінних в імуногенному відношенні субстанцій для виготовлення з них вакцин. В пам'ять про заслуги Н.Ф.Гамалеї перед вітчизняною наукою його ім'я присвоєно інститутам і лабораторіям, серед яких – Інститут епідеміології і мікробіології АМН СРСР і кафедрі мікробіології II ММІ ім. Н.І.Пирогова.

В розвитку медичної мікробіології велике значення мали досліди Г.Н.Габричевського (1860-1907 рр.) – основоположника московської школи мікробіологів. Він розробив *стрептококову теорію етіології скарлатини* та запропонував *метод одержання протискарлатинозних вакцин* та сироваток. Був знатним організатором виробництва вакцин і сироваток в нашій країні. Одержавши новий препарат, він нерідко досліджував його на собі і лише після того впроваджував його в практику.

До славних видатних вчених належить Д.К.Заболотний (1866-1929 рр.), перші дослідження якого були розпочаті в Одесі під керівництвом І.І.Мечнікова. Ще на студентській лаві він разом з Савченко І.П. прийняв *протихолерну вакцину* – випив живу вірулентну культуру холерних вібріонів. Тим самим він довів можливість *застосування запобіжних щеплень проти холери вбитими вібріонами*, які вводять через рот.

Поряд з розробкою вакцин і сироваток вівся пошук хімічних антибактеріальних препаратів з бактеріостатичною і бактерицидною дією. Засновником був П.Ерліх, який шукав "чарівну пулю" проти мікробів. Був створений препарат "сальварсан" (препарат 606), що згубно діє на спірохети – збудника сифілісу. Багато досягнень по створенню антибіотиків належить англійському лікарю А.Флемінгу.

В 1898 році Д.К.Заболотного вибирають *завідуючим* першої в Росії самостійної кафедри бактеріології в Женському медінституті (сьогодні І Ленінградський медінститут), якою керував впродовж 30 років. Д.К.Заболотний відомий працями по *вивченню чуми* (досліди в Індії, Монголії, на Близькому Сході, в Маньчжурії). Підсумки цієї роботи підведені в книзі "Легенева чума в Маньчжурії" в 1910-1911 р. В 1910 році був організатором боротьби з *епідемією холери* в Петербурзі. Є *основоположником вітчизняної епідеміології*. Організатор першої в СРСР *кафедри епідеміології* у Військово-медичній академії.

Велика заслуга в розвитку імунології належить Л.А.Тарасевичу (1868-927 р.), який займався вивченням *імунітету,* розробкою методів вакцинації проти кишкових захворювань та туберкульозу.

Л.А.Тарасевич був видатним мікробіологом і активним суспільним дічем. *Створив інститут по контролю вакцин і сироваток*, який зараз носить його ім'я (1918 р.).

Г.Н.Мінх (1836-1896), який працював в Одесі, провів сміливий експернимент, заразивши себе кров'ю хворого поворотним тифом. Цей дослід дав йому можливість висловити свої думки про *роль кровопивців комах як переносників тифів*, що було підтверджено лише через 40 років. О.О.Мочутковський (1845-1903 р.) повторив дослід Мінха, заразивши себе кров'ю хворих висипним і поворотним тифами. Тим він довів, що заразний початок тифів знаходиться в крові.

І.А.Демінський (1864-1912 р.) *загинув від чуми* при розтині ховраха, якого спіймали в степу. Своєю смертю він довів ідентичність чуми ховрахів чумі людини.

Лікар В.Хавкін присвятив своє життя боротьбі з *холерою та чумою*. Провів вакцинацію серед населення Індії виготовленою ним вакциною проти холери і спас життя багатьох людей, а одержану ним протичумну вакцину спочатку дослідив на собі.

Першою жінкою, яка одержала професора мікробіології була Циклінська П.В. (1859-1932 р.). Її роботи присвячені значенню нормальної мікрофлори організму людини. Була організатором і завідуючою кафедрою мікробіології на вищих жіночих курсах в Москві.

Важким було становище до революції, оскільки не було підтримки з боку царської влади. Іншим стало становище після революції. Створено широку мережу мікробіологічних інститутів, епідеміологічних закладів і лабораторій, кафедри наукових і практичних робітників. В нашій країні ліквідована віспа, чума, паразитарні тифи. Мікробіологія значно розширила знання в галузі причин виникнення, лікування і попередження дизентерії, малярії, дитячих інфекційних захворювань, грипу, бруцельозу, туляремії. Були одержані та впроваджені в практику нові вакцини, сироватки.

Розвиток *імунології* тісно пов'язаний з дослідженнями В.А.Барикіна, І.Л.Кричевського, а в 50-70 р. – П.Ф.Здродовського, який є автором класичних праць по *бруцельозу та рикетсіозах*.

Л.А.Зільбер (1894-1966 рр.) – мікробіолог, імунолог, вірусолог. Йому належить заслуга відкриття збудника *весняно-літнього енцефаліту*, вивчення *етіології і імунології злоякісних пухлин*; автор вірусогенетичної теорії походження злоякісних пухлин, які отримали зараз експериментальне підтвердження. Л.А.Зільбер є засновником імуноонкології.

Внесок в розвиток вітчизняної мікробіології внесла З.В.Єрмольєва (1898-1974 рр.) Її досліди присвячені вивченню збудника *холери, діагностики, епідеміології і профілактики* даного захворювання. В роки Великої Вітчизняної війни вона вперше отримала *пеніцилін*, приймала участь в організації його виробництва.

За останні десятиліття мікробіологія досягла нових успіхів у вивченні структури і життєвих функцій мікроорганізмів, їх мінливості та спадковості, пізнанні закономірностей розвитку інфекції та імунітету. В успішному вирішенні цих проблем заслуга належить мікробіологу Г.А.Надсону, В.В.Сукневу, Н.Н.Жукову-Вережнікову, В.Д.Тімакову, П.Ф.Здродовському, Г.П.Каліни, М.Н.Лебедєвій і іншим.

Плановими дослідженнями і працею колективи науково-дослідних інститутів і лабораторій під керівництвом вітчизняних вчених Н.А.Красильнікова, З.В.Єрмольєвої, Г.Ф.Гаузе, В.С.Деркача, Х.Х.Якобсона, Б.П.Токіна та інших були отримані, вивчені і впроваджені в практику нові антимікробні препарати (антибіотики різного походження, хіміотерапевтичні препарати).

В Одесі працювали Г.Мінх і О.Мочутковський, І.Мечніков та його помічники М.Гамалея, Л.Бардах, які відкрили *другу в світі бактеріологічну* (пастервську) станцію. Друга бактеріологічна станція в Україні була відкрита в Харкові (1887 р.). Наприкінці XIX – на початку XX століття були сформовані бактеріологічні школи в Одесі, Харкові та Києві. В них працювали І.Мечніков, М.Гамалея, І.Савченко, Л.Тарасевич, які зробили вагомий внесок в розвиток та становлення вітчизняної мікробіології.

Визначне місце в розвитку вітчизняної мікробіології посідає і В.Високович, який першим в Україні приготував і потім довів *протиепідемічний ефект протичеревнотифозної* вакцини. М.Волкович першим у світі виділив і описав збудника *риносклероми*.

В.Підвисоцький створив видатну школу мікробіологів: І.Савченко, Л.Тарасевич, В.Стефанський, Д.Заболотний та інші.

Розвиток та становлення мікробіологічної науки в Україні пов’язаний з іменем Л.Громашевського, В.Жданова, С.Дяченко, В.Деркача, В.Мінервіна та інших.

Особливу цінність становлять дослідження анаеробної інфекції в Україні (Л.Чорна, О.Тишко та інші). Особливе місце займають дослідження загальної вірусології (С.Гершинзон, Я.Кішко), пікорнавірусів та реовірусів (В.Широбоков, Л.Григор’єва, В.Гірін), аденовірусів (Н.Дяченко), респіраторних вірусів (А.Щербінецька, А.Фролов) та інші.

З успіхом вирішується поставлена охороною здоров'я проблема по зменшенню та повному ліквідуванню інфекційних захворювань (дифтерії, малярії, поліомієліту, кору та інших).

За цей час було відкрито низку вірусів (збудники геморагічних гарячок Ласса, Мачупо; вірус імунодефіциту людини) і бактерій (збудник хвороби легіонерів); створені нові вакцинні і інші профілактичні препарати (вакцини проти кору, поліомієліту, паротиту, кліщового енцефаліту, вірусного гепатиту В, поліанатоксини проти правцю, газової гангрени і ботулізму і ін.), нові діагностичні препарати.

Великий внесок в розвиток мікробіології і імунології внесли зарубіжні вчені (Ф.Бернет, Д.Солк, А.Себін, Д.Села, Г.Едельман, Р.Тортер, Д.Келер, Ц.Мільштейн, Н.Ерне, С.Тонегава і ін.) і вітчизняні (А.А.Смородінцев,

В.Д.Тимаков, П.Ф.Здродовський, Л.А.Зільбер, В.М.Жданов, Г.В.Вигодчиков, З.В.Ермольєва, М.П.Чумаков, Р.В.Петров, П.Н.Косяков і ін.).

З 40-50-х років XX століття мікробіологія та імунологія вступили в **молекулярно-генетичний етап розвитку**, який характеризується відкриттям в галузі молекулярної біології, генетики – універсальність генетичного коду людини, тварин і рослин, бактерій, молекулярні механізми біологічних процесів. Були розшифровані хімічні структури життєво важливих біологічно активних речовин, таких як гормони, ферменти, здійснений хімічний синтез біологічно активних речовин. Розшифровані, клоновані і синтезовані окремі гени, створені рекомбінантні ДНК, в практику впроваджуються генно-інженерні способи отримання складних біологічно активних речовин (відкриття генної інженерії, біотехнології, інформатики); створення нових методів і наукової апаратури, яка дозволяє глибше приникати в таємниці живої природи.

В розвитку мікробіології і імунології **молекулярно-генетичний період** характеризується такими відкриттями:

- розшифровка молекулярної структури і молекулярно-біологічної організації багатьох вірусів і бактерій; відкриття простійших форм життя – "інфекційного білка" – пріона;
- розшифровка хімічної будови і хімічного синтезу деяких антигенів. Наприклад, хімічний синтез лізоциму [Села Д.,1971], пептидів віруса імунодефіциту людини (Р.В.Петров, В.Т.Іванов і ін.); гепатиту В, віспи;
- відкриття нових антигенів, наприклад пухлинних (Л.А.Зільбер і ін.), антигенів гістосумісності (HLA-система);
- розшифровка будови антитіл-імуноглобулінів [ЕдельманД., Портер Р., 1959];
- розробка методу культур клітин тварин і рослин та їх вирощування в промисловості з метою одержання вірусних антигенів;
- одержання рекомбінантних бактерій і рекомбінантних вірусів. Синтез окремих генів вірусів і бактерій. Одержання рекомбінантних штамів бактерій і вірусів, що сполучає властивості родинних особин або які набувають нові властивості;
- створення гібридом шляхом сполучення імунних В-лімфоцитів – продуцентів антитіл і ракових клітин з метою одержання моноклональних антитіл [Келлер Д., Мільштейн Ц., 1975];
- відкриття імуномодуляторів – імуноцитокінів (інтерлейкіни, інтерферони, міелопептиди і ін.) – ендогенних природніх регуляторів імунної системи і їх використання для профілактики і лікування різних хвороб;
- одержання вакцин (вакцина гепатиту В, COVID, малярії, антигенів ВІЛ і інших антигенів, біологічно активних пептидів (інтерферони, інтерлейкіни, ростові фактори і ін.) за допомогою методів біотехнології і прийомів генної інженерії;

- розробка синтетичних вакцин на основі природніх або синтетичних антигенів і їх фрагментів, а також штучного носія – ад'юванта (помічника) – стимулятора імунітету;
- вивчення вроджених і набутих імунодефіцитів, їх роль в імунопатології і розробка імунокоригуючої терапії. Відкриття вірусів, які викликають імунодефіцити;
- розробка принципово нових способів діагностики інфекційних і неінфекційних хвороб (імуноферментний, радіоімунний аналізи, імуноблотінг, гібридизація нуклеїнових кислот). Створення на основі цих способів тест-систем для індикації, ідентифікації мікроорганізмів, діагностики інфекційних і неінфекційних хвороб (пухлини, серцево-судинні, аутоімунні, ендокринні і ін.), а також виявлення порушень при деяких станах (вагітність, переливання крові, пересадка органів тощо);
- генодіагностика і генотерапія імунодефіцитів.

Дані досягнення мали значення для профілактичної і клінічної медицини. Свідченням чого є присудження Нобелівської премії за більше ніж 20 праць в галузі мікробіології та імунології: І.І.Мечнікову, П.Ерліху, Р.Коху, Ф.Бернету, П.Медовару і М.Гашеку, Д.Едельману і Р.Портеру, Д.Келлеру і У.Мільштейну, С.Тенегаві та ін.

Досягнення фундаментальної мікробіології та імунології дали "поштовх" до інтенсивного розвитку біотехнології та її розділу імунобіотехнології. Сучасна біотехнологія широко використовує мікроби, так і рекомбінантні штами для одержання в промислових умовах антибіотиків, ферментів, вакцин, гормонів, антигенів, імуномодуляторів (інтерферонів, інтерлейкінів, факторів росту і активації та ін.), діагностичних препаратів, імуноглобулінів та інших імунореагентів. За допомогою імунобіотехнологічних методів розроблено і вироблено більше тисячі імунобіологічних препаратів, які застосовуються для діагностики, профілактики і лікування інфекційних і неінфекційних хвороб.

Завдяки вакцинації ліквідована натуральна віспа, відсутні епідемії поліомієліту, знизилося захворювання кором, коклюшем, дифтерією, правцем, туляремією, сибірською виразкою. Великі надії на імунопрофілактику в боротьбі з ВІЛ-інфекцією, вірусними гепатитами, краснухою, паротитом та ін.

Академік АМН СРСР В.Д.Тімаков і його студенти внесли вагомий внесок в проблему вивчення L-форм бактерій. Академіки АМН СРСР М.П.Чумаков і А.А.Смородінцев вирішили проблему вакцинопрофілактики поліомієліту. Академіки АМН СРСР В.М.Жданов і О.Г.Анджапарідзе, професор С.С.Мареннікова зробили внесок в ліквідацію натуральної віспи в світі. Відомі також імена мікробіологів та імунологів Г.В.Вигодчикова, П.Н.Косякова, З.В.Ермольєвої, С.В.Прозоровського, Р.В.Петрова, І.Б.Блохіної, С.Г.Дроздова, В.Ф.Семьонова, Д.К.Львова, Р.М.Хаітова та ін.

Існує мережа інститутів: Інститут епідеміології і мікробіології ім. Н.Ф.Гамалеї, Інститут вірусології ім.Д.І.Івановського, Інститут поліомієліту і вірусних енцефалітів ім. М.П.Чумакова, Інститут грипу, Інститут вірусних препаратів ім. О.Г.Анджапарідзе, Інституту вакцин і сироваток ім. І.І.Мечнікова

тощо. Випуск і якість імунобіологічних препаратів постійно контролюється Державним інститутом контролю і стандартизації медичних біопрепаратів імені Л.А.Тарасевича.

ЗАБУТІ ІМЕНА

Гнат Ручко – мікробіолог, член-кореспондент АН України з 1934 року. Народився 20 січня 1883 року в селі Великі Сорочинці, зараз Миргородського району Полтавської області. Помер 2 грудня 1938 року в Києві. Закінчив Харківський медінститут (1925 р.). Працював в Харківському науково-дослідному бактеріологічному інституті (1926-1929)., Берлінському науково-дослідному інституті гігієни та імунології (1930-1932). Директор та заввідділом Інституту мікробіології та епідеміології АН УРСР (1932-1937). Заснував "Мікробіологічний журнал" (1934), був організатором першої в СРСР наукової конференції по бактеріофагії та мінливості мікроорганізмів (1936). Основні праці присвячені вивченню мінливості бактерій та бактеріофагії. Лев Тарасевич – український мікробіолог, патолог, академік АН України з 1926 р. Народився 14 лютого 1868 р. в місті Тирасполь (Молдова), помер 12 червня 1927 р. поблизу Дрездена; похований у Москві. В 1891 р. закінчив фізико-математичний факультет Новоросійського університету в Одесі. В 1898-1900 р. співробітник Київського університету; 1900-1902 р. працівник Пастерівського інституту в Парижі (працював під керівництвом І.І.Мечнікова); 1902-1907 р. – викладач Новоросійського; 1907-1911 та 1917-1924 р. – Московського університету. У 1918-1927 р. очолював Вчену медичну Раду Наркомату охорони здоров'я СРСР. Праці Тарасевича присвячені питанням медичної мікробіології та епідеміології, в тому числі проблем імунітету; вивченню ретикуло-ендотеліальної системи, походження гемолізинів тощо. В 1918 р. за ініціативою Тарасевича було створено у Москві станцію по контролю сироваток (тепер Державний науково-дослідний інститут стандартизації та контролю медичних біологічних препаратів імені Л.О.Тарасевича).

Садовський Іван Миколайович – народився 6.06.1855 р. в селі Степанівка, тепер смт. Сумського району Сумської області – помер 10.08.1911 р. в Петербурзі. Садовський – український ветеринарний анатом і мікробіолог, один з організаторів ветеринарної справи в Росії і на Україні. В 1879 р. закінчив Харківський ветеринарний інститут. З 1890 р. – професор цього ж інституту. В 1904-1907 р. був директром Варшавського ветеринарного інституту. В 1907-1911 р. завідував ветеринарно-бактеріологічною лабораторією Міністерства внутрішніх справ. Разом з Л.С.Ценковським вивчав сибірку, один з перших виготовив і застосував проти цієї хвороби вакцину Ценковського.

Холодний Микола Григорович народився 22 червня 1882 р. в Тамбові – помер 4 квітня 1953 р. в Києві. Холодний – український ботанік і мікробіолог, академік АН УРСР з 1929 р., заслужений діяч науки УРСР з 1944 р. У 1906 закінчив Київський університет. У 1906-1941 р. викладав у цьому ж університеті (з 1926 – професор, завкафедрами фізіології і анатомії рослин і мікробіології (останню заснував 1933 р.). Йому належать праці з питань

фізіології, анатомії та екології рослин, мікробіології, фітогенних речовин атмосфери, проблем дарвінізму. Встановлено премію ім. М.Холодного.

Нещадименко Марко народився 15 травня 1869 р. у селі Сердечівці (Черкащина) у селянській родині. Закінчив медичний факультет Київського університету 1896 р. Відтоді до 1940 р. працював у Київському бактеріологічному інституті (з 1939 р.), Українському науково-дослідному інституті епідеміології та мікробіології.

В період Української Народної Республіки став одним із організаторів першого українського медичного факультету, очолив кафедру загальної патолого-анатомії з бактеріологією. Один з творців української науково-медичної літератури, публікував у часописі "Українські медичні вісті" статті з питань мікробіології, харчових отруєнь та ін.

Очолював кафедру епідеміології та мікробіології до 1941 р., багато років був директром Київського бактеріологічного інституту, який заснував на свої кошти. Помер 1 жовтня 1942 р.

ОСНОВИ КЛАСИФІКАЦІЇ ТА МОРФОЛОГІЯ МІКРООРГАНІЗМІВ

"Керівництво Берджі по визначенню бактерій" (1994) - всі прокаріоти розділені на 35 груп

У відповідності з Міжнародним Кодексом номенклатури бактерій існують такі таксономічні категорії царства прокаріотів:

Царство, підцарство, відділ, клас, порядок, родина, рід, вид, підвид.

Основною таксономічною одиницею є вид, тобто сукупність особин одного генотипу, які володіють яскраво вираженою фенотипічною подібністю.

Всередині виду існують варіанти:

морфоваріанти відрізняються за морфологією;

біоваріанти – за біологічними властивостями;

хемоваріанти – за ферментативною активністю;

сероваріанти – за антигенною структурою;

фаговаріанти – за чутливостю до фагів;

резистенсвари – варіанти, стійкі до антибіотиків;

ековари – варіанти, що мешкають в окремих екологічних містях;

патовари – патогенні для відповідних господарів.

Згідно **сучасної систематики** патогенні бактерії відносяться до надцарства прокаріотів, гриби – до царства мікота (Mycota), простійші – до царства Protozoa, віруси до царства Vira.

За класифікацією Берджі, бактерії складають царство прокаріот і поділяються на 4 відділи:

граціліку́ти (Gracilicutes) – бактерії з тонкою клітинною стінкою, грамнегативні;
фірмі́кути (Firmicutes) – бактерії з товстою клітинною стінкою, грампозитивні;
тенері́кути (Tenericutes) – бактерії "м'ягкі", "ніжні" без ригідної клітинної стінки, які включають мікоплазми;
мендозі́кути (Mendosicutes), так звані архобактерії, які відрізняються дефектною клітинною стінкою, особливостями будови рибосом, мембран і рибосомних РНК (рРНК).

Застосування електронної мікроскопії і цитохімічних методів у вивченні тонкої структури клітини дало можливість виділити два типи клітин: еукаріотичний і прокаріотичний.

Еукаріотична клітина містить ядро з вираженою ядерною оболонкою, пластинчатим комплексом (апарат Гольджі) і мембранними структурами, такими, як мітохондрії і хлоропласти, в яких знаходиться частина клітинного геному, ця клітина є структурною основою тварин і рослин.

Однією з особливостей **прокаріотичної клітини** є відсутність системи мембран. У більшості прокаріотів є лише цитоплазматична мембрана з її складною будовою і багаточисленними функціями. Спадкова інформація прокаріотів закладена в одній молекулі ДНК, яка і виконує функцію ядра.

Для того, щоб визначити, до якого виду відноситься мікроорганізм, необхідно за допомогою різних методів вивчити його особливості (форму клітини, спороутворення, рухливість, ферментативні властивості) і за визначником знайти його систематичне положення – ідентифікувати.

Бактерії (від грецького ***bacteria*** – паличка) являють собою велику групу одноклітинних організмів рослинної природи без хлорофілу. Відносяться до класу грибів-дроб'янок *Schizomycetes*. Довжина більшості бактерій складає 1,5-3 мкм, діаметр 0,6-0,8 мкм. Бактерії відносяться до прокаріотів, тобто доядерних організмів, оскільки в них є примітивне ядро без оболонки, ядерця, гістонів, а в цитоплазмі відсутні високоорганізовані органели (мітохондрії, аппарат Гольджі, лізосоми і ін.).

Бактерії за своєю формою клітин поділяються на **кулясті (коки), паличкоподібні або циліндричні, кручені (звивисті), ниткоподібні.**

Коки можуть бути кулеподібної форми, злегка витягнутої або дещо витягнутої з однієї з сторін, діаметр 0,5-1 мкм. Залежно від взаємного розташування коків, обумовленого площиною поділу і збереженням зв'язків після поділу клітин, розрізняють наступні морфологічні групи:

- ***мікрококи*** розташовуються у вигляді окремих особин, оскільки клітини після поділу розходяться;
- ***диплококи,*** чи парні коки, коли клітини діляться в одній площині, а пізніше не розходяться (пневмококи у вигляді ланцету, гонококи і менінгококи – бобоподібної форми);

- ***стрептококи*** (від лат. ***streptos*** – ланцюжок) – клітини діляться в одній площині і не розходяться, утворюють ланцюжок, зв'язані між собою клітинними мембранами;
- ***стафілококи*** (від латинського ***staphyle*** – гілка) – клітини діляться в різних площинах, утворюючи скупчення у вигляді грони винограду;
- ***тетракоки*** (від лат. ***tetra*** – чотири) – клітини поділяються в двох взаємно перпендикулярних площинах і розташовуються по чотири;
- ***сарцини*** (від латинського ***sarcio*** – сполучаю) – клітини діляться в трьох взаємно перпендикулярних площинах і розташовуються у вигляді тюків чи пакетів по 8 або 16 клітин в кожному.

Коки широко розповсюджені в природі, в організмі людини і тварин, навколишньому середовищі. Майже всі групи коків, за вийнятком мікрококів, тетракоків і сарцин, є збудниками інфекційних захворювань.

Паличкоподібні бактерії різні за величиною, формою, розташуванням клітин, розміри в довжину від 1 до 10 мкм, в товщину 0,5-2 мкм. Палички розрізняються за зовнішнім виглядом: кінці їх можуть бути рівними, як би обрізаними; заокругленими, потовщеними або загостреними. Після поділу бактерії можуть розташовуватись попарно – ***диплобактерії*** (клебсіели) і ***диплобацили***, ланцюжком – ***стрептобактерії*** (збудник м'якого шанкеру) і ***стрептобацили*** (збудник сибірської виразки), або *під кутом* один до одного, або хрест на хрест (збудник дифтерії). Більшість бактерій розташовуються безладно.

Паличкоподібні (циліндричні) бактерії поділяються на **власне бактерії, бацили і клостридії.** Паличкоподібні мікроорганізми, що не утворюють спор – це ***власне бактерії***. Аеробні спороутворюючі мікроорганізми називаються ***бацилами,*** анаеробні спороутворюючі мікроорганізми називаються ***клостридіями*.**

Кручені (звивисті) форми – це **вібріони, кампілобактерії, спіріли і спірохети**. Мають вигини, що нагадують спіраль. Спіріли розрізняються за кількістю і характером вигинів, загальній довжині і товщині клітини. Вони ведуть сапрофітний спосіб життя, більшість з них не викликають захворювань.

Вібріони – клітини, вигин яких складає ¼ завитка, має вигляд коми. Типовими представниками є збудники холери і водні вібріони, що населяють багато водойм.

Кампілобактерії – грамнегативні тонкі спіралевидні (1-2 завитки) палички з характерним гвинтоподібним рухом, мають поодинокі джгутики на кінці. Патогенні для людини *C.jejuni, C.pylori* та інші, умовно патогенні – *C.fetus, C.coli* та інші.

Спірили – звивисті бактерії, що мають 1-2-4 завитки і на кінцях пучки (3-9) джгутиків. Патогенними є *S.minor* – збудник содоку, *Campylobacter jejuni* – спричиняє у тварин і людини захворювання кишківника і сечостатевих органів.

Спірохети - мають штопороподібну звивисту форму. Відрізняються між собою характером і кількістю обертів, довжиною та іншими ультраструктурними та фізіологічними ознаками. Різні види спірохет –

анаероби, факультативні анаероби і аероби. Мешкають як сапрофіти і знаходяться в організмі людини. Патогенними є незначна їх кількість. Спірохети діляться на роди: *Treponema, Borrelia, Leptospira*. Рід ***Treponema*** – це збудники захворювань у людей: збудник сифілісу – *T.pallidum*, фрамбезії – *T.pallidum s.s.tenue*, пинти – *T.carateum*. Серед патогенних для людини ***борелій*** слід вказати на збудника епідемічного поворотного тифу – *B.recurrentis* та збудники кліщового поворотного тифу – *B.persica, B.hispanica, B.duttoni, B.caucasica, B.latyschewi*.

Лептоспіри – тонкі спіралеподібні мікроорганізми з тісно складеними 12-18 завитками, кінці загнуті і потовщені, мають форму букв С і S. *L.interrogans* – збудник гострого природно-вогнищевого захворювання лептоспірозу.

Ниткоподібні бактерії (сіркобактерії, залізобактерії) населяють водойми. До них відносяться ***актиноміцети,*** що мають вигляд розгалужених ниток; їх міцелій довжиною 100-600 мкм і товщиною 0,5-1,2 мкм.

Крім названих основних форм, виявлено бактерії *трикутної, зіркоподібної, кільцеподібної форм.*

БУДОВА БАКТЕРІАЛЬНОЇ КЛІТИНИ

Застосування електронного мікроскопу, який дає збільшення в сотні тисяч разів, отримання ультратонких зрізів бактерій, використання фазово-контрасної мікроскопії, методів цитохімічного аналізу (ізотопи, хромато- і спектрографія) дозволили вивчити окремі клітинні структури, їх хімічний склад, функції і фізіологічну специфічність.

Бактеріальна клітина складається з наступних частин: **трьохшарової оболонки (зовнішнього слизового шару, клітинної стінки і цитоплазматичної мембрани), цитоплазми з різними включеннями і ядерної речовини (нуклеоїду)**. Слизовий капсульний шар знаходиться ззовні клітини і виконує захисну функцію.

Структурними утвореннями є капсули, мікрокапсули, слиз, спори, джгутики, фімбрії, пілі.

Клітинна стінка – біогетерополімер складної хімічної структури, один з основних структурних елементів клітини, зберігає її форму і відділяє клітину від навколишнього середовища. Важливою властивістю клітинної стінки є вибіркова здатність, яка забезпечує проникнення в клітину необхідних поживних речовин (амінокислот, вуглеводів і ін.) і виводить з клітини продукти обміну, зберігає всередині клітини постійний осмотичний тиск, приймає участь в процесі поділу клітини. Міцність стінки забезпечує **муреїн,** речовина полісахаридної природи. Склад неоднаковий у різних бактерій. Найбільш товста клітинна стінка у грамдодатніх бактерій – до 50 нм і більше, в грамвід'ємних – 15-20 нм.

Основою клітинної стінки всіх бактерій є **пептилоглікан**, який забезпечує ригідність і еластичність клітинної стінки та її форму.

В клітинній стінці грамдодатніх бактерій, міститься невелика кількість полісахаридів, ліпідів, білків. З пептидогліканом клітинної стінки **грамдодатніх** бактерій ковалентно зв'язані тейхоєві кислоти (від грецького *teichos* – стінка), молекули яких представляють собою ланцюги з 8-50 залишків гліцеролу і рибітолу, з'єднаних фосфатними містками. Форму і міцність бактеріям надає жорстка волокниста структура багатошарового з поперечними пептидними з'єднаннями пептидоглікану. Пептидоглікан – це паралельно розташовані молекули глікану, які складаються з залишків N-ацетилглюкозаміну і N-ацетилмурамової кислоти, які повторюються та з'єднані глікозидним зв'язком типу β (1→ 4). Лізоцим, що є ацетилмурамідазою, розриває ці зв'язки. Гліканові молекули зв'язані поперечним пептидним зв'язком. Звідси і назва цього полімера – пептидоглікан. У грамдодатніх бактерій замість мезодіамінопімелінової кислоти часто міститься лізин.

У **грамнегативних** бактерій пептидоглікан одношаровий і вкритий зовнішньою мембраною з мозаїчною структурою – ліпопротеїд, що утворює глобулярний шар. Пептидоглікан покритий пластинчатою мембраноподібною структурою, що складається з фосфоліпідів, ліпополісахариду (ЛПС) і білка.

Основу пептидного зв'язку пептидоглікану грамвід'ємних бактерій складають тетрапептиди, які складаються з чергуючих *L- і D*-амінокислот, наприклад *L*-аланін – *D*-глутамінова кислота – мезодіамінопімелінова кислота – *D*-аланін. Склад і будова пептидної частини пептидоглікана в грамвід'ємних бактерій стабільні. Тетрапептиди з'єднані один з одним поліпептидними ланцюжками з 5 залишків гліцину.

Елементи глікану (ацетилглюкозамін і ацетилмурамової кислоти) і амінокислоти тетрапептиду (мезодіамінопімелінова і *D*-глутамінова кислоти, *D*-аланін) є особливістю бактерій, оскільки вони і *D*-ізомери амінокислот відсутні в тварин і людини.

Здатність ***грамдодатніх бактерій*** при фарбуванні за Грамом втримувати генціановий фіолетовий в комплексі з йодом (синьо-фіолетове забарвлення бактерій) зв'язано з властивістю багатошарового пептидоглікана взаємодіяти з фарбою. Обробка зафарбованого за Грамом мазка бактерій спиртом викликає звуження пор в пептидоглікані і тим самим затримує фарбу в клітинній стінці. Навпаки, ***грамвід'ємні бактерії*** після взаємодії спиртом втрачають барвник, знебарвлюються і при обробці фуксином зафарбовуються в червоний колір внаслідок меншого вмісту пептидоглікана (5-10% маси клітинної стінки).

Особливе значення має ЛПС, який міститься у великій кількості в складі грамнегативних бактерій, складається із комплекса ліпіда, названого ліпідом А, і зв'язаного з ним полісахарида. Склад ЛПС у всіх грамнегативних бактерій постійний, але кожен вид бактерій має свій особливий склад, що дає можливість відрізнити один вид від іншого.

ЛПС є надзвичайно токсичним для тварин і тому одержав другу назву – ендотоксин ***грамнегативних*** бактерій, оскільки він міцно зв'язаний з бактеріальною клітиною і звільняється тільки при лізисі бактерій. Токсичність ЛПС пов'язана з структурою ліпідів. Від ліпіду А відходить ядро або стрижнева частина ЛПС. Найбільш постійною частиною ядра ЛПС є кетодезоксиоктонова

кислота (3-дезокси-*D*-манно-2-октулосонова кислота). О-специфічний ланцюг, що відходить від стрижневої частини молекули ЛПС, обумовлює серогрупу, серовар певного штаму бактерій (визначається за допомогою імунної сироватки).

ЛПС є основним поверхневим антигеном бактеріальної клітини – О-антигеном, за яким можна диференціювати бактерії.

Клітинна стінка динамічне утворення бактеріальної клітини. Збільшення маси цитоплазми супроводжується подовженням клітинної стінки за рахунок синтезу нових одиниць пептидоглікану в різних місцях КС. Але пептидоглікан є чутливою речовиною до лізоциму, деяких антибіотиків (пеніцилінового ряду), не дивлячись на різні механізми їх дії.

До складу клітинної стінки грамвід'ємних бактерій входить **зовнішня мембрана**, зв'язана через ліпопротеїн з шаром пептидоглікану. Зовнішня мембрана – це хвилеподібна трьохшарова структура, подібна до внутрішньої мембрани, яку називають цитоплазматичною. Основним компонентом цих мембран є бімолекулярний (двійний) шар ліпідів.

Зовнішня мембрана є асиметричною мозаїчною структурою, представленою ліпополісахаридами, фосфоліпідами і білками. З її внутрішньої сторони розташований ліпополісахарид (ЛПС), який складається з трьох компонентів: ліпіда А, стрижневої частини або ядра (лат. *core* – ядро), і О-специфічного ланцюга полісахариду, утвореного олігосахаридними послідовностями, які чергуються.

Зовнішня мембрана пронизана білками поринами – своєрідними вивідними канальцями, які забезпечують дифузію хімічних речовин із зовнішнього середовища в мікробну клітину.

Клітинна стінка може руйнуватись під дією пеніциліну або лізоциму. Бактерії, які зовсім не мають клітинної стінки називають **протопластами,** а які мають залишки – **сферопластами**. Протопласти зберігають властивість до дихання, поділу, синтезу ферментів, дії зовнішніх факторів, механічному пошкодженню, осмотичному тиску, аерації і ін. Зберегти протопласти можна лише в гіпертонічних розчинах.

Деякі бактерії можуть проходити через бактеріальні фільтри і називаються **фільтрівні форми.** До таких бактерій відносяться мікоплазми.

Якщо заблокувати процес синтезу клітинної стінки за допомогою пеніциліну, то утворюються ***L*-форми** (від назви Інституту ім.Лістера) – це мутанти із зміненими морфологічними ознаками, сферичні утворення різних розмірів, в тому числі що проходять через бактеріальні фільтри. Це можуть бути клітини різної величини. У L-форм частково зберігається клітинна стінка і можливий перехід її знову в бактеріальну клітину після усунення фактору, який викликав ці зміни.

Цитоплазматична мембрана (ЦПМ) щільно прилягає до клітинної стінки з внутрішньої сторони. Вона дуже тонка (8-10 нм) і складається з трьох шарів: ліпідного, протеїнового і полісахаридного. Це кордонний напівпроникливий шар, через який здійснюється живлення клітини. В мембрані є ферменти – *пермеази*, які здійснюють активне перенесення речовин, а також

ферменти дихання. Цитоплазматична мембрана утворює **мезосоми** *(інвагінати – впячування у вигляді складно закручених мембранних структур).* Менш складно закручені структури називаються внутрішньоцитоплазматичними мембранами. Мезосоми приймають участь в поділі клітини, забезпечуючи синтез клітинної стінки, секреції речовин, спороутворення, тобто в процесах, які супроводжуються великою затратою енергії. При поміщенні клітин в гіпертонічний розчин мембрана може відділитися від клітинної стінки. ЦПМ приймає участь в регуляції осмотичного тиску, траспорті речовин і енергетичному метаболізмі клітини (за рахунок ферментів ланцюга переносу електронів, АТФ-ази і ін.).

Цитоплазма займає основний об'єм клітини, це внутрішній вміст бактеріальної клітини. Являє собою колоїдну систему, яка складається з води, білків, вуглеводів, ліпідів, різних мінеральних солей. Хімічний склад і консистенція цитоплазми змінюються залежно від віку клітини і умов навколишнього середовища. В цитоплазмі знаходиться нуклеоїд, рибосоми і різні включення – це гранули, запасні речовини, що служать джерелом енергії і виконують роль запасних речовин для живлення і енергетичних потреб (крохмаль, глікоген, жир, ліпополіпротеїдні тільця, гранульоза, волютин, полісахариди, полі-β-масляна кислота і поліфосфати та ін.). Включення нагромаджуються при надлишку поживних речовин в навколишньому середовищі. Зерна волютину виявляють у дифтерійної палички у вигляді інтенсивно профарбованих полюсів клітин (метахромазія), містять метафосфати. Наявність гранул волютину беруть до уваги при лабораторній діагностиці дифтерії.

У цитоплазмі мікобактерій, стрептококів, протею, актиноміцет, клостридій та інших мікроорганізмів є *рапідосоми, або мікротрубочки.* Вони виконують у мікобактерій функцію пересування, ковзання по густому субстрату. Мікротрубочки бактерій за структурою і розмірами схожі на мікротрубочки найпростіших, рослин і тварин.

Нуклеоїд - ядерна речовина клітини, її спадковий апарат. Ядерна речовина прокаріотів на відміну від еукаріотів не має власної мембрани, ядерця і основних білків гістонів. Нуклеоїд зрілої клітини являє собою подвійну нитку ДНК, закручену в кільце. В молекулі ДНК закодована генетична інформація клітини. За генетичною термінологією ядерна речовина отримала назву **генофор** або **геном**. Звичайно в бактеріальній клітині міститься одна хромосома, представлена замкненою в кільце молекулою ДНК. При порушенні поділу в ній може знаходитись 4 хромосоми і більше.

Нуклеоїд виявляється в світловому мікроскопі після фарбування специфічними для ДНК методами: за допомогою мікрохімічної реакції Робіноу-Фельгена на ДНК або за Романовського-Гімзе та флюоресцентної мікроскопії забарвлених флюорохромами препаратів бактерій. На електронограмах ультратонких зрізів бактерій нуклеоїд має вигляд світлих зон з фібрілярними, ниткоподібними структурами ДНК, зв'язані певними ділянками з цитоплазматичною мембраною або мезосомою що приймає участь в реплікації хромосоми.

Крім нуклеоїду, представленого одною хромосомою, в цитоплазмі можуть бути особливого типу молекули ДНК – додаткові генетичні детермінанти, які отримали назву **плазмід**.

Рибосоми знаходяться в цитоплазмі клітини і виконують функцію синтезу білку. До складу входить 60% РНК і 40% білка. Кількість рибосом в клітині досягає 10000. Сполучаючись між собою рибосоми утворюють **полісоми** (екосоми).

Клітини бактерій в процесі життєдіяльності утворюють запасні органели - капсули і спори.

Капсула – зовнішній ущільнений слизовий шар товщиною більше 0,2 мкм, який прилягає до клітинної стінки і складається з полісахаридів, інколи поліпептидів. Вона гідрофільна. Це захисний орган, який дозволяє у деяких бактерій при попаданні їх в організм людини і тварин захищати їх. Капсула охороняє мікроорганізм від захисних факторів організму – фагоцитозу бактерій (збудники пневмонії і сибірської виразки), Деякі мікроорганізми мають постійну капсулу (клебсіели). Капсулу добре видно в мазках-відбитках з патологічного матеріалу зафарбованих за методом Бурі-Гінса. В чистих культурах бактерій капсула утворюється рідше. Капсулу вважають пристосувальною функцією бактерій.

Мікроорганізми, в яких немає чіткої капсули утворюють аналогічну структуру у вигляді тонкого поверхневого шару, який отримав назву **мікрокапсули** (товщина менше 0,2 мкм). Мікрокапсулу добре видно під електронним мікроскопом.

Деякі сапрофітні бактерії – лейконосток має характерне утворення капсули, спільної для багатьох особин. Такі скупчення мікроорганізмів, що містяться в спільній капсулі, називають **зооглеями.**

Від капсули необхідно відрізняти **слиз** – мукоїдні екзополісахариди, що не мають чітких зовнішніх границь. Бактеріальні екзополісахариди приймають участь в адгезії, їх ще називають **глікокаліксом**.

Капсула і слиз захищають бактерії від ушкоджень, висихання, оскільки вони гідрофільні і добре зв’язують воду, перешкоджаючи дії захисних факторів макроорганізму і бактеріофагів.

Спори зустрічаються лише у фірмікутних бактерій, паличкоподібних бактерій з грамдодатнім типом будови клітинної стінки. Вони утворюються при попаданні мікроорганізму в несприятливі умови навколишнього середовища (дія високих температур, висихання, зміна *ph*, зменшення кількості поживних речовин в середовищі і т.д.). Спори знаходяться всередині бактеріальної клітини і являють собою ущільнену частинку цитоплазми з нуклеоїдом, одягнений власною щільною багатошаровою непроникливою оболонкою. За хімічним складом вони відрізняються від вегетативних клітин малою кількістю вільної води, піколінової кислоти, великим вмістом ліпідів і солей кальцію (діпіколінату кальцію), що сприяє високій стійкості спор.

Спороутворення проходить впродовж 18-20 годин; при попаданні мікроорганізму в сприйнятливі умови спора через 4-5 годин проростає у вегетативну форму, проходячи три стадії:

- активацію (підготовчу до проростання, особливо при температурі 60-80^{o} С); частина цитоплазми і хромосома відділяються і обгортаються цитоплазматичною мембраною;
- ініціацію проростання – стадія передспори і утворення багатошарової погано проникливої оболонки, інтенсивне поглинання проспорою і оболонкою спори дипіколінової кислоти та іонів кальцію (декілька хвилин);
- виростання (руйнування оболонки спори і вихід проростка).

В бактеріальній клітині утворюється тільки одна спора і з однієї спори утворюється одна бактерія. Спори сприяють збереженюю виду і не є способом розмноження як у грибів.

Спороутворюючі аеробні бактерії називаються **бацилами,** а анаеробні – **клостридіями**.

Спори відрізняються за формою, розмірами і розташуванню в клітині. Вони можуть розташовуватись *центрально* (сибірська виразка), розмір спори не перевищує впоперек клітину; *субтермінально* – ближче до кінця клітини (збудник ботулізму), перевищує ширину клітини; *термінально* – на кінці клітини (збудник правцю), перевищує ширину клітини. Таке розташування спор є диференціально-діагностичною ознакою, а спороутворення є видовою властивістю паличок.

Спори довгий час можуть бути життєздатними. Так, в грунті спори патогенних мікроорганізмів (збудника сибірської виразки, правцю) можуть зберігатися десятка років. При попаданні в сприйнятливе середовище спори дуже швидко проростають – з одної спори виникає одна бактеріальна клітина, яка починає розмножуватись: набухає, в оболонці з'являється отвір, через який витягується росток, який пізніше перетворюється в паличку.

Джгутики – органоїди руху, характерні для паличкоподібних бактерій. Це тонкі ниткоподібні фібріли, які складаються з білка – флагеліна і є видовою ознакою бактерій, мають антигенну специфічність. Довжина їх значно перевищує довжину бактеріальної клітини. Товщина джгутиків 12-20 нм, довжина 3-12 мкм. Джгутики відходять від базального тільця, розташованого в цитоплазмі і виходять на поверхню клітини; а також від цитоплазматичної мембрани і клітинної стінки, і прикріплені за допомогою спеціальних дисків. Наявність їх можна виявити по визначенню рухливості клітин при мікроскопії, в напіврідкому поживному агарі або при забарвленні спеціальними методами. Ультраструктура джгутиків вивчена електронною мікроскопією препаратів, напилених важкими металами або їх можна виявити в світловому мікроскопі після обробки препаратів спеціальними методами (наприклад, сріблення, що засновано на протравленні і адсорбції різних речовин, що приводить до збільшення товщини джгутиків).

За розташуванням джгутиків бактерії поділяють на групи:

- *монотрихи* – з одним джгутиком (збудник холери);
- *амфітрихи* – з пучками або поодинокими джгутиками на обох кінцях клітини (спіріли);

- *лофотрихи* – з пучком джгутиків на одному кінці клітини (фекальний лугоутворювач);
- *перитрихи* – джгутики розташовані по всій поверхні клітини (кишкові бактерії).

Швидкість руху бактерій залежить від кількості і розташування джгутиків (найбільш активні монотрихи), від віку бактерій і впливу навколишніх факторів. Залежно від факторів, під впливом яких відбувається рух, розрізняють *хемотаксис, аеротаксис і фототаксис*. Пошкодження джгутиків приводить до втрати рухливості, але не перешкоджає росту і розмноженню. Рух можна вивчити за допомогою "завислої" або "роздавленої" крапель при мікроскопії.

Пілі або фімбрії, ворсинки, війки, бахромки, розташовані на поверхні бактеріальних клітин. Вони тонші джгутиків, це ниткоподібні структури 5-10 нм і коротші їх, складаються з особливого білка – піліна. Вони мають антигенну активність, спіральну структуру. Служать для прикріплення бактерій до клітин тварин і людини (1-го типу, або загального типу – *common poli* – декілька сотень на клітину), відповідають за живлення, водньо-сольовий обмін, є статеві пілі (F-пілі), або коньюгаційні, передають генетичний матеріал з клітини в клітину (2-го типу). Термін "пілі" часто застосовується для позначення особливих фімбрій – статевих пілей, які утворюються чоловічими клітинами-донорами, що містять трансмісивні плазміди (*F, R, Col*); кількість їх 1-2 на клітину. Відмінністю статевих пілей є взаємодія з особливими "чоловічими" сферичними бактеріофагами, які інтенсивно адсорбуються на статевих пілях.

ХАРАКТЕРИСТИКА СПІРОХЕТ, ГРИБІВ, АКТИНОМІЦЕТ, РИКЕТСІЙ, ХЛАМІДІЙ, МІКОПЛАЗМ, ПРОСТІШИХ, ВІРУСІВ.

Спірохети (від лат. *spira* – вигин, *chaite* – волосся, грива) – тонкі, кручені, рухливі одноклітинні організми. Число вигинів може досягти 10-15. Величина їх значно міняється: діаметр їх 0,25-6 мкм, а довжина від 7 до 500 мкм. Дослідження в електронному мікроскопі показали, що їх структура значно складніша, ніж у бактерій. Вони мають зовнішню клітинну стінку, протоплазматичний циліндр з цитоплазматичною мембраною (або цитоплазматичну спіраль) і руховий фібрилярний аппарат (або аксиальна нитка). Всередині цитоплазми розташований нуклеоїд і різні гранули. Клітинна стінка спірохети являє собою комплекс з двох утворень: зовнішньої оболонки – дуже тонкої, еластичної, гнучкої і під нею лежить клітинна стінка цитоплазматичного циліндру. В поверхневому шарі клітинної стінки цитоплазматичного циліндру виявлено глікопептиди. Основна нитка (фібрилярний апарат) складається з одної, декількох або пучка фібрил, що злилися між собою і закручуються навколо протоплазматичного циліндра спірохети утворюючи первинні завитки спірохет (гвинтоподібної форми). Фібрили прикріплені до кінців клітин і спрямовані назустріч один до одного. У

фібрилах знайдена речовина – кутін, яка зустрічається лише у тварин. Від найпростіших спірохет відрізняє спосіб руху шляхом скорочення їх фібрилярного апарату – скоротливого білка флагеліна. Спірохети дуже рухомі. Для них характерний: поступовий, обертовий, згинальний, хвилеподібний рух. При цьому спірохети утворюють петлі, завитки, згини, які отримали назву вторинних завитків. Розмножуються спірохети поперечним поділом на дві рівноцінні особини. Деякі спірохети слабо забарвлюються аніліновими барвниками. Звичайно спірохети забарвлюються за методом Романовського-Гімзе або серебрінням. В живому вигляді їх досліджують за допомогою фазово-контрасної або темнопольної мікроскопії. Так за допомогою електронного мікроскопа вдалося виявити в лептоспір ще і гудзичкові потовщення – блефаропласт.

Спірохети розділяються на роди за кількістю і формою вигинів нитки і їх закінченню: трепонеми, борелії, лептоспіри. Борелії за методом Романовського-Гімзе фарбуються в фіолетовий колір, лептоспіри – в рожевий, трепонеми слабо сприймають дану фарбу – блідо рожеві, а також розрізняються між собою за кількостю і формою вигинів нитки.

Спірохети роду *Treponema* мають 8-12 рівномірних дрібних завиток. Патогенний представник *T.pallidum* – збудник сифілісу і *T.pertenue* – збудник тропічної хвороби – фрамбезії.

Спірохети роду борелій мають довгі, по 3-8 великих завитки. До них відноситься збудник поворотного тифу – *B.recurrentis.*

Спірохети роду лептоспір мають неглибокі і часті завитки – у вигляді закрученого шнурка. Кінці зігнуті немов би гачки з потовщенням на кінцях. Утворюючи вторинні завитки, вони мають вигляд букв S або C. Рід спірохет є сапрофітами. Вони зустрічаються на слизовій оболонці порожнини рота, статевих органів здорових людей, в мулі водоймищ. Але серед них є збудники інфекційних захворювань в людини – патогенний представник *L.interrogans* – викликає лептоспіроз.

Гриби, як і бактерії, є рослинними організмами, але мають більш складну будову, відносяться до царства *Fungi.* Гриби мають ядро з ядерною оболонкою, цитоплазма з органелами, цитоплазматична мембрана (містить фосфоліпіди і стероли) і міцну клітинну стінку, яка складається з глюкана, целюлози, хітіна, білка, ліпідів і ін. На відміну від вищих рослин гриби не містять хлорофілу, це багатоклітинні еукаріотичні мікроорганізми. Клітини часто витягнутої форми, подібні на нитки. Такі ниткоподібні клітини називаються ***гіфами***. Розростаючись гіфи галузяться і утворюють сплетіння – *тіло гриба, або* ***міцелій*** (грибницю). Гіфи нищих грибів – ***фікоміцет*** не мають перегородок, а у вищих грибів – ***еуміцет*** гіфи розділені перегородками; їх міцелій багатоклітинний.

Міцелій гриба частково занурений в поживне середовище. Деякі гіфи піднімаються вверх у вигляді повітряного міцелію і несуть на собі спори. Ці гіфи отримали назву плодоносних. Їх добре видно у вигляді пушинок на різних предметах або поживних середовищах.

Розмножуються спорами, статевим і безстатевим способом. Статевим шляхом з утворенням гамет і інших форм, вегетативним шляхом – брунькуванням або фрагментацією гіф. Гриби, які розмножуються статевим і безстатевим шляхом, відносяться до ***справжніх. Несправжні*** називають гриби, у яких відсутній або ще не описаний статевий шлях розмноження.

Розмноження спороутворенням – це утворення екзогенних і ендогенних спор. ***Екзоспори,*** або ***конідії,*** утворюються на кінцях плодоносних гіф. При безстатевому розмноженні ***ендоспори*** мукорового гриба (*спорангіоспори*) також утворюються на кінцях гіф, але знаходяться всередині мішка – ***спорангію*** (кругле потовщення з оболонкою). Таким чином, спори у грибів на відміну від спор бактерій служать для розмноження, менш стійкі і утворюються кожним грибом у великій кількості.

Розрізняють **два основні типи конідій: артроконідії** (артроспори), або **талоконідії** (стара назва оїдії, таллоспори), утворюються шляхом рівномірного септування і розчленування гіф; **бластоконідії** утворюються в результаті брунькування. До безстатевих форм відносять також **хламідоспори** (товстостінні клітини або комплекс дрібних клітин) і **склероцій** – багатоклітинні органи грибів в спокої, що здатні до виживання.

Статеве розмноження (оогамія) в ***зигоміцет*** проходить шляхом утворення *зігоспор, або ооспор*.

Гриби можна розділити на 7 класів: **хітридіоміцети, гіфохитридіоміцети, ооміцети, зигоміцети, аскоміцети, базидіоміцети, дейтероміцети.**

Серед ***фікоміцет*** розрізняють: ***хітридіоміцети***, або водні гриби, які ведуть сапрофітний спосіб життя або уражують водорості; ***гіфохитридіоміцети,*** які мають подібність до хітридіоміцет і ооміцет; ***ооміцети*** – паразити вищих рослин і плісінь води; ***зигоміцети*** включають представників роду *Mucor*, розповсюджені в грунту і повітрі, і здатні викликати мукоромікоз легень, головного мозку і інших органів (наприклад, гриби роду Mucor). Плодове тіло *мукорової* плісені має форму головки, всередині якої є велика кількість ендоспор. Їх міцелій (грибниця) – це одна розгалужена клітина.

Еуміцети представлені ***аскоміцетами і базидіоміцетами*** (справжніми грибами), а також ***дейтероміцетами*** (несправжніми грибами). ***Аскоміцети*** (або сумчаті гриби) об'єднують групу грибів, які мають септований міцелій і відрізняються здатністю до статевого розмноження. Свою назву аскоміцети одержали від основного органа плодоношення – сумки, або аски, яка містить 4 або 8 гаплоїдних статевих спор (аскоспор). До аскоміцет відносять представників родів *Aspergillus, Penicillium.* У гриба *Aspergillus* (лійкова плісінь) на кінцях плодоносних гіф-конідієносців є потовщення – *стеригми*, на яких радіально відходять ланцюжки екзоспор – конідії. Грибниця багатоклітинна. Деякі види аспергіл можуть викликати аспергільоз і афлатоксикози.

Penicillium (кістєвик) має плодове тіло, подібне на кісточку. На конідієносці утворюються потовщення, які розгалужуються на більш дрібні структури – стеригми, на яких знаходяться ланцюжки конідій. Пеніціли можуть викликати захворювання пеніцилінози. Міцелій разом з плодоносними гіфами, багатоклітинний.

Плісневі гриби ростуть на стінах сирих приміщень, на хлібі (залежаному), погано збережених продуктах. Вони дають характерний ріст і мають різне забарвлення – зелене, чорне, рожеве і т.д. В останні роки плісневі гриби привернули увагу у зв'язку з тим, що деякі з них виділяють активні протимікробні речовини – антибіотики. З деяких різновидностей гриба *Penicillium* отримують пеніцилін. Як збудники захворювань людини плісневі гриби мають дуже мале значення.

Представниками ***аскоміцет*** є також ***дріжджі.***

Дріжджі – одноклітинні гриби, які втратили здатність до утворення власного міцелію. Клітини дріжджів овальної, кульоподібної форми, в діаметрі біля 3-15 мкм. Дріжджові клітини складаються з оболонки, протоплазми і ядра. В протоплазмі виявлено включення і вакуолі. Дріжджові клітини розмножуються брунькуванням, бінарним поділом і статевим шляхом з утворенням аскоспор. Вигляд дріжджів, що брунькуються під мікроскопом характерний і служить діагностичною ознакою цих мікроорганізмів.

Спостерігаються захворювання людини, відомі під назвою бластомікозів, обумовлені особливими різновидностями дріжджів.

Базидіоміцети - шляпкові гриби з септованим міцелієм.

Дейтероміцети – несправжні гриби є умовним класом грибів, які об’єднують гриби з септованим міцелієм, не мають статевого розмноження, простим дробінням або за допомогою спор. Деякі викликають захворювання волосся, шкіри і нігтів (гриби парші, лишаю і інших).

До несправжніх грибів належать також дріжджеподібні гриби роду ***Candida,*** які викликають захворювання – **кандідози** (ураження шкіри, слизових оболонок і внутрішніх органів). Клітини овальної форми діаметром 2-5 мкм. Розмножуються брунькуванням (бластоспори). Дріжджеподібні гриби не утворюють ендоспор і можуть давати продовгуваті розростання клітин у вигляді гіф – псевдоміцелій, на кінцях якого знаходяться хламідоспори.

Актиноміцети - це розгалужені грамдодатні мікроорганізми. Їх ще називають променеві гриби і виділяють в самостійну групу мікроорганізмів, які займають проміжне місце між бактеріями і грибами. Міцелій променевих грибів складається з розгалужень дуже тонких, довгих гіф, товщина їх не перевищує поперечних розмірів великих бактерій. Вони формують субстратний міцелій, що утворюється в результаті вростання клітин в поживне середовище, і повітряний, що росте на поверхні середовища.

Актиноміцети не мають компактного ядра, ядерна речовина їх розсіяна в протоплазмі, вони розмножуються простим дробінням гіф міцелію на паличкоподібні або сферичні клітини, подібні на паличкоподібні і кокоподібні бактерії. На повітряних гіфах актиноміцет можуть утворюватись спори, що служить для розмноження. Спори не термостійкі.

На поживних середовищах утворюють щільний наліт, а в організмі – нагромадження у вигляді зерен або гранул, відомі під назвою ***друз***. Форма друзи нагадує промені переплетених ниток що відходять від центра і закінчуються колбоподібними потовщеннями, що і стало основою для назви гриба (від грецького ***actis*** – промінь, ***mykes*** – гриб).

Актиноміцети розповсюджені в грунті і на злакових рослинах. Відомі патогенні актиноміцети – *збудники актиномікозу* великої рогатої худоби і людини. Променеві гриби є продуцентами сильнодіючих антибіотиків – стрептоміцину, тетрациклінів, хлорометину та інших.

Рикетсії – велика група мікроорганізмів, які є строгими (облігатними) внутрішньоклітинними паразитами, тобто можуть розвиватися лише в клітинах тканин хребетних і членистоногих, які є їх господарями або перенощиками. Займають проміжне місце між бактеріми і вірусами. Свою назву вони отримали в честь Х.Т.Рікетса – американського вченого який вперше описав одного із збудників (плямиста гарячка Скелястих гір). Розміри рикетсій: від 0,5 до 10 і навіть до 20-40 мкм. Рикетсії Бернета, наприклад, настільки малі, що як і віруси, проходять через пори фарфорових фільтрів. Форма рикетсій різноманітна: овальна або коко-, паличко- і ниткоподібна.

Рикетсії нерухомі (за вийнятком збудників групи плямистої гарячки), спор, капсул і джгутиків не утворюють; розмножуються поперечним поділом. Вони мають звичайну для грамвід'ємних бактерій будову клітини: двошарову клітинну оболонку, цитоплазму, нуклеоїд, рибосоми, гранули, велику кількість ліпідів. Їх вирощують в жовтковому мішку курячого ембріона, пересаджених культурах клітин і тканин тварин. Рикетсії мають свій власний незалежний від клітини-господаря метаболізм. Тканинні елементи фарбують за методом Романовського-Гімзе або за П.Ф.Здродовським. Вони можуть викликати інфекційні захворювання: епідемічний і ендемічний висипний тиф, який передається вошами і кліщами, в організмі яких рикетсії розмножуються, Ку-лихоманку, лихоманку цуцугамуші, плямисту лихоманку Скелястих гір та інші захворювання.

Хламідії або гальпровії – дрібні бактеріоподібні, кокоподібні, нерухомі безкапсульні грамвід'ємні облігатні внутрішньоклітинні паразити. Очевидно у хламідій відсутня система регенерації АТФ. Геном хламідій містить в чотири рази менше генетичної інформації, ніж геном кишкової палички.

Поза клітиною існують у вигляді елементарних тілець сферичної форми розміром 0,3 мкм. В клітині перетворюються в ретикулярні тільця, які діляться і утворюють внутрішньоцитоплазматичні *включення* – мікроколонії хламідій, які містять проміжні форми розвитку. Покидаючи клітину знову перетворюються в елементарні тільця. Цикл розвитку 40-72 год. Хламідії виявляють в мазках, зафарбованих за Романовським-Гімзи, при електронній мікроскопії. Викликають захворювання птахів – орнітоз, і в людини – трахому (захворювання очей), пневмонії, ураження урогенітального тракту.

Мікоплазми – це дрібні бактерії без клітинної стінки (які в процесі еволюції її втратили), оточені трьохшаровою ліпопротеїдною

цитоплазматичною мембраною, що покрита капсулоподібним шаром. Мікоплазми відносяться до відділу тенерикутів, класу *Mollicutes* (“м’ягкошкірі”).

Існують два роди: мікоплазма і уреаплазма, які відрізняються за біохімічними ознаками (уреаплазми викликають гідроліз сечовини).

Мікоплазми – це дрібні сферичні або овоїдні нерухомі без спор клітини діаметром 0,2 мкм. Зустрічаються ниткоподібні, великі колбоподібні, діаметром 1,5 мкм, довжиною до 150 мкм. Ці форми мікоплазм видно при фазово-контрастній мікроскопії чистих культур мікоплазм. На щільному середовищі утворюють колонії, що нагадують яйце-глазуню: непрозора центральна частина, що занурена в середовище і прозора периферія у вигляді кільця.

Існують патогенні і непатогенні види. Викликають захворювання дихальних шляхів, гострі респіраторні інфекції людини (*M.pneumoniae*), уражують рослин.

Простіші – еукаріотичні одноклітинні мікроорганізми, які складають підцарство *Protozoa* царства тварин (*Animalia*). Простіші налічують 7 типів, з яких три типи (***Sarcomastigophora, Apicomplexa, Ciliphora***) мають представників, що викликають захворювання у людини. Розміри простіших від 5 до 30 мкм.

Ззовні простіші оточені мембраною (пелікулою) – аналогом цитоплазматичної мембрани клітин тварин. Вони мають ядро з ядерною оболонкою і ядерце, їх цитоплазма складається з ендоплазматичного ретикулуму, мітохондрій, лізосом, багаточисленних рибосом і ін. Пересування простіших здійснюється за допомогою джгутиків, війок і щляхом утворення псевдоподій. Деякі простіші мають опорні фібрили. Простіші можуть живитися в результаті фагоцитозу або утворення особливих структур. При несприйнятливих умовах можуть утворювати *цисти.* При зафарбуванні за Романовським-Гімзе ядро простіших забарвлюється в червоний колір, а цитоплазма – в синій колір.

Тип ***Sarcomastigophora.*** Підтип *Mastigophora* (джгутикові) включають патогенних представників, **трипаносоми** – збудник африканського трипаносомозу (сонна хвороба); **лейшманії** – збудники шкірної і вісцеральної форми лейшманіозів; **трихомонади** – збудники трихомоніазу; **лямблію** – збудник лямбліозу. Дані простіші характеризуються наявністю джгутиків: один – у лейшманій; чотири вільних джгутики і коротка ундулююча мембрана – трихомонад. До підтипу *Sarcodina* (саркодові) відноситься **дизентерійна амеба** – збудник амебної дизентерії людини. Морфологічно з нею подібна непатогенна кишкова амеба. Ці простіші пересуваються шляхом утворення псевдоподій, за допомогою яких проходить захоплення і занурення в цитоплазму клітин поживних речовин. Статевий шлях розмноження в амеб відсутній. При несприйнятливих умовах вони утворюють цисту.

Підтип ***Apicomplexa***. В класі *Sporozoa* (споровики) патогенними представниками є збудники *токсоплазмозів, кокцидіозів, саркоцистозів, малярії.* Кожен з цих представників має складну будову і свої особливості життєвого циклу. Наприклад, життєвий цикл збудника малярії

характеризується чергуванням статевого розмноження (в організмі комарів *Anopheles*) і безстатевого (в клітинах тканин і еритроцитів людини, де вони розмножуються шляхом багаточисленного поділу). Токсоплазми мають форму півмісяця. Людина заражається від тварин, збудник може передаватися через плаценту, уражуючи центральну нервову систему та очі плоду.

Тип ***Ciliophora***. Патогенним представником є збудник *балантидіозу*, він уражує товстий кишківник людини. Балантидії рухливі, мають численні війки.

Віруси (від латинської *virus* – отрута, тваринного походження) – це дрібні організми, строгі внутрішньоклітинні паразити неклітинної будови, які не розмножуються поза живими клітинами. За морфологією і біологічними властивостями відрізняються від інших мікроорганізмів. Це білок-синтезуючі системи, які містять лише один тип нуклеїнової кислоти. Відносяться до царства *Vira.*

Розміри: від 25 до 250 нм, тому вони проходять через пори фарфорових фільтрів, які затримують всі відомі бактерії, бувають і до 400 нм. Дрібні віруси: поліомієліту, ящура, жовтої лихоманки, розміри до 25 нм. Більш великі: віруси віспи і вісповакцини, розміри яких до 250 нм. Самі великі – мантійні віруси орнітозу, трахоми, венеричної лімфогранулеми, мають розмір до 300-350 нм.

Вивчення форми вірусів і їх будови відомо лише в електронному мікроскопі при збільшенні в 50 000-300 000 разів. Великі віруси можна побачити в звичайному світловому мікроскопі при спеціальному фарбуванні і збільшенні в 900-1000 разів, за допомогою електронної мікроскопії, методом ультрафільтрації через фільтри з відомим діаметром пор, методом ультрацентрифугування.

Форма вірусів може бути різна: куляста (вірус поліомієліта, ВІЛ), овоподібна (вірус сказу), паличкоподібна (вірус тютюнової мозаїки), ниткоподібна, багатогранна і булавоподібна (багато бактеріофагів).

Віруси є автономними генетичними структурами і відрізняються особливим диз'юнктивним способом розмноження (репродукції): в клітині окремо синтезуються нуклеїнові кислоти вірусів і їх білки, пізніше проходить їх сполучення у вірусні частинки.

Віруси – розмножуються в цитоплазмі або ядрі клітини. Зрілі частинки віруса називаються віріонами. Віріони – нуклепротеїд і одна з нуклеїнових кислот ДНК або РНК. Вони гаплоїдні, тобто мають один набір генів. Виключенням є ретровіруси, які мають диплоїдний геном. Геном вірусів містить від 6 до декількох сотень генів і представлений різними видами нуклеїнових кислот: двоспіральними, односпіральними, лінійними, кільцевими, фрагментованими. Серед РНК-вмісних вірусів розрізняють віруси з додатнім геномом (плюс-нитка РНК). Плюс-нитка РНК вірусів виконує спадкову (геномну) функцію і функцію інформаційної РНК (іРНК). Є також РНК-вмісні віруси з від'ємним геномом (мінус-нитка РНК). Мінус-нитка РНК цих вірусів виконує лише спадкову функцію. Геном вірусів здатний включатися до складу генетичного апарату клітини у вигляді *провіруса*, проявляючи себе генетичним паразитом клітини. Нуклеїнові кислоти деяких вірусів (віруса герпеса тощо)

можуть знаходитись в цитоплазмі інфікованих клітин, нагадуючи плазміди. Всі інші живі організми містять одночасно і ДНК і РНК.

Розрізняють ДНК і РНК-вмісні віруси. До ДНК-вмісних вірусів входять родини: аденовіруси, гепаднавіруси, герпесвіруси, паповавіруси, парвовіруси, поксвіруси. До РНК-вмісних вірусів входять родини: аренавіруси, буньявіруси, каліцивіруси, коронавіруси, ортоміксовіруси, параміксовіруси, пікорнавіруси, рабдовіруси, реовіруси, ретровіруси, тогавіруси, флавівіруси, філовіруси.

Розрізняють просто побудовані (наприклад, вірус поліомієліту) і складно побудовані (вірус грипу, кору) віруси. У просто побудованих вірусів нуклеїнова кислота зв'язана з білковою оболонкою – нуклеопротеїдом віріону.

Нуклепротеїд віріону покритий зверху білковою оболонкою – *капсидом* (від латинського *capsa* – сумка), який охороняє його від несприятливих факторів і забезпечує вірусу адсорбцію – прикріплення до клітини, визначають антигенні та імуногенні властивості віріонів. Капсид складається з окремих білкових субодиниць – *капсомерів*. Спосіб укладки капсомерів в капсиді не однаковий у різних вірусів, так як і різне їх число. Капсомери можуть бути упаковані по спіралі (вірус грипу) – *спіральний тип симетрії*, *кубічний* – в аденовірусів і кишкових вірусів, *сферичний* – у вірусу поліомієліту і *комбінований* – у бактеріофагів. Бактеріофаги (від латинського *"phagos"* – поглинаю) викликають лізис (руйнування) клітин мікроорганізмів, вони відрізняються структурою віріону і не викликають захворювань в людини і тварин.

Нуклеїнова кислота і капсид взаємодіючи один з одним, утворюють *нуклеокапсид*. В складно побудованих вірусів капсид оточений додатковою ліпопротеїдною оболонкою – *суперкапсидом або пеплосом* (похідне мембранних структур клітин-господаря), має "шипи" або "шипики" (пепломери або суперкапсидні білки). Внутрішні структури вірусів називаються *серцевиною*. В адновірусів серцевина складається з гістоноподібних білків, зв'язаних з ДНК, у реовірусів – з білків внутрішнього капсиду.

У вірусології використовують наступні таксономічні категорії: родина (назва закінчується на *viridae*), підродина (назва закінчується на *virinae*), рід (назва закінчується на *virus*). Однак назва родів і підродів дана не для всіх вірусів. Вид віруса не отримав біноміальної назви, як в бактерій.

В основу класифікації вірусів покладені наступні категорії: тип нулеїнової кислоти (ДНК або РНК), її структура, кількість спіралей (одна або дві), особливості відтворення вірусного геному, розмір і морфологія віріонів, кількість капсомерів і тип симетрії; наявність суперкапсиду, чутливість до ефіру і дезоксихолату; місце розташування в клітині, антигенні властивості та ін.

В лабораторних умовах віруси культивуються в курячих ембріонах, організмі тварин і культурі тканин.

Розмноження вірусів здійснюється шляхом окремого синтезу оболонки і нуклеїнової кислоти в клітині господаря з наступним з'єднанням віріонів. Цей процес називається *репродукцією*.

Більш *складна структура* у вірусів *великих і середніх розмірів*. Вірус грипу, віспи, герпеса, крім білкової оболонки, яка оточує нуклеопротеїд, мають і зовнішню оболонку, яка містить білки, полісахариди, ліпіди, а у вірусу грипу і інших міксовірусів і ферменти. Віруси в формі паличок або кульок можуть утворювати впорядковані структури у вигляді багатогранних кристалів, які складаються з сотень мільярдів вірусних частин, тісно притиснені один до одного.

Віруси віспи, сказу, трахоми уражують різні клітини організму, утворюють в них внутрішньоклітинні включення. Це великі і щільні гранули, які при забарвленні видно в звичайному світловому мікроскопі, оскільки величина їх вимірюється в мікрометрах. Внутрішньоклітинні включення вірусу розташовуються в ядрі клітини або її цитоплазмі. Деякі включення настільки характерні, що виявлення їх використовується для постановки діагнозу, наприклад – ***елементарні тільця Негрі при сказі, тільця Гварніері при віспі***. Походження внутрішньоклітинних включень поки що не з'ясовано. В одних випадках вони є внутрішньоклітинними колоніями вірусу, а в інших – продуктами реакції клітин господаря.

За останні десятиріччя відкрито декілька сотень нових вірусів, багато з яких викликають в людини важкі захворювання: енцефаліти, поліомієліти, аденовірусні захворювання та інші. Виявлено також віруси, які викликають злоякісні пухлини тварин, а можливо, і людини. Знайдено віруси і в бактерій – *бактеріофаги*, в актиноміцетів – *актинофаги*.

Віруси приймають участь в процесах канцерогенезу, можуть передаватися різним шляхом, в тому числі через плаценту (вірус краснухи, цитомегаловіруси і ін.), уражуючи плід людини, можуть давати післяінфекційні ускладнення – розвиток міокарду, панкреатиту, імунодефіцитів та ін.

Крім звичайних вірусів, відомі так звані неканонічні віруси **пріони** – білкові інфекційні частинки, які мають вигляд фібрил розміром 10-20 х 100-200 нм. Напевно пріони одночасно є індукторами і продуктами автономного гену людини або тварини і викликають в них енцефалопатії в умовах повільної вірусної інфекції (хвороба Крейтцфельда-Якоба, куру тощо).

Іншими незвичайними агентами, близькими до вірусів є віроїди – невеликі молекули кільцевої, суперспіралізованої РНК, які не мають білка і викликають захворювання рослин.

Мікроскопічний метод використовується для вивчення забарвлених мазків і мазків з нативного матеріалу в мікроскопі і дозволяє характеризувати морфологію (форму) збудника, його відношення до різних барвників (тінкторіальні властивості), рухливість. За допомогою цього методу можна підтвердити клінічний діагноз гонореї, дифтерії, поворотного тифу, сифілісу і деяких інших захворювань.

При звичайній мікроскопії застосовують фарбовані мазки-препарати, оскільки мікроби малоконтрастні, імерсійну систему що складається з досліджуваного об'єкту, імерсійної олії і об'єктива. Кедрова, вазелінова або імерсійна олія яка знаходиться між об'єктивом і фронтальною лінзою об'єктива

має такий самий кут заломлення як скла і промені світла від дзеркала не заломлюються і попадають в об'єктив.

Тинкторіальні властивості бактерій вивчають за допомогою простих або складних методів фарбування мазків-препаратів. При простому методі фарбування використовується лише один барвник – наприклад: метиленова синька Лефлера (синя фарба) або фуксин Ціля (фарба червоного кольору). При складному методі фарбування використовується декілька фарб – наприклад: метод Грама (вивчається хімічний склад мікробної клітини) за яким всі мікроби поділяються на грамдодатні і грамвід'ємні. Для виявлення спор застосовується метод Ожешко, капсул – Бурі-Гінса, кислотостійких бактерій – метод Ціля-Нільсена, для виявлення зерен волютину – метод Нейсера.

Питання для самоконтролю

1. Основною таксономічною одиницею є вид. Всередині виду існують варіанти. Якщо мікроорганізми відрізняються між собою за ферментативною активністю це … .
A. Морфоваріанти
B. Біоваріанти
C. Хемоваріанти
D. Сероваріанти
E. Фаговаріанти

2. На які основні відділи класифікують царство прокаріот за класифікацією Берджі ?
A. Вид, рід, родина, порядок, клас, відділ, царство
B. Еукаріоти, прокаріоти, віруси
C. Грацілікути, фірмікути, тенерікути, мендозікути
D. Коки, палички, кручені, ниткоподібні
E. Бактерії, бацили, клостридії

3. Клітини поділилися в одній площині, не розійшлися, утворили ланцюжок, зв'язані між собою клітинними мембранами називаються … .
A. Мікрококами
B. Стрептококами
C. Стафілококами
D. Тетракоками
E. Сарцинами

4. Вибрати, з яких компонентів складається бактеріальна клітина?
A. Апарату Гольджі, мезосом, ЦПМ, рибосом, ядра
B. Клітинної стінки, ЦПМ, цитоплазми, рибосом, мезосом, включень, нуклеоїду, спор, капсул, джгутиків

C. Головки, шийки, відростка, базальної пластинки, ниток, зубців
D. Хвостика, головки, джгутика
E. Клітинної стінки, ЦПМ, цитоплазми

5. Чому грам+ бактерії зафарбовуються у фіолетовий колір?

A. Містять велику кількість ліпідів, воску
B. Містять велику кількість воску, жирних кислот

C. Містять магнієву сіль РНК, яка утворює комплексну сполуку з йодом та основною фарбою
D. Містять РНК, ДНК
E. Містять включення, які сприймають основну фарбу

6. З яких шарів складається оболонка бактеріальної клітини ?

A. Слизового шару, клітинної стінки, цитоплазматичної мембрани
B. Цитоплазматичної мембрани
C. Капсульного шару
D. Клітинної стінки
E. Мікрокапсули

7. Що таке спора ?

A. Зовнішній слизовий шар бактеріальної клітини

B. Захисна форма бактерій, що утворюється у навколишньому середовищі
C. Захисна форма бактерій, що утворюється в організмі людини та тварини
D. Захисна форма бактерій, що утворюється під впливом факторів внутрішнього середовища
E. Оболонка, яка складається з мінімальної кількості води

8. В який колір зафарбовуються грамнегативні бактерії ?

A. Чорний
B. Синій
C. Фіолетовий
D. Червоний
E. Жовтий

9. Тонкі, кручені, рухливі одноклітинні організми, з 10-15 вигинами, діаметром 0,25-6 мкм та довжиною від 7 до 15 мкм називаються …
A. Рикетсіями
B. Спірохетами
C. Грибами
D. Вірусами

E. Хламідіями

10. Які з перелічених методів належать до експрес-методів лабораторної діагностики ?
A. Реакція аглютинації
B. РІФ, радіоімунний аналіз, ІФА
C. РЗК
D. Опсоно-фагоцитарна реакція
E. Преципітації

ХІМІЧНИЙ СКЛАД МІКРООРГАНІЗМІВ

Важливими елементами бактеріальної клітини є **органогени** (вуглець, водень, кисень, азот), які використовуються для побудови складних сполук: білків, вуглеводів, ліпідів. Мікроорганізми містять також **зольні чи мінеральні елементи:** одні з них хімічно зв'язані з органічними речовинами, решту у вигляді солей присутні в клітині.

В кількісному відношенні: вода 75-85%, сухий залишок 15-25% (органічні сполуки – білки, нуклеїнові кислоти, вуглеводи, ліпіди і мінеральні сполуки).
З водою поступають в клітину всі речовини, а також і виводяться. Вода в клітинах знаходиться, як у вільному, так і в зв'язаному стані з біополімерами, а частина у вигляді іонної фракції, входить до складу клітинних структур.
Зв'язана вода – структурний елемент цитоплазми, тому не може бути розчинником. *Вільна вода* – це дисперсне середовище для колоїдів і розчинник для кристалічних речовин, джерело водневих і гідроксильних іонів та учасник хімічних реакцій.

Сухий залишок. **Білки** - 50-80% сухої маси визначають важливі біологічні властивості мікроорганізмів; розприділені в *цитоплазмі, нуклеоїді, входять до складу клітинної стінки:*
протеїни - прості білки, *протеїди* – складні білки, *нуклеопротеїди* – сполуки білка з нуклеїновими кислотами (ДНК і РНК); *ліпопротеїди* утворюють мембрану, яка регулює надходження речовин усередину бактеріальної клітини, *глікопротеїди, хромопротеїди*.

До білків належать ферменти, токсини. Простетичні групи які неміцно зв'язані з білком і можуть вільно існувати як небілкові каталізатори біохімічних перетворень дістали назву коферментів (коензимів). Білки клітини обумовлюють антигенність та імуногенність, вірулентність. Вид мікроорганізмів залежить від кількісного і якісного складу білкових речовин.

Нуклеїнові кислоти. ДНК знаходиться в ядрі (нуклеоїді) і визначає генетичні властивості мікроорганізмів; РНК (рибосомальна входить до складу

рибосом, транспортна – переносить амінокислоти до рибосом, інформаційна, або матрична – забезпечує послідовність включення амінокислот у молекулу поліпептидного ланцюга) приймає участь в біосинтезі клітинних білків, міститься в нуклеоїді і цитоплазмі. Кількість нуклеїнових кислот від 10 до 30% сухого залишку мікробної клітини і залежить від її виду і віку.

Бактерії можна характеризувати за вмістом суми гуаніна і цитозина (ГЦ) в молярних процентах (М%) від загальної кількості основ ДНК.

Більш точною характеристикою мікроорганізмів є *гібридизація їх ДНК*. Основа методу гібридизації ДНК – властивість денатурованої (односпіральної) ДНК ренатуроватися, тобото сполучатися з комплементарною ниткою ДНК і утворювати дволанцюгову молекулу ДНК.

Вуглеводи (12-18% сухої речовини) використовуються як джерело енергії і вуглецю. З них складаються структурні компоненти клітини (клітинна оболонка, капсула і інші). Входять також до складу тейхоєвої кислоти, яка є характерною для грампозитивних бактерій.

Клітини мікроорганізмів містять прості (*моно- і дисахариди*) і високомолекулярні вуглеводи (*полісахариди* капсули). Від полісахаридних фракцій залежить антигенна специфічність мікроорганізмів, яка має велике значення в лабораторній діагностиці, виготовленні вакцин, лікувальних та діагностичних сироваток.

До них належать: *багатоатомні спирти оліго- і поліозиди; нейтральні оліго- і поліозиди, до яких входять N-ацетиламіногрупи; кислі поліозиди; оліго- і поліозиди,* що містять сіалову кислоту.

В клітині можуть бути включення, які за хімічним складом нагадують *глікоген і крохмаль*, відіграють роль запасних поживних речовин.

Вуглеводневий склад різний у різних видів мікроорганізмів і залежить від віку і умов розвитку.

Ліпіди (0,2-40% сухого залишку) є необхідними компонентами цитоплазматичної мембрани і клітинної стінки, беруть участь в енергетичному обміні. В деяких мікробних клітинах ліпіди виконують роль запасних речовин. Ліпіди бактерій складаються з *нейтральних жирів, вільних жирних кислот, восків і фосфоліпідів*. Загальна кількість їх залежить від віку і виду мікроорганізму. Наприклад, у мікобактерій туберкульозу їх до 40 %, що обумовлює стійкість цих бактерій. Ліпіди можуть бути зв'язані з вуглеводами і білками, утворюючи складний комплекс, який визначає токсичні властивості мікроорганізмів.

Мінеральні речовини - фосфор, натрій, калій, магній, сірка, залізо, кальцій, хлор і інші – складають 2-14% сухого залишку.

Фосфор входить до складу нуклеїнових кислот, фосфоліпідів, ферментів, АТФ (акумулятор енергії в клітині).
Натрій бере участь в підтриманні осмотичного тиску в клітині.
Калій має каталітичну дію, активує ферментні системи бактерій.
Кальцій приймає участь у нітрифікації, фіксації азоту грунтовим мікроорганізмом (азотобактером), утворенні желатинази.
Залізо міститься в дихальних ферментах і виконує функцію каталізатора окислювальних процесів; воно необхідний елемент хімічного складу мікобактерій туберкульозу, коринебактерій дифтерії, кишкової палички та ін.
Магній входить до складу рибонуклеату магнію, який локалізований на поверхні грампозитивних бактерій.

ФІЗІОЛОГІЯ МІКРООРГАНІЗМІВ

Фізіологія вивчає життєві функції мікроорганізмів: живлення, дихання, ріст і розмноження. В основі фізіологічних функцій лежить безперервний обмін речовин – метаболізм. Суть обміну – це два процеси: асиміляції (анаболізму) і дисиміляції (катаболізму). В процесі асиміляції проходить засвоєння поживних речовин і використання їх для синтезу клітинних структур. А при процесах дисиміляції поживні речовини розкладаються і окислюються, при цьому виділяється енергія необхідна для життя мікробної клітини. Складні органічні сполуки розпадаються на більш прості, низькомолекулярні. Частина з них транспортується з клітини, а частина використовується для біосинтетичних реакцій і включається в процеси асиміляції. Всі процеси синтезу і розпаду поживних речовин здійснюються за участю ферментів.

Особливістю мікроорганізмів є інтенсивний обмін речовин. За добу при сприйнятливих умовах одна мікробна клітина може окислити чи розщепити таку кількість поживних речовин, що в 30-40 разів більше її маси.

Живлення бактерій

Всім мікроорганізмам для здійснення процесів живлення, дихання, розмноження необхідні поживні речовини. Завдяки живленню проходить відновлення цитоплазми і нуклеоїда, ріст і розмноження, нагромаджується енергія необхідна для складних біосинтетичних процесів.
Джерелом живлення і енергії мікроорганізми використовують різні органічні і неорганічні сполуки, мікроелементи і фактори росту.
Живлення проходить через всю поверхню клітини, клітина здатна швидко включатися в метаболічні реакції, мікроорганізми можуть швидко адаптуватися до умов існування. Різноманітність умов існування мікроорганізмів обумовлює різні типи живлення.

За засвоєнням вуглецю мікроорганізми поділяють на два типи: літотрофи (автотрофи) і органотрофи (гетеротрофи).

Мікроорганізми, які використовують як донор водню неорганічні сполуки, називають **літотрофи;**

мікроорганізми, які використовують як донор водню органічні сполуки – **органотрофи.**

Для асиміляції вуглекислоти літотрофи використовують сонячну енергію (фотосинтез) або хімічну енергію (хемосинтез), яку одержують при окисленні бактеріями різних мінеральних сполук. А тому їх і поділяють за джерелом енергії на **фототрофи і хемотрофи**. Як приклад – це сіркобактерії і нітрофікуючі бактерії.

За властивістю засвоювати азот мікроорганізми поділяються на дві групи:

амінолітотрофи – для синтезу білку клітини використовують молекулярний азот повітря (бульбочкові бактерії, азотобактер) або засвоюють його з амонійних солей;

амінооргонотрофи – отримують азот з органічних сполук: амінокислот, складних білків. До них відносяться всі патогенні мікроорганізми і більшість сапрофітів.

Серед органотрофів розрізняють: сапрофіти і паразити.

Сапрофіти (від грецького "*sapros*" – гнилий, "*phyton*" – рослина) використовують для своєї життєдіяльності мертві органічні речовини – вони розкладають органічні залишки в грунті і стічних водах (бактерії гниття).

Паразити (від грецького "*parasitos*" – паразит) живуть і розмножуються за рахунок органічних речовин живої клітини рослин, тварин або людини. Їх ще називають *патогеннми,* тобто ті, які викликають захворювання. До них відносяться: рикетсії, віруси, деякі простіші.

Деякі можуть вести себе, або як паразити, або як сапрофіти – вони називаються ***факультативними (необов'язковими) паразитами***, або ***умовно-патогенними*** мікроорганізмами. Багато паразитів втратили властивість до сапрофітного способу життя – це **облігатні** (від латинського "*obligatus*") або **обов'язкові паразити**: віруси, рикетсії, простіші.

Мікроорганізми, які не синтезують будь-яких речовин для свого росту і розмноження, і повинні отримувати їх в готовому вигляді – ці речовини отримали назву **факторів росту.**

Вони відносяться до різних класів хімічних сполук і неоднакові за своїм функціональним значенням. Факторами росту є *амінокислоти, пурини, пірімідини і їх похідні, ліпіди, вітаміни, залізопорфіріни* і інші. Для позначення відношення мікроорганізмів до факторів росту використовують терміни "ауксотрофи" і "прототрофи". **Ауксотрофи** потребують одного або декілька

факторів росту, **прототрофи** можуть самі синтезувати необхідні для росту сполуки. Вони здатні синтезувати компоненти з глюкози і солей амонію.

Механізм транспорту поживних речовин в мікробну клітину:

1. Пасивна (або проста) дифузія
2. Полегшена дифузія
3. Активний транспорт поживних речовин
4. Транслокації (перенос) хімічних груп

Вихід речовин з мікробної клітини здійснюється у вигляді пасивної дифузії або полегшеної дифузії з участю пермеаз.

Дихання бактерій

Сукупність біохімічних процесів, в результаті яких звільняється енергія (АТФ), необхідна для життєдіяльності мікробних клітин називається **диханням або біологічним окисленням**.

Для дихання, також як і для всіх фізіологічних процесів, енергія отримується за рахунок окислення речовин. *Окиснена* речовина віддає водень або електрони, а *відновлена* – забирає їх.

Типи дихання мікроорганізмів

- облігатні (строгі) аероби – живуть з доступом кисню;
- облігатні анаероби – без доступу кисню;
- факультативні (необов'язкові) анаероби.

Ферменти мікроорганізмів

6 класів ферментів:

- Оксиредуктази
- Трансферази
- Гідролази
- Ліази
- Ізомерази
- Лігази

Залежно від особливостей генетичного контролю ферменти мікроорганізмів класифікують:

- Екзоферменти – виділяються назовні клітини;
- Ендоферменти – функціонують у клітині.

РІСТ І РОЗМНОЖЕННЯ МІКРООРГАНІЗМІВ

В результаті процесу живлення проходить **ріст** бактеріальної клітини, тобто збільшення розмірів, маси, утворення всіх клітинних компонентів і структур.

Під **розмноженням** розуміють збільшення кількості особин в популяції. Основний метод розмноження – **поперечний поділ**.

Бактеріальні клітини, які досягли визначеного віку, проходить подвоєння молекул ДНК. Кожна дочірна клітина отримує копію материнської ДНК.

Розмноження бактерій в рідкому поживному середовищі проходить в декілька послідовних фаз:

Фаза 1 – вихідна стаціонарна (латентна);

Фаза 2 – логарифмічного росту;

Фаза 3 – стаціонарна (період зрілості);

Фаза 4 – відмирання.

Культивування – це вирощування мікроорганізмів тваринних і рослинних клітин, тканин і органів у штучних умовах – термостатах.

Умови культивування бактерій: доступ кисню, необхідного для культивування *аеробів* і *факультативних анаеробів*, здійснюється при пасивній і активній аерації, відповідна температура, відповідне поживне середовище тошо.

Пасивна аерація – це культивування на щільних і рідких середовищах в посуді, закритому ватними або ватно-марлевими корками або в чашках Петрі. При такому культивуванні кисень вільно поступає через корок з середовища, з пробірки. Їх вирощують на поверхні середовища або в тонкому шарі середовища.

Активна аерація застосовується при глибинному культивуванні мікробів, коли їх вирощують у великих об'ємах. Їх поміщають в качалки, котрі перемішують культури, що забезпечує сполучення її з повітрям (безперервна аерація). Якщо ж культури знаходяться в реакторах або в ферментерах, тоді повітря продувають через них. Метод глибинного культивування знайшов широке використання в біотехнології.

СУЧАСНІ МЕТОДИ БІОХІМІЧНОЇ ІДЕТИФІКАЦІЇ БАКТЕРЙ

Смужки API для точної ідентифікації мікроорганізмів (мікрометод біохімічних реакцій), є світовим референсним методом контролю якості мікробіологічних досліджень. Дозволяють визначати після 4-24 год інкубування всі види

бактерій, дріжджі і плісені. Метод є зручним, простим в роботі і при обробці результатів.

Смужки Rapid ID 32 для ідентифікації ентеробактерій, анаеробів, стрептококів через 4 год культивування.

Смужки ID 32 для ідентифікації ентеробактерій, Грам (-) бацил, стафілококів і дріжджів після 24-год інкубування.

Комп'ютерна програма.

APILAB Plus для автоматичної інтерпретації отриманих результатів.

Mini API – мікробіологічний аналізатор для ідентифікації мікроорганізмів. Простий прилад з стандартизованими готовими реактивами, які розподілені по смужках, спрощують правильне проведення і отримання якісного аналізу.

Програмна версія спеціально адаптована до спектру досліджень в харчовій, фармацевтичній і косметичній мікробіології.

Сучасні тест-системи - планшети для визначення біохімічних властивостей виділеної чистої культури бактерій (на ентеробактерії, анаероби, нейсерії тощо).

Системи індикаторні паперові (СІП) – це диски або смужки хроматографічного паперу, що містять певну кількість субстрату разом з індикатором, мають покриття плівкою, а також диски з фотоплівки з желатиною. Біологічні властивості СІП – використання замість рідких диференціально-діагностичних середовищ при вивченні біохімічних властивостей мікроорганізмів.

Середовища для бакдосліджень: транспортні, поживні, селективні, хромогенні. Хромогенні середовища bioMerieus для культивування і негайної ідентифікації основних патогенних мікроорганізмів, які дозволяють відразу за забарвленням колоній диференціювати декілька видів: CPS ID2 і Multimedia – для визначення основних патогенів (E.coli, Proteus, Enterococcus, Грам(+) мікробів) в пробах сечі та інші.

ІННОВАЦІЇ В МІКРОБІОЛОГІЇ

Нові серії газоаналізаторів.

Самі сучасні технології для біохімічних, імунологічних, гематологічних досліджень, експрес-тести.

Система молекулярного аналізу (одна тестова платформа для визначення сальмонел, ешерихій, лістерій, кронобактерій, кампілобактерій). Передова молекулярна технологія працює на основі інноваційної комбінації унікальних технологій, що забезпечує точність результату на молекулярному рівні – ізотермальна ампліфікація ДНК+детекція біолюмінісценсії.

Люмінометр – експрес контроль гігієни виробництва. Здійснює оперативний контроль миття обладнання як гарантія чистоти виробництва. Оскільки чисте обладнання передбачає відсутність органічного забруднення (залишків продуктів), мікробіологічної контамінації (в тому числі біоплівок).

Стандартний мікробіологічний контроль виробничої зони. Регулярний мікробіологічний моніторинг чистоти поверхонь на санітарно-показові мікроорганізми, рук персоналу, транспортних засобів.

Технологія АТФ-біолюмінісценсії Clean-Trace. АТФ-т тест – єдиний метод, що дозволяє негайно оцінити якість миття.

Моніторинг навколишнього середовища. Сучасні методи відбору проб. Губки для відбору проб зразків: 3М Sponges. Це губки для змивів на підприємствах харчової промисловості: сухі, зволожені, з пластиковим тримачем. Це комплект у вигляді пакету для відбору, губки і рукавичок. Складається губка з целюлози. Немає у складі губки біоцидних речовин.

Телескопічна штанга – відбір зразків у важкодоступних місцях. Представляє собою трубку, виготовлену із легкого і міцного алюмінію, яка дозволяє проводити відбір зраків на відстані 2,45 м.

Тампони для відбору зразків двох видів. Кюск свейбс – тампон являє собою пластиковий контейнер, який містить летиновий бульйон для нейтралізації миючих засобів. Буває сухий і зволожений. 1см3 зразка переносять на Petrifilm тест-пластину. Свейб семплейс – тампон являє собою полістеролову пробірку з розчином і кришкою до якої прикріплений бавовняний тампон.

Набори для відбору зразків і поживні середовища.
Готові розчини для приготування розведень зразків харчових продуктів. Флакони представляють собою пластиковий контейнер з кришкою Flip-Top з різними розчинами.

3М пакети для відбору зразків призначені для: відбору, транспортування, безпечного зберігання зразків. Стерильні, хімічно і механічно стійкі, міцні, водо і паронепроникні.

Петріфільми – це одноразові тести. Тест-пластини для аналізу продукції, санітарно-гігієнічного стану виробництва.

Дістати тест-пластину з пакета, покласти на рівну поверхню. Помістити в термостат. Сітка на нижній частині тест-пластини полегшує підрахунок колонієутворюючих одиниць (КУО). Проводиться якісний і кількісний підрахунок колоній. Автоматичний лічильник колоній підвищує точність і швидкість обліку результатів.

Асортимент тест-пластин Петріфільм великий: на ентеробактерії, коліформні бактерії, дріжджі та інші.

Сучасні автоклави. Оскільки, стерилізація в лабораторних умовах має свої унікальні вимоги, вибір автоклава відбувається за певними параметрами. Сучасні автоклави призначені для широкого спектру використання. Користувач може вибрати різноманітні додаткові функції, необхідні, наприклад, для швидкого охолодження, ефективної сушки, стерилізації відходів, у відповідності з прямим призначенням стерилізації.

УТВОРЕННЯ МІКРООРГАНІЗМАМИ ПІГМЕНТІВ, ФОТОГЕННИХ І АРОМАТИЧНИХ РЕЧОВИН

Деякі мікроорганізми (бактерії, гриби) в процесі обміну речовин утворюють забарвлені речовини – пігменти. За хімічним складом і властивостями пігменти неоднорідні. Вони підрозділяються на розчинні в воді (синій пігмент – піоціанін, який виділяє синьогнійна паличка); розчинні в спирті і не розчинні в воді (червоний пігмент – продігіозан, що виділяє чудесна паличка); не розчинні ні в воді, ні в спирті (чорні і бурі пігменти дріжджів і плісені). Нерозчинні в воді пігменти (ліпохроми) забарвлюють колонії бактерій (наприклад: жовтий, золотистий, білий пігменти стафілококів), а розчинні – забарвлюють поживне середовище (синьогнійна паличка). Утворення пігментів проходить на світлі, при достатній кількості кисню і певному складі поживного середовища.

Найбільш розповсюджені пігменти – каротини, ксантофіли і меланіни. Меланіни нерозчинні пігменти чорного, коричневого або червоного кольору, які синтезуються з фенольних сполук. Меланіни поряд з каталазою, супероксиддисмутазою і пероксидазами захищають мікроорганізми від дії токсичних перекисних радикалів кисню.

Пігменти захищають мікробну клітину від природньої ультрафіолетової радіації, приймають участь в процесах дихання, деякі мають антибіотичну дію (продігіозан).

Пігментоутворення є стійкою ознакою мікроорганізмів, що дозволяє використовувати його як тест для ідентифікації деяких бактерій (стафілококів, синьогнійної палички).

Серед мікроорганізмів (бактерій, грибів) зустрічаються такі, які мають властивість світитися (люмінесціювати). Світіння в бактерій виникає в результаті інтенсивних процесів окислення, супроводжується виділенням енергії. Світіння морської води, луски риби, тіл ракоподібних, згнилого дерева пояснюється присутністю на них бактерій, що світяться – **фотобактерій.**

Всі бактерії, що світяться, відносяться до аеробів. Більшість з них живе в морській воді, оскільки вони краще розмножуються при підвищеній концентрації солі (галофільні мікроби). Можуть світитися павуки, мурашки, терміти, які живуть в симбіозі з фотобактеріями. Бактерії випромінюють зелений або голубий колір, добре видимі в темноті. Вночі світяться і гриби (весняні опеньки).

Бактерії, що світяться, не викликають процесів гниття, оптимальна температура для них 15-18^{o} С. Добре ростуть на рибних і м’ясних субстратах, що і обумовлює світіння м’яса, риби.

На початку XX століття пробували використовувати бактерії для “безпечних ламп” в порохових пивницях.

Виявлені мікроорганізми, які здатні виробляти ароматичні речовини, наприклад, оцтово-етиловий, оцтово-аміловий ефіри. Запах деяких мікробів визначають ароматичні властивості вин, молока, масла, вершків, сирів і т.д.

Ароматоутворюючі бактерії широко викокристовують для виготовлення різних харчових продуктів.

Деякі мікроорганізми в процесі життєдіяльності утворюють речовини з неприємним запахом (індол, скатол, сірководень), що зв'язано з розкладом органічних речовин.

Питання для самоконтролю

1. Які мікроорганізми називаються облігатними анаеробами?

A. Які розмножуються в строго кисневих умовах
B. Які розмножуються в мікроаерофільних умовах
C. Які розмножуються в безкисневих умовах
D. Які розмножуються в кисневих умовах
E. Які розмножуються в строго безкисневих умовах

2. Бактерії, які для свого росту і розвитку вимагають готових органічних сполук, можуть засвоювати вуглець з вуглеводів, багатоатомних спиртів, амінокислот та інших органічних речовин називаються …
A. Органотрофами (гетеротрофами)
B. Літотрофами (автотрофами)
C. Сапрофітами
D. Паразитами
E. Факторами росту

3. Транспорт поживних речовин, коли концентрація речовин в середовищі значно перевищує концентрацію речовин в клітині, в результаті чого вирівнюється концентрація речовин та осмотичний тиск по обидві сторони оболонки клітини називається ….
A. Полегшеною дифузією
B. Активним транспортом
C. Пасивною дифузією
D. Транслокацією хімічних груп
E. Виходом речовин з мікробної клітини

4. На практичному занятті з мікробіології студентам запропоновано пофарбувати суміш бактерій за методикою Грама та пояснити механізм фарбування. Які морфологічні структури бактерій зумовлюють грамнегативне та грампозитивне забарвлення бактерій?
A. ЦПМ
B. Клітинна стінка
C. Капсула
D. Джгутики
E. Цитоплазма

5. Які сполуки входять до складу нуклеїнових кислот?
A. Азотисті основи
B. Амінокислоти
C. Полісахариди
D. Ліпіди
E. Глікоген

6. Які типи метаболізму у бактерій?
A. Анаболізм, катаболізм
B. Параболізм
C. Гетероболіз
D. Всі відповіді вірні

7. За характером засвоєння вуглецю є такі групи бактерій:
A. Автотрофи і гетеротрофи
B. Фототрофи і хемотрофи
C. Літотрофи і органотрофи
D. Всі відповіді невірні

8. За джерелом енергії та донорів електронів бактерії поділяються на:
A. Фототрофи й хемотрофи
B. Автотрофи й гетеротрофи
C. Прототрофи
D. Всі відповіді невірні

9. Конститутивні ферменти бактерії виділяють:
A. Коли є відповідний субстрат
B. Постійно незалежно від субстрату
C. При відмиранні культури
D. При активному рості

10. Адаптивні ферменти бактерії утворюють:
A. Постійно
B. Коли є відповідний субстрат
C. У фазі активного росту
D. У фазі спокою

11. При досліженні мікробного числа повітря аптеки виділена чиста культура мікроорганізмів, що росте і розвивається при наявності в атмосфері не менш як 20 % кисню. До якої групи мікроорганізмів за типом дихання належить виділена культура?
A. Облігатні аероби
B. Облігатні анаероби
C. Факультативні анаероби

D. Мікроаерофіли
E. Капнеїчні

ЕКОЛОГІЯ МІКРОБІВ

Мікроекологія - це екологічна мікробіологія або екологія мікробів. Термін ввів в 1945 році С.Н.Виноградський. Він відкрив грунтові бактерії, а Мечніков – гнилісні бактерії кишківника (значення простокваші з лактобактеріями).
В.І.Виноградський створив вчення про біосферу.

Екологічна мікробіологія вивчає взаємовідношення організмів з середовищем, в якому вони існують, відношення всередині мікробних угрупувань, а також взаємовідношення мікроорганізмів і макроорганізмів, які разом співіснують.

Популяція - це сукупність особин одного виду мікробів, які займають відносно однорідне середовище, в якому перебувають.
Властивість – здатність до саморегулювання для підтримання чисельності (наприклад, чиста культура бактерій в середовищі).

Біотоп - середовище існування мікробів, яке складається з живих (біотичних) або абіотичних природних компонентів. Мікроби знаходяться в безпосередніх або опосередкованих взаємовідношеннях з середовищем існування.

Екологічні фактори – це умови середовища або елементи середовища, на які мікроорганізми реагують певними реакціями (підвищення температури перевищує максимальні можливості мікроорганізмів).

Біоценоз - сокупність популяцій різних видів, зв'язаних єдиним середовищем існування (біотопом).
Мікробоценоз – (синонім мікробіоценоз) – сукупність різних видів мікробів, які знаходяться в одному біотопі (ротова порожинина).

Екосистема - (біогеоценоз) найбільш високий екологічний ранг, який складається з біоценоза і біотопа (наприклад, мікрофлора товстого кишківника і певні ділянки травного каналу).
Люба екосистема – це маленька частинка земної біосфери, яка є сумою всіх екосистем планети, живою оболонкою Землі. Всі живі істоти у природі зв'язані з іншими організмами в межах своєї екосистеми.
Міжвидові взаємовідношення класифікують на три основні типи: симбіоз, нейтралізм і конкуренція.

Симбіоз - форма існування різних видів, коли партнери приймають участь у врегулюванні своїх відношень з навколишнім середовищем (грецьке слово *symbiosis* – сумісне життя).

Нейтралізм - форма міжвидових відношень, при якій особини одного біотопу і єдиного ценозу ніяк не впливають один на одного (мікроорганізми кишківника, від латинського "*neutralis*" – не належати ні тому, ні іншому).

Конкуренція – (від латинського *concurrere* – зіштовхуватись) мікроорганізми одного або різних видів змагаються за одні і ті ж ресурси середовища при недостачі останніх.

Мікроби-антагоністи виділяють в середовище метаболіти, які токсичні для конкурента (наприклад антибіотики, бактеріоцини, органічні і жирні кислоти).

ПОШИРЕННЯ МІКРОБІВ У ПРИРОДІ

Мікроорганізми широко розповсюджені в природі. Вони зустрічаються у великих кількостях у воді, повітрі, грунті, на вершинах гір, в пісках пустинь, льодяних брилах Антарктиди, в організмі людини і тварин, на поверхні тіла людини, на рослинах, різноманітних предметах, в харчових продуктах, в каналізації. Мікроорганізми можуть бути виявлені там, де немає інших форм життя. Є радіорезистентні бактерії в системах ядерних реакторів, резистентні мікроби елюмінаторів в просторах космосу.

Мікрофлора грунту

В 1 г грунту може міститися від декількох тисяч до декількох десятків мільйонів мікробів. Склад грунту залежить від вологи, температури, поживних речовин, які містяться в грунті.

В плодючих грунтах багато органічних речовин, тому багато бактерій. На глибині 10-20 см їх дуже багато, потім кількість мікроорганізмів зменшується.

Зустрічаються багато видів бактерій: *гнилісні, нітрифікуючі, азотфікуючі*, які розкладають клітковину, *сіркобактерії*. Серед них можуть бути *аероби і анаероби, споро- і неспороутворюючі, гриби, простіші, водорості, віруси.*

Мікрофлора грунту поділяється на: постійну (аутохтонну) та випадкову (заносну, алохтонну) мікрофлору.

Процеси які проходять у грунті

В грунті проходить *розкладання і мінералізація* тваринних і рослинних залишків, які попадають в грунт, а також *самоочищення* їх від нечистот і відходів.

За допомогою них відбувається *біологічний кругообіг* багатьох мінеральних елементів (вуглеводню, азоту, фосфору), *біологічна фіксація атмосферного азоту.* Вони беруть участь в *змінах структури* і *хімічного складу* органічної фракції грунту.

Мікрофлора води

Видовий склад мікрофлори води має багато спільного з мікрофлорою грунту. Крім цього у воді є багато різних видів *вібріонів, спіріл, залізо і сіркобактерій, бактерій,* які світяться. Вони мають велике значення в кругообігу речовин в природі.

Багато *галобактерій, галококів* у водоймищах і ріках поблизу від населених пунктів, де у воді є господарські і фекальні відходи. Далі від населених пунктів вода чистіша.

Із морської води систематично висівають галофільні вібріони – *V.parahaemolyticus, V.angilolyticus*, які спричиняють у людей гострий гастроентерит в результаті вживання малосольної риби, креветок і мідій.

Процеси які проходять у воді.

А*моніфікації, нітрифікації, денітрифікації* і *бродіння*.

Мікроорганізми здійснюють важливі *етапи кругообігу сірки, заліза* і інших елементів.

Сапробність

Ступінь мікробного забруднення води прийнято оцінювати сапробністю – сукупністю живих істот, що живуть у воді, яка містить скупчення тваринних та рослинних залишків.

Кишкова паличка є показником фекального забруднення.

Для попередження передавання патогенних мікроорганізмів через воду застосовують методи санітарної охорони водоймищ і джерел водопостачання, а також очищення і знешкодження життєвих і господарських вод.

Мікрофлора повітря

В повітрі мікроорганізми швидко гинуть від несприятливих умов: висихання, дії сонячної радіації, зміни температури, відсутності поживних речовин і т.п. Є постійна мікрофлора, що довго зберігається – це спори грибів і бактерій, сарцини і інші пігментоутворюючі коки.

Найбільша кількість мікробів в промислових містах, найменша в лісах, горах. В закритих приміщеннях багато мікроорганізмів зимою, у відкритих приміщеннях мікроорганізмів зимою менше, літом навпаки.

Патогенні мікроорганізми можуть попадати від хворих або бактеріоносіїв, виділяючись через дихальні шляхи, з пилюкою з забруднених предметів: стафілококи, стрептококи, стрептококи пневмонії, менінгококи, збудники дифтерії, коклюшу, туберкульозу, різні віруси.

Фази бактеріального аерозолю:

1. *Крапельний аерозоль* – це дрібні частинки, які є в повітрі і містять велику кількість мікроорганізмів. При величині крапель до 10 мкм вони довго знаходяться в повітрі.
2. *Крапельно-ядерний* – складається з підсохлих частин слини і сечі або частин пилу, які є в повітрі.
3. *Пильовий аерозоль* – також складається з підсохлих частин слини і сечі або частин пилу, які є в повітрі.

ОХОРОНА НАВКОЛИШНЬОГО СЕРЕДОВИЩА
МІКРОФЛОРА ТІЛА ЛЮДИНИ

Мікробіологічні аспекти збереження довкілля – це охорона аутохтонних мікроорганізмів навколишнього середовища, сприяння їх росту та розмноженню, зменшення впливу негативних антропогенних факторів, промислових і автомобільних викидів.

В харчових продуктах досліджують вміст кишкової палички, БГКП, ентерококи, золотистий стафілокок, протей.

На основі кількості санітарно-показникових мікробів вираховують колі-титр, перфрінгенс-титр, титр ентерокока та ін.

Проводиться санітарний нагляд за станом **об'єктів харчування, аптек, лікувальних і дитячих закладів** шляхом взяття змивів з рук персоналу, посуду, поверхонь столів і ін. Змив висівають на поживні середовища для визначення мікробної забрудненості, наявності БГКП, патогенних ентеробактерій, золотистого стафілокока, грибів роду *Candida* та ентеровірусів.

Мікрофлора тіла здорової людини

Мікрофлора представляє собою стабільне сімейство мікроорганізмів, тобто ***мікробіоценоз.***

Місце знаходження сімейства мікроорганізмів називається ***біотопом.*** В нормі зустрічаються різні нешкідливі і хвороботворні мікроорганізми. Кров і внутрішні органи є стерильні.

Мікрофлора виконує ряд важливих фізіологічних функцій: захисну, антитоксичну, бере участь в морфогенезі і реалізації функції імунної, серцево-судинної, кровотворної, ендокринної систем, метаболічну та ін.

Основні біотопи мікрофлори людини *є шкіра, слизові оболонки, порожнини носа, рота, носоглотки, дихальних шляхів, стравоходу, шлунку, тонкого і товстого кишківника, кон'юнктиви та сечостатевої системи.* Кількість мікроорганізмів у дорослої людини складає біля 10^{14} особин, де значно переважають облігатні анаероби.

Мікрофлора новонароджених і дітей раннього віку

В матці дитина стерильна. Формування кишкового мікробоценозу проходить при народженні (пологові шляхи матері, повітря, руки медичного персоналу), переважає в перші дні асоціація мікробів – факультативних анаеробів – мікрококів, ентерококів, клостридій, стафілококів; до 4-5 доби з'являються асоціації неспороутворюючих анаеробів – біфідобактерій, пропіонобактерій, пептококів, пептострептококів, бактероїдів і фузобактерій. Однак домінують аеробні бактерії – лактобацили, коки, дріжджові грибки.

Мікрофлора шкіри і волосся

Видовий спектр мікрофлори шкіри нараховує більше 300 різних видів анаеробних і аеробних бактерій, що відносяться до різноманітних таксономічних груп.

Мікрофлора слизової оболонки носа, носоглотки

містяться стафілококи, стрептококи, диплококи, бактероїди, корінеформні бактерії, гемофільні палички, пептококи, лактобактерії, непатогенні нейсерії і інші мікроорганізми. Можуть зберігатися, не спричиняючи патологічного процесу, аденовіруси. Описано більше 700 видів мікроорганізмів, що відносяться до різних таксономічних груп, і складають нормальну *аутохтонну облігатну та факультативну мікрофлору носа, носоглотки та ротової порожнини.*

Аутохтонні облігатні мікроорганізми представлені непатогенними видами стрептококів (***S.viridans, S.salivarium, S.mutans, S.mitis, S.pneumoniae*** та ін.), анаеробними коками (роди ***Veillonella, Peptococcus, Peptostreptococcus***), а також анаеробними паличками (бактеріями роду ***Lactobacillus, Bifidubacterium,***

Bacteroides, Fusobacterium, Leptotrichia). Часто зустрічаються ***L.casei, B.melaninogenicus, B.gingivalis, L.bucalis.***

Мікрофлора ротової порожнини

В 1 см3 слини міститься декілька мільйонів бактерій, серед яких зутрічаються і анаероби.

З грамдодатних бактерій в порожнині рота зустрічаються диплококи, стафілококи, стрептококи, мікрококи, ***Bact.maximum buccalis*** (великі товсті палички), ***Leptothrix buccalis*** (довгі, тонкі, нитковидні форми), ацидофільні палички і дифтероїди, актиноміцети, біфідобактерій, мікоплазми.

З грамвід'ємних знаходять вібріонів, маленьких грамвід'ємних паличок-бактероїдів, спірохет – ***Spirochaeta buccalis*** – велика груба спірохета з неправильними вигинами і ***Spirochaeta dentium*** – більш мала з завитками, які нагадують спірохету сифілісу.

Зустрічаються також еубактерії, фузобактерії, лактобактерії, гемофільні палички, лептотрихи, нейсерії, спірохети, вейлонели, гриби роду ***Candida,*** простіші та інші.

Мікрофлора дихальних шляхів

Слизова оболонка трахеї та бронхів зберігається стерильною завдяки очищенню повітря, що вдихається, при його проходженні через верхні дихальні шляхи, а окремі мікроорганізми виводяться війчастим епітелієм або знищуються фагоцитуючими клітинами та іншими речовинами, що секретують клітини слизової оболонки – муцин, секреторний імуноглобулін А, лізоцим, інтерферон та інші гуморальні фактори і механізми неспецифічної резистентності організму людини.

Мікрофлора кон'юнктиви ока

трапляються непатогенні коринебактерії (дифтероїди), стафілококи, стрептококи, стрептококи пневмонії. Регуляція видового та кількісного складу мікроорганізмів кон'юнктиви здійснюється слізною рідиною, багатою на лізоцим, інтерферон, лізини та секреторний імуноглобулін А, нормальні антитіла. Зниження неспецифічного та специфічного імунного протиінфекційного захисту організму викликає гнійно-запальні аутоімунні та алергійні захворювання ока.

Мікрофлора травного каналу

Зустрічаються кислотостійкі мікроорганізми: лактобацили, дріжджі, шлункові сарцини, грамвід'ємні бактерії.

При пониженій кислотності зустрічаються спороносні палички, дріжджі і інші мікроорганізми.

При гастритах, виразковій хворобі шлунка виявляються зігнуті форми бактерій – ***Helicobacter pilori***, які є етіологічним фактором патологічного процесу.

В шлунку, не дивлячись наобмежений характер, є *аутохтонна облігатна* (***S.ventriculi, B.subtilis, Lactobacillus***) та *факультативна*, а також *алохтонна мікрофлора*. Вся вона поділяється на *порожнинну і мукозну*, остання стає кількісною при виразковій хворобі та проліферативних процесах слизової оболонки.

Верхні відділи дванадцятипалого кишківника

лактобактерії, із значними адгезивними властивостями; *біфідобактерії, фекальні стрептококи, клостридіЇ, еубактерії, лактобацили, анаеробні коки, дріжджі, цвільові гриби* та інші. Їх кількість коливається в межах від 10^3 до 10^5 на 1 см3 вмісту дванадцятипалого кишківника.

Мікрофлора товстого кишківника

Міститься кишкова паличка – ***E.coli,*** зустрічаються *ентерококи, анаеробні бацили, протей* і інші. За добу доросла людина виділяє разом з випорожненням біля 20 трильйонів різних видів мікроорганізмів.

Мікрофлора у маленьких дітей

біфідобактерії – різновидності молочнокислих бактерій. При штучному кормленні знаходять молочнокислі бактерії - *лактобацили*.

Пізніше знаходять колонії *кишкової палички, фекальні стрептококи, непатогенні стафілококи, бактероїди, пропіонокислі бактерії, еубактерії, цитрабактерії, ентеробактерії, клебсієли, протей, інколи протеї, ентеровіруси.*

Дизбактеріоз. При гострих інфекційних захворюваннях, запаленні слизової оболонки кишківника основних представників витісняють *гнилисні мікроби, стафілококи, хвороботворні гриби роду Candida*. При захворюваннях травного каналу, антибіотикотерапії, лейкозах, онкологічних захворюваннях, радіоактивному опроміненні і променевій хворобі, екзогенній інтоксикації, імунодефіцитному стані, алергії та аутоімунних захворюваннях, голодуванні, різких змінах в дієті, екстремальні умови перебування та інше призводять до різних ступенів змін мікроекології товстого кишківника, аж до дизбактеріозу.

Дизбактеріоз – зміни видового та кількісного складу анаеробної і аеробної, порожнинної та мукозної нормальної мікрофлори в бік зниження аутохтонних облігатних представників нормофлори та збільшення кількості аутохтонних факультативних і алохтонних мікроорганізмів.

Мікрофлора сечостатевої системи

Порожнини сечостатевого піхура і матки стерильні. Сечовипускний канал у **жінок** стерильний або має малу кількість непатогенних стафілококів, грамнегативних бактерій. У дівчаток до 10 років і старше в секреті піхви мікроорганізмів не виділяють або зрідка виявляють непатогенні стафілококи, лактобактерії, бактероїди, пептострептококи, еубактерії та інші.

З початком статевої зрілості в піхві різко зростає кількість молочнокислих бактерій (***Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus casei, Lactobacillus fermentum*** та ін.). На зовнішніх статевих органах жінки необхідно відмітити кислотостійку паличку – ***Bact.smegmae***, а в піхві – грамдодатню паличку – ***Bact.Doderleini*** (ця паличка є постійним жителем здорової жінки). Це тонка ацидофільна паличка. Сприятливі умови для неї – кисле середовище.

Ступені чистоти вагіни

Розрізняють чотири ступені чистоти піхвового вмісту: I та II ступені чистоти бувають у здорових жінок і характеризуються кислою реакцією (pH 4,0-5,5), вмістом молочнокислих бактерій, невеликою кількістю лейкоцитів та

грампозитивних диплококів; III та IV ступені чистоти бувають у жінок з запальним процесом у піхві. При цьому збільшується кількість лейкоцитів і різноманітна мікрофлора, зменшується кількість молочнокислих бактерій, реакція вмісту піхви слабокисла або слаболужна.

Мікрофлора сечовидільних шляхів у чоловіків представлена стафілококами, дифтероїдами, бактероїдами, іншими грамнегативними бактеріями, мікобактеріями смегматіс, мікоплазмами та ін.

При інфекційних захворюваннях можуть бути виявлені – гонококи, дріжджеподібні гриби, спірохети, хламідії та інші мікроорганізми.

ВПЛИВ ФАКТОРІВ НАВКОЛИШНЬОГО СЕРЕДОВИЩА НА МІКРООРГАНІЗМИ

Фізичні фактори – це температура, світло, висушування, променева енергія, тиск, ультразвук, концентрація розчинів.

Хімічні фактори – це реакція середовища, дія різних хімічних речовин.

Біологічні фактори – це антагонізм мікробів, симбіоз, антибіотики і т.д.

Психрофіли (*psichros* – холод), які ростуть при низькій мінімальній температурі біля 0-10^{o} С, оптимальна 10-20^{o} С і максимальна 30^{o} С.

Відноситься група сапрофітів – жителі грунту, моря, прісних водоймищ і стічних вод (залізобактерії; псевдомонади; бактерії, які світяться; бацили).

Деякі з них викликають псуття продуктів на холоді.

Деякі патогенні батерії, як приклад – збудник псевдотуберкульозу розмножується при температурі 4^{o}С.

А *Serratia marcescens* при температурі 20-25^{o}С утворює багато червоного пігменту – продігіозан, ніж при 37^{o} С. Синтез полісахаридів активізується при більш низьких температурах.

Мезофіли - ростуть при температурі від 20 до 40^{o}С. Оптимум росту 37^{o}С. Більшість патогенних мікроорганізмів відносяться до мезофілів.

Термофіли - розвиваються при температурі від 50 до 75^{o}С. На дні океану в горячих сульфідних водах живуть бактерії, які розвиваються при температурі 250-300^{o}С і тиску 262 атм.

Термофіли живуть в гарячих джерелах, приймають участь в процесах самонагрівання гною, зерна, сіна. Оскільки гній найбільше багатий термофілами, їх розглядають як показник забруднення грунту.

Низькі температури добре переносять більшість мікроорганізмів, в тому числі і віруси. Вегетативні клітини бактерій знаходяться при низьких температурах в анабіотичному стані, для якого характерно різке пригнічення метаболічних процесів життєдіяльності і відсутній поділ клітин – розмноження. При низькій температурі добре зберігаються культури мікробів і різні біологічно активні речовини – препарати, вакцини, імуноглобуліни.

Деякі бактерії залишаються життєздатними при –190^{o}С, а бактеріальні спори – при –250^{o}С. Багато вірусів також добре зберігаються при низькій теипературі –70^{o}С, зберігаючи при цьому інфекційні властивості. А тому їх

можна довго зберігати в замороженому стані, в тому числі при температурі рідкого газу (- 173^{o}C).

Температурний фактор враховують при проведенні стерилізації. Вегетативні форми бактерій гинуть при температурі 60^{o}C через 20-30 хв; спори – під тиском пари в автоклаві при 120^{o}C.

Висока температура згубно діє на вегетативні форми і вірусні частинки в результаті денатурації білків.

Висушування

В природних умовах висушування згубно діє на вегетативні клітини багатьох бактерій і вірусів. Так патогенні нейсерії, трепонеми і інші гинуть при висиханні впродовж декількох хвилин, інші бактерії (шигели, сальмонели, холерний вібріон) через декількох діб, треті (мікобактерії туберкульозу) витримують висушування більше 3 місяців, оскільки захищені слизом харкотиння. Стійкі до висушування деякі капсуло- і слизоутворюючі бактерії.

Висушені спори бактерій зберігають властивість до проростання впродовж 10 років, а спори плісневих грибів – до 20 років.

Механізм згубної дії висушування на бактеріальні клітини зв'язаний з обезводненням їх цитоплазми і пошкодженням життєво важливих структур, перш за все ЦПМ і рибосом.

Ліофільне висушування

Це висушування в умовах вакууму із замороженого стану, широко застосовується для тривалого зберігання мікробних культур, не гублячи при цьому біологічних властивостей.

Застосовують при виготовленні вакцин, сироваток та інших імунобіологічних препаратів, для збереження культур мікробів впродовж декількох років.

Променева енергія

Пряме сонячне проміння має бактерицидні властивості (вбиття бактерій), в яких активність обумовлена дією ультрафіолетових і інфрачервоних променів з довжиною хвилі 254-400 нм.

Механізм дії УФ-променів зв’язаний з утворенням тімінових діамерів в ДНК бактеріальних клітин. Сублетальні дози УФ-променів обумовлюють мутагенну дію на бактерії і віруси.

Бактерицидна дія сонячних променів

враховується при визначенні санітарно-гігієнічних вимог до житлових приміщень, дитячих закладів, учбових і виробничих приміщень. Крім цього бактерицидність УФ-променів використовується для стерилізації повітря і різноманітних предметів в закритих приміщеннях (операційних, кімнатах для перев’язки, боксах, мікробіологічних лабораторіях і т.д.) за допомогою бактерицидних ламп.

Бактерії і віруси чутливі до проникаючої радіації (рентгенівські промені, -промені, електрони високих енергій). Але вони гинуть лише при опроміненні порівняно великими дозами 44000-280000 рентген. Ця властивість застосовується для стерилізації різних матеріалів, біологічно активних речовин, консервування харчових продуктів і т.д. Переваги даного методу в тому, що при цьому не змінюються властивості матеріалу, який стерилізують.

В останні роки радіаційним методом стерилізують полістерові піпетки, чашки Петрі, лунки для серологічних реакцій, шприци, матеріал для перев'язки, а також шовний матеріал – кетчупи, поживні середовища, лікарські препарати.
Однак існують бактерії, стійкі до дії іонізуючого випромінення, наприклад *Micrococcus radiodurans* були виділені з ядерного реактора.

Осмотичний тиск

При високій концентрації в середовищі солі і цукру мікробна клітина віддає воду. Оскільки поживні речовини не поступають в неї, припиняється нормальний обмін речовин з навколишнім середовищем. Застосовується для консервування продуктів.

Ультразвук, високий тиск

згубно діє на мікроорганізми. В лабораторній практиці використовують ультразвукові дезинтегратори для руйнування мікробних клітин. Механізм дезинтеграційної дії ультразвуку полягає в тому, що утворюються кавітаційні порожнини в цитоплазмі бактерій, в яких утворюється високий тиск рідин, що досягає 10000 атм. А це в свою чергу приводить до руйнування цитоплазматичних структур клітини. Високий тиск практично не шкідливий для багатьох мікроорганізмів. Деякі з них витримують тиск до 3000-5000 атм, а бактеріальні спори навіть 20000 атм.
Незначну бактерицидну дію має механічне струшування, перемішування бактерій. Але швидко гинуть бактерії від дії ультразвуку.

Мікробна деконтамінація

– це повне або часткове знищення мікроорганізмів з об'єктів навколишнього середовища і біотопів людини за допомогою факторів прямого ушкодження.
Стерилізація - це обезпліднення, тобто повне звільнення об'єктів навколишнього середовища від мікроорганізмів та їх спор.
Методи стерилізації:
Фізичні – термічні, радіаційні і механічні.
Хімічні – розчинами і газами, які можна пошкодити (ендоскопи, гумові вироби, полімерні, титанові сплави).
Біологічні.

Фізичні методи стерилізації:

1. Обпалювання та прокалювання в полум'ї пальника.

2. Стерилізація сухим жаром або гарячим повітрям.

Проводиться в печах Пастера (сушильна шафа) при t=160-170^{o} С 1 год після досягнення заданої температури на термометрі.
Піч Пастера – шафа з подвійними стінками, між якими є асбест. Стерилізують лабораторний посуд, інструменти, мінеральні масла, вазелін. Рідини і гуму сухим жаром стерилізувати не можна.
При температурі вище 170^{o}С починається обвуглення паперу, вати, марлі.
Стерилізацію можна проводити в різному температурному режимі: 160-165^{o} С 60 хв, 180^{o} С 15 хв, 200^{o} С 5 хв.

Бактеріологічний контроль стерилізації

Для контролю стерилізації в печі Пастера шовкову нитку змочують в культурі спороутворюючих бактерій, підсушують, поміщають в стерильну чашку Петрі і

ставлять в піч Пастера. Стерилізують при t 165° С 1 год. Для контролю частину нитки залишають при кімнатній температурі. Простерилізовані і контрольні нитки кладуть на поверхню агару в чашку Петрі або поміщають в пробірки з бульйоном і інкубують в термостаті при 37°С 2 доби. При вірній стерилізації печі в пробірках або чашках росту не повинно бути на середовищі, а контрольна нитка проросте і на середовищі утвориться ріст.

ХІМІЧНИЙ КОНТРОЛЬ СТЕРИЛІЗАЦІЇ. Для визначення температури всередині печі Пастера можна використовувати *сахарозу або харчовий цукровий пісок*, який керамелізується при температурі 165-170°С.

3. Стерилізація кип'ятінням

проводиться в стерилізаторах (металева коробка) – шприци, хірургічні інструменти, голки, гумові вироби (трубки). Для підвищення точки кипіння і зменшення твердості води додають 1-2% розчин гідрокарбонату натрію. Користуватись краще дистильованою водою, щоб не було накипу. Кип'ятять після закипання води до 30 хв. Вбиваються всі вегетативні форми мікробів, виживають спори. Дають вистигнути. Витягають сітку з інструментами за допомогою гачків. Беруть пінцетом або корцангом необхідні інструменти.

4. Автоклавування - дія пари під тиском.

Обезпліднення досягається дією пари, температура якої вища, ніж температура киплячої води в автоклаві. **Тест-реактиви стерилізації** під тиском: бензонафтол, який плавиться при 110° С, антипірин – при 113°С, резорпін і сірка – 119°С, бензойна кислота – при 120°С.

В автоклаві стерилізують при 1-1,5 атм різні поживні середовища, розчини, халати, гуму, лабораторний посуд.

При тиску 2 атм проводять знешкодження патологічного матеріалу і відпрацьованих культур мікробів 1 годину. Вазелін, пісок, масла не стерилізують, оскільки пара через них не проходить.

Деякі середовища, які містять цукри не стерилізують парою під тиском, тому що вони керамелізуються, а стерилізують дробно текучою парою. Наприклад: прості середовища – МПА, МПБ стерилізують 20 хв при 120° С (1 атм). Але при цій температурі не можна стерилізувати середовища, які містять нативні білки, вуглеводи і інші речовини, які легко змінюються від нагрівання. Середовища з вуглеводами стерилізують дробно при 100° С або в автоклаві при 112° С (0,5 атм) 10-15 хв. Різні рідини, прилади, які мають гумові шланги, корки, бактеріальні свічки і фільтри стерилізують 20 хв при 120°С (1 атм).

Допускаються до роботи особи, які мають посвідчення, знають правила роботи і техніку безпеки при роботі з автоклавами.

При перевірці ефективності стерилізації в автоклав поміщають пробірку з споровою культурою. Після автоклавування пробірку переносять в термостат на 24-48 год, відмічають відсутність або наявність росту. Відсутність росту свідчить про вірну роботу приладу.

Тест-реактиви стерилізації під тиском: бензонафтол, який плавиться при 110°С, антипірин – при 113°С, резорпін і сірка – 119°С, бензойна кислота – при 120°С.

5. Стерилізація текучою парою проводиться в апараті Коха або в автоклаві при незакритій кришці і відкритому випускному крані.
Апарат Коха - це металевий циліндр, обшитий азбестом або войлоком. Зверху закривають кришкою з отвором для виходу пари. Всередині підставка, до рівня якої наливають воду. На підставку ставлять відро з отвором, закладають матеріал, нагрівають до 100° С, і коли виходить пара з отвору і країв кришки відмічають час.

Стерилізують 30-60 хв. Спори при цьому не гинуть. Стерилізують 3 дні підряд при 100°С по 30-60 хв. А тому вегетативні форми спор гинуть на 2 і 3 день. Такий метод отримав назву дробної стерилізації.

6. Для звільнення від вегетативних форм використовується ще пастеризація - стерилізація при 65-70° С 1 год, запропонована Пастером, з наступним зберіганням на холоді після охолодження (молоко, вино, пиво, соки).

7. Тиндалізація - це дробна стерилізація при низьких температурах. Застосовують для речовин, які легко руйнуються і денатуруються при 60°С (білкові рідини).

Прогрівання матеріалу проводять на водяному нагрівачі або в спеціальних приладах з терморегуляторами при температурі 56-58°С впродовж 1 год 5 діб підряд.

8. Холодна стерилізація включає механічну стерилізацію за допомогою бактеріальних фільтрів і стерилізацію газом (використовується окис етилену для стерилізації складної медапаратури)

9. Хімічний метод стерилізації
використовується для попередження бактеріального забруднення поживних середовищ та імунобіологічних препаратів (вакцин і сироваток).

До поживних середовищ додають хлороформ, толуол, ефір. При необхідності середовище нагрівають до 56°С і консервант випаровується. Для консервування вакцин, сироваток використовують мертиолат, борну кислоту, формалін і т.д.

ДЕЗІНФЕКЦІЯ

Розрізняють бактеріостатичну дію хімічних речовин, які зупиняють ріст і розмноження мікробів і бактерицидну, коли вони повністю вбивають мікроорганізми. Бактерицидні властивості багатьох хімічних сполук використовують для хімічної дезінфекції.

Дезінфекція – це заходи, спрямовані на знищення патогенних мікроорганізмів в різних об’єктах навколишнього середовища. При цьому сапрофіти можуть зберігати свою життєздатність.

Методи дезінфекції:
-Хімічний метод.
-Фізичний (кип'ятіння, спалювання, ультрафіолетове опромінення).
-Механічний метод (струшування, обробка порохотягом, вологе прибирання, перевітрювання, прання та миття).
-Біологічний метод.

Основні групи дезінфектантів:
1. Галоїдовмісні речовини (галогенові препарати), які містять хлор, бром або йод: пантоцид, неопантоцид, гіпохлорит натрію, дезам, хлордезин, сульфохлорантин.
2. Кисневовмісні речовини на основі перекисних сполук або перекису водню (первомур, ПВК, перамін, віркон, дезоксон).
3. Гуанідини і їх суміші з ПАР (демос, катасепт, лізоформін, плівасепт).
4. Спирти (на основі етанолу) - стериліум. Бактерицидні властивості має спирт 70-75%, але він не вбиває спори мікробів.
5. Альдегідвмісні сполуки на основі глутарового або янтарного альдегідів (гігасепт, сайдекс, глутарал, альдесол). *Альдегіди* (*формальдегід*) застосовується 40% розчин (формаліну) для дезінфекції.
6. Фенол та його похідні використовувати заборонено оскільки токсичний. Застосовують фенолвмісний амоцид.
7. Солі важких металів (срібла, ртуті, свинцю, міді, цинку, олова).
8. Барвники (брильянтовий зелений, ріванол).
9. Гази (озон, суміш оксиду етилену і броміду метилу, оксид етилену, оксид пропілену).
10. Кислоти (оксолінова, борна, бензойна, саліцилова), луги (аміак і його солі, натрію гідроксид, калію гідроксид) зневоднюють клітину.

Види дезінфекції

Розрізняють *поточну* дезінфекцію, яку проводять впродовж дня під час роботи,
і *заключну*, яку проводять по закінченню роботи.

Асептика – система профілактичних заходів, які перешкоджають мікробному забрудненню об'єкта (рани, операційного поля, живильних середовищ, культур мікроорганізмів) і заснована на фізичних методах.

Антисептика – комплекс заходів, які спрямовані на знищення мікроорганізмів в рані, в цілому організмі, на об'єктах навколишнього середовища з використанням різних хімічних речовин.

Дератизація (від франц. "*de*" – проти, "*rat*" – щур) – це знищення щурів, боротьба з гризунами, які небезпечні в епідеміологічному відношенні, наносять економічну шкоду.

ВПЛИВ БІОЛОГІЧНИХ ФАКТОРІВ

Симбіоз – взаємовигідне співжиття різних видів мікроорганізмів.
Мутуалізм – корисновигідне співжиття двох організмів.
Коменсалізм – співжиття особин різних видів, при якому вигоду з симбіозу має один вид, не приносячи шкоди іншому.
Паразитизм (від грецького "*parasitos*" – туніядець) – взаємовідношення, коли одні організми живляться за рахунок іншого, приносять йому шкоду.
Сапрофітизм – співжиття, при якому відсутні будь-які реакції зі сторони обох партнерів.
Метабіоз – один вид мікробів в результаті своєї життєдіяльності створює сприятливі умови для розвитку іншого виду.
Сателізм – посилення росту одного виду мікроорганізма під впливом іншого мікроорганізму.
Антагонізм може розвиватися за джерело живлення: інтенсивно розвиваючись і знижуючи поживні речовини середовища, мікроорганізм-антагоніст пригнічує ріст інших мікроорганізмів.

Питання для самоконтролю

1. Медичній сестрі необхідно простерилізувати хірургічний інструментарій для операції. Який найефективніший метод ви можете запропонувати?
A. Дробну стерилізацію
B. Стерилізацію парою під тиском
C. Кип'ятіння
D. Сухим жаром
E. Іонізуюче випромінювання

2. Стерилізацію можна проводити наступними засобами:
A. Дією вологою парою
B. Фільтруванням
C. Опроміненням
D. Пастеризацією
E. Всі відповіді вірні

3. Виберіть вірну відповідь відносно методів мікробної деконтамінації:
A. Стерилізація
B. Дезінфекція
C. Антисептика
D. Всі три методи

4. В автоклаві при 120˚ С протягом 20 хв. стерилізують:
A. МПБ, МПА
B. Ізотонічні розчини
C. Перев'язувальний матеріал

D. Всі названі об’єкти

5. У мікробіологічних лабораторіях в автоклаві стерилізують:
A. Бактеріальні петлі
B. Поживні середовища
C. Гумові рукавички
D. Все перераховане

6. Режим стерилізації текучою парою:
A. Однократно протягом 30 хв.
B. Два дні підряд по 25 хв.
C. Три дні підряд по 30 хв.
D. Чотири дні підряд по 60 хв.

7. Заразний матеріал і відпрацьовані культури стерилізують в режимі:
A. При 120˚С 20 хв.
B. При 134˚С 40 хв.
C. При 112˚С 30 хв.
D. При 127˚С 10 хв.

8. Молоко, пиво, вина, соки пастеризують при наступному режимі:
A. При 70˚С 30 хв.
B. При 80˚С 40 хв.
C. При 90˚С 45 хв.
D. При 100˚С 10 хв.

9. Білкові рідини, вітаміни, деякі ліки стерилізують за допомогою:
A. Тиндалізації
B. Пастеризації
C. Сухого жару
D. Автоклавування

10. В автоклаві при 120˚С протягом 20 хв. стерилізують:
A. Універсальні середовища
B. Фізіологічний розчин NaCl
C. Перев’язувальний матеріал
D. Всі названі об’єкти

11. Стерилізацію фільтруванням проводять за допомогою:
A. Фільтрів Зейтца
B. Свічок Шамберлана
C. Свічок Беркефельда
D. Всі відповіді вірні

12. В полум’ї газового ріжка стерилізують:

A. Голки і шприци
B. Бактеріологічні петлі
C. Чашки Петрі
D. Мірні піпетки

13. У сухожарових шафах стерилізують:
A. Пробірки, флакони
B. Чашки Петрі
C. Пастерівські і мірні піпетки
D. Всі перераховані об’єкти

14. У сухожарових шафах не можна стерилізувати:
A. Поживні середовища
B. Пробірки з рідинами
C. Прилади з гумовими виробами
D. Все перераховане

15.Газовий метод стерилізації проводять за допомогою парів:
A. Формальдегіду, хлороформу
B. β-пропіолактону
C. Окисами етилену, пропілену
D. Всіма названими парами

16. Для дезіфекції використовують всі перелічені препарати, крім:
A. Сирти, альдегіди, хлорамін
B. Рзчини лізолу, карболової кислоти
C. Розчини антибіотиків
D. Розчин крезолу

17. Для біологічного контролю стерилізації в автоклав поміщають:
A. Пробірку зі споровими бактеріями
B. Пробірку із без споровою культурою
C. Пробірку з вірусами
D. Всі відповіді вірні

ПОЖИВНІ СЕРЕДОВИЩА

Поживні середовища застосовуються для нагромадження, виділення, вивчення і збереження мікроорганізмів. Живильні середовища повинні бути: стерильними, добре засвоюватись, мати певний склад азотистих речовин, відповідну концентрацію солей, вуглеводів, вітамінів (інших факторів росту), бути ізотонічними, буферними, оптимальної в’язкості, з певним окисно-відновним потенціалом і pH, прозорими.

Класифікація середовищ

За **вихідними компонентами:**

натуральні (виготовлені з м'ясних або рослинних настоїв, до яких додають різні азотисті продукти, С і солі: МПБ і МПА) і синтетичні (штучні);

снтетичні – готують з хімічно чистих органічних і неорганічних сполук, взятих в точно вказаних концентраціях і розчинених в двічі дистильованій воді. Склад їх постійний.

За консистенцією:

рідкі (МПБ, м'ясна вода)

щільні (МПА)

напіврідкі (напіврідкий агар).

Агар-агар – полісахарид, який отримується з певних сортів морських водоростей. Він використовується лише для ущільнення середовища, топиться при 80-100^{o}С, застигає при 40-45^{o}С.

Желатина – білок тваринного походження. При 25-30^{o}С желатинові середовища плавляться, а тому культури в основному вирощують при кімнатній температурі.

За складом: *прості і складні.*

До *простих* відносяться МПБ, МПА, бульйон і агар Хотінгера, поживна желатина і пептонна вода.

Складні середовища готують додаючи до простих середовищ кров, сироватку, вуглеводи і інші речовини, необхідні для розмноження того або іншого мікроорганізму.

За назначенням:

основні – МПА, МПБ, бульон і агар Хотінгера, пептонна вода;

спеціальні – сироватковий агар - СА, кров'яний агар - КА;

елективні (вибіркові) - лужна пептонна вода;

диференціально-діагностичні середовища - середовища Гіса з вуглеводами і індикатором, Ендо, Плоскірєва, вісмут-сульфіт агар - ВСА.

Етапи виготовлення середовищ

Варіння на вогні, водяному нагрівачі, автоклаві, котлах, що підігрівають парою; встановлення *ph* за допомогою індикаторних папірців або потенціометром, застосовуючи скляні електроди у відповідності з інструкцією;

освітлення роблять коли середовища при варінні мутніють або темніють (вливають білок курячого яйця, збитий з подвійною кількістю води); фільтрування рідких і розтоплених желатинових середовищ проводять через вологий паперовий або через фільтр з матерії;

розлиття середовищ в пробірки (по 3-5 см3 або по 10 см3), флакони, колби, матраци і пляшки не більше ніж на 2/3 об'єму, оскільки при стерилізації можуть намокнути корки і середовища загублять стерильність;

стерилізація. Режим стерилізації залежить від складу середовища який вказаний в рецепті.

Контроль готових середовищ на стерильність

Бактеріологічний контроль– середовища поміщають в термостат на 2 доби, після чого оглядають – немає росту значить стерильні.

Хімічний контроль - по декілька зразків з кожної серії – кінцево встановлюють *ph*, вміст загального і амінного азоту, пептону, хлоридів (їх кількість повинна відповідати вказаній кількості в рецепті), проводять в хімічній лабораторії.

Бологічний контроль - засівають середовища спеціально підібраними культурами мікроорганізмів і за їх ростом судять про ростові властивості середовища. До середовища додають етикетку і паспорт (назва і склад середовища, з результатами контролю).

Зберігання середовищ

Зберігають при кімнатній температурі в шафах, бажано спеціально назначених для них. Деякі середовища, наприклад, середовища з кров'ю і вітамінами зберігають в холодильнику. Сухі середовища зберігають в темному місці щільно закритими, оскільки вони гігроскопічні.

Культуральні властивості бактерій – це характер росту мікроорганізмів на поживному середовищі. Ріст залежить від методу посіву.

Мікроорганізми можуть утворювати суцільний ріст (протей) або ізольовані колонії.

Колонія – це популяція мікроорганізмів, які розвинулися з однієї клітини певного виду бактерій.

Колонію можна характеризувати за такими ознаками: *величиною, формою колонії, характером контуру краю, рельєфом колонії, поверхнею, пігментом, структурою, консистенцією.*

Мікробна культура – це мікроорганізми, які вирощені на поживному середовищі.

Чиста культура – це мікроорганізми одного виду бактерій.

Змішана культура – це мікроорганізми з особин різних видів.

Штам – виділена і вивчена культура мікроорганізмів одного виду одноразово з одного джерела: від хворого, здорового, чи з об’єктів навколишнього середовища.

Біоплівки

Мікробні угрупування не залишаються ізольованими утвореннями, а об’єднюються за рахунок позаклітинної речовини в біоплівки. Вони стійкі і їх виявляють в Грам(+) і Грам(-) бактерій.

В мікробних угрупуваннях бактерії проявляють раніше невідомі ознаки як багатоклітинні організми. Угрупування покриті поверхневою плівкою – елементарною мембраною що складається з білків і полісахаридів.

Значення мікробних угрупувань – виконують функцію захисту.

Ріст на напіврідкому агарі

Рхливі – ростуть по всій товщині поживного середовища у вигляді перевернутої ялинки; нерухомі – за ходом укола у вигляді сосульки циліндричної або конічної форми.

Біохімічні властивості мікроорганізмів

Виділення мікроорганізмами різних ферментів визначає їх біохімічні властивості. Вивчення ферментативного складу має велике значення для диференціації, при визначенні виду і типу, тобто при ідентифікації різних мікроорганізмів.

Протеолітичні властивості мікроорганізмів

Ферменти, які розщеплюють білки, називаються **протеазами**, вуглеводи – **карбогідрази**, жири – **естерази**.

Протеолітичні ферменти – **протеази** – **розщеплюють білки** – пептони, альбумози, поліпептиди (проміжні продукти розпаду);

під дією інших протеолітичних ферментів пептони розщеплюються на поліпептиди і окремі амінокислоти.

Протеолітичні ферменти у бактерій виявляють шляхом посіву в стовпчик **желатини –** визначають фермент желатиназу;

на **згорнутій сироватці (**утворюються заглибинки навколо колоній або на поверхні стовпчика середовища);

на молочному бульйоні Ейкмана (відбувається пептонизація молочного білка казеїна – утворюються прозорі зони – вигляд молочної сироватки);

на бульйоні з курячим яйцевим білком – кусочки білка, які є в середовищі зменшуються в розмірах, перетворюються в кришкоподібну масу або повністю розчиняються.

Фермент **амілаза розщеплює крохмаль.**

Деякі види патогенних мікроорганізмів з вираженою протеолітичною активністю мають властивість розщеплювати білок і пептони до продуктів глибокого розпаду: **індолу, сірководню, сечовини і аміаку.**

Гемолітичні властивості бактерій

Вивчення проводиться на рідких кров'яних або щільних середовищах (кров'яний агар). Рідкі стають прозорими, а на кров'яному агарі внаслідок гемолізу з'являється прозора зона. При утворенні метгемоглобіну на кров'яному агарі утворюється зелена зона гемолізу навколо колоній (перехід гемоглобіну в метгемоглобін). Наприклад – зеленіючий стрептокок.

БАКТЕРІОЛОГІЧНИЙ МЕТОД ДОСЛІДЖЕННЯ

застосовують для виділення з досліджуваного матеріалу чистих культур мікроорганізмів, для нагромадження, збереження і вивчення їх властивостей, одержання вакцин, токсинів, антибіотиків.

Етапи виділення чистої культури аеробних бактерій:

1 етап – взяття матеріалу, виготовлення мазків-препаратів за методом Грама; посів досліджуваного, матеріалу на поживні середовища з метою отримання ізольованих колоній;

2 етап – вивчення характеру росту мікроорганізмів на поживному середовищі, відбір характерних колоній (виготовлення мазків для визначення чистоти колонії) і пересів їх на похилий агар для виділення чистої культури;

3 етап – перевірка чистоти виділеної культури та її ідентифікація за морфологічними, культуральними, біохімічними, антигенними властивостями, визначення коліцинів, фаговарів, антибіотикограми;

4 етап – облік та оцінка результатів дослідження, видача відповіді. По закінченню видається відповідь, в якій зазначається вид мікроорганізму (підвид, морфовар, хемовар, біовар, патовар, фаговар, серовар, коліциновар). Для більш повного аналізу при ідентифікації чистих культур широко використовують газово-рідинну хроматографію та інші методи.

Сучасні методи біохімічної ідентифікації бактерій

Смужки API для точної ідентифікації мікроорганізмів (мікрометод біохімічних реакцій), є світовим референсним методом контролю якості мікробіологічних досліджень. Дозволяють визначати після 4-24 год інкубування всі види бактерій, дріжджі і плісені. Метод є зручним, простим в роботі і при обробці результатів.

Смужки Rapid ID 32 для ідентифікації ентеробактерій, анаеробів, стрептококів через 4 год культивування.

Смужки ID 32 для ідентифікації ентеробактерій, Грам (-) бацил, стафілококів і дріжджів після 24-год інкубування.

Системи індикаторні паперові (СІП) – це диски або смужки хроматографічного паперу, що містять певну кількість субстрату разом з індикатором, мають покриття плівкою, а також диски з фотоплівки з желатиною. Біологічні властивості СІП – використання замість рідких диференціально-діагностичних середовищ при вивченні біохімічних властивостей мікроорганізмів.

Комп'ютерна програма

APILAB Plus для автоматичної інтерпретації отриманих результатів.

Mini API – мікробіологічний аналізатор для ідентифікації мікроорганізмів. Простий прилад з стандартизованими готовими реактивами, які розподілені по смужках, спрощують правильне проведення і отримання якісного аналізу.

Програмна версія спеціально адаптована до спектру досліджень в харчовій, фармацевтичній і косметичній мікробіології.

Сучасні тест-системи.

Середовища для бакдосліджень: транспортні, поживні, селективні, хромогенні.

Нові серії газоаналізаторів.
Самі сучасні технології для біохімічних, імунологічних, гематологічних досліджень, експрес-тест.
Стандартизація етапів бактеріологічного аналізу.

Питання для самоконтролю

1. До живильних середовищ пред'являють такі основні вимоги, крім:
A. Наявність живильних речовин
B. Стерильність
C. Певний колір
D. Певна в'язкість
E. Прозорість

2. До універсальних живильних середовищ належать:
A. Сироватковий МПА і сироватковий МПБ
B. Середовище Ендо і Середовище Плоскирєва
C. МПА і МПБ
D. Кров'яний МПА і середовище TCBS
E. Жовтково-сольовий агар і асцит-агар

3. Елективними живильними середовищами є всі, крім:
A. Середовище Мюллера
B. Середовище РУ
C. Середовище Леффлера
D. 1% лужна пептонна вода
E. Кров'яний МПА

4. Структуру колоній можна досліджувати таким методом:
A. У прохідному світлі при малому збільшенні мікроскопу
B. В електронному мікроскопі
C. За допомогою «завислої» краплі
D. У фазово-контрастному-мікроскопі
E. За допомогою імерсійної системи мікроскопа

5. Який вуглевод входить до складу індикаторної системи вісмут-сульфіт агару?
A. Лактоза
B. Сахароза
C. Глюкоза
D. Мальтоза
E. Маніт

6. Яка хімічна природа агар-агару?
A. Ліпіди
B. Білки
C. Полісахариди
D. Вуглеводи
E. Амінокислоти

7. Яка хімічна природа желатину?
A. Полісахариди
B. Ліпіди
C. Білки
D. Вуглеводи
E. Амінокислоти

8. При якій температурі застигає розплавлений желатин (в градусах за Цельсієм)?
A. 80-100 °C
B. 37-40 °C
C. 50-60 C°
D. 20-25 °C
E. 60-70 °C

9. При якій температурі застигає розплавлений агар-агар (в градусах за Цельсієм)?
A. 20-25 °C
B. 80-100 °C
C. 70-80 °C
D. 50-60 °C
E. 40-45 °C

10. Який з наведених етапів є найбільш важливим при одержанні м`ясної води?
A. Подрібнення м`яса
B. Фільтрація
C. Екстракція
D. Кип`ятіння
E. Стерилізація

11. Яка з наведених речовин є універсальним джерелом азоту та вуглецю в живильних середовищах для вирощування бактерій?
A. Мінеральні солі
B. Вітаміни
C. Полісахариди
D. Білкові гідролізати
E. Мікроелементи

12.Яке з наведених тверджень найбільш коректно характеризує м`ясо-пептонні

середовища?
A. Стандартність
B. Оптимальний набір амінокислот
C. Прозорість
D. Багатий мінеральний склад
E. Дешевизна

13. Диференційно-діагностичні середовища використовуються для:
A. Визначення чутливості бактерій до антибіотиків
B. Нагромадження мікробної біомаси
C. Визначення патогенності мікроорганізмів
D. Вивчення антигенної структури мікроорганізмів
E. Визначення ферментативної активності бактерій

14. Внаслідок несвоєчасного лікування пульпіту в пацієнта розвинувся остеомієліт нижньої щелепи. Завдяки якому дослідженню можна виявити збудника та підібрати ефективний препарат для лікування хворого?
A. Комплексному серологічному дослідженню
B. Виявленню специфічних антитіл
C. Мікроскопічному дослідженню пунктату
D. Виявленню антигенів збудника
E. Виділенню чистої культури

БАКТЕРІОФАГИ

Бактеріофаги являють собою віруси бактерій. Вони проходять через дрібнопористі фільтри і розмножуються за рахунок живих молодих бактерій. Це явище отримало назву бактеріофагії – тобто взаємодії бактеріофагу і бактерій в точному перекладі – це “пожирання бактерій”.

Перші спостереження над явищем бактеріофагії належать великому українському мікробіологу Н.Ф.Гамалея, який ще в 1898 році показав, що густа завіса сибіркововиразкових бацил в дистильованій воді може просвітлюватись і розчиняти бактерії. Феномен бактеріофагії спостерігали і інші дослідники: Ф.Туорт, 1915 р. – стаття “Дослідження природи мікроскопічних вірусів”; В.А.Хавкін, 1896 р. – сповістив про бактерицидну дію води річок Джамми і Ганга на холерного мікроба, яка після фільтрації через бактеріальний фільтр, при додаванні в малих кількостях до культури холерного вібріона викликала її лізис, хоч дати пояснення виявленому факту не зміг. Лише Ф.д’Ерель в 1917 р. відкрив бактеріофаги – знайшов фаг у випорожненях людей хворих дизентерією, які виздоровлювали. Крапля фільтрату з випорожнень була внесена в пробірку з культурою дизентерійних паличок. Вона викликала розчинення бактерій і просвітлення дизентерійних культур. Крапля просвітленої рідини внесена знову у свіжу завісу дизентерійних паличок, знову лізувала їх.

Ф.д'Ерель перший правильно дав оцінку біологічному значенню цього явища. Він висловив думку, що відкритий ним бактеріофаг являє собою вірус бактерій, який розмножується всередині бактеріальної клітини, внаслідок чого вона лізується і в навколишнє середовище виходять частинки знову утвореного вірусного покоління.

На щільних середовищах, засіяних сумішшю бактеріальних клітин утворюються стерильні плями або їх називають негативні колонії, а посів бактерій з бактеріофагом в рідке поживне середовище веде до повного просвітлення рідини. **Бактеріофагія** – це процес лізису мікробних клітин під впливом специфічного агенту бактеріофагу.

Ф.д'Ерель вважав, що бактеріофаги відносяться до одного виду, але пізніше було встановлено, що вони утворюють групу різних специфічних бактеріальних вірусів, які розповсюджені в природі. Спочатку назву вірус застосовували для визначення різних мало вивчених хвороботворних агентів. Пізніше ця назва закріпилася за групою збудників, відкритих в Криму в 1892 р. Дмитром Івановським. З моменту відкриття Д.Івановським вірусу тютюну мозаїки виділена безліч вірусів, що вражають рослини (фітопатогенні віруси), тварин, людину, а також вірусів, що вражають бактерії (бактеріофаги).

Всюди, де розмножуються бактерії, актиноміцети і мікоплазми, вдається виявити і паразитуючі в них фаги. Вони знаходяться в кишківнику людини і тварин, в стічних водах, грунті, харчових продутах.

Вивчення бактеріальних вірусів дозволило отримати значні результати для вирішення важливих проблем молекулярної біології. Власне фаги є зручною моделлю для вивчення тонкої структури гену, молекулярних механізмів мутагенезу, розшифровки генетичного коду і впливу радіації на спадкові структури організму.

Розрізняють фаги за формою, структурою, типом нуклеїнової кислоти, характером взаємодії з мікробною клітиною.

Структура фагу. Більшість має сперматозоїдну будову. Складаються з *голівки, шийки, хвоста відростка, базальної пластинки, ниток і зубців*. Голівка вкрита капсидом, відросток – чехлом, всередині хвоста відростка є циліндричний стержень, за допомогою якого фаг проникає в мікробну клітину і з'єднаний отвором з головкою фага. У деяких фагів відросток короткий; довгий, який не здатний скорочуватися; бактеріофаги з геометричною формою голівки і великим відростком, чехол якого скорочується; зовсім відсутній відросток; або є аналоги відростка, ниткоподібної форми. Розміри фагових частин від 20 до 200 нм. Середній розмір головки 60-100 нм, довжина відростка 100-200 нм.

Найбільш вивчені фаги колі-дизентерійної групи. Вони складають так звану Т-групу ("type" – типові).

Хімічний склад фагів. Складаються з *нуклеїнової кислоти* – ДНК або РНК (менше) і *білка.* За своїм складом фагові нуклеїнові кислоти не відрізняються від нуклеїнових кислот інших мікроорганізмів. За хімічним

складом частинки бактеріофагу є нуклеопротеїдами і складаються з 50-60% білка і 40-50% ДНК. У деяких фагів виявлено РНК, трішки ліпідів і вуглеводів.

Але в деяких фагів виявлено незвичайні азотисті основи. Багато мають односпіральну ДНК. Нуклеїнова кислота оточена білковою оболонкою, яка носить назву **капсид.** Капсид складається із **капсомерів** (великих білкових молекул).

Капсид голівки фагу і чехол відростка побудовані з поліпептидних одиниць, які розташовані в голівці за кубічним, а у відростку – за спіральним типом симетрії. Чехол може скорочуватися як м'яз. Під "чехлом" дистальної частини відростка Т-парних і деяких інших фагів міститься **лізоцим,** речовина білкової природи, яка здатна розчинити оболонку бактерій. В склад ще входять вуглеводи і ліпіди. Всередині голівки розташовується одна молекула ДНК (фагова хромосома), яка має форму кільця. Довжина її в багато разів перевищує довжину віріону. Ця молекула скручена в спіраль, завитки якої орієнтовані на довгій осі голівки. Нуклеїнова кислота складає близько 50% сухої маси фага і здатна кодувати не менше 200 різних білків. Всередині голівки виявлені "внутрішні" білки, які складають 3% від всього білка віріону. Внутрішні білки, до складу яких входять поліаміни (спермін і путресцин), відіграють велику роль в суперспіралізації фагової ДНК, яка тільки в такому вигляді може поміститись в голівку.

Крім структурних білків і виявлених внутрішніх (геномних) білків, які зв'язані з нуклеїновою кислотою, виявлено білки-ферменти (лізоцим, АТФ-аза), які приймають участь у взаємодії фага з клітиною.

Фаги мають різні **антигени:** ***нуклеопротеїдний*** – загальний для кожного виду бактеріофагів, інший – ***білковий, капсидний*** є типоспецифічним і визначає окремий тип (віріант) фага.

Біологічні властивості фагу:

Специфічність – властивість розмножуватись у бактеріях визначеного виду або типу і викликати їх лізис. Розрізняють: *моновалентні* фаги, які лізують культуру бактерій визначеного одного виду; *поліваленті* фаги, які можуть викликати лізис клітин родинних видів бактерій; *типові* фаги, які лізують окремі штами або варіанти всередині одного і того ж виду. Властивості специфічності фагів використовують при лабораторній діагностиці інфекційних захворювань.

Стійкість фагів досить велика до дезречовин: 1-2% розчину фенолу, 0,5% розчину сулеми, 1,5% розчину лізолу, але чутливі до 1% розчину формаліну. Відмічено навіть привикання фага до азотної і сірчаної кислоти. Фаги витримують нагрівання до 70-75^{o} С. Дезінфікуючі речовини, ефір, хлороформ, етиловий спирт не дуже впливають на фаги.

Але утворення фагу затримують цитрати і оксалати, великі дози рентгенівських і ультрафіолетових променів, оскільки низькі – викликають мутагенний ефект. В організмі фаг зберігається 10-13 діб. Довго зберігаються фаги в ліофілізованому стані в запаяних ампулах. Фаги витримують заморожування при температурі –185^{o} С в гліцерині.

Природа фагу. Живу природу фагу доводить властивість його до розмноження за рахунок бактерій – господарів, набувають стійкості до дії навколишніх факторів, властивість змінюватись і давати продукцію ензимів (ферментів).

Взаємодія фагу з бактеріальною клітиною:

I. Адсорбція фагу полягає у фіксації корпускул фагу на спеціальних фагових рецепторах, розташованих на клітинній стінці бактерій. Після того, як відросток фагу прикріпився до специфічного рецептору клітини своїми нитками, трубка циліндра проколює клітинну стінку бактерій. В цитоплазматичній мембрані клітини утворюється отвір під дією фермента *лізоциму* відростка. Через цей отвір ДНК, яка є в головці фага, впорскується через канал відростка в цитоплазму бактерій. Пуста оболонка фага (капсид і відросток) у вигляді "тіні" залишаються ззовні клітини.

У фагів, які мають чехол що скорочується, адсорбуються на поверхні бактеріальної клітини за допомогою фібрил відростка хвоста. В результаті активації фагового фермента АТФ-ази проходить скорочення чехла відростка хвоста і проникнення стержня в клітину.

II. Латентний період настає після проникнення фагу в цитоплазму бактерій. Наприклад, для кишкової палички – 12 хвилин. В цей період фаг знаходиться в латентному стані, виявити його неможливо.

III. Період утворення нового фагу. ДНК фагу приймає на себе генетичне управління життєдіяльністю бактерій, бактерії починають в своїх рибосомах синтезувати білки фагу і фагові оболонки. По фаговій матриці ДНК реплікується, утворюються її молекули. Вкінці латентного періоду фагові ДНК і білкові оболонки сполучаються в цитоплазмі бактерій і утворюють зрілі частинки фагу. Встановлено, що вони містять матеріал родинних частинок фагу, бактеріальної клітини і компоненти поживного середовища.

IV. Лізис клітини наступає через 30-40 хв. після прикріплення фагу до поверхні бактерії. Вважають, що лізис викликається або залежить від утворення спеціального літичного фермента приблизно такого ж як лізоцим і внутрішньоклітинного осмотичного тиску. Утворені *корпускули* фага звільняються і починається новий цикл їх розвитку в інших бактеріальних клітинах. Число вірусних частинок, які утворені в кожній інфікованій бактерії, приблизно постійне для визначеної системи фаг-бактерія: від 20 до 200 і більше. Це число називають *виходом фагу*.

За характером взаємодії з бактеріальною клітиною розрізняють **вірулентні і помірні** фаги. **Вірулентні** фаги пошкоджують чутливі до них мікроорганізми, розмножуються в них і виділяються в середовище при лізісі клітини. **Помірні** фаги також пошкоджують чутливі клітини, але лізують лише частину бактерій з утворенням вегетативного фагу, більшість клітин стає несприйнятливим до повторного зараження цим фагом. В таких клітинах фаги не розмножуються, залишаються в симбіотичному стані з клітиною і не викликають лізис бактерій; їх називають **профагами.** Профаг, який став частиною хромосоми клітини, при її розмноженні реплікується синхронно з геном бактерії, не викликаючи її лізису, і передається по спадковості від

клітини до клітини нащадкам. Симбіоз мікробної клітини з помірним фагом (профагом) називається **лізогенією.** Бактерії, які несуть такі профаги, називаються **лізогенними**. Ця назва походить від грецького "*lysis*" – розклад, "*genea*" – походження, відображає здатність профага самовільно або під дією фізичних і хімічних факторів виключатися з хромосоми клітини і переходити в цитоплазму, тобто вести себе як вірулентний фаг, який лізує бактерії. Помірні фаги є типовими плазмідами. Вони репродукуються синхронно з розмноженням бактерії.

Лізогенні культури не відрізняються за своїми властивостями від вихідних, але вони несприйнятливі до повторного зараження гомологічним або близькородинним фагом і, крім того, набувають додаткових властивостей, які знаходяться під контролем генів профага. Лізогенні клітини імунні до зараження тільки фагами, які присутні в них у вигляді профага. Імунітет обумовлений неможливістю адсорбції фага на лізогенній клітині і утворення особливого цитоплазматичного білка – *репресора,* який гальмує розмноження вегетативних фагів. Цей *білок-репресор* гальмує зворотній перехід профага в вегетативний стан і інгібує синтез фагових частин. Лізогенний стан обумовлений утворенням білка-репресора під впливом помірного фага. **Фагова конверсія** – це зміна властивостей мікроорганізмів (культуральних, біохімічних, токсигенних, антигенних, резистентності до окремих антибіотиків і ін.) під впливом профага. Завдяки цьому утворюються нові біоваріанти, сероваріанти та інші варіанти бактерій. Наприклад, помірні фаги коринебактерій дифтерії при інфікуванні клітин збудника дифтерії надають їм токсичних властивостей – здатності синтезувати та продукувати дифтерійний екзотоксин.

Крім цього, переходячи з інтегрованого стану у вірулентну форму, помірний фаг може захопити частину хромосоми клітини і при лізісі клітини переносити ту частину хромосоми в іншу клітину. Якщо мікробна клітина стане лізогенною, вона набуває нових властивостей. Таким чином, помірні фаги є міцним фактором мінливості мікроорганізмів.

Якщо мікроорганізми, які використовуються як продуценти вакцин, антибіотиків і інших біологічних речовин, залишаються лізогенними, існує небезпека переходу помірного фага у вірулентну форму, що приведе до лізису виробничого штама. А тому фаги можуть нанести шкоди мікробіологічній промисловості.

Бактеріофаг (профаг), хромосома якого втратила один-декілька генів при вирізанні їх з загальної хромосоми бактерійної клітини, носить назву **дефектного фага,** тобто фага який втратив частину своєї хромосоми. А фаг, що набув ген – декілька у бактерійної клітини носить назву **фага-сателіта.** Такі фаги при зараженні інших бактерій наділяють їх певними властивостями, захоплені гени яких відповідають за ці властивості.

Розповсюдження в природі. Виділити фаги можна з різних субстратів, кишкові фаги можна виділити з стічних вод, грунту, випорожнень, стафілококові фаги – з слизу носа, зіва, шкірних покривів, з виділень ран.

Зараз відомі фаги майже у всіх патогенних і багатьох непатогенних мікроорганізмів: у бактерій кишкової групи, корінебактерій, мікобактерій, стрептококів, спорових мікроорганізмів, актиноміцет. Фаги і інші агенти не виявлено в найпростіших, дріжджів, плісневих грибів, спірохет, водоростей.

Виділення бактеріофагу з досліджуваного матеріалу і об'єктів навколишнього середовища проводять звичайно в тих випадках, коли не вдається виділити культуру мікроорганізмів. Для виділення фагу проводять посів фільтрату досліджуваного матеріалу на щільні або рідкі поживні середовища одночасно з культурою мікробів, на якій проходить розмноження досліджуваного фагу (тест-культура).

Про наявність фагу судять по відсутності росту тест-культури. Дослід завжди проводять контрольним посівом тест-культури бактерій на поживні середовища. В контрольній пробірці повинно бути помутніння середовища. На щільних поживних середовищах фаги виявляють *методами Отто і Граціа,* який можна також використовувати для підрахунку кількості фагових корпускул в досліджуваному матеріалі.

Після *виявлення* фагу в досліджуваному матеріалі визначають його кількісний вміст, або титр фагу. **Титр фагу** можна виразити двома показниками:

1) Кількістю активних корпускул фагу в 1 $см^3$ досліджуваного матеріалу;
2) Величина найбільшого розведення досліджуваної рідини, при якій фаг проявляє свою літичну дію. Ця величина виражається – $lg\ 10^{-7}$, де ступінь вказує на розведення фагу. Звичайно титр фагу = 10^{-7}.

Є різні методи, серед яких найбільше розповсюдження одержали:

- Послідовне розведення, титрування фагу в рідкому поживному середовищі за методом Апельмана;
- Метод двохшарових агарів, розроблений Граціа.

Титрування фагу за методом Апельмана. Вибираємо однаковий посуд, пробірки, середовище, ставимо контролі (КФ і КБ на стерильність і контроль культури – на її життєздатність).

В 12 стерильних пробірок розливаємо по 4,5 $см^3$ стерильного бульйону, номеруємо від 1 до 10 пробірки, "КК" і "КФ" (контроль культури і фагу). В 1-шу пробірку вносимо 0,5 $см^3$ фагу і в пробірку "КФ". Міняємо піпетку, працюємо стерильно, переміщуємо вміст 1 пробірки і 0,5 $см^3$ переносимо в 2-гу пробірку і так до 10-ої пробірки, міняючи кожен раз піпетки. З 10-ї пробірки 0,5 $см^3$ вмісту виливаємо в дезрозчин. Рівень у всіх пробірках повинен бути однаковим. У всі пробірки, крім пробірки "КФ" вносимо по 1 краплі (0,05 $см^3$) завіси тест-культури. Пробірки струшуємо. У всіх пробірках, крім "КФ" повинно з'явитися помутніння. Пробірки поміщають в термостат на 18-20 год, після чого враховують результат титрування. Облік результатів обов'язково розпочинають з контролів: в "КК" – помутніння (культура життєздатна); якщо в пробірках з фагом культура не виросла, на неї подіяв фаг; в пробірці з "КФ" рідина прозора (значить стерильні). Встановлюємо титр фагу – найбільше розведення, в якому пройшов лізис культури (вміст пробірки прозорий).

Позначають титр ступенем розведення фагу з зворотнім знаком, що відповідає порядковому номеру пробірки. Наприклад, якщо культура не росте в перших шести пробірках, титр фагу = 10^{-6}.

Титрування фагу за Граціа (на щільному середовищі) методом агарових шарів дозволяє визначити кількість частин (корпускул) фагу. Метод заснований на тому, що кожна частина фага дає зону просвітлення (лізису) на чашці з газоном чутливого до нього мікроорганізма, тобто утворює окрему колонію.

Чашки з 20-25 $см^3$ МПА покривають стерильним фільтрувальним папером і підсушують в термостаті або під бактерицидною лампою (на віддалі 2 м). Титруючий фаг розводять від 10^{-1} до 10^{-10} і по 1 $см^3$ переносять в інші пронумеровані пробірки (з 1 в 2-гу пробірку і так до 10), в які попередньо наливають по 2,5 $см^3$ 0,7% МПА, розтопленого і остудженого до 45° С. В кожну з цих пробірок додають по 0,1 $см^3$ тест-культури. Вміст пробірок швидко перемішують і виливають на поверхню середовища в чашки Петрі з номерами, які відповідають номерам пробірок. Через 30 хв. чашки поміщають в термостат. Облік проводять через 18-20 годин. При великій концентрації фагу (в перших чашках) проходить суцільний лізис культури. В тих розведеннях фагу, в яких знаходилась невелика кількість частин фагу, з'являються ізольовані колонії, які підраховують, відмічаючи їх олівцем з дна чашки. Можна також користуватись приладом для підрахунку колоній бактерій. Щоб встановити кількість частин фагу в 1 $см^3$ фаголізату, користуються формулою $n=y * x$, де n – шукана величина, y – кількість колоній фагу, які виросли на чашці, x – розведення фагу в чашці, в якій підраховані колонії.

Застосування фагів засновано на їх строгій специфічності і властивості руйнувати мікробні клітини або вступати з ними в симбіоз.

Фагопрофілактика і фаготерапія – попередження і лікування інфекцій за допомогою фагів засновано на тому, що зустрівши в організмі хворого збудника захворювання, фаг руйнує його. Зараз фаги широко застосовують при лікуванні хвороб, викликаних стафілококами, стрептококами, шигелами, ешерихіями, протеєм, сальмонелами, і навіть таких уражень, які не піддаються лікуванню антибіотиками, а також для профілактики холери, чуми, дизентерії, сальмонельозу. Спосіб введення в організм: місцево, ентерально і парентерально.

Вірулентні фаги використовуються для знешкодження відповідних бактерій в навколишньому середовищі та в патологічному матеріалі.

Фагодіагностика включає:

- ідентифікацію виділених культур за допомогою відомих (діагностичних) фагів. Культура відповідає тому фагу, який її лізував. Наприклад, якщо лізис викликав холерний фаг, то це культура холерного вібріону. Строга специфічність типових фагів дає можливість типувати варіанти всередині виду (**фаговари**). Фаготипування має велике значення в епідеміології, дозволяє встановити джерело інфекції і вирішити інші питання;
- визначення невідомого фагу за тест-культурою мікробів. Якщо фаг лізує культуру збудника дизентерії, то це дизентерійний фаг;

- прискорений метод діагностики за допомогою реакції наростання титру фагу (РНТФ) не вимагає виділення чистої культури збудника. Досліджуваний матеріал і індикаторний фаг, титр якого строго встановлений, вносять в бульйон. Після інкубації в термостаті визначають титр фагу за Граціа. Збільшення титру (числа корпускул фагу) в 5 разів і більше готоворить про те, що в досліджуваному матеріалі є відповідні збудники, в яких фаг розмножився.

За допомогою помірних фагів вивчено генетичний код, досягнено значних успіхів в генній інженерії, їх використовують для вивчення пухлинного росту, як фактор мінливості мікроорганізмів та в інших дослідженнях. Оскільки лізогенні культури на відміну від "здорових" чутливі до радіації, вони служать для визначення надійності захисту космічних кораблів від космічних променів: при ненадійному захисті профаг переходить у вірулентну форму і лізує культуру.

Помірні фаги використовують в генній інженерії і біотехнології як вектори для одержання рекомбінантних ДНК.

Препарати фагів. При виробничому отриманні препаратів фагу користуються добре вивченими штамами мікроорганізмів і фагів, які вирощують в реакторах, що дозволяє отримувати великі кількості фаголізату. Всі препарати фагів підлягають обов'язковому контролю на відсутність сторонньої флори, придатність і титр (концентрацію) за методом Апельмана і Граціа, і здійснюється на виробництві, яке його випускає. Вибірковий контроль проводять в Державному НІІ стандартизації і контролю медичних біологічних препаратів ім. Л.А.Тарасевича. Фаги випускають в рідкому вигляді (ампули і флакони), в таблетках і свічках. Таблетки фагів покриті кислотостійкою оболонкою, яка захищає їх від дії соляної кислоти шлункового соку. Фаг, який випускають, має етикетку, на якій вказано заклад, який його випускає, назву фагу, серію, номер контролю і термін придатності. Кожна упаковка має наставлення по застосуванню і зберіганню фагу.

ГЕНЕТИКА МІКРООРГАНІЗМІВ

Властивість живих організмів зберігати певні ознаки впродовж багатьох поколінь називається **спадковістю**. Але в процесі вивчення вдалося дослідити, що кожне наступне покоління під впливом певних факторів може набувати ознак, які відрізняють їх від минулих поколінь. Ця властивість називається **мінливістю**.

Наука, яка вивчає спадковість і мінливість, називається **генетикою** (від грецького "*genos*" – народження). Ще в XIX ст. Ч.Дарвін довів, що всі види живих організмів пройшли шляхом мінливості від небагатьох форм, а зміни, які виникли, що передаються по спадковості, є *основою еволюційного процесу.*

Зручним об'єктом для цього вивчення є мікроорганізми, для яких характерний короткий цикл, швидкий розвиток і властивість давати багаточисленне потомство. Вони мають певну морфологію, яку легко вивчати за допомогою мікроскопа, біохімічно активні, що легко вивчити за допомогою

росту на середовищах. Мікроорганізми можуть легко змінюватись під впливом факторів навколишнього середовища і цю властивість використовують як модель при вивченні спадковості та мінливості.

Першим об'єктом генетичних досліджень була кишкова паличка, а пізніше і інші бактерії і віруси. Дослідження генетики мікроорганізмів показали, що в них роль носія генетичної інформації відіграє **ДНК** (в деяких вірусів РНК). Бактеріальна клітина має **одинарний набір генів**. **Хромосома бактерій** є полінуклеотидом (ДНК) довжиною 1000 мкм, з молекулярною масою 1,5 – 2 х 10^9 Д, прикріплена до цитоплазматичної мембрани, в місці фіксації є ініціальна точка, де починається редуплікація ДНК.

Аналогічно хромосомі в цитоплазмі бактерій розташовуються ковалентно замкнені кільця ДНК, які називаються **плазмідами** (позахромосомні мобільні генетичні структури бактерій). Плазміди мають розмір 0,1-5% ДНК хромосоми. Маса плазмід значно менша маси хромосом. Надають бактеріям додаткових властивостей. Хромосома і плазміда здатні до автономного самокопіювання – реплікації, а тому їх називають **реплiконами.**

R-фактор – це плазміда множинної резистентності до ряду антибіотиків, сульфаніламідних препаратів, наприклад: в кишкової палички, шигел. R-фактор знаходиться в автономному стані і рідко вбудовується в хромосому. До складу його входять гени, які контролюють стійкість до деяких антибіотиків (стрептоміцин, тетрациклін, хлорамфенікол) і сульфаніламідів, а також гени, які обумовлюють властивість клітини до коньюгації. R-фактор передається іншим бактеріям, робить їх стійкими до антибіотиків і сульфаніламідів, що має велике значення при лікуванні інфекційних хворих. **Ent-плазміди** – детермінують продукцію ентеротоксину. **Hly-плазміда** детермінує у бактерій синтез гемолізинів. **К-плазміда** детермінує синтез зовнішнього шару клітинної стінки, синтез поверхневих антигенів, у деяких – синтез капсули. **Pen, Ure** детермінують синтез ферментів до певних речовин. **Плазміди патогенності** детермінують окремі ознаки патогенності (адгезію, пенетрацію). **Плазміди біодеградації** детермінують утилізацію окремих органічних сполук, які бактерії використовують як джерело вуглеводу та енергії. **Tra-оперон** в грамнегативних бактерій забезпечує кон'югативність плазміди.

Плазміди є зручною моделлю для експериментів по штучній реконструкції генетичного матеріалу, широко застосовуються в генній інженерії для одержання рекомбінантних штамів.

Молекула ДНК в бактерій двоспіральна, замкнена в кільце: містить від 3000 до 5000 генів. При поділі клітини спіраль подвоюється, кожна з ниток служить матрицею, на якій будується нова нитка. При цьому кожна нитка, яка виникла в процесі поділу клітини, містить двоспіральну молекулу ДНК.

До складу ДНК вхолять 4 азотисті основи – аденін, гуанін, цитозин і тимін. Порядок розташування їх в ланцюгу в різних організмів визначає їх спадкову інформацію, закодовану в ДНК. Функціональною одиницею спадковості є **ген** – частина нитки ДНК. В генах записана вся інформація властивості клітини. Функціональною одиницею геному є **оперон**.

Основи популяційної генетики

В організмі людини бактерії знаходяться у вигляді популяцій, які локалізуються в певних біотопах (порожнина рота, просвіт кишки і т.п.). Стабільність і виживання популяцій визначають генофондом, тобто сокупністю генотипів всіх мікробних клітин.

В процесі життєдіяльності мікробних популяцій в ній з'являються окремі особини зі зміненими ознаками, які являються гетерогенними по відношенню до більшості клітин. Виживання і розмноження гетерогенних клітин під дією спрямованого відбору визначаються відповідністю ознак окремих клітин новим умовам існування. Чим вища гетерогенність популяцій, тим більше шансів на її виживання.

При нагромадженні гетерогенних особин, які мають селективні переваги перед вихідними клітинами, змінюється генофонд популяцій. **Мінливість генофонду** мікробної популяції може бути поділена на два типи: **фенотипову** – модифікаційну і **генотипову** – мутаційно-рекомбінаційну (плазміди, транспозони, *IS*-послідовності, помірні і дефектні фаги, трансдукуючі бактеріофаги).

Молекулярно-генетичні механізми гетерогенності мікробних популяцій різноманітні, оскільки в самій природі ДНК закладено два механізми: збереження стабільності генома і забезпечення його мінливості.

Повний набір генів, яким володіє клітина називається **генотипом**. **Гени** поділяються на **структурні** (несуть інформацію про конкретні білки, які виробляє клітина), **ген-оператор** (включає в роботу структурний ген), і **гени-регулятори** (регулюють роботу між зовнішнім середовищем і роботою геному) і **продукти гена-регулятора** можуть реагувати з деякими кільцевими продуктами ферментних процесів і утворювати комплекси, що діють на ген-оператор. Наприклад, клітина виробляє ті білки, які необхідні їй в даний момент, але при зміні умов гени-регулятори змінюють властивості клітини, пристосовуючи їх до нових умов. Зміни морфологічних, біохімічних та інших властивостей взаємозв'язані.

Фенотипова мінливість – це модифікація мікроорганізмів яка виникає як відповідь клітини на несприятливі умови її існування і зникає при усуненіі фактора, який викликав дану модифікацію. Це адаптивна реакція на зовнішні подразники. Вона не веде до зміни генотипу, в зв'язку з чим ці зміни по спадковості не передаються. Фенотип мікроорганізмів хоча і залежить від навколишнього середовища, але контролюється генотипом, оскільки характер і ступінь можливих для даної клітини фенотипових змін визначається набором генів, кожен з яких представлений певною ділянкою молекули ДНК.

Модифікації можуть бути:

- **Морфологічні** – зміна форми, величини бактерій. Наприклад: пеніцилін доданий до поживного середовища, клітини деяких бактерій при цьому подовжуються. При недостачі в середовищі солі кальцію палички сибірської виразки мають властивість до підвищеного спороутворення. А при підвищеній концентрації ця властивість втрачається. При довготривалому

культивуванні в поживному середовищі виникає поліморфізм (вплив продуктів їх життєдіяльності).

- **Культуральні** – це зміна культуральних властивостей бактерій при зміні складу поживного середовища. При недостачі кисню стафілокок не утворює пігменту, чудесна палочка при кімнатній температурі утворює яскраво-червоний пігмент, а при 37^{o} С – цю властивість губить.
- **Біохімічні** (ферментативні) модифікації. Кожен вид бактерій має певний набір ферментів, завдяки яким вони засвоюють поживні речовини. Ці ферменти виробляються на певних поживних субстратах і визначені генотипом. В процесі життєдіяльності функціонують не всі гени, є запасні можливості, це вироблення адаптивних ферментів (лактаза кишкової палички). Ці властивості не передаються по спадковості.

Генотипова (спадкова) **мінливість** може виникати в результаті мутацій і генетичних рекомбінацій.

Мутації (від латинського "*mutatio*" – змінювати) – це структурні зміни генів (зміни послідовності нуклеотидів в ДНК), які фенотипово передаються по спадковості у вигляді зміненої ознаки:

- **великі** мутації (геномна перебудова) супроводжується випадінням або зміною відносно великих частин геному.
- **дрібні** мутації (**точкові**) зв'язані з випадінням або додаванням окремих основ ДНК. При цьому змінюється лише невелика кількість ознак. Такі зміни можуть повністю повертатися в початковий стан.

Зміни послідовності нуклеотидів в ДНК можуть бути як ***наслідок*** різних ***процесів***: помилка при реплікації, випадіння ділянок – делеція, переміщення окремої ділянки відносно іншої – транслокація.

Бактерії з зміненими ознаками називаються **мутантами.** Фактори, які викликають утворення мутантів отримали назву **мутагенів.**

Бактеріальні мутації *за походженням* поділяють на **спонтанні і індуковані**.

Спонтанні (мимовільні) мутації виникають під впливом неконтролюючих факторів, тобто без втручання експериментатора.

Індуковані (спрямовані) мутації утворюються в результаті обробки мікроорганізмів спеціальними мутагенами (хімічними речовинами, випромінюванням, температурою).

В результаті бактеріальних мутацій можуть змінюватись морфологічні властивості, культуральні, виникати стійкість до лікарських препаратів, мікроорганізми гублять властивість утворювати амінокислоти, послаблюються хвороботворні властивості і ін.

Якщо мутація приводить до того, що мутагенні клітини набувають переваг в порівнянні з іншими клітинами, то формується популяція з мутантних клітин і всі набуті властивості передаються по спадковості. Якщо ж мутація не дає клітині переваг, то мутантні клітини гинуть.

Мутації як напрямок мутаційної зміни поділяються на:

- **прямі** – мутації, які виникають в геномі “дикого типу” у бактерій в природніх умовах;
- **зворотні** – мутації, які завершуються поверненням від мутантного типу до дикого.

Як особливу форму мінливості необхідно відмітити **дисоціацію** (описану П. де Крюі і Дж.Аркрайтом). **Дисоціація** – це виникнення в популяції мікроорганізмів особин, які відрізняються від вихідних мікроорганізмів зовнішнім виглядом і структурою колоній (утворення колоній двох типів): **S-форми** (гладкі, круглі колонії, вологі, блискучі з рівними краями, (“*smooth*” англ.– гладкий), більш вірулентні, клітини нормальної морфології, біохімічно активні, виділяються в гострому періоді захворювання, у капсульних видів добре розвинуті капсули, у рухливих бактерій є джгутики); **R-форма** (від англ “*vough*” – шорсткуватий) це плоскі, непрозорі, неправильної форми з нерівними краями колонії, сухі з зазубреними краями, авірулентні, мало біохімічно активні. Існують перехідні форми: **M-форми** (слизові) і **g-форми** – карликові. S-форми можуть переходити в R-форми через **O-форми**. Дисоціація спостерігається у багатьох бактерій, у збудника сибірської виразки, чуми і інших. Хвороботворні бактерії бувають в S-формі, як вийняток – це бактерії туберкульозу, чуми, сибірської виразки – R-форма. Зміни можуть бути неспадкові (фенотипова мінливість) і спадкові (генотипова мінливість).

Дисоціація розглядається як явище генетичної природи, зв’язане з хромосомними мутаціями генів, які контролюють синтез ліпополісахаридів клітинної стінки бактерій.

Генетичні рекомбінації. **Рекомбінація** – виникнення нової послідовності генів в ДНК в результаті розривів і наступних відновлень її молекул. В результаті таких змін в ДНК бактерій з’являються нові рекомбінантні штами, або р е к о м б і н а н т и. Відомі два типи елементів: ***IS-елементи та транспозони***. ***IS-елементи*** **–** специфічно мігруючі фрагменти ДНК, які містять гени, необхідні для інтеграції з негомологічними ділянками репліконів; ***транспозони*** – складні генетичні структури, які містять в своєму складі IS-елементи і додаткові гени.

На бактеріях були відкриті **молекулярні механізми генетичних рекомбінацій: трансформація, трансдукція, кон’югація.** В процесі генетичного переносу беруть участь бактерія-реципієнт і бактерія-донор. Всі етапи рекомбінації у бактерій забезпечуються відповідними ферментами: рестриктазами, лігазами та іншими.

Трансформація. Це перетворення, перебудова бактерій може виникнути при передачі ДНК з одної клітини в другу без їх безпосереднього контакту: ДНК, виділена з бактерій у вільній розчинній формі, передається бактерії-реципієнту. Це можливо при вирощуванні культури бактерій на середовищах, які містять мертві клітини, фільтрати або екстракти інших культур. В цьому випадку бактерії набувають ознак тих мікроорганізмів, з якими вони були вирощені, а потім передають ці властивості нащадкам.

В 1928 році Гріфітс в дослідах на мишах показав перетворення безкапсульного пневмококу в капсульний, який вів до смерті миші. Він вводив мишам культуру живого безкапсульного пневмокока з вбитими капсульними пневмококами. Від померлих мишів замість непатогенного безкапсульного пневмококу був виділений патогенний капсульний, який передавав властивості утворювати капсулу своїм потомкам.

В 1944 році Евері встановив, що трансформуючим фактором, який міг передавати властивості одного мікроорганізму іншому, є ДНК. Після цих робіт було доведено, що генетична інформація локалізується в ДНК, а не в білку.

За допомогою чистих препаратів ДНК можна здійснити передачу різних ознак від одного мікроорганізму іншому. Наприклад: стійкість до антибіотиків і різних отрут, передачу вірулентності, синтез ферментів, капсулоутворення. Клітини, які здатні поглинати ДНК називаються компетентними. Однак, включаючи ДНК в геном клітини можуть тільки близькородинні штами. При включенні отриманих генів в хромосому бактерії набувають властивостей, одержаних від інших бактерій.

Трансдукція – це передача ДНК від бактерії-донора до бактерій-реципієнтів за допомогою бактеріофага. Вперше в 1951 році було доведено, що бактеріофаги, які розмножуються в штамі дифтерійних бактерій (утворюючі токсини), можуть перенести цю властивість на нетоксичний штам збудників дифтерії.

Трансдуктивними властивостями володіють помірні фаги. Розмножуються в бактеріальній клітині, фаги включають до складу своєї ДНК частину бактеріальної ДНК і передають її реципієнту. Розрізняють три типи трансдукції: загальну (неспецифічну), специфічну, абортивну.

- **Неспецифічна (загальна) трансдукція** – це передача різних генів, локалізованих на різних ділянках бактеріальної хромосоми. Неспецифічна трансдукція обумовлена включенням ДНК донора в головку фага додатково до генома фага або замість генома фага (дефектні фаги). При цьому бактерії-донори можуть передавати реципієнту різноманітні ознаки і властивості: властивість утворювати нові ферменти, стійкість до лікарських препаратів і т.д.
- **Специфічна трансдукція** – це заміщення генів фага генами хромосоми клітини-донора. Тому передаються певні ознаки і властивості.
- **Абортивна трансдукція.** Фрагмент ДНК, який переносить фаг, не вступає в рекомбінацію з хромосомою реципієнта і не реплікується, але з нього зчитується інформація про синтез відповідного продукта. Переноситься фагом один фрагмент хромосоми донора. Звичайно цей фрагмент не включається в хромосому клітини реципієнта, а циркулює в цитоплазмі. При поділі клітини реципієнта цей фрагмент передається лише одній з двох дочірних клітин, а другій клітині дістається незмінена хромосома реципієнта.

За допомогою фагів від одних бактерій іншим можна передати властивість розщеплювати цукор, утворювати спори, джгутики, стійкість до пеніциліну.

Коньюгація - це передача генетичного матеріалу (ДНК) з клітини-донора (“чоловічої”) в клітину-реципієнт (“жіночу”) при контакті клітин між собою. В цьому випадку між двома бактеріями утворюється місток і хромосома з однієї клітини переходить в другу. Відкрили це явище Ледерберг і Тетум в 1947 році під електронним мікроскопом. Пізніше в штамах бактерій були знайдені статеві відмінності. Існують культури-донори (F^+ чоловічий тип), які віддають генетичний матеріал і культури реципієнти (F^- - жіночий тип), які сприймають його. Передача генетичного матеріалу проходить односторонньо від донорів до реципієнтів. Коньюгація описана у бактерій родини кишкових: ешерихій, сальмонел, вібріонів, родинних бактерій, між різними видами бактерій – міжвидова рекомбінація.

Вивчення коньюгації в бактерій дозволило виявити розташування генів в хромосомі кишкової палички і скласти генетичну карту цієї хромосоми.

Відміни геномів еукаріотичних і прокаріотичних клітин.

Чому ж пройшов такий поділ мікроорганізмів? Застосування електронної мікроскопії і цитохімічних методів у вивченні тонкої структури клітини дало можливість виділити два типи клітин: еукаріотичний і прокаріотичний.

Еукаріотична клітина містить ядро з вираженою ядерною оболонкою, пластинчатим комплексом (апарат Гольджі) і мембранними структурами, такими, як мітохондрії і хлоропласти, в яких знаходиться частина клітинного геному. Ця клітина є структурною основою тварин і рослин.

Однією з особливостей прокаріотичної клітини є відсутність системи мембран. У більшості прокаріотів є лише цитоплазматична мембрана з її складною будовою і багаточисленними функціями. Спадкова інформація прокаріотів закладена в одній молекулі ДНК, яка і виконує функцію ядра.

Роль цитоплазматичних, генетичних структур в мінливості мікроорганізмів

Здатність до передачі генетичного матеріалу залежить від наявності спеціального фактору плодовитості, або F-фактору, який відноситься до **епісомів**. **F-фактор** – це невелика хромосома, яка розташовується автономно в цитоплазмі бактерій і тільки інколи може включатися в хромосому клітини. Фактор плодовитості містить гени, які відповідають за утворення на поверхні бактерій спеціальних ворсинок (*sex-pili*) F-ворсинок, через які проходить сполучення клітин. Якщо фактор плодовитості знаходиться в автономному стані в цитоплазмі, він легко передається від однієї клітини до іншої. В цьому випадку бактерії-реципієнти (жіночий тип), одержавши F-фактор, самі стають донорами (чоловічий тип). Однак передача спадкових ознак, розташованих в хромосомі клітини-донора, в цьому випадку не проходить.

Гени клітини-донора можуть переходити в клітину реципієнта тільки тоді, коли F-фактор включається в хромосому господаря. В цьому випадку хромосома бактерії-донора губить свою кільцевидну структуру і стає лінійною.

При цьому F-фактор розташовується на одному з кінців хромосоми. Передача хромосом в іншу клітину через утворений цитоплазматичний місток починається з протилежного кінця, з так званої О-точки (від "*origin*" початок). Останнім в клітину-реціпієнта поступає F-фактор.

Передачу хромосоми можна перервати в любий момент, роз'єднавши клітини, наприклад: струшуванням. Тоді рецепієнт одержить лише частину інформації з ДНК донора. Штами кишкової палички, які володіють високою можливістю до передачі хромосом, названі *Hfr (higt frecnensy of recombination* – висока ступінь рекомбінації).

В результаті рекомбінації генів утворюються рекомбінанти, які мають ознаки батьків.

Статевий фактор (фертильності), який знаходиться в цитоплазмі клітин $\mathbf{F}^+$ (чоловічих) або Hrf (у випадку зчіплення фактора F з хромосомою); **F-плазміди** є статевим фактором бактерій, який здійснює здатність до кон'югації і утворення статевих пілей;

Col-фактор (коліцитогенності) виявлений в кишкової палички або **бактеріоциногенності** (вібріони, пестицини чуми), які повідомляють штаму можливість виділяти особливі антибіотичні речовини проти іншого штаму того ж виду мікроорганізму. В інших бактерій, наприклад, стафілококів – стафілоцини. **Col-фактор** – це маленька автономна плазміда, яка детермінує синтез білкових речовин, які здатні викликати загибель бактерій власного виду чи близькородинного. **Бактеріоцини** адсорбуються на поверхні чутливих клітин і викликають порушення метаболізму, що приводить клітину до загибелі. В природніх умовах лише одиничні клітини в популяції (1 на 1000) спонтанно продукують коліцини. Але при ультрафіолетовому опроміненні число продуцентів коліцинів збільшується.

Практичне значення вчення про генетику мікроорганізмів і генна інженерія в медичній мікробіології.

Ще Л.Пастер штучним шляхом отримав зміни у збудника сказу, сибірської виразки і виготовив вакцини, які охороняють від цих захворювань. Дослідження в області генетики і мінливості мікроорганізмів дозволили отримати велику кількість бактеріальних і вірусних штамів, які використовуються для отримання вакцин. Результати дослідження генетики мікроорганізмів з успіхом були використані для вияснення закономірностей спадковості вищих організмів.

Велике наукове і практичне значення має також новий розділ генетики – **генна інженерія.** Плазміди є зручною моделлю для експериментів по штучній реконструкції генетичного матеріалу, широко застосовуються в генній інженерії для одержання рекомбінантних штамів.

Методи генної інженерії дозволяють змінювати структуру генів і включати в хромосому бактерій гени інших організмів, відповідальних за синтез важливих і необхідних речовин. В результаті мікроорганізми стають продуцентами таких речовин, отримання яких хімічним шляхом є складним, а інколи неможливим завданням. Так отримують інсулін, інтерферон і ін. При

використанні мутагенних факторів і селекції були отримані мутанти – продуценти антибіотиків.

Розвиток молекулярної генетики став стимулом для досліджень, присвячених вивченню молекулярно-генетичних основ патогенності та імуногенності мікроорганізмів, механізмів утворення нових біологічних варіантів патогенних і умовно-патогенних мікроорганізмів, розповсюдженням антибіотикорезистентних штамів на фоні великого арсеналу хіміотерапевтичних засобів, які сприяють нагромадженню в популяції резистентних форм бактерій та формуванню лікарсько-стійких популяцій із зміненими патогенними і іншими властивостями.

Зміни імунологічної реактивності макроорганізму в результаті дії факторів навколишнього середовища, а також лікарських препаратів, мають вплив на фенотипові зміни патогенних генотипів. Ми це спостерігаємо при інфекційних хворобах в змінах патогенетичних і клінічних особливостей і при розповсюдженні вгутрішньолікарняних інфекцій.

Досягнення генної інженерії дозволяють створити нові генетичні елементи із нуклеотидних послідовностей, які несуть задану інформацію, способи перенесення її в клітини прокаріотів і еукаріотів.

Нові генетичні елементи являють собою рекомбінантні молекули ДНК, які включають два компоненти: вектор-переносник і клонована “чужерідна” ДНК. Вектор повинен мати властивість реплікона і забезпечити реплікацію новоствореної рекомбінантної молекули. Тому, як вектор, застосовують такі реплікони, як плазміди, помірні фаги, віруси тварин, які мають циркулярну замкнену структуру ДНК. Клонуюча ДНК – це фрагмент ДНК, який несе необхідний ген, що контролює синтез необхідного продукта. Зараз розроблені різні технологічні прийоми створення рекомбінантних молекул. Найбільш простий принцип зводиться до обробки виділених молекул ДНК вектора і ДНК, що несе необхідний ген, ферментами рестриктазами (ендонуклеази рестрикції), які атакують взяті молекули ДНК в строго визначеній ділянці. Деякі рестриктази розщеплюють молекули ДНК з утворенням одної нитки комплементарної один до одного кінців, так званих “липких” кінців.

Тобто, першим етапом є “розростання” молекул ДНК за допомогою ендонуклеаз рестрикції. Другий етап складає обробку отриманих лінійних молекул ферментом полінуклеотидлігазою, яка “зшиває” дві різних молекули в одну рекомбінантну, третій – у введенні рекомбінантних молекул методом трансформації в клітині ***E.coli*** або інших мікроорганізмів, наприклад дріжджів.

Генетична інженерія в біотехнології

Генетичну інженерію відносять до новішої біотехнології. За допомогою генетичної інженерії отримують рекомбінантні ДНК, які крім власної “господарчої” ДНК набору природнії генів, містить “чужиий” ген або гени, взяті з іншої ДНК. Налічує 4 етапи:

1) виділення ДНК з клітин організму;
2) отримання гібридних (рекомбінантних) молекул ДНК шляхом вбудування у вихідну ДНК “чужого”гена, що виділений з іншої ДНК або отриманого хімічним синтезом;

3) введення рекомбінантної ДНК в живу клітину (бактерій, дріжджів, рослинних або тваринних клітин, клітин людини);
4) створення умов для експресії генів рекомбінантної ДНК в живій клітині і секреції нового продуцента, кодуючого "чужий" геном.

Спочатку з ДНК клітини клонується ген якогось продукту – інсуліну чи інтерферону природний або хімічно синтезований. Розщеплюється ДНК за допомогою ферментів рестриктаз. Ген продукту вбудовується в ДНК (в плазміду бактерії чи в ДНК віруса). Вставлений ген в розщеплену ДНК "зшивається" з тією ДНК за допомогою ферментів лігаз. Отримана рекомбінантна ДНК бактерії чи віруса вводиться в цю ж мікробну клітину чи вірусну частинку з якої була взята, утворюється рекомбінантний штам бактерій або вірусів.

При культивуванні рекомбінантного штаму в процесі росту і розмноження цей штам синтезує не властивий йому продукт. На цьому принципі отримано сотні рекомбінантних штамів бактерій, дріджів, вірусів, які здатні виробляти антигени, антитіла, ферменти, гормони, імуномодулятори. Зараз застосовуються гормони (інсулін і гормон росту людини), антикоагулянти і тромболітики (тканинний активатор плазміногену, фактори VIII і IX), вакцини (дріжджова вакцина проти гепатиту В), імуномодулятори (інтерферон α, β і γ, інтерлейкіни 1,2 і ін., фактор некрозу пухлин, пептиди тимуса, мієлопептиди), ферменти (уреаза), ангіогенін, діагностичні препарати (на ВІЛ-інфекцію, на вірусні гепатити і ін.), моноклональні антитіла, колонієстимулюючі фактори (макрофагальний, гранулоцитарний і ін.), багато біологічно активних пептидів (пептиди сну, страху і т.д.).

Застосовується генна інженрія коли потрібну речовину неможливо отримати іншим способом, якщо технологія виробництва економніша і ефективніша, більш безпечна для людини. Так антигени для створення вакцин проти мікроорганізмів які не культивуються (плазмодії малярії, збудник сифілісу) можна отримати лише генно-інженерним способом. Генно-інженерний інтерферон активніший інтерферону, отриманого з лейкоцитів крові і дешевший. Виготовлення препаратів з антигенів збудників (чуми, холери) можна замінити біосинтезом їх рекомбінантними штамами непатогенних бактерій.

Метод генної інженерії дозволить отримати препарати, нові полівалентні живі (векторні) вакцини, регуляторні білки, здійснити генодіагностику і генотерапію. Майбутнє генетичної інженерії – це розшифрування геному людини, яка дозволить вирішити проблему генотерапії, генопрофілактики і генодіагностики хвороб. З 100 000 генів, які містяться в хромосомі людини, вже розшифровано біля 5 000 генів, і на основі цього є дані про успішну генотерапію деяких хвороб.

Новим є **полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР).** ПЛР дозволяє виявити мікроб в досліджуваному матеріалі (воді, продуктах, матеріалі від пацієнта) за вмістом ДНК мікроба в біоматеріалі без виділення чистої культури.

Для того з досліджуваного матеріалу виділяють ДНК, а наявність збудника визначають за виявленням у виділеній ДНК специфічного для мікроба

гена. Для виявлення гена його нагромаджують. Для того необхідно мати **праймери,** комплементарні 3′ – кінцям ДНК шуканого гена. *Нагромадження (ампліфікація) гена* здійснюється так: виділену з досліджуваного матеріалу ДНК нагрівають, і ДНК розпадається на дві нитки. Додають праймери, пізніше суміш ДНК і праймерів охолоджують. При цьому праймери при наявності в суміші ДНК шуканого гена зв'язуються з його комплементарними ділянками. Додають ДНК-полімеразу і нуклеотиди. При температурі, оптимальній для функціонування ДНК-полімерази, нуклеотиди приєднуються до 3 кінців праймерів, в результаті чого синтезуються дві копії гена. Після того цикл знову повторюється, при тому кількість ДНК гена буде збільшуватися кожен раз в 2 рази. Реакцію проводять в спеціальних приладах – ампліфікаторах. ПЛР застосовують для діагностики вірусних і бактеріальних інфекцій.

Питання для самоконтролю:

1. Хто відкрив явище бактеріофагії?
A. М. Гамалія
B. Ф. д'Ерель
C. Ф. Туорт
D. С. Івановський
E. С. Виноградський

2. Головчаста (сперматозоїдна) форма у вірусів:
A. Бактеріофагів
B. Грипу
C. Папіломи
D. Герпесу
E. Жовтої гарячки

3. Головка фага містить кислоту:
A. Олеїнову
B. Нуклеїнову
C. Пальмітинову
D. Всі вищеназвані
E. Всі відповід невірні

4. Дистальний відросток має фермент:
A. Фосфатазу
B. Ліпазу
C. Лізоцим
D. Протеазу
E. Ревертазу

5. Літична дія фагів на бактерії:
A. Строго специфічна

B. Зовсім неспецифічна
C. Умовноспецифічна
D. Вибірково специфічна
E. Всі відповіді невірні

6. За механізмом взаємодії з бактеріями фаги поділяють на:
A. Інертні
B Вірулентні і помірні
C. Токсичні
D. Всі відповіді вірні
E. Всі відповіді невірні

7. До складу деяких фагів входить:
A. Гексагональна головка
B. Стержень з білковим чохлом
C. Пластинка з фібрилами
D. Всі перелічені структури
E. Всі відповіді невірні

8. Розмір головки фага:
A. 10-20 нм
B. 20-30 нм
C. 60-100 нм
D. 110-120 нм
E. 150-200 нм

9. Хімічний склад фагів представлено:
A. ДНК (РНК)
B. Білками
C. Ліпідами в оболонці
D. Всі відповіді вірні
E. Всі відповіді невірні

10. За специфічністю дії фаги поділяють на:
A. Полівалентні
B. Монофаги
C. Типоспецифічні
D. Всі відповіді вірні
E. Всі відповіді невірні

11. При внесенні фага на агарову культуру бактерій виникають:
A. Негативні колонії (бляшки)
B. Опуклі колонії
C. Каламутні колонії
D. Всі відповіді вірні

E. Всі відповіді невірні

12. Вірулентні фаги викликають у бактерій:
A. Явище лізогенії
B. Повний лізис
C. Посилений ріст
D. Появу стійких форм
E. Дисоціацію

13. Вмонтований в хромосому клітини бактеріофаг носить назву:
A. Інтерфаг
B. Лізофаг
C. Профаг
D. Всі відповіді вірні
E. Всі відповіді невірні

14. При лізогенії відбувається:
A. Повний лізис бактерій
B. Фаг видаляється з бактерій
C. Інтеграція фага в геном клітини
D. Всі відповіді вірні
E. Всі відповіді невірні

15. При фаговій конверсії змінюються:
A. Властивості бактерій
B. Властивості фагів
C. Властивості і тих і других
D. Всі відповіді вірні
E. Всі відповіді невірні

16. Бактеріофаги чутливі до дії:
A. Кип’ятіння
B. Ультрафіолетових променів
C. Дезінфікуючих розчинів
D. Всі відповіді вірні
E. Всі відповіді невірні

17. Бактеріофаги існують скрізь, де є відповідні їм:
A. Бактерії
B. Віруси
C. Віроїди
D. Пріони
E. Транспозони

18. Бактеріофаги отримують:

A. З антибіотикорезистентних культур
B. З лізогенних бактерій
C. З прокип'ячених бактерій
D. З автоклавованих бактерій
E. Ліофілізованих бактерій

19. Бактеріофаги стійкі до дії:
A. Високого тиску
B. Рентгенівських променів
C. Іонізуючого випромінювання
D. Всі відповіді вірні
E. Всі відповіді невірні

20. Визначення титру фагів на агарі проводять за методом:
A. Аппельмана
B. Граціа
C. Пастера
D. Коха
E. Здродовського

21. Титр фагу за Граціа визначають:
A. Числом бляшок на агарі, помножених на розведення фагів
B. Числом бляшок, шо з ’явились після посіву нерозведеного фагу
C. Числом бляшок на агарі, поділених на розведення фагів
D. Всі відповіді вірні
E. Всі відповіді невірні

22. Для визначення титру фагів у бульйоні використовують метод
A. Граціа
B. Аппельмана
C. Пастера
D. Коха
E. Здродовського

23. Титром фагу за Аппельманом вважають:
A. Максимальне його розведення, що викликає повний лізис бактерій
B. Мінімальне розведення, що викликає повний лізис бактерій
C. Мінімальне розведення, що викликає неповний лізис бактерій
D. Всі відповіді вірні
E. Всі відповіді невірні

24. При внесенні фага в бульйонну культуру бактерій наступає:
A. Просвітління бульйону
B. Помутніння бульйону
C. Випадання осаду

D. Утворення плівки
E. Всі відповід вірні

25. Бактеріофаги використовують для:
A. Фагоіндикації
B. Фаготипування
C. Фаготерапії
D. Всі відповіді вірні
E. Всі відповіді невірні

26. Фаготипування бактерій проводять для встановлення:
A. Механізму розвитку хвороби
B. Джерела інфекції
C. Способу передачі збудника
D. Способу лікування
E. Картування хромосом

27. Вкажіть плазміди бактерій, які кодують здатність бактерій продукувати ентеротоксини:
A. R-фактор
B. F-фактор
C. Col-фактор
D. Фактор переносу (RTF)
E. Ent-фактор

28. Які клітинні структури є носіями спадковості у бактерій:
A. Капсули
B. Ворсинки
C. Джгутики
D. Нуклеоїд
E. Пігмент

29. Які клітинні структури є носіями спадковості у бактерій:
A. Спори
B. Плазміди
C. РНК
D. Цитоплазматична мембрана
E. Мезосома

30. Позахромосомними елементами спадковості є:
A. Col-плазміда
B. Трансформуюча ДНК
C. Ендоплазматичний ретикулюм
D. Мезосоми
E. Мітохондрії

31. Позахромосомними елементами спадковості є:
A. Плазміди
B. Гени
C. ДНК
Д. РНК
E. Мезосоми

32. Спадкові форми мінливості:
A. Мутація
B. Адаптація
C. Комбінація
D. Транслокація
E. Трансляція

33. Модифікаційні форми мінливості:
A. Трансформація
B. Фенотипна мінливість
C. Фагова конверсія
D. Специфічна трансдукція
E. Рекомбінація

АНТИБІОТИКИ

Термін “антибіотики” був введений в 1942 році вченим З.Ваксманом. Антибіотики називати хімічними речовинами, які утворюють мікроорганізми, що здатні пригнічувати ріст і викликати загибель визначених бактерій. Пізніше до антибіотиків віднесли речовини рослинного походження – фітонциди, а також речовини. що були виділені з тваринних тканин – еритроцитів, печінки.

Введення терміну було пов’язано з одержанням і введенням в лікувальну практику нового хіміотерапевтичного препарату пеніциліну, активність якого по відношенню до патогенних коків і інших бактерій значно перевищувала дію сульфаніламіду.

Ідея антибіотикотерапії народилась задовго до відкриття пеніциліну. Її джерелом були антагоністичні взаємовідношення між мікроорганізмами, коли один з них в процесі своєї життєдіяльності пригнічує ріст інших. Перші спостереження мікробного антагонізму були зроблені Л.Пастером, а пізніше В.А.Манасеїним (1871 р.) і А.Г.Полотебновим (1872 р.), які описали лікувальні властивості зеленої плісені. В 1894 р. І.І.Мечніков запропонував використати **молочно-кислі бактерії** (антагоністи гнилісних бактерій) для пригнічення розмноження бактерій в кишківнику людини. Пізніше з’явились багаточисленні роботи в нашій країні і за її кордоном, в яких відмічалось широке розповсюдження антагонізму серед грибів, актиноміцет, бактерій, лишайників і водоростів.

Перший антибіотик бактеріального походження **тіротріцин** був отриманий в 1939 р. В.Дюбо з грунтової спорової палички *B.brevis*. Зараз виділено більше 2000 різних антибіотиків, з яких лише декілька десятків знайшли своє практичне застосування в клінічній медицині.

Першим відкрив **пеніцилін** англійський мікробіолог А.Флемінг, який, починаючи з 1920 року, вивчав антибактеріальні властивості зеленої плісені – гриба роду *Penicillium*. Флемінг більше 10 років пробував одержати і виділити пеніцилін з культуральної рідини в хімічно чистому вигляді для клінічного застосування. Але це йому вдалося зробити лише в 1940 році після початку Другої світової війни, коли необхідні були більш ефективні, ніж сульфаніламіди, лікарські речовини для лікування гнилісних ускладнень ран і сепсису. Англійському патологу Г.Флорі і біохіміку Е.Чейну вдалось виділити нестійку пеніцілінову кислоту і отримати її сіль, яка стабільно зберігає свою антибактеріальну активність (очищений пеніцилін). В 1943 році виробництво пеніциліну було розгорнуто в США. Є.В.Єрмольєва була одним з організаторів виробництва пеніциліну в нашій країні під час Великої Вітчизняної війни в 1942 р. В 1945 році А.Флемінг, Г.Флорі і Е.Чейн стали Нобелівськими лауреатами.

Успіх клінічного застосування пеніциліну послужив сигналом для проведення широких досліджень в різних країнах світу, спрямованих на пошуки нових антибіотиків. Так з цією метою було вивчено можливість застосування багаточисленних штамів грибів, актиноміцет і бактерій, які зберігаються в мікробних музеях різних інститутів і мікроорганізмів виділених знову з грунту, виробляти антибіотичні речовини. В результаті цих досліджень Ваксманом та іншими в 1943 році був відкритий стрептоміцин, а пізніше і інші антибіотики.

Антибіотики (від грецького "*anti bios*" – проти життя) – це хіміотерапевтичні речовини, які виділяють бактерії, плісневі гриби, актиноміцети, рослини і клітини тварин, а також їх похідні і синтетичні продукти, які мають властивість пригнічувати розмноження мікробів і викликати їх загибель, а також пригнічувати розвиток злоякісних новоутворень.

Існують різноманітні класифікації антибіотиків, однак ні одна з них не є загальноприйнятою. Антибіотики класифікують за походженням, хімічним складом, механізмом інгібуючої дії на мікробні клітини, антимікробним спектром, частоті виникнення антибіотикорезистентних форм бактерій.

Класифікація антибіотиків.

1. За **хімічним складом** природні антибіотики класифікують на 8 класів –

- І клас – азотовмісні гетероциклічні сполуки, які мають в своєму складі β-лактамне кільце - **β-лактами** (група *пеніциліна* і *напівсинтетичні пеніциліни* – метицилін, оксацилін, ампіцилін, карбеніцилін; *група цефалоспорина* – цефалоридин, цефалексин, цефамандол, цефуроксим, кефзол, мандал, кефлор і ін.);

- II клас – **макроліди**, які містять макроциклічне лактонне кільце, зв'язане з аміноцукрами (еритроміцин, олеандроміцин, азитроміцин і близько до нього ріфаміцини);
- III клас – **аміноглікозиди**, до складу яких входять група стрептоміцина – стрептоміцина сульфат і його похідні, які складаються з трьох частин: стрептидина, стрептози, N-метилглюкозаміна; та **аміноглікозидні антибіотики**, які містять дезоксистрептамін: неоміцин, мономіцин, канаміцин, гентаміцин, амікацин, тобраміцин та ін.;
- IV клас – **тетрацикліни** (тетрациклін і його напівсинтетичні похідні – окситетрациклін, хлортетрациклін, морфоциклін, метациклін, доксициклін, віброміцин, які містять 4 конденсованих бензольних кілець з різними радикалами);
- V клас – **поліпептиди** (поліміксини, бацитрацин і ін.);
- VI клас – **поліенові антибіотики** або **поліени** – ністатин, леворин, амфотерицин В; ациклічні сполуки з декількома спряженими подвійними зв'язками – (CH=CH)– ;
- VII клас – **анзаміцини** (рифампіцини, входить природній антибіотик рифаміцин і його напівсинтетичне похідне рифампіцин; мають своєрідну складну хімічну структуру, в яку входить макроциклічне кільце);
- VIII клас **ароматичні сполуки**, похідні диоксиамінофенілпропану (левоміцетин, лінкоміцин, гризеофульвін).

Деякі з антибіотиків мають порівняно просту хімічну будову (тетрацикліни, левоміцетин), інші (пеніциліни, стрептоміцин, еритроміцин) – більш складну. Левоміцетин – синтетична речовина, ідентична природному антибіотику хлорамфеніколу, до складу якого входить нітрофеніл, дихлорацетамін і пропандіол.

2. **За походженням з джерела одержання** розрізняють **6 груп** антибіотиків:

- Антибіотики, які утворюють **бактерії** родів *Bacillus* і *Pseudomonas*. Найбільше практичне значення мають **поліміксини і граміцидин С.**

Поліміксини об'єднують групу антибіотиків, однакових за хімічною будовою і біологічною дією, одержані при біосинтезі з декількох видів бацил (*Bacillus polymyxa* та ін.).

Граміцидин С одержаний в 1942 р. П.Ф.Гаузе і М.Г.Бражніковою з *Bac.brecis*. Він діє в основному на грамдодатні мікроби – стрепто-, пневмо, ентерококи і клостридії. Застосовується місцево лише у вигляді розчинів, мазів, паст, при лікуванні поверхневих гнійних процесів, інфікованих ран і виразкових уражень.

- Антибіотики, які утворюють **актиноміцети** – представники роду *Streptomyces* – біля 80% всіх антибіотиків (**левоміцетин, ністатин, стрептоміцин, еритроміцин** і ін.); Актиноміцети є продуцентами природніх антибіотиків групи **тетрацикліну (тетрациклін, хлортетрациклін, окситетрациклін**).

Левоміцетин – синтетичний препарат, ідентичний природному хлорамфеніколу, виділеному з культуральної рідини *Streptomyces venezuelas.* З актиноміцет отримані антибіотики: **еритроміцин, олеандоміцин, канаміцин, рифампіцин, лінкоміцин** і ін. Ці препарати відносяться до антибіотиків "резерву" і застосовують їх для лікування захворювань, викликаних бактеріями, резистентними до інших антибіотиків.

- Антибіотики, які утворюють **гриби** роду *Penicillium* (**пеніцилін, гризеофульвін**) і роду *Cephalosporium* (**цефалоспорини** і ін.);

З деяких штамів грибів роду *Penicillium (P.notatum, P.chrysogenum)* отримані **пеніциліни**. Пеніцилін - високоактивний у відношенні патогенних коків. Його використовують для лікування сибірської виразки, правцю, анаеробної інфекції, сифілісу і ін. Вводиться парентерально, оскільки руйнується в кислому середовищі під дією шлункового соку, не лужнолюбивий. Він швидко виводиться з організму і для підтримання терапевтичного ефекту його вводять кожні 3-4 години. Пізніше були створені препарати з продовженою дією: **екмоновоцилін, біцилін-1, біцилін-3, біцилін-5,** які з успіхом застосовуються для лікування ревматизму, сифілісу.

Зараз отримані **напівсинтетичні антибіотики**: **метіцилін, оксацилін, клоксацилін**, які не руйнуються пеніциліназою і застосовуються для лікування інфекцій, викликаних стійкими до пеніциліну стафілококами. **Ампіцилін** активний у відношенні грамвід'ємних, грамдодатних бактерій. **Оксацилін і ампіцилін** стійкі до кислого середовища шлунку, що дозволяє застосовувати їх перорально.

Грибами роду *Cephalosporium* продукується антибіотик ***цефалоспорин***. Його напівсинтетичні похідні, з яких найбільше застосування знайшли **цепорін (цефалорідин) і цефомезін**, малотоксичні, володіють широким спектром дії, не руйнуються пеніциліназою, не дають алергічних реакцій в осіб, чутливих до пеніциліну, і широко використовуються для лікування багатьох інфекційних захворювань.

- Антибіотики **тваринного походження**; з риб'ячого жиру отримують **ектерицид.** В 1909 р. П.Н.Лащенковим був отриманий з білка курячого яйця **лізоцим**. Виявлено його було в молоці, слині, сльозах і тканинах організму. Має літичну дію на патогенні і сапрофітні мікроорганізми, застосовується для лікування шкірних і очних хвороб.

В 1958 р. Айзексом і Ліндеманом були виявлені **інтерферони** – білкові речовини з низькою молекулярною масою, які вироблялися клітинами організму при зараженні вірусами, вони порушували синтез нуклеїнової кислоти вірусів. Була найдена **група інтерфероногенів**, які стимулювали вироблення інтерферонів. Винайдення має велике значення для боротьби з грипом, аденовірусними інфекціями і трахомою. З.В.Єрмольєвою було одержано антибіотичну речовину з молока осетрових риб – **екмолін**, який застосовується як розчинник 0,25% розчин + новокаїнова сіль бензилпеніциліну.

- Антибіотики **рослинного походження**. Летючі речовини з бактерицидною дією виявив В.П.Токін і назвав їх фітонцидами – цибулі, редиски, часнику, які вбивають патогенні мікроорганізми. Фітонциди за хімічною структурою – це ефірні масла. Є препарати часнику: **алілсат** – 40% витяжка, яка застосовується при колітах. **Сатівін** – настойка при хронічній дизентерії. З лишайників одержано **натрієву сіль уснінової кислоти,** яку використовують для лікування ран в хірургічній практиці. **Імманіт** одержано з трави звіробою. Його застосовують для лікування гнійних процесів і важких опіків. Фітонциди знайдено в соці алое, маку, перці, редисці, хроні і ін. Застосування фітонцидів в медичній практиці обмежене, оскільки не вдається одержати добре очищені, стійкі і малотоксичні препарати. Антимікробну дію має ромашка, шалфей, календула.
- **Синтетичні** антибіотики. Найбільш важливими класами синтетичних антибіотиків є **хінолони** (наприклад, **ципрофлоксацин**), **сульфаніламіди** (**сульфадиметоксин**), **імідазоли** (**метронідазол**), **нітрофурани** (**фурадонін**, **фурагін**).

Важливі групи антибіотиків і механізм їх протимікробної дії

За механізмом антимікробної дії розрізняють п’ять груп антибіотиків. Мішенню для інгібуючої дії служить одна або декілька біохімічних реакцій, необхідних для синтезу і функціонування визначених морфологічних компонентів або органоїдів мікробної клітини, тобто клітинної стінки, ЦПМ, рибосом, нуклеоїду.

І група. **Антибіотики, які порушують синтез клітинної стінки.**

Відносяться **β-лактами** (**пеніциліни, цефалоспорини, циклосерин, ванкоміцин**). Вони вбивають бактерії і не впливають на клітини макроорганізму, оскільки останні не мають головного компонента клітинної стінки бактерій – пептидоглікана. Тому є токсичними для організму.

Пеніциліни. Найбільш активним природною сполукою є бензилпеніцилін. Решту видів пеніцилінів відрізняються від нього тим, що замість бензильного радикалу (C_2H_5—CH_2—) містять інші. Основною частиною молекули всіх пеніцилінів є 6-амінопеніцилланова кислота – складна гетероциклічна сполука, яка складається з бета-лактамного і тіазолінового кілець. Шляхом приєднання до пеніцилланової кислоти замість бензильного інших радикалів були отримані напівсинтетичні пеніциліни декількох поколінь, які відрізняються один від одного антибактеріальним спектром, стійкістю до пеніцилінази і фармакологічними властивостями.

До **1-го покоління** відносять: а) природні пеніциліни – бензилпеніцилін; б) пеніциліназостійкі напівсинтетичні пеніциліни – метицилін, оксацилін, клоксацилін, нафцилін; в) амінопеніциліни з розширеним антибактеріальним спектром – ампіцилін (петриксил), амоксицилін, циклоцилін і ін. До **2-3-тього** покоління відносять карбоксипеніциліни: карбеніцилін, тикарцилін та ін. До **4-**

того покоління відносять пеніциліни з широким антибактеріальним спектром:
а) уреідопеніциліни – мезлоцилін, азлоцилін, піперацилін і ін.;
б) амідинопеніциліни – мецилам і ін.

Пеніциліназа відноситься до ферментів бета-лактамної групи, яка викликає гідролітичне розщеплення бета-лактамного кільця з утворенням неактивної бензилпеніцилінової кислоти. Стійкість метициліна, оксациліна і інших напівсинтетичних пеніцилінів до пеніцилінази зв'язана з захистом бета-лактамного кільця від даного фермента. Комбінації пеніцилінів з інгібіторами β-лактамаз – препарати групи клавуланової кислоти (тиметин, амоксиклав) і похідні сульфонів пеніцилінової кислоти (сульбактам, тазобактам) дозволяють зруйнувати багато недоліків пеніцилінів при збереженні їх хороших властивостей. Резистеність стафілококів до пеніцилінів зв'язана з вироблення пеніцилінази, а грамвід'ємних бактерій – даним ферментом, а також з особливостями структури і хімічного складу – вмістом великої кількості ліпополісахариду в клітинній стінці.

Антибактеріальний спектр пеніцилінів 1-го покоління вузький: природні антибіотики (бензилпеніцилін) діють на гноєрідні коки і деякі грамдодатні бактерії (паличку дифтерії, клостридії і ін.). Типовими представниками протистафілококових пеніцилінів є оксацилін, метицилін і інші препарати, які стійкі до пеніцилінази. В амінопеніцилінів і карбоксипеніцилінів антибактеріальний спектр розширений за рахунок низки грамвід'ємних бактерій (ентеробактерій). Уреідопеніциліни активні у відношенні деяких інших грамвід'ємних бактерій (псевдомонад). Це пояснюється їх здатністю проникати через ліпополісахарид клітинних стінок грамвід'ємних бактерій.

Механізм антибактеріальної дії всіх пеніцилінів зв'язаний з порушенням синтезу клітинної стінки за рахунок блокування реакції транспептидування в синтезі пептидоглікана (муреїна). Оскільки пеніцилін діє на процеси біосинтезу пептидоглікана, то при відсутності пептидоглікана в клітинах людини пеніцилін нетоксичний (відсутність "мішені").

Цефалоспорини. Основним структурним компонентом цефалоспоринів є 7-аміноцефалоспоринова кислота (7-АЦК), яка має подібність з 6-амінопеніцилановою кислотою (6-АПК), основою пеніцилінів. Відмінності в хімічній структурі цих двох груп антибіотиків роблять цефалоспорини стійкими до пеніцилінази стафілококів та інших грамдодатніх бактерій. Хоча можуть руйнуватися пеніциліназами грамвід'ємних бактерій і цефалоспориназами.

До цефалоспоринів **1-го покоління** відносять цефалоридин (цепорин), цефалоксин, цефалотин (кефлін) та ін.; **2-го** покоління – цефамандол, цефуроксим, цефазолін (кефзол), мандол і ін. **3-тього** покоління – кефлор, цефтазидим (фортум), клафоран, кетоцеф та ін.

Антибактеріальний спектр цефалоспоринів 1-го покоління широкий: високоактивні проти грамдодатних бактерій і вибірково до грамвід'ємних (стафілококи, ешерихії). Мають бактерицидну дію. До них стійкі псевдомонади, протеї, ентерококи, бактероїди. Цефалоспорини 2-го покоління більш стійкі до бета-лактамаз грамвід'ємних бактерій, мають більш широкий

антибактеріальний спектр. Цефалоспорини 3-тього покоління відносяться до антибіотиків широкого спектру дії з високою стабільністю до більшості мікробних β-лактамаз. Більш активні щодо синьогнійних бактерій та бактероїдів. Високоактивні у відношенні бактерій, які резистентні до пеніцилінів і цефалоспоринів 1-го і 2-го поколінь (метицилінрезистентних і цефазолінрезистентних штамів, до амідоглікозидних антибіотиків, левоміцетину, сульфаніламідів). Інфекції, які викликані псевдомонадами, добре піддаються лікуванню цефтазидином.

Механізм антибактеріальної дії цефалоспоринів такий самий як в пеніцилінів. Цефалоспорини блокують синтез клітинної стінки. Розвиток резистентності бактерій до цефалоспоринів зустрічається рідко і проходить повільно. Відмічається перехресна стійкість бактерій до цефалоспоринів 1-го і 2-го поколінь.

Нові β-лактами: 1) похідні олівanової кислоти – карбопенеми (тієнаміцини). Характеризуються широким антибактеріальним спектром (грам+ і грам- бактерії і анаероби). Вони швидко інактивуються ферментами нирок; 2) монобактами – мають вузький антибактеріальний спектр і не діють на грамвід'ємні бактерії і анаероб; 3) похідні клавуаланової кислоти. Ці препарати є інгібіторами бета-лактамаз. Вони мають бета-лактамне кільце, і зв'язуючись з бета-лактамазами, блокують їх. Застосовуються як комбіновані препарати з іншими антибіотиками, наприклад, з амоксициліном – амоксиклавом, з тикарциліном – тиментином, який діє на деякі грамвід'ємні і грамдодатні бактерії.

Циклосерин. Антибіотик, який утворюється в процесі життєдіяльності деяких актиноміцет. Отриманий синтетичним шляхом. *Антибактеріальний спектр дії* – дія бактеріостатична на деякі грамдодатні і грамвід'ємні бактерії, здатний затримувати розмноження мікобактерій туберкульозу, відносять до антибіотиків "резерву". *Механізм антибактеріальної дії* пояснюється змінами в синтезі зшиваючого тетрапептидного ланцюга в пептидоглікані клітинної стінки за рахунок включення L-циклосерина замість D-аланіна.

II група. Антибіотики, які порушують молекулярну організацію, синтез і функціонування цитоплазматичних мембран (поліенові антибіотики, поліміксини).

Поліміксини. Група антибіотиків, яка за хімічним складом являє собою складну сполуку, що включає залишки поліпептидів. Застосовують **поліміксини В,М,Е** (Е виведений в СРСР). *Антибактеріальний спектр* – діють в основному на грамвід'ємні бактерії. Активні по відношенню до бактерій дизентерії, кишкової палички, протею, клебсієл, пастерел, бруцел і синьогнійної палички. Поліміксини мають бактерицидну дію. Застосовуть обмежено через невеликий спектр дії і токсичність. Внутрішньом'язево застосовується **сульфат поліміксину В** і **колістин** при інфекціях легень, сепсисі, ендокардиті і абсцесах, викликаних синьогнійною паличкою або капсульними бактеріями.

Поліенові антибіотики. До даної групи відносять протигрибкові антибіотики: ністатин, леворин, амфотерицин В. Близькі до них –

гризеофульвін, толнафтат (чутливі дермофіти), клотримазол, міконазол, кетоконазол (більшість грибів, за вийнятком аспергілів).

Антимікробний спектр дії – на дріжджеподібні гриби роду *Candida* і гриби роду *Aspergillus*. До амфотерицину В чутливі збудники глибоких мікозів. Резистетність до них розвивається рідко.

Механізм антимікробної дії поліенових антибіотиків зв'язаний з адсорбцією на цитоплазматичній мембрані грибів і взаємодії з її стерольним компонентом (наявність стеролів у складі мебрани). Це приводить до підвищення проникливості мембрани, в результаті чого клітина зневоднюється, губить деякі мікроелементи (калій) і гине. Відсутність стеролів в складі мембрани бактерій, спірохет, рикетсій і інших мікроорганізмів приводить до їх стійкості. Виникнення резистентності спостерігається рідко.

ІІІ група. Антибіотики, які порушують синтез білків на рибосомах: аміноглікозидні антибіотики, група тетрацикліна, хлорамфенікол (левоміцетин), макроліди.

Аміноглікозидні антибіотики. Вперше антагоністичну дію **променевих грибів (актиноміцетів)** встановив Н.А.Красильніков в 1939 р. З *Actinomyces globisporus* американським вченим А.Ваксманом в 1943 р. був виділений **стрептоміцин**. Стрептоміцин є складною органічною основою, молекула якого складається з трьох частин: стрептидина, стрептози і N-метилглюкозаміна.

Антибактеріальний спектр дії стрептоміцина і його похідних згубна дія на багатьох грамдодатних (гноєрідні коки) і грамвід'ємних бактерій (кишкова паличка, клебсієли, бруцели, шигели, бактерії туляремії, чуми, вібріон холери). Відкриття стрептоміцину ознаменувало нову епоху в боротьбі з туберкульозом. Вводиться антибіотик парентерально.

Механізм антибактеріальної дії стрептоміцина полягає у блокуванні субодиниці рибосоми 30S, а також порушенні зчитування генетичного коду. При цьому кодони іРНК, невірно зчитуються антикодонами *т*РНК. Наприклад, кодон *УУУ,* який кодує фенілаланін, зчитується як *АУУ,* в результаті чого його місце займає ізолейцин, що приводить до утворення непотрібного для бактеріальної клітини поліпептида.

Бактерії швидко набувають стійкості до стрептоміцину. Деякі мікроорганізми утворюють стрептоміцинозалежні форми, які можуть розмножуватись на поживних середовищах лише при додаванні антибіотика.

До амідоглікозидів 1-го покоління поряд з стрептоміцином відносяться мономіцин, неоміцин, канаміцин; аміноглікозиди 2-го покоління – гентаміцин, тобраміцин, сизоміцин, амікацин (напівсинтетичне похідне канаміцина).

Антибактеріальний спектр даних антибіотиків подібний з стрептоміциновим. До мономіцину чутливі стафілококи, шигели, клебсієли, малочутливі стрептококи, протей (по-різному). Канаміцин діє на мікобактерії туберкульозу та інші бактерії, резистентні до багатьох антибіотиків. Гентаміцин діє на протей, тобраміцин – на синьогнійну паличку. Сизоміцин діє як гентаміцин, але більш активний. Амікацин є одним з найбільш активних аміноглікозидів. Резистентність бактерій до даних антибіотиків формується поступово.

Найбільш чутливі до ферментів, які інактивують аміноглікозидні антибіотики, стрептоміцин, неоміцин і канаміцин, найменш чутливі – гентаміцин, тоброміцин і амікацин.

Група тетрациклінів (природні антибіотики та їх напівсинтетичні похідні окситетрацикліну: тетрациклін, тетрацикліна хлорид, окситетрацикліна гідрохлорид, морфоциклін, метацикліна гідрохлорид (синонім рондоміцин), доксицикліна гідрохлорид (синонім віброміцин) та ін.

Антимікробний спектр. Всі препарати володіють широким спектром дії, пригнічують розмноження багатьох видів грамдодатних і грамвід'ємних бактерій, рикетсій, спірохет, деяких простіших (дизентерійної амеби), хламідій і мікоплазм. Тетрациклін швидко всмоктується з травного каналу, його назначають з ністатином для профілактики кандидозів. Відмічено перехресну резистентність бактерій до тетрацикліну і його похідних.

Механізм антибактеріальної дії тетрациклінів різноманітний. Інгібуючий ефект обумовлений порушенням зв'язування аміноацил-*т*РНК з рибосомальноматричним комплексом, що приводить до пригнічення синтезу білка на рибосомах бактеріальних клітин. Інгібуюча дія тетрациклінів по відношенню до рикетсій Провачека пояснюється пригнічення окислення глутамінової кислоти, яка в тих мікроорганізмів є вихідним продуктом в реакціях енергетиченого метаболізму.

Левоміцетин (хлорамфенікол). Левоміцетин являє собою синтетичний антибіотик, ідентичний природному хлорамфеніколу, який утворюється деякими видами актиноміцет. Має порівняно просту хімічну будову. В його молекулі міститься два асиметричних атоми вуглецю. Антибактеріальну активність має лише лівоповертаюча форма. Звідси назва левоміцетин. *Антибактеріальний спектр* левоміцетину включає грамдодатні і грамвід'ємні бактерії, спірохети, рикетсії, хламідії. До нього високо чутливі багато штамів піогенних коків, особливо пневмококів, а також збудники дифтерії і сибірської виразки. Резистетність бактерій до левоміцетину розвивається повільно. Левоміцетин діє на штами бактерій, які стійкі до пеніциліну, стрептоміцину, сульфаніламідів. В звичайних дозах викликає бактеріостатичний ефект. Практично не впливає на мікобактерії туберкульозу, синьогнійну паличку, анаеробні бактерії і простіші.

Механізм антибактеріальної дії левоміцетину – пригнічення пептидилтрансферазної реакції з 50 S субодиницею рибосоми, в результаті чого припиняється синтез білка в бактеріальній клітині.

Лінкоміцин. Антибіотик, який виробляють деякі види актиноміцет. За хімічною структурою є 4-алкілзаміщеною сполукою гігранової кислоти.

Антибактеріальний спектр – має бактеріостатичну дію. Чутливі до нього патогенні коки, бактерії дифтерії, сибірської виразки, деякі збудники анаеробної раневої інфекції. На грамвід'ємні бактерії не діє. Активний у відношенні бактерій, що резистетні до пеніциліну та інших антибіотиків. Резистентність до лінкоміцину розвивається поступово.

Механізм антибактеріальної дії пов'язаний з пригніченням синтезу білка при взаємодії з 50 S субодиницею рибосоми.

Макроліди. До макролідів відносять **еритроміцин**, його фосфорнокисла сіль (еритроміцина фосфат) і **олеандоміцин**. Дані антибіотики виробляються певними видами актиноміцет і мають подібну хімічну будову, яка характеризується наявністю в їх молекулі макроциклічного лактонного кільця.

Антибактеріальний спектр макролідів включає грамдодатні бактерії (група гноєрідних коків, клостридії), деякі грамвід'ємні бактерії (бруцели, гемофільна паличка). Еритроміцин діє на кампілобактерії, легіонели, мікоплазму пневмонії. Обидва антибіотитки мають бактеріостатичну дію і швидко утворюють резистентні форми бактерій. При комбінованому застосуванні (еритроміцин і стрептоміцин або тетрацикліни) підсилюється антибактеріальна дія. Застосовують також олеандоміцин і тетрациклін – олеотетрин, має широкий антибактеріальний спектр. Резистентність бактерій до олеотетрину розвивається повільніше, ніж до його окремих компонентнів.

Механізм антибактеріальної дії макролідів полягає у властивості взаємодіяти з субодиницею рибосоми 50 S, що приводить до порушення синтезу білка.

IV група. Антибіотики, які інгібують синтез нуклеїнових кислот. Наприклад, хіноліни порушують синтез ДНК, рифампіцин – синтез РНК. **Рифаміцини** – родинні антибіотики, які виробляються різними видами актиноміцет. В результаті хімічної модифікації одного з них був отриманий напівсинтетичний аналог рифаміцина, що отримав назву рифампіцин, з більш цінними антибіотичними властивостями.

Рифампіцин має широкий *антибактеріальний спектр*, бактерицидну дію на грамдодатні і грамвід'ємні бактерії, неспороутворюючі анаероби (бактероїди та ін.), клостридії, єрсинії, гемофільну паличку, лептоспіри. Рифампіцин активний до мікобактерій туберкульозу. Застосовують його в комбінації з іншими протитуберкульозними препаратами, оскільки швидко розвивається резистентність бактерій до антибіотитка.

Механізм антибактеріальної дії рифампіцина полягає в його здатності пригнічувати активність ДНК-залежної РНК-полімерази і тим самим блокувати синтез білка на рівні транскрипції.

IV група. Антибіотики, які інгібують реплікацію і транскрипцію (протипухлинні препарати). Дані препарати для лікування інфекційних хвороб не застосовуються у зв'язку з токсичністю. До протипухлинних антибіотиків відносяться такі препарати: **актиноміцини** (порушують рух ДНК-полімерази, перешкоджають реплікації ДНК); **мітоміцини** (утворюють ковалентні зв'язки між основами комплементарних ланцюгів ДНК, блокуючи тим самим реплікацію і транскрипцію); **блеоміцини** (утворюють ковалентні комплекси з ДНК, які є мішенню дії клітинних ферментів, які утворюють розриви в молекулі ДНК, що приводить до фрагментації геному і загибелі клітини).

V група. Антибіотики, які пригнічують синтез пуринів і амінокислот (сульфаніламіди).

Антибіотики діють на мікроорганізми, головним чином на бактерії**, бактеріостатично або бактерицидно. Бактерицидна** дія антибіотика виражається в загибелі мікробів (пеніциліни, цефалоспорини, аміноглікозиди, рифаміцини), **бактеріостатична** – в розчиненні бактерій (тетрацикліни, левоміцетин, макроліди). Характер дії залежить також від застосування: малі дози і короткочасна дія на деякі антибіотики приводить до затримки росту, тоді як у великих концентраціях і при довготривалій дії спостерігається смерть мікробів. Більшість антибіотиків має важливу властивість: пошкоджуючи мікроби, вони не викликають згубної дії на клітини і тканини тварин, і людини. Також вони діють вибірково у відношенні визначених груп мікроорганізмів. Найбільш чутливі до антибіотиків грампозитивні бактерії, менш чутливі – грамнегативні.

Аналогічну дію мають протигрибкові антибіотики: *фунгіцидну і фунгіостатичну.* При важких захворюваннях назначають бактерицидні і фунгіцидні антибіотики.

Раніше антибактеріальну дію або біологічну властивість антибіотиків вимірюють в **одиницях дії - ОД,** які містяться в 1 мл розчину препарату або 1 мкг хімічно чистої речовини. Сьогодні активність антибіотиків вимірюється в мікрограмах (мкг).

За одиницю активності приймається та мінімальна кількість антибіотика, яка затримує ріст стандартного штама визначеного виду мікроорганізма в певних умовах. Як тест-бактерії для пеніциліну і інших антибіотиків використовують визначений штам золотистого стафілокока, для стрептоміцину – кишкову паличку і ін. В 1 мкг хімічно чистого препарату відповідає 1 ОД антибіотика. Е і інші співвідношення.

За **антимікробним спектром** антибіотики підрозділяються на дві групи: *вузького і широкого* спектру дії.

До антибіотиків *вузького спектру* дії відносять **бензилпеніцилін**, який згубно діз на грамдодатні коки і бактерії, грамвід'ємні коки і спірохети. Вони неактивні по відношенню до кислотостійких бактерій, мікоплазм, рикетсій, простіших. В цю групу входять **поліенові** антибіотики, які діють на дріжджеподібні гриби і деякі простіші (амеби, лейшманії, трихомонади).

Антибіотики *широкого спектру* дії є **аміноглікозиди**, які пригнічують ріст кислотостійких, багатьох грамдодатних і грамвід'ємних бактерій, деякі з них діють і на простіші; **тетрацикліни** – на багато грамдодатних і грамвід'ємних бактерій, лептоспір, рикетсій, хламідій і мікоплазм; **хлорамфенікол**, який діє на грамдодатні, деякі на грамвід'ємні бактерії, рикетсії, хламідії; **макроліди**, діють на грамдодатні і грамвід'ємні коки і деякі інші бактерії; **рифампіцин**; **цефалоспорини** третього покоління.

Спектр дії антибіотиків.

За спектром дії (згубна дія на визначені види мікроорганізмів) антибіотики поділяють на 5 груп: **антибактеріальні, протигрибкові, антипротозойні, антивірусні, протипухлинні.** В окремі групи виділяють

протитуберкульозні, протилепрозні, протисифілітичні препарати. Кожна з цих груп включає дві підгрупи: *широкого і вузького* спектру дії.

А н т и б а к т е р і а л ь н і антибіотики пригнічують розвиток всіх трьох відділів бактерій, це переважно антибіотики широкого спектру дії: аміноглікозиди, тетрацикліни і ін. Антибіотики вузького спектру дії ефективні на невелике коло бактерій, наприклад, поліміксини діють на грацілікутні, ванкоміцин впливає на грамдодатні бактерії.

П р о т и г р и б к о в і антибіотики (нистатин, леворин, амфотерицин В, гризеофульвін) пригнічують ріст мікроскопічних грибів, діють на ЦПМ, застосовують для лікування грибкових захворювань. Серед них розрізняють широкого спектру дії: амфотерицин В, який ефективний при кандідозах, бластомікозах, аспергільозах, антибіотик вузького спектру дії – ністатін діє на гриби роду *Candida*.

А н т и п р о т о з о й н і і а н т и в і р у с н і антибіотики нараховують невелику кількість препаратів.

П р о т и п у х л и н н і антибіотики (рубоміцин, брунеоміцин, олівоміцин, мітоміцин С) пригнічують синтез НК в тваринних клітинах і використовують для лікування різних форм злоякісних новоутворень.

Способи одержання антибіотиків:

- **Біологічний синтез** – використовують високопродуктивні штами мікроорганізмів і спеціальні поживні середовища, на яких їх вирощують. Наприклад, пеніцилін.
- **Хімічний синтез** – після вивчення структури деяких природніх антибіотиків стало можливим їх одержання шляхом хімічного синтезу. Першим одержано препарат левоміцетин, а також одержано всі синтетичні антибіотики.
- **Комбінований метод** – комбінація двох попередніх методів: за допомогою біологічного синтезу одержують антибіотик, виділяють з нього ядро (наприклад, 6-амінопеніциланову кислоту з пеніциліна) і хімічним шляхом додають до нього різні радикали. Антибіотики одержані за допомогою даного методу називається **напівсинтетичними.** Наприклад, напівсинтетичними пеніцилінами є оксацилін, азлоцилін. Широко використовуються напівсинтетичні цефалоспорини, тетрацикліни і ін. Перевага напівсинтетичних антибіотиків є чутливість до них стійких до природніх антибіотиків мікроорганізмів. Крім того, це найбільш економічно вигідний спосіб виробництва антибіотиків: з одного природного антибіотика, вартість одержання якого дуже висока, можна створити приблизно 100 напівсинтетичних препаратів з різними властивостями.

Побічна дія антибіотиків.

Необхідно відмітити, що деколи застосування антибіотиків викликає побічну дію: кропивниця, порушення функцій кровотворення, нервової системи і органів. Введення великих доз може порушити життєдіяльність нормальної мікрофлори дихальних шляхів, кишківника і сечостатевих органів. Це приводить до змін нормальних антагоністичних відношень між мікроорганізмами в природніх умовах. Тоді бактерії і гриби з роду *Candida* можуть інактивізуватися і викликати вторинні інфекційні процеси. Наприклад:

кандідози шкіри і слизових оболонок, дисбактеріоз. Тоді застосовують протигрибкові препарати.

При невірному лікуванні антибіотиками виникають лікарсько-стійкі штами бактерій. Так виявлено стійкість пеніциліну до стафілококів, що становить 72-83 %, стрептоміциностійких 60-70 %, резистентність шігел до ампіциліну досягає 90 %, до тетрацикліну і стрептоміцину – 54 % і т.д. За генетичними механізмами лікарська стійкість бактерій може бути первинною або набутою. Первинна – обумовлена відсутністю мішені для дії антибіотика, тобто метаболічних реакцій, які блокували б визначені препарати. Набута виникає в результаті мутацій в хромосомних генах, які контролюють синтез компонентів клітинної стінки, ЦПМ, рибосомних або транспортних білків.

Для розвитку антибіотикорезистентних бактерійних популяцій сприяють: безконтрольне застосування антибіотиків для лікування і особливо для профілактики різних захворювань без достатніх основ, а також застосування антибіотиків у ветеринарії як добавки до кормів для прискорення росту тварин.

Механізми резистентності мікроорганізмів до антибіотиків і інших хіміотерапевтичних препаратів складні і різноманітні. Головним чином вони пов’язані з такими причинами:

- перетворенням активної форми антибіотика в неактивну форму шляхом ферментативної інактивації і модифікації;
- втратою проникливості клітинної стінки для визначеного хіміотерапевтичного препарату;
- порушенням в системі специфічного транспорту даного препарату в бактеріальну клітину;
- виникнення в мікроорганізмів альтернативного шляху утворення життєво важливого метаболіту, який замінює основний шлях, що блокований препаратом;

Механізми резистетності можуть бути підрозділені на первині і набуті. До первинних механізмів відносяться ті, які пов’язані з відсутністю “мішені” для дії препарату; до набутих – зміни “мішені” в результаті модифікацій, мутацій, рекомбінацій.

Боротьба з лікарсько-стійкими бактеріями проводиться по різному: систематичне отримання нових хіміотерапвтичних препаратів, які відрізняються від існуючих механізмом антибактеріальної дії. Перспективним напрямком є хімічна модифікація відомих антибіотиків з захищеними активними групами, стійкими до бактеріальних ферментів; проводяться дослідження по винайденню інгібіторів, які пригнічують активність бактеріальних ферментів і препаратів, які перешкоджають адгезії бактерій на клітинах макроорганізмів. Заходи рекомендовані ВООЗ – це систематичне вивчення типів лікарської стійкості патогенних і умовно-патогенних бактерій, які циркулюють в межах окремих регіонів для підбору лікарських препаратів без попереднього визначення чутливості забороняються використовувати в медицині антибіотики як консерванти харчових продуктів і кормових добавок, для прискорення росту, профілактики і лікування різних хвороб тварин

(сальмонельозів і т.п.); використовувати такі антибіотики, які не використовуються в медичній практиці; систематично виявляти носіїв антибіотикостійких бактерій і проводити інші профілактичні заходи.

Застосовувати антибіотики необхідно для лікування, а також для профілактики інфекційних захворювань. А для того, щоб вірно їх вибрати необхідно провести визначення чутливості виділеної чистої культури мікроорганізмів до антибіотиків. Визначають її методом дифузії в агар з застосуванням стандартних дисків або методом серійних розведень в рідких і щільних поживних середовищах.

Метод дисків. Завісину культури засівають "газоном", чашки підсушують 30-40 хв. при кімнатній температурі. Пінцетом стерильно накладають паперові диски різних антибіотиків. Кожний диск злегка притискають бланшами пінцету, щоб щільно прилягав до поверхні агару. Диски накладають на рівній відстані один від одного і краю чашки на 2 см. На одній чашці можна накласти 4 диски. Засіяні чашки з нанесеними на них дисками поміщають в термостат при 37^{o}С на 18-24 год. Чашки ставлять вверх дном, щоб не дати можливість попасти конденсату води на поверхню посівів.

При цьому необхідно використовувати правило 15-15-15 хвилин. Використовувати інокулюм протягом 15 хв., після приготування покласти диски протягом 15 хв., після інокуляції почати інкубувати чашки не пізніше 15 хв. після нанесення дисків.

Врахування результатів вираховують за зоною затримки росту довкола диску. Діаметр зон визначають за допомогою лінійки, включаючи діаметр самого диску. Чутливі – діаметр зони більше 10 мм, малочутливі- діаметр менше 10 мм, стійкі – повна відсутність зони затримки росту.

Інколи визначають чутливість мікроорганізмів до антибіотиків в нативному матеріалі (гній, виділення рани і ін.). При цьому матеріал наносять на поверхню поживного агару і рівномірно розтирають по поверхні стерильним скляним шпателем, а пізніше накладають диски. Метод дисків для визначення чутливості мікроорганізмів є простим і доступним, широко застосовується в практичних лабораторіях і розцінюється як якісний метод.

Метод серійних розведень: цей метод є точним кількісним методом, його застосовують в науковій роботі і в особливо важливих випадках в лабораторіях лікарень і профілактичних закладах.

Для досліду використовують чисту культуру досліджуваного мікроорганізму, основний розчин антибіотика, МПБ на переварі Хотінгера, який містить 1,2-1,4 г/м^3 амінного азоту.

Активність антибіотиків виражають в ОД/см^3 або мкг/см^3. Якщо на етикетці замість кількості одиниць у флаконі дозування вказано в одиницях маси, то необхідно мати на увазі, що 1 г активності для антибіотиків відповідає 1 млн.ОД. З цього розчину і повинні бути виготовлені необхідні розведення антибіотиків.

Готують завісину культури мікроорганізмів, що виросла на щільному поживному середовищі. Отриману завісину порівнюють з оптичним стандартом

мутності № 10 і розводять фізрозчином до 10^6 мікробних тіл в 1 $см^3$, для отримання необхідного розведення мікробної завісини готують послідовні десятикратні розведення.

Постановка досліду: В 12 стерильних пробірок розливають по 1 $см^3$ МПБ. В 1-шу пробірку вносять 1 $см^3$ основного розчину антибіотика, який містить, наприклад, 32 ОД в 1 $см^3$. Вмістиме 1-ої пробірки переміщують і 1 мл переносять у 2-гу пробірку, з 2-гої в 3-тю, з 3-тої - в 4-ту і так до 10-ої, з якої 1 $см^3$ виливають в дезрозчин. Таким чином, 1-ша пробірка буде містити 16 ОД, 2-га – 8 ОД, 3-тя – 4 ОД і т.д. Для виготовлення кожного розведення використовують окрему піпетку. Вмістиме 11-тої пробірки служить контролем росту бактерій, а 12-тої – контролем стерильності поживного середовища. У всі пробірки, крім 12-тої вносять 0,1 $см^3$ досліджуваної культури визначеної густини. Посів інкубуємо в термостаті 18-24 год і реєструємо результати досліду.

Врахування результатів проводять при наявності росту в контролі культури і відсутності росту в контролі середовища, пізніше відмічають останню пробірку з повною видимою затримкою росту мікробів. Кількість антибіотика в цій пробірці є мінімальною інгібуючою концентрацією для досліджуваного штаму і визначають ступінь чутливості до даного антибіотика. У відповіді вказують мінімальну інгібуючу концентрацію.

МІКРОБІОЛОГІЧНІ ТА МОЛЕКУЛЯРНО-БІОЛОГІЧНІ ОСНОВИ ХІМІОТЕРАПІЇ ІНФЕКЦІЙНИХ ХВОРОБ

В медичній практиці для попередження і лікування інфекційних захворювань давно застосовували хімічні речовини. Індійці для боротьби з малярією використовували кору хінного дерева, а в Європі вже в XVI ст. застосовували ртуть для лікування сифілісу.

Х І М І О П Р О Ф І Л А К Т И К А – це застосування хімічних препаратів для попередження інфекційних захворювань.

Х І М І О Т Е Р А П І Я – це застосування хімічних речовин для лікування захворювань бактеріальної, вірусної, грибкової і протозойної етіології, які володіють специфічною дією на клітини збудника захворювання і не пошкоджують клітини і тканини людини. Зараз отримано велику кількість різних промікробних і протипаразитарних хіміотерапевтичних засобів, які відрізняються один від одного за походженням, хімічним складом, механізмом антимікробної дії та іншими властивостями. Хоча їх об’єднує ряд інших ознак: відсутність токсичної дії на організм людини (встановлюють за допомогою хіміотерапевтичного індекса – відношення мінімальної терапевтичної дози до максимально переносимої; при індесі менше одиниці препарат можна використовувати для лікування, оскільки його терапевтична доза буде менша від дози яка переноситься); вибіркова дія на мікроорганізм, яка визначається антимікробним спектром хіміопрепарату (одні діють на грамдодатні бактерії, інші – на грамвід’ємні бактерії, треті – на простійші, четверті – на гриби і т.д.);

бактеріостатичною або бактерицидною дією (повне або часткове пригнічення росту і розмноження бактерій або їх загибель); постійне формування лікарсько-стійких форм мікроорганізмів. Перелічені ознаки вказують на те, що хіміотерапевтичні засоби принципіально відрізняються від антисетиків і дезінфектантів.

Важливі групи хіміотерапевтичних препаратів і механізми їх антимікробної дії.

Основи наукової хіміотерапії були сформовані П.Ерліхом. Він отримав перші хіміотерапевтичні препарати – сальварсан і неосальварсан, які містять сполуки миш'яку. Впродовж декількох десятиліть їх використовували для вбиття спірохет і трипаносом.

Дослідження, проведені П.Ерліхом, дозволили встановити, що структурні особливості хімічної речовини (наприклад, радикали) визначають характер протимікробної дії. Так, ОН-групи синтезованої сполуки підсилюють його спірохетоцидні, а NH_2-групи – трипаноцидні властивості. Синтез сальварсана підтвердив правильність рецепторної концепції П.Ерліха, оскільки механізм спірохетоцидної дії був пов'язаний з вмістом у спірохет меркапторецепторів, які специфічно фіксують препарат, вбивають їх.

В 1932 році інший німецький хімік Г.Домагк виявив серед анілінових барвників речовину – *пронтозил*, або червоний *стрептоцид*, який спас експериментальних тварин від стрептококової інфекції, але не діяв на ці бактерії поза організмом. За дане відкриття Г.Домагк нагороджений Нобелівською премією. Пізніше було зясовано, що в організмі проходить розпад *пронтозила* з утворенням *сульфаніламіда*, який має антибактеріальну активність як *in vitro*, так і *in vivo*. Важливим етапом в розвитку хіміотерапії стало винайдення сулфаніламідних препаратів.

В основі дії хіміотерапевтичних препаратів на клітини збудників захворювань лежить їх подібність молекул з іншими речовинами, що необхідні для метаболізму мікроорганізмів: амінокислот, вітамінів, ферментів (метаболітів). Препарат всмоктується бактеріальною клітиною замість необхідного їй компоненту і починає свою руйнівну дію. В результаті порушення важливих систем клітина гине (бактерицидна дія), а якщо порушення слабкі, відмічається бактеріостатична дія.

Дослідження механізму антибактеріальної дії сульфаніламідів привело до відкриття **антиметаболітів**, які за своєю будовою близькі до метаболітів, що приймають участь в реакціях біосинтезу і розпаду.

Механізм дії сульфаніламідів (сульфонамідів) на мікроорганізми був відкритий Р.Вудсом, який встановив, що сульфаніламіди є структурними аналогами параамінобензойної кислоти (**ПАБК**), яка приймає участь в біосинтезі фолієвої кислоти, необхідної для життєдіяльності бактерій. Бактерії, використовуючи сульфаніламід замість ПАБК, гинуть. Деякі лікарські препарати, які містять ПАБК (новокаїн та ін.), мають виражену антисульфаніламідну дію.

В урологічній практиці застосовують **уросульфан**, який має бактеріостатичну дію у відношенні стафілококів і кишкових паличок, які є збудниками циститів, піелітів, піелонефритів.

До сульфаніламідних сполук чутливі грамдодатні і грамвід'ємні бактерії, перш за все піогенні стрептококи, менінгококим, гонококи, кишкова паличка тощо. Деякі сульфаніламіди активні у відношенні хламідій – збудників трахоми. Сульфаніламіди дають хороший лікувальний ефект при ангіні, гнійно-запальних інфекціях, кишкових захворюваннях. Широко застосовуються такі препарати як **стрептоцид, норсульфазол, сульфадимезин, сульфазин, сульфапіридазин, сульфамоно- і сульфадиметоксин** та ін. До сульфапіридазину, сульфамоно- і сульфадиметоксину чутливі стафілококи, стрептококи, гонококи, менінгококи, ешерихії, шигели, хламідії трахоми.

До комбінованих сульфаніламідних препаратів відносять **бактрим** (синонім **бісептол, сульфатон**), який складається з двох речовин: сульфаметоксазола і похідного диамінопіримідину – триметоприму. Має бактерицидну дію на грамдодатні і грамвід'ємні бактерії (стафілококи, гонококи, клебсієли, протей, шигели, синьогнійну і гемофільну палички, рикетсії і хламідії).

Крім сульфаніламідів, до антиметаболітів відносяться **аналоги ізонікотинової кислоти – її гідразиди (ізоніазид, фтівазид**, тубазид, метазид та інші похідні тіаміда ізонікотинової кислоти – етіонамід, протіонамід), похідні парааміносаліцилової кислоти (**ПАСК**), які допомогли в боротьбі з туберкульозом, а також **тібон, фтівазид; азотисті основи** та інші сполуки.

До ДНК-тропних препаратів відносяться похідні нітрофурана: **фурацилін, фуразолідон та ін., а також похідні нітроімідазола: метронідазол, тінідазол.** Вони діють на грамдодатні (стафілококи, стрептококи і клостридії раневої інфекції) і грамвід'ємні бактерії (шигели, сальмонели), а також хламідії і деякі простіші (трихомонади). Особливості хімічного складу похідних нітрофурана відбиваються на їх антимікробному спектрі. Резистентність розвивається помалу, є перехресною, бактерії резистентні до одного з похідних, набувають стійкості до іншого.

Зараз розробляють і застосовують **хімічні противірусні і протипухлинні** препарати. Але хіміотерапевтичні препарати володіють негативними властивостями. Діючи на визначений ланцюг обміну речовин, вони можуть разом з клітиною збудника уражати і клітину людини. В результаті лікування хіміопрепаратами в організмі людини нагромаджується велика кількість проміжних продуктів, які володіють побічною дією. Описані випадки зміни складу крові, мутації клітин та інші функціональні порушення організму людини в результаті застосування хіміотерапевтичних препаратів.

До препаратів, які блокують процеси реплікації і транскрипції відноситься група хінолонів: **надідіксова кислота, похідні хінолонтрикарбонових кислот і похідні хіноксаліну.** З них найбільш активні у відношенні грамвід'ємних бактерій (ентеробактерії, синьогнійна паличка) хінолони третього покоління: **норфлоксацин, офлоксацин** та ін.

До препаратів, які порушують енергетичний метаболізм, відносяться **похідні оксихіноліну.**

З похідних тіосемикарбазона застосовується **фарингосепт**, який має бактеріостатичну активність у відношенні піогенного стрептокока та інших гемолітичних стрептококів, які зустрічаються на мигдаликах при ангінах, а також в порожнині рота при гінгівітах і стоматитах.

Питання для самоконтролю:

1. До групи протигрибкових препаратів належать всі, крім:
A. Аміказол
B. Міконазол
C. Мікосептин
D. Інтерферон
E. Нітрофунгін

2. За одиницю активності пеніциліну приймають:
A. Мінімальну кількість препарату, яка затримує ріст еталонного штаму Staphylococcus epidermidis у 50 мл поживного бульйону
B. Мінімальну кількість препарату, яка затримує ріст еталонного штаму Staphylococcus aures 209 P у 50 мл поживного бульйону
C. Мінімальну кількість препарату, яка затримує ріст еталонного штаму Escherichia coli у 50 мл поживного бульйону
D. Мінімальну кількість препарату, яка затримує ріст еталонного штаму Corynebacterium diphtheriae у 25 мл поживного бульйону
E. Мінімальну кількість препарату, яка затримує ріст еталонного штаму Streptococcus pyogenes у 50 мл поживного бульйону

3. Всі антибіотики є грибкового походження, крім:
A. Лізоцим
B. Пеніциліни
C. Цефалоспорини
D. Грізеофульвін
E. Мікроцид

4. Всі антибіотики походять з актиноміцетів, крім:
A. Стрептоміцин
B. Тетрациклін
C. Левоміцетин
D. Іманін
E. Еритроміцин

5. Бактеріального походження є всі антибіотики, крім:
A. Поліміксин
B. Бацитрацин

C. ПОцианін
D. Ріфампіцин
E. Бацитрацин

6. Рослинного походження є всі антибіотики, крім:
A. Аренарин
B. Хлорофіліпт
C. Іманін
D. Хінін
E. Субтилін

7. Тваринного походження є всі антибіотики, крім:
A. Лізоцим
B. Аліцин
C. Інтерферони
D. Екмолін
E. Еритрин

8. Всі нижчеперераховані антибіотики пригнічують синтез клітинної стінки, крім:
A. Беталактамні антиіботики (пеніциліни і цефалоспорини)
B. Циклосерин
C. Макроліди
D. Ванкоміцин
E. Бацитрацин

9. Всі вказані антибіотики пригнічують синтез білка на рівні рибосом, крім:
A. Макроліди
B. Левоміцетин
C. Рифамапіцин
D. Аміноглікозиди
E. Тетрацикліни

10. Всі вказані антибіотики пригнічують синтез ДНК на рівні ДНК матриці, за вийнятком:
A. Лінкоміцин
B. Мітоміцин С
C. Брунеоміцин
D. Антрациклін
E. Блеоміцин

11. До групи пеніцилінових препаратів належать всі, крім:
A. Олеандоміцин
B. Бензилпеніцилін
C. Оксацилін

D. Метицилін
E. Ампіцилін

12. До групи цефалоспоринових препаратів належать всі, крім:
A. Цефалоридин
B. Латамоксеф
C. Іміпенем
D. Цефаклор
E. Цефотаксим

13. До групи антибіотиків. макролідів належать всі, крім:
A. Еритроміцин
B. Олеандоміцин
C. Тієнам
D. Кларитроміцин
E. Джозаміцин

14. До групи антибіотиків аміноглікозидів належать всі, крім:
A. Кліндаміцин
B. Стрептоміцин
C. Канаміцин
D. Гентаміцин
E. Тобраміцин

15. До групи поліпептидних антибіотиків належать всі, крім:
A. Колістин
B. Поліміксин
C. Бацитрацин
D. Граміцидин
E. Левоміцетин

16. Стійкість бактерій до антибіотиків може зумовлюватись всім, крім:
A. Генами резистентності в хромосомах
B. Генами резистентності в бактеріофагах
C. Генами резистентності в плазмідах
D. Генами резистентності в транспозонах

17. Виберіть антибіотик бактерійного походження:
A. Леворин
B. Граміцидин
C. Екмолін
D. Рафанін
E. Еритроміцин

18. Чим визначається природна стійкість бактерій до антибіотиків?

A. Здатністю мікроба до капсулоутворення
B. Здатністю мікроба до спороутворення
C. Властивостями даного виду або роду мікроба
D. Наявністю R. плазмід
E. Наявністю в мікробах бактеріофагів

19. Який антибіотик при тривалому застосуванні може викликати ураження вестибулярного і слухового апаратів?
A. Цефалексин
B. Левоміцетин
C. Бацитрацин
D. Гентаміцин
E. Лінкоміцин

20. Всі методи можна використати для визначення антибіотикочутливості за вийнятком:
A. Дискодифузійний
B. Серійних розведень
C. Прискорені методи
D. Напівавтоматичні методи
E. Фаготипування бактерій

21. Мінімальна бактеріостатична концентрація антибіотика – це концентрація препарата, яка:
A. Затримує ріст і розмноження бактерій
B. Вбиває мікроорганізми
C. Змінює біологічні властивості мікробів
D. Сприяє утворенню субклітинних форм бактерій
E. Зменшує вірулентні властивості бактерій

22. Що таке диско-дифузійний метод?
A. Тест для визначення концентрації антибіотика в біологічних рідинах
B. Простий метод визначення чутливості клінічно значущих штамів бактерій до антимікробних препаратів
C. Стандартний метод визначення мікробної чутливості, який залежить від pH середовища, його якості, температури, концентрації препарата і властивостей тест-культури
D. Метод визначення чутливості бактерій до антибіотиків
E. Стандартний метод визначення чутливості бактерій до бактеріофагів

23. При якій температурі підсушують чашки Петрі з посівами мікроорганізмів при визначенні чутливості останніх до антибіотиків методом дифузії в агар з паперових дисків?
A. 4 °C
B. 37 °C

C. 18-20 °C
D. 45 °C
E. 56 °C

24. Чим зумовлено підсушування чашок Петрі з посівами мікроорганізмів при кімнатній температурі при визначенні чутливості останніх до антибіотиків методом дисків?
A. Зневоденням живильного середовища при температурі 37 °C
B. Тим, що при температурі середовища 37 °C спостерігається випереджуючий ріст мікроорганізмів в порівнянні з дифузією антибіотиків в агар
C. Для того, щоб антибіотик всмоктався в шар агару
D. Тим, що спостерігається гальмування росту при температурі середовища 37 °C мікроорганізмів в порівнянні з дифузією антибіотиків в агар
E. Тим, що на середовищі при температур 37 °C спостерігається паралельний ріст мікроорганізмів і дифузія антибіотиків в агар

25. Який з наведених антибіотиків має протигрибкову дію?
A. Цефалоспорини
B. Рифампіцин
C. Ністатин
D. Еритроміцин
E. Гентаміцин

26. Які з наведених антибіотиків є альтернативними антибіотиками при інфекційних захворюваннях, спричинених Pseudomonas aeruginosa?
A. Цефалоспорини
B. Полієнові
C. Аміноглікозиди
D. Пеніциліни
E. Тетрацикліни

27. Який з наведених антибіотиків має протигрибкову дію?
A. Амфотерицин В
B. Цефалоспорини
C. Рифампіцин
D. Еритроміцин
E. Гентаміцин

28. Який з наведених антибіотиків має протигрибкову дію?
A. Цефалексин
B. Рифампіцин
C. Леворин
D. Еритроміцин

Е. Гентаміцин

29. Яка з наведених ознак характерна для госпітальних штамів мікроорганізмів?
А. Кислотостійкість
В. Фагорезистентність
С. Полірезистентність до антибіотиків
D. Здатність спричиняти інфекційний процес у тварин
Е. Здатність аглютинуватись специфічною сироваткою

ВЧЕННЯ ПРО ІНФЕКЦІЮ

Під словом **інфекція (**від слова "*infectio*" – заражаю) – це сукупність біологічних процесів, що відбуваються в макроорганізмі при проникненні в нього патогенних мікроорганізмів незалежно від того, чи спричинить це проникнення до розвитку вираженого або прихованого патологічного процесу або обмежиться лише тимчасовим носійством чи довготривалою персистенцією збудника.

Інфекційний процес – це взаємодія патогенних мікробів з макроорганізмом у визначених умовах навколишнього середовища, в результаті якого може виникнути патологічний процес – **інфекційна хвороба.**

Інфекційні захворювання відомі з давніх часів. Так в працях грецького вченого Гіпократа (2400 р. назад) пишеться, що причиною заразних хвороб у людини є отруйні випаровування повітря – *міазми.*

Різні захворювання вважались "божою карою" або покараннями "злих духів". Лише в XVI ст. вчений Фракастор вперше вводить поняття про кантагію як заразний початок, який переноситься від однієї людини до іншої.

Причини інфекційних захворювань, їх етіологію було встановлено засновниками медичної мікробіології в II половині XIX-XX ст. – Л.Пастером, Р.Кохом, І.І.Мечніковим, Д.І.Івановським і ін.

Було встановлено, що інфекційні захворювання викликаються визначеним видом мікроорганізмів. Мікроорганізми, які здатні викликати заразні захворювання, одержали назву **хвороботворних** або **патогенних** на відміну від інших існуючих в природі мікроорганізмів – **сапрофітів.** Звичайно всі вони пішли від сапрофітів в результаті тривалої еволюційної взаємодії їх з організмом людини. Одним з доказів походження є те, що є родинні сапрофіти з патогенними мікробами – наприклад: холерний і холероподібний вібріони, дифтерійна і псевдодифтерійні бактерії і т.д. Так можна сказати і про умовно-патогенні мікроорганізми. Наприклад: кишкова паличка є в кишківнику людини у вигляді сапрофіту. Але при певних умовах, вона може викликати такі захворювання як піеліт (запалення ниркових мисок), апендицит (захворювання червоподібного відростка сліпої кишки), цистит (гнійне запалення сечового піхура) та ін.

Відомо більше 2500 інфекційних захворювань, якими може захворіти людина. Збудниками їх є різні мікроорганізми: бактерії, віруси, простіші, рикетсії, спірохети, актиноміцети і гриби.

При інфекційному процесі проходить порушення нормальних фізіологічних функцій організму і може проявитися в **формі інфекційного захворювання,** клінічна картина якого характерна для даного захворювання, яке викликає певний збудник.

Інфекційні захворювання можуть і не давати видимих клінічних проявів захворювання, тоді говорять про **приховані форми інфекції**. Коли збудник проникає в організм людини, не викликаючи клінічних проявів захворювання, це приводить до стану людини, яку називають переносником захворювання (**бактеріоносії** при дифтерії і менінгіті, **вібріоносії** при холері і т.д.).

Аналогічні процеси, які викликані простішими, називають **інвазіями**.

Першою необхідною умовою розвитку захворювання є **сприйнятливість організму** до даного захворювання. До деяких захворювань (кір, висипний тиф) є висока сприйнятливість, до черевного тифу 40-50% людей є сприятливими, до цереброспінального менінгіту – тільки невеликий відсоток людей. Велике значення має **вік** людини. Так діти до 6 місяців дуже рідко хворіють кором, скарлатиною, дифтерією, але ці захворювання дуже часті у дітей в віці від 1 до 8 років. Дорослі люди дуже рідко хворіють коклюшем. Поряд з цим є інфекційні агенти, які уражують людей любого віку, наприклад вірус грипу. **Нервові і психічні травми** різко понижують протидію організму до інфекції**. Стан ендокринної системи** – захворювання діабет, порушення функції щитовидної залози, часто виникають гнійно-запальні процеси, що також є результатом зниження захисних сил організму. **Хронічне недоїдання** також приводить до підвищення захворюваності і смертності від туберкульозу, дизентерії. Велике значення в їжі мають: вітаміни, білки (недостача білків – порушення білкового обміну). Недостача вітаміну А нерідко приводить до виникнення запальних процесів на шкірі і слизових оболонках. Недостача вітамінів групи В і С підвищує сприйнятливість до туберкульозу, дифтерії, стрептококів, стафілококів і інших захворювань. Недостача мікроелементів приводить до порушення обміну речовин, підвищення сприйнятливості до інфекційних захворювань. **Зменшення синтезу імуноглобулінів, зниження активності фагоцитів** сприяє розвитку інфекції. Війни, соціальні фактори, природні катастрофи, зміни **пори року, природно-кліматичні умови** можуть сприяти розповсюдженню інфекційних хвороб.

Навколишнє середовище також впливає на виникнення і розвиток інфекційного процесу: **охолодження** понижує стійкість до патогенних і умовно-патогенних мікроорганізмів. Наприклад, дія холодного і вологого повітря знижує резистентність слизової оболонки дихальних шляхів, що приводить до захворювання. **Перегрівання** (сонце, іонізуюча радіація в підвищених дозах), **професійна шкода** (висока температура в цехах, опромінення, отруєння хімічними речовинами, недостатність кисню, фізичне та розумове перевантаження), **погані санітарні умови** знижують загальну стійкість організму.

“**Нормальна мікрофлора**” є антагоністами патогенних мікробів, відіграє велику роль в здійсненні захисних функцій організму. Наприклад: кишкова паличка пригнічує розвиток черевнотифозних та інших кишкових патогенних мікроорганізмів.

Відношення вірулентності мікроорганізмів, інфікуючої дози, стану макроорганізму і умов навколишнього середовища визначають можливість виникнення і характер перебігу інфекційного процесу.

На теперішній час ліквідована чума, малярія, віспа, черевний тиф завдяки піклуванню охорони здоров’я, підвищенню матеріального стану, покращенню санітарногігієнічних умов праці та побуту.

Всяке інфекційне захворювання незалежно від місця локалізації збудника в організмі, незалежно від клінічних ознак являє собою захворювання всього організму, яке може супроводжуватись окремими місцями ураження.

Виникнення і розповсюдження інфекційних захворювань серед людей називається **епідемічним процесом**.

Структурною ланкою епідемічного процесу є **епідемічне вогнище** – місце знаходження джерела інфекцій з оточуючою його територією в тих межах, в яких він здатний в даних конкретних обставинах при певному захворюванню передавати заразний початок. В епідемічному вогнищі повинен здійснюватись комплекс заходів, спрямованих на обмеження розповсюдження епідемічного процесу.

Для виникнення і розвитку інфекційного процесу необхідні наступні **чотири ланки епідемічного процесу:** збудник (джерело), механізм і шлях передачі, сприйнятливий організм та умови середовища.

Боротьба з інфекційними захворюваннями на сучасному етапі

Боротьба з інфекційними захворюваннями – це комплекс протиепідемічних заходів, спрямованих на любу ланку в епідемічному процесі: ізоляція хворих, виявлення їх, рання і точна діагностика, терапія, виявлення носіїв інфекції, санація носіїв, госпіталізація носіїв, режим, санітарнопросвітницька робота, проходження карантину, знищення заражених тварин, гризунів - *дератизація, дезінфекція, дезінсекція* (знищення комах), проведення заходів по підвищенню несприйнятливості до інфекції (вакцинація, імунопрепарати), заходи по знищенню епідемічних вогнищ – джерел інфекції, епідемічний нагляд за розповсюдженням інфекційних захворювань.

Збудники інфекцій та їх властивості

Патогенність – (від грецького “*pathos*” – страдання, “*genos*” – народження) властивість мікроорганізмів викликати захворювання, є видовою ознакою збудників інфекційних захворювань, передається по спадковості. Патогенність характеризується взаємовідношенням тільки визначеного мікроорганізму і господаря. Наприклад: холерний вібріон патогенний лише для людини і непатогенний для тварин.

Вірулентність – це різна ступінь патогенності мікроорганізму. Визначають її за найменшою кількістю мікробних клітин або отруйних продуктів їх життєдіяльності, які можуть викликати смерть чутливих тварин.

Специфічність – риса патогенності мікробів, властивість кожного патогенного мікроба при проникненні в організм і розмноженні в ньому викликати певне інфекційне захворювання.

Органотропність – властивість мікроорганізмів уражувати певні органи або тканини (наприклад, вірус віспи – епітелій шкіри і слизових оболонок; холерні вібріони, дизентерійні бактерії, сальмонели тифу уражують слизову оболонку кишківника і т.д.). Вірулентні мікроби, які мають високу ступінь патогенності, можуть викликати смерть чутливої тваринки при введенні всього декількох клітин. Маловірулентні мікроорганізми викликають смерть тварин при введенні їм сотень мільйонів клітин. Для характеристики патогенних мікроорганізмів використовують такі одиниці вірулентності: **DLM (*dosis letalis minima*), DL, ID**.

Кількість мікробів, при яких наступає смерть 100% взятих в дослід тварин називається *мінімальною смертельною, або мінімальною летальною* дозою – DLM. *Сублетальна* доза викликає загибель 5-10% тваринок, а доза DL_{50} – це кількість мікробів, від яких гине близько 50 тварин, взятих в дослід впродовж перших 10 діб. *ID – інфікуюча доза* – це кількість патогенних бактерій, які здатні викликати інфекційне захворювання (ID_{10}, ID_{50}, …).

Фактори вірулентності

- **Адгезія** – властивість адсорбуватися на визначених, чутливих до даного мікробу клітинах організму господаря, що обумовлено поверхневими структурами мікробної клітини (пілі і ін.), наявність рецепторів в клітині.
- **Колонізація** – може бути на поверхні клітин до якої прилипли мікроби (холерні вібріони розмножуються на ентероцитах), або всередині клітин, в які проникають мікроби, які прилипли (наприклад, дизентерійні палички розмножуються в клітинах товстого кишківника).
- **Пенетрація** – здатність збудника проникати всередину епітеліальних клітин, лейкоцитів.
- **Інвазія** – здатністю збудника проникати через слизові оболонки в тканину, розмножуватись і розповсюджуватись. А сприяє цьому вироблення мікробами **ферментів патогенності**, які підвищують проникливість сполучної тканини і інших тканин: *коагулаза* стафілококів сприяє згортанню плазми, що приводить до утворення захисної “оболонки” навколо мікробної клітини; *фібрінолізин* – розчиняє фібрин, тим сприяє розповсюдженню мікробів; *гіалуронідаза* – фактор розповсюдження, руйнує гіалуронову кислоту сполучної тканини і тим самим сприяє розповсюдженню і проникненню мікробів в тканини; *нейрамінідаза* – відщеплює нейрамінову кислоту від глікопротеїдів, гліколіпідів, полісахаридів, які входять до складу різних тканин, і таким чином підвищують їх проникливість.

- **Агресія** – агресини (фактори вірулентності), які пригнічують неспецифічний та імунний захист організму господаря. *Пригнічення фагоцитозу* здійснюють **капсули** бактерій. Так поліпептид капсул збудника сибірської виразки застерігає його від захоплення фагоцитами, полісахарид синьогнійної палички пригнічує захоплення і внутрішньоклітинне перетравлення бактерій, різні ферменти мікроорганізмів пригнічують захисні функції організму.
- **Токсиноутворення** – властивість мікроорганізмів продукувати токсичні речовини.

Характеристика бактеріальних токсинів

Особливе місце у вірулентності займає властивість мікроорганізмів синтезувати **токсини**: **екзотоксини і ендотоксини**.

Екзотоксини – це продукти життєдіяльності, метаболізму мікробів, які виділяє мікроорганізм в навколишнє середовище. Вони білкового походження, що обумовлює малу їх стійкість до навколишніх факторів. *Вийняток* становить *нейротоксин* палички ботулізму, *ентеротоксини* стафілокока, холерного вібріона, які витримують короткочасне кип'ятіння. Екзотоксини характеризуються високою токсичністю і вираженою специфічністю: правцевий токсин уражує нервову систему, а дифтерійний – м'язи серця. Вони термолабільні, під дією формаліну переходять в анатоксин, в основному утворюються *грампозитивними* бактеріями. Отримують екзотоксини, засіваючи токсигенну культуру в рідке поживне середовище і вирощуючи в умовах максимального нагромадження токсину. Після фільтрування через бактеріальні фільтри отримують фільтрат, який містить екзотоксин. Щоб отримати анатоксин діють 0,4% формаліном, витримують в умовах 39-40 ^{o}C 3-4 тижні. При цьому екзотоксини втрачають свої токсичні властивості, але зберігають антигенні.

Розрізняють чотири типи білкових токсинів. Токсини, які віднесено до типу "**цитотоксинів**" (антиелонгатори, ентеротоксини, дермонекротоксини) блокують синтез білка на субклітинному рівні. "**Мембранотоксини"** – підвищують проникливість поверхневої мембрани еритроцитів (гемолізини) і лейкоцитів (лейкоцидини). Це пов'язано з тим, що мембарнотоксини вбудовуються в мембрану клітини утворюють канал який гідрофільний зсередини і гідрофобний ззовні. В результаті проходить порушення саморегуляції клітини, яка гине від осмотичного шоку. "**Функціональні блокатори (ФБ)**" – включають термолабільні і термостабільні ентеротоксини, які активують клітинну аденілатциклазу, що приводить до підвищення приникливості стінки тонкого кишківника і збільшення виходу рідини в її просвіт – діареї (холероген). До ФБ відносять токсикоблокатори (сибірковоразковий і чумний токсини), які інактивують аденілатциклазу, і нейротоксини (тетаноспазмін, ботулінічний токсин), які блокують передачу нервових імпульсів в клітинах спинного і головного мозку. **Ексфоліатини і еритрогеніни**, які утворюють деякі штами золотистого стафілокока і

скарлатинозний стрептокок, впливають на процес взаємодії клітин між собою з міжклітинною речовиною.

Ендотоксини – ліпополісахариднопротеїновий комплекс, тісно зв'язаний з клітиною мікроорганізму (пептиглікан має пряму токсичну дію, тейхоєві і ліпотейхоєві кислоти). Ендотоксини не специфічні, типова клінічна картина для них: інтоксикація, лихоманка, біль голови і т.д. Термостабільні, під дією формаліну частково руйнуються, утворюються *грамнегативними* бактеріями. Велика кількість надходження в кров ендотоксину приводить до токсико-септичного шоку.

Для *вимірювання сили токсину* використовують такі величини: ***DLM*** – найменша доза токсину, яка будучи введена парентерально чутливим тваринам стандартного віку та маси, обумовлює загибель більшості (90-100%) дослідних тварин впродовж трьох діб. $\boldsymbol{DL_{50}}$ – найменша доза токсину, яка, будучи введена парентерально чутливим тваринам стандартного віку та маси, обумовлює загибель близько 50% дослідних тварин впродовж трьох діб.

Резервуари, джерела, механізми, шляхи і чинники передачі та поширення інфекції

Джерело інфекції (інвазії) – заражена людина (або тварина), організм якого є природним середовищем життя патогенних мікроорганізмів (збудників інвазії) звідки вони виділяються і можуть заражати сприйнятливу людину (або тварину).

Але коли мова йде про джерело інфекції, то мають на увазі не місце нагромадження мікробів взагалі, а лише хвороботворних (патогенних) видів, які адаптовані до паразитування в організмі людини або тварини.

Залежно від того, хто є **джерелом інфекції** (люди або тварини), інфекційні хвороби поділяють на:

- **антропонози –** джерелом інфекції є хвора людина або носій;
- **зоонози –** джерелом інфекції є хворі тварини; людина не є джерелом інфекції для інших людей. До тварин відносять сільськогосподарських тварин (наприклад, сибірською виразкою людина може заразитися від тварин різних видів), дикі тварини і гризуни – джерела інфекції при чумі, туляремії, лептоспірозі, лейшманіозі, рикетсіозах, інших інфекціях. Прийнято виділяти *основних носіїв* – види тварин, в яких збудник зберігається довго, переходячи від однієї особи до іншої; *другорядних носіїв*, які лише періодично залучаються в епізоотичний процес. При деяких інфекціях джерелами можуть бути хижаки з родини собачих (сказ, лейшманіоз, рикетсіоз, лептоспіроз, лістеріоз, токсоплазмоз). Розведення песців, лисиць збільшило епідеміологічне значення цих тварин.
- **антропозоонози** - джерелом інфекції можуть бути і люди і тварини. Сюди відноситься чума, туберкульоз, сальмонельоз, кримська геморагічна лихоманка, жовта лихоманка.

Професійний фактор має велике значення в розповсюдженні зоонозів (переносники – сільськогосподарські тварини), а при антропонозах він виражений менше.

При багатьох інфекційних захворюваннях джерелом інфекції є тварини, що обумовлює зв'язок з ветеринарною дисципліною, яка вивчає інфекційні хвороби тварин. Але епізоотичний процес визначається умовами життя стада тварин і є біологічним явищем, тому епідемічний процес в першу чергу залежить від соціального життя людей, є таким чином соціально-біологічним явищем.

Крім цього, інфекційні хвороби поділяють:

- *за етіологічним принципом* на: кокові, бактеріальні, бацилярні, вірусні, грибкові, паразитарні;
- *за клініко-анатомічним принципом:* на інфекції загального синдрому і інфекції місцевого синдрому;
- *за епідемічним принципом:* кишкові інфекції, інфекції дихальних шляхів, кров'яні інфекції, інфекції шкіри і слизових, інфекції з різним механізмом передачі.

Механізм передавання інфекції – це сукупність трьох фаз переміщення збудників інфекційних захворюваннь від джерела інфекції у сприятливий організм людини (або тварини). Такими фазами є: виведення збудника з організму джерела інфекції, перебування його у навколишньому середовищі (або в організмі живого переносщика); проникнення збудника у сприйнятливий організм.

Механізми передавання збудників інфекції класифікують на:

- **Контактний** – збудники, які локалізуються на шкірі, слизовій оболонці очей, порожнини рота, статевих органів, поверхні ран, попадають на різні предмети і при контакті з ними сприйнятливої людини, проникають в організм (контактно-побутовий шлях), а при безпосередньому контакті ураженої тканини з непошкодженою (прямий контакт – статевий).

При прямому контакті можуть передаватися малостійкі у навколишньому середовищі збудники, оскільки вони безпосередньо переходять від джерела інфекції у сприйнятливий організм. А контактно-побутовий шлях передачі інфекції можливий для збудників, стійких у навколишньому середовищі (кишкові інфекції, дифтерія, скарлатина, туберкульоз, зоонози).

- **Аерогенний**. Збудники, які локалізуються на слизовій оболонці дихальних шляхів, поступають у повітря (при кашлі, чханні і т.д.), зберігаються в ньому в формі аерозолю і проникають в організм людини при вдиханні зараженого повітря (краплинний і пильовий аерогенний шлях передачі).

Механізм повітряно-краплинного шляху передавання інфекції нескладний: потік видихаючого повітря забирає частинки слизу, який покриває дихальні шляхи, і мікроорганізми виводиться назовні у вигляді аерозолю.

Велике значення при цьому має життєздатність збудників, які знаходяться в крапельках.

Повітряно-краплинним методом можна заразитися в межах кімнати. Лише при кору, вітрянці і натуральній віспі можна розповсюдити інфекцію за межі кімнати. Цим шляхом розповсюджуються всі інфекції дихальних шляхів.

Інфекції, які передаються повітряно-краплинним шляхом, відносяться до антропонозів, оскільки повітряно-краплинне передавання типове для груп людей (мовне спілкування, вертикальне положення тіла і т.д.). В основному інфекції цим шляхом розповсюджуються в холодну пору року.

Повітряно-пильовий шлях передавання інколи є продовженням повітряно-краплинного: інфіковані крапельки, осідаючи на поверхні, перетворюються в пилюку. З підлоги, при перестиланні постелі, струшуванні одягу з інфікованою пилюкою можуть розповсюджуватись деякі зоонозні інфекції: орнітоз, Ку-лихоманка, туляремія, геморагічна лихоманка з нирковим синдромом, в окремих випадках бруцельоз і сибірська виразка.

- **Фекально-оральний**. Збудники, які локалізуються в кишківнику, поступають з випорожненнями в навколишнє середовище і за допомогою різних факторів (харчові продукти, вода і т.п.) попадають в травний канал сприйнятливих людей (аліментарний шлях передавання).

Аліментарний шлях передачі інфекції найбільш поширений серед кишкових інфекцій, гельмінтозів, при дифтерії, скарлатині. У відношенні харчових продуктів тваринного походження розрізняють *первинні* (прижиттєві) і *вторинні* (посмерні) зараження. Первинні – збудники проникають у м'язи тварини, внутрішні органи, в птахів – в яйцеводи, яйця (сальмонельоз). При вторинному інфікуванні – через брудні руки, які обробляють харчові продукти; кухонний інвентар.

Водний шлях передачі збудників кишкових інфекцій проходить при забрудненні води стічними водами, при таненні снігу, купанні людей, тварин, пранні білизни.

Люди інфікуються через воду при купанні, виконанні різних робіт у воді, а також при питті води (холера). Можуть бути гострі водні епідемії (спалахи) або хронічні.

- **Трансмісивний**. Збудники, які локалізуються в крові і лімфі, поступають в організм кровосисних членистоногих і пізніше до людини.

Розрізняють *механічні* (неспецифічні) і *біологічні* (специфічні) **чинники передачі** інфекцій. *Механічні* чинники інфекцій переносять збудників інфекційних захворювань на поверхні тіла або ковтають їх, а пізніше виділяють з фекаліями. При цьому збудник в організмі переносщика не розмножується і не нагромаджується в ньому. Прикладом механічних переносщиків можуть бути *мухи*, які в своєму розвитку пов'язані з нагромадженням нечистот (відкладання яєць, личинкова стадія) і з харчовими продуктами. На лапках і рильці ці комахи переносять дрібні частинки забруднень, в яких можуть бути різні мікроорганізми (до 60 видів патогенних мікробів). Мухи виділяють патогенних мікробів з фекаліями і відхаркуванням ("мухові плями"). До механічних

перенощиків відносять *тарганів і деяких кровосисних літаючих комах*, які на поверхні свого колючого апарату можуть переносити збудників сибірської виразки і туляремії від заражених тварин людям або сприйнятливим тваринам.

В організмі *біологічних* перенощиків збудники нагромаджуються, а інколи мають визначений цикл розвитку (*малярійний плазмодій* в організмі малярійного комара).

Зараження людини від перенощиків проходить шляхом **інокуляції** (при кровосмоктанні збудник знаходиться в слині перенощика) або **контамінації** (своїми виділеннями перенощик забруднює шкірні частини тіла, а пазніше проникає через дефекти шкіри): *одежна і головна воші* є перенощиками збудників висипного тифу, поворотного тифу вошей, волинської лихоманки; *блохи* розповсюджують чуму і щурячий висипний тиф; *комарі анофелес* – малярію; *комарі кулекс* – японський енцефаліт; *комарі аедес* – жовту лихоманку, денге; *москіти* – лейшманіози, флеботомну лихоманку, деякі трансмісивні енцефаліти; *іксодові кліщі* – туляремію, кліщовий енцефаліт, Ку-лихоманку, деякі інші рикетсіози і геморагічні лихоманки; *червонотілкові кліщі* – рикетсіоз цуцугамуші. Вони передають патогенних збудників, якими вони заражені. Властивість передавати збудників **трансоваріально** наступному поколінню робить даний вид перенощика *резервуаром* тривалого збереження збудників в природі (роками).

- **Вертикальний** механізм (через плаценту)
- **Артифіціальний** механізм відбувається за допомогою технічних засобів: через кондиціонери.

Можливі зараження від *грунту, води, виділень гризунів.*

Передавання збудників інфекційних захворювань через *грунт* при кишкових інфекціях може здійснюватись ланцюжком: фекалії хворого або носія – грунт – овочі – організм сприйнятливої людини; фекалії хворого або носія – грунт – вода відкритих водоймищ (куди мікроби попадають з водами) – сприйнятлива людина.

Велика роль грунту в розповсюдженні *гельмінтозів*. При певній температурі тут проходить розвиток і дозрівання яєць гельмінтів, а в анкілостоми – утворення личинок; *правець і газову гангрену* викликають спороутворюючі мікроорганізми, *ботулізм* після попадання збудників з грунту в харчові продукти і нагромадження в них токсину.

Потрапивши в організм людини, патогенний мікроорганізм може поширюватись такими **основними шляхами**:

- **гематогенним**
- **лімфогенним**
- **висхідним сечовим**
- **нисхідним сечовим**
- **через тканини**

Можливе розповсюдження інфекційних захворювань при деяких медичних парентеральних маніпуляціях – через кров і нестерильний медичний

інструментарій (вірусний гепатит, малярія, сифіліс, токсоплазмоз, ВІЛ-інфекція).

Динаміка інфекційного процесу

Періоди інфекційної хвороби:

- **Інкубаційний період** – час від моменту проникнення патогенного мікроорганізму через вхідні ворота (шкіру, слизові оболонки і т.д.) до появи перших ознак захворювання. В цьому періоді проходить розмноження і нагромадження збудників і їх токсинів. Тривалість його різна: наприклад для черевного тифу 14 діб, дифтерії – 5-7 діб, токсикоінфекції виникають через декілька годин після зараження. Триває до появи перших клінічних ознак захворювання.
- **Продромальний період -** характеризується появою перших симптомів захворювання: підвищення температури, біль голови, слабкість, недомагання, губиться апетит, подразнюються слизові оболонки ока, носа, верхніх дихальних шляхів. На основі клінічних ознак ставиться клінічний діагноз захворювання. Крім цього ставлять лабораторні (мікробіологічні) методи дослідження. Це дозволяє поставити *ранній діагноз* та ізолювати хворого від здорових людей і своєчасно почати лікування.
- **Період розвитку захворювання – клінічний період** є самим заразним, оскільки хворий виділяє велику кількість мікробів в навколишнє середовище.

Захворювання може перебігати в легкій або тяжкій формі, а клінічна картина захворювання може бути не типова для даного інфекційного захворювання. Ці форми називаються **атиповими.** Тоді мають значення мікробіологічні методи дослідження.

Існують ще **приховані або латентні** форми інфекції, при яких відсутні клінічні прояви захворювання. Латентні форми існують при малярії, туберкульозі, герпесі, поліоміеліті, менінгіті.

- **Період реконвалесценсії (виздоровлення)** наступає після розпалу захворювання, знижується температура, підвищується апетит, відновлюються функції різних органів. В період виздоровлення організм звільняється від мікробів – збудник виділяється з сечею, випорожненням, харкотинням. Хвороба також може закінчуватись смертю.

Види і форми інфекції

Стан, коли збудники інфекції циркулюють впродовж певного часу в крові, але не розмножуються в ній (наприклад, черевний тиф) називають **бактеріємією.**

В тому випадку, коли збудник довго знаходиться в крові, нагромаджується там і навіть розмножується, виникає **сепсис** або **септицемія** (при чумі, сибірській виразці, гноєрідних коках).

Утворення в результаті сепсису гнійних вогнищ в різних органах називається **септікопіємією**. Циркуляція в крові токсину називається **токсинемією**, циркуляція вірусів – **вірусемією**.

Форми прояву інфекції класифікують:

- За **походженням** класифікують ***екзогенні*** *інфекції*, які виникають в результаті проникнення збудників з навколишнього середовища і ***ендогенні,*** коли збудники знаходяться в організмі в складі облігатної або транзиторної флори і при ослабленні захисних сил організму можуть бути причиною виникнення захворювання або шляхом переносу збудника з одного біотопу до іншого (***автоінфекція*****).**
- За **тривалістю** перебігу розрізняють:

  Гостра інфекція – характеризуються швидким зненацьким початком (від одного тижня до 1 міс.). Наприклад – грип, кір, холера, черевний тиф.

  Хронічна – затяжним перебігом (місяці, роки). Наприклад – малярія, сифіліс, туберкульоз, бруцельоз, лепра.

  Латентна – характерний прихований перебіг без клінічних проявів.

  Персистуюча – характеризується тривалим збереженням збудника в організмі людини.

Хворі з важкими формами масивно виділяють збудника, вони швидко звертаються за медичною допомогою, їм рано ставиться діагноз, їх ізолюють. Хворі легкими і особливо атиповими формами інфекції хоч менше виділяють збудників, але через те що пізно звернулися до лікаря, важко діагностувати хворобу. Вони є дуже небезпечними. Хворі виділяють збудника впродовж всього захворювання і в різні періоди хвороби. Наприклад: кір, коклюш, вірусні гепатити А і В – це початковий період захворювання. При черевному тифі і паратифах – на 3-4 тижні захворювання.

Ще в добактеріологічну епоху було помічено, що інколи інфекційне захворювання могло бути занесено в населений пункт особами, які раніше зверталися з хворими, але самі залишалися здоровими. Збудники ці були виявлені в здорових осіб, а тому їх назвали **бацилоносіями** (відносять групу аеробних спороутворюючих паличок).

Використовують також визначення **“бактеріоносій”, “вібріоносій”, “вірусоносій”** або просто **“носій”. Носій** - людина або тварина, в організмі якої паразитують патогенні мікроорганізми, але вони не викликають клінічних проявів хвороби. Патогенний збудник розмножується і виділяється з організму носія. Розрізняють *гостре, підгостре і хронічне носійство,* а також контактних і неконтактних носіїв.

Розрізняють **три категорії носійства:**

- носії в інкубаційному періоді;
- носійство в осіб, що перехворіли, в тому числі реконвалесценти;
- здорове (транзиторне) носійство.

В *інкубаційному* періоді при грипі людина може заражати інших за 4 години до появи перших клінічних ознак. Клінічне видоровлення не завжди співпадає з очищенням організму від збудників. Інколи виділення збудників продовжується і в період *реконвалесценції,* а також в осіб, які *перехворіли* (тифо-паратифозні захворювання).

Здорове носійство необхідно розуміти як безсимптомну інфекцію. Але при поліомієліті і менінгококовій інфекції на один випадок клінічно вираженого захворювання приходяться сотні здорових носіїв, які найчастіше виявляються серед осіб, які контактують з хворими (контактне носійство).

Хронічне носійство необхідно розглядати як наслідок неповноцінності імунітету організму. Всі фактори, які пригнічують імунорезистентність організму, можуть сприяти формуванню носійства.

Бактеріоносійство формується після перенесеного захворювання, коли наступає клінічне виздоровлення, але збудники продовжують залишатись в організмі і виділяються в навколишнє середовище (носії черевнотифозних, дизентерійних паличок). В деяких випадках бактеріоносійство розвивається у здорових осіб, які контактують з хворими або навіть носіями патогенних мікроорганізмів.

- **За числом інфікуючих агентів**: якщо інфекція викликана одним видом збудника, таку інфекцію називають **моноінфекцією**. При зараженні організму одночасно 2-3 різними збудниками (наприклад, дифтерійною паличкою і стрептококом) говорить про **змішану інфекцію. Параінфекція** зумовлена сапрофітними бактеріями, які запозичили властивості патогенних, з якими вони були у симбіозі (парадизентерія).
- **Повторні прояви хвороби**. Від змішаних відрізняють **вторинну інфекцію,** коли до основного захворювання (наприклад, грип) приєднується інфекція, викликана іншими збудниками (наприклад, стафілококом або стрептококом). **Реінфекцією** називають такий стан, коли виникло повторне захворювання в результаті нового зараження цим же видом збудника. Якщо захворювання відновилось до виздоровлення в результаті інфікування цим же збудником, говорить про **суперінфекцію**. Такі інфекції спостерігаються при сифілісі, гонореї. **Рецидив** – повернення симптомів захворювання (поворотний тиф, малярія), які виникають без повторного зараження за рахунок збудників, які залишилися в організмі.
- **Залежно від локалізації збудника в організмі** хворого розрізняють **вогнищеву** інфекцію, при якій мікроби знаходяться в місцевому вогнищі, не розповсюджуються за його межі (наприклад, ангіна, фурункульоз), і **генералізовану**, коли сили агресії мікроорганізмів перевищують силу захисних механізмів організму господаря і збудники з місцевого вогнища розповсюджуються по організму.

Інтенсивність розповсюдження інфекції може бути різною, що і характеризується відповідними термінами:

- Спорадичним захворюванням (спорадія) – прийнято називати звичайний для даної території рівень захворюваності відповідним захворюванням,

причому чіткого зв'язку між окремими захворюваннями встановити не вдається.

- Терміном "**епідемічний спалах"** називають одночасно утворені групові захворювання, які охоплюють який-небудь колектив або невеликий населений пункт. Захворювання об'єднані загальним джерелом інфекції, загальним шляхом передачі інфекції (вітряна віспа в дитячому колективі, водний спалах кишкової інфекції).

- Епідемією називають такий рівень захворюваності, який в декілька разів більший рівня спорадичного захворювання – масові захворювання, охоплюють місто, область, район, державу. Вона має *епіцентр* – місце, де вона почалась і звідки вона розповсюдилась на інші території. Конкретна епідемія може мати визначену клінічну і епідеміологічну своєрідність (важкі і легкі за клінічним перебігом епідемії, незвичайна частота яких-небуть ускладнень). Виділяють *водні, харчові, контактно-побутові епідемії*. Епідемія є як наслідок того, що на певній території склалися умови, які сприяють розповсюдженню інфекції. Як приклад, розповсюдження паразитарних тифів в нашій країні в 1918-1921 роках.

- Пандемія – масові захворювання, які охоплюють країни і континенти (грип, холера, чума і ін.).

- Захворювання, яке розповсюджується у певній місцевості, називається **ендемією** (від грецького слова "*endemos*" – місцевий), вони не мають тенденції до розповсюдження за її межі. Причиною можуть бути як соціальні, так і природні фактори. Е.Н.Павловським введено поняття природно-вогнищеві інфекції. Згідно цього вчення, в природі незалежно від людини, здавна існують території, заселені тваринами, серед яких циркулюють патогенні мікроорганізми (або інші паразити). Найменше передається інфекція трансмісивним шляхом (при укусах заражених членистоногих) або через воду. Але людина не є обов'язковим компонентом природно-вогнищевої інфекції. Інфекція існувала до людини, може існувати і після того, як людина покине територію природного вогнища. Але знищення лісів, розриття грунту можуть створити умови несприйнятливі для існування природного вогнища, оскільки може загаситися. Але буває і навпаки, коли людина сприяє збільшенню території природного вогнища, виникненню нових – при завозі на нові території заражених тварин, при роботах при взятті проб грунту, які ведуть до утворення нових водоймищ.

- Екзотичними називаються інфекційні захворювання не властиві населенню даної території. Це поодинокі випадки, як правило, завозяться з інших країн, частіше з жарким кліматом.

Необхідно відмітити і про так звані **шпитальні,** або як їх ще називають **внутрішньолікарняні інфекції**, які викликають умовно-патогенні мікроорганізми, їх зараз більше 200 родів (ешерихії, протей, клебсієли, ентеробактерії, гемофільні бактерії, псевдомонади і інші). Можуть виникнути після оперативних втручань (використання наркозу – підвищується проникливість слизової оболонки, можна виявити бактеріємію, після екстрації

зуба – якщо посіяти, то 70% може бути мікроорганізмів і т.д.). Більшість з них носить хронічний характер, порушуються захисні сили організму і виникають шпитальні ековари. Вони мають підвищену стійкість до антибіотиків, антисептиків і можуть долати антагоністичні взаємовідношення, мінливі, можуть активно обмінюватись генетичним матеріалом. Відмічено, що медпрацівники і особи сфери обслуговування часто хворіють грипом та іншими респіраторними інфекціями. Гепатитом В хворіють медпрацівники: хірурги, персонал закладів служби крові, тобто особи групи ризику. Розповсюдження інфекційних захворювань залежить від санітарної культури населення, рівня особистої гігєни. Рівень розвитку охорони здоров'я визначає можливість виявлення, діагностики та ізоляції інфекційних хворих. У вирішенні цих завдань важливе місце має розвиток лабораторної служби, дезінфекційна справа і щеплення населення.

Біологічний (експериментальний) метод дослідження – це метод, який проводиться на лабораторних тваринках з метою виділення мікроорганізмів із досліджуваного матеріалу, особливо в тих випадках, коли збудника не можна виділити методом посіву (при вірусних хворобах, рикетсіозах), з метою виділення чистої культури з матеріалу забрудненого іншими мікроорганізмами, визначення вірулентності, відтворення клінічної картини інфекції, вирішення низки питань що стосуються імунітету, ефективності лікування, різних імунобіологічних препаратів.

Питання для самоконтролю

1. Пацієнт одужав після перенесеної дизентерії Зонне і повторно заразився тим самим збудником. Як називається така форма інфекції?
A. Реінфекція
B. Рецидив
C. Суперінфекція
D. Персистуюча інфекція
E. Хронічна інфекція

2. Під час бактеріологічного дослідження фекалій жінки, 38 років, яка 1,5 року тому перенесла черевний тиф, було виявлено Salmonella typhi. Як охарактеризувати стан обстеженої жінки?
A. Бактеріоносійство
B. Дисбактеріоз
C. Реінфекція
D. Суперінфекція
E. Рецидив

3. У дитини, що одужує після кору, розвинулася пневмонія, спричинена умовно-патогенними бактеріями. Яка найбільш ймовірна форма цієї інфекції?
A. Реінфекція
B. Вторинна інфекція

C. Суперінфекція
D. Персистуюча інфекція
E. Мікст-інфекція

4. У пацієнта внаслідок активації власних мікроорганізмів, які входять до складу мікрофлори слизової оболонки рота, виник гнійно-запальний процес тканин пародонта. До якої форми інфекції належить захворювання?
A. Екзогенної інфекції
B. Аутоінфекції
C. Реінфекції
D. Суперінфекції
E. Рецидиву

5. Після введення вакцини БЦЖ немовлятам імунітет до туберкульозу триває доти, доки в організмі є живі бактерії вакцинного штаму. Як назвати такий вид імунітету?
A. Типоспецифічний
B. Гуморальний
C. Нестерильний
D. Природжений
E. Перехресний

6. Людина, яка проживала в ендемічному вогнищі перехворіла 3-денною малярією. Після переїзду в іншу місцевість, через 1,5 року після переїзду захворла малярією знову. Яка найбільш вірогідна форма цього захворювання?
A. Рецидив
B. Реінфекція
C. Суперінфекція
D. Персистуюча інфекція
E. Вторинна інфекція

7. Молода людина, у якої в анамнезі була гонорея і від який вона цілком вилікувалася, знову занедужала на гонореєю. У даному випадку можна говорити про:
A. Реінфекцію
B. Мікст-інфекцію
C. Рецидив
D. Суперінфекцію
E. Вторинну інфекцію

8. У сироватці крові новонародженого виявлено антитіла до вірусу кору. Про наявність якого імунітету це може свідчити?
A. Штучного пасивного
B. Природного активного
C. Природного пасивного

D. Штучного активного
E. Спадкового

9. Вагітна скаржиться на подразнення слизової оболонки піхви, свербіж та виділення зі статевих шляхів. Бактеріоскопія мазків з піхви показала наявність великих грампозитивних овальних подовжених клітин, що утворюють псевдоміцелій. Яким шляхом відбулося зараження?
A. Контактно-побутовим
B. Статевим
C. Ендогенна інфекція
D. Трансмісивним
E. Ранова інфекція

10. Які з наведених характеристик не властиві для екзотоксинів?
A. Вони виділяються позаклітинно
B. Вони продукуються як грампозитивними так і грамнегативними бактеріями
C. Вони не перетворюються в анатоксин
D. Вони термолабільні

ВЧЕННЯ ПРО ІМУНІТЕТ

Термін "**імунітет**" від латинського слова "*immunitas*" – звільнення від повинності, значить несприйнятливість організму до патогенних мікробів і їх токсинів, всяких генетично чужих агентів. Головна функція імунітету – імунний нагляд за внутрішньою постійністю організму (гомеостазом). Головне завдання – знищення генетично чужих клітин, включаючи мікроорганізми.

Ще в давнину людей, які перехворіли чумою, заставляли ходити біля хворих, хоронити померлих. Деякі люди хворіли. Це заставляло думати про те, що організм людини під час хвороби складає захист від дії хвороботворних мікробів.

Відомі заходи стародавніх народів запобігти від укусів змій, втираючи в насічки на шкірі рослини, розтерті із зміїною отрутою; роблячи насічки мечем, який занурювали в легені бика, що загинув від цього захворювання, захищали стадо від перипневмонії худоби.

Вперше, як відомо в 1876 році Е.Дженнер використав штучне зараження людини віспою з метою запобігти захворюванню натуральною віспою. Але Л.Пастер науково зумів обгрунтувати принципи штучного захисту від інфекційних захворювань. Він запропонував щеплення проти сказу і сибірської виразки. Далі працював І.І.Мечніков по фагоцитозу і П.Ерліх – про роль гуморальних факторів (рідин організму) для розвитку несприйнятливості організму.

Так був покладений початок **імунології** – науці, яка вивчає захисні механізми, які лежать в основі несприйнятливості організму людини до інфекційних захворювань і факторів, які обумовлюють цей процес-захист.

В результаті дослідів Л.Пастера, І.Мечнікова, Берінга і Ру, Л.С.Ценковського, Г.Н.Габричевського, Борде, Ерліха та інших вчених досягнуті значні успіхи в профілактиці, лікуванні і діагностиці інфекційних захворювань.

Вивчення явищ імунітету дозволило створити препарати для попередження захворювань – це вакцини, одержати лікувальні сироватки і імуноглобуліни, використати реакції імунітету для діагностики захворювань.

Існують різні класифікації **видів і форм імунітету**. Це обумовлено значною різноманітністю захисних факторів і механізмів імунітету, які має організм.

Види імунітету: вроджений *спадковий* (видовий) і *набутий* (природній і штучний, активний і пасивний).

Вроджений *спадковий* (видовий) імунітет або неспецифічна резистентність – це найбільш удосконалена форма несприйнятливості, яка обумовлена факторами до любого чужого субстрату, які передаються по спадковості – *фактори резистентності* (стійкості). Це вроджена форма несприйнятливості даного виду, яка має свої біологічні особливості. Людина не хворіє чумою рогатої худоби, курячою холерою, рожою свиней. Тварини, навпаки несприйнятливі до захворювань людини – гонореї, сифілісу, дифтерії, холери. Вроджений видовий імунітет є наслідком природньої несприйнятливості тканин організму до паразитування певних мікробів. Велике значення мають біохімічні процеси, які проходять в клітині. Імунітет може бути знижений при охолодженні, перегріванні, авітамінозах: так стійкість курчат до сибірської виразки може бути знижена при охолодженні.

Набутий імунітет виникає після того, як людина перенесе інфекційне захворювання, як вибіркова відповідь на антиген, тому його називають *післяінфекційним*. Він не передається по спадковості. Так при одних захворюваннях – чума, туляремія, коклюш, кір він зберігається на все життя. Повторні захворювання спостерігаються дуже рідко. Довго зберігається імунітет після захворювання черевним тифом, холерою, натуральною віспою, вітряною віспою, дифтерією, висипним тифом, сибірською виразкою. Його відносять до *активного природного імунітету*.

Вроджений і набутий імунітет реалізуються дією клітин і гуморальних факторів, тому існує *клітинний і гуморальний імунітет*.

Після інфекційного захворювання людина звільняється від збудника – мікробів паралельно з несприйнятливістю. Цю форму імунітету названо *стерильною або післяінфекційним імунітетом.* Існує також *нестерильний інфекційний імунітет* – це наявність в людини збудника того ж, яким людина може заразитися. І як тільки мікроб залишає організм, людина стає сприйнятливою до даного інфекційного захворювання. Інфекційний імунітет існує при туберкульозі, сифілісі, глибоких мікозах, малярії.

До природного імунітету слід віднести *пасивний імунітет новонароджених* – це передача особливих антитіл з організму матері через плаценту (плацентарний імунітет) або через молозиво і молоко дитині. Тому

діти є малосприйнятливими до зараження і захворювання в перші 6 місяців життя.

Штучний набутий імунітет також поділяється на активний і пасивний. Штучний імунітет роблять, щоб запобігти виникненню інфекційного захворювання, а також використовують для лікування інфекційного захворювання.

Формування набутого імунітету – процес активної перебудови імунної системи, яка викликає гуморальний або клітинний імунітет – антитіла і клітини, які здатні ефективно взаємодіяти з антигенами, що викликали розвиток імунної реакції. Тоді імунітет називають *активним*.

Активний штучний набутий імунітет або післявакцинальний імунітет – це введення вакцин (які отримані з вбитих чи ослаблених мікробів), анатоксинів (знешкоджені токсини збудників). Тривалість активного штучного імунітету при використанні вакцин з живих ослаблених мікробів – 3-5 років, вакцин з вбитих мікробів – до 1 року.

Пасивний штучний набутий імунітет виникає при введенні в організм людини імунних антитіл, які містяться в імунних сироватках перехворівших людей (або тварин). Імунітет триває 15-20 діб, після чого антитіла руйнуються і виводяться з організму. Імунні сироватки і одержані з них імуноглобуліни вводять людині з лікувальною метою при дифтерії, правцю, газовій гангрені. Імунні сироватки застосовують для попередження кору, гепатиту В, раневих інфекцій – правцю, анаеробної інфекції, тобто з профілактичною метою.

Адаптивний (сприйнятливий) імунітет – застосовують пересадку лімфоцитів імунного організму або клітин самого пацієнта, які активовані антигеном або цитокінами поза організмом.

Місцевий імунітет як окрема форма імунітету був введений А.М.Безредком. Він вважав, що існує місцева несприйнятливість різних органів і тканин до збудника. Наприклад: якщо вакцину при холері давати через рот, то захворювання не наступить, оскільки слизова оболонка тонкого кишківника стає несприйнятливою до холерного вібріону. Тому Безредко пропонував скласти місцеву несприйнятливість тканин. Виявлено, що в стінці слизової оболонки кишківника є плазматичні клітини, які виділяють в просвіт кишківника антитіла – секреторні імуноглобуліни класу А (SIgA), які згубно діють на мікроби (*секреторний імунітет*). Досліди імунології підтверджують теорію місцевого імунітету Безвредки, але механізми виникнення несприйнятливості тканин дещо складніші.

Також розрізняють *антибактеріальний імунітет* – коли захисні реакції організму спрямовані на знищення мікроорганізма (при захворюванні або при введенні вакцин). *Антитоксичний* – коли проходить знешкодження токсичних продуктів мікроорганізмів (правцю, анаеробної інфекції – два екзотоксини уражують різні органи і системи). *Антивірусний* імунітет формується після вірусних захворювань (кір, вітрянка), та після імунізації вірусними вакцинами. Імунітет, який формується проти пухлин організму – *протипухлинний імунітет*.

При трасплантації несумісних тканин виникає *трансплантаційний імунітет* (реакція відторгнення трансплантанта). Трансплантовані клітини імунної системи (клітини кісткового мозку) можуть викликати у реципієнта реакцію “трансплантант проти господаря”.

Несприйнятливість людини до інфекційних захворювань обумовлена дією **неспецифічних і специфічних факторів** захисту.

Неспецифічними називають вроджені властивості організму, які сприяють знищенню самих різних мікроорганізмів на поверхні тіла людини і в порожнинах його організму.

Розвиток **специфічних факторів** захисту проходить після взаємодії організму із збудниками або токсинами; дія цих факторів спрямована лише проти цих збудників або їх токсинів.

Фактори неспецифічного захисту організму:

1. Природніми захисними пристосування організму є *зовнішні бар’єри:* шкірні і слизові оболонки, нормальна мікрофлора.
2. *Внутрішні бар’єри* – лімфатичні судини і лімфовузли, тканинні і клітинні бар’єри.
3. *Клітинні фактори* – фагоцити і природні кіллери.
4. *Гуморальні фактори* – лізоцим, білки гострої фази, комплемент, інтерферони, інші цитокіни.

Такі фактори, як лізоцим діють постійно, інші – після активації: комплемент, або стимуляції клітин, які їх виробляють – інтерферон.

Шкіра і слизові оболонки мають захисну функцію.

Відіграють роль також *механічні* фактори – це злущення епітелію, виділення сальних і потових залоз, які сприяють знищенню мікроорганізмів. Роль *хімічних* факторів виконують залози шкіри – сальні і потові, які містять жирні і молочні кислоти, володіють бактерицидною дією. Непошкоджена і чиста *шкіра* є бар'єром для проникнення мікроорганізмів. Неочищена, брудна шкіра – це зниження захисної функції шкіри.

Захисні функції мають **слизові оболонки** носоглотки, дихальних шляхів, кишківника, сечостатевих шляхів і кон'юнктиви очей. Сльози, сеча і секрети слизових оболонок змивають мікроорганізми. В секретах залоз цих оболонок знайдено речовину **лізоцим** (слина, сльози, слиз дихальних шляхів, у крові – в нейтрофілах, властиве розчиняти багато сапрофітних мікробів, а також деяких патогенних. Лізоцим був відкритий російським вченим Лащенковим в 1909 році. Війчатий епітелій дихальних шляхів затримує пилинки, тільки самі маленькі з них доходять до альвеол і знищуються лейкоцитами (фагоцитоз) і переносяться в лімфатичні вузли, де і піддаються знищенню. В травному каналі згубно діє **соляна кислота і ферменти,** які є в шлунковому соці.

На поверхні слизових оболонок, в секретах шкірних, молочних та інших залоз є *секреторні імуноглобуліни*, які мають бактерицидні властивості і

активують місцеві фагоцитуючі клітини. Шкіра і слизові оболонки приймають участь в антиген-специфічних реакціях набутого імунітету.

Біологічні фактори – обумовлені згубною дією *нормальної мікрофлори шкіри* на патогенні мікроорганізми. Мікроорганізми біотопів організму людини перешкоджають адгезії і колонізації поверхні тіла патогенними мікроорганізмами. Існує захисна та імуностимулююча роль нормофлори. Захисна дія – це конкуренція за поживні речовини, зміна pH середовища, продукція коліцинів, перешкодження проникнення і розмноження патогенних мікроорганізмів.

Склад **нормальної мікрофлори** є постійним і знаходиться в антагоністичних відношеннях з патогенними мікробами. Наприклад: променеві гриби, чудесна паличка виділяють антибіотичні речовини, які згубно діють на інші мікроби. Кишкова паличка виділяє молочну кислоту, яка змінює живильне середовище мікробів в кислу сторону, що є бар'єром для розмноження гнилісних і патогенних мікробів в кишківнику.

Роль бар'єрів виконують також **запальні процеси** – утворення сполучнотканинних капсул. Однією з причин запалення є проникнення мікробів, що приводить до порушення циркуляції крові і лімфи у вогнищі ушкодження. Воно супроводжується підвищенням температури, набряком, почервонінням, болями.

Функції фагоцитуючих клітин забезпечують підтримку гомеостазу організму, в процесах запалення і регенерації, в неспецифічному протиінфекційному захисті, в імуногенезі і реакціях специфічного клітинного імунітету.

Внутрішні бар’єри – це система лімфатичних судин та лімфатичних вузлів, які формують *запальний процес*, що спрямований на знищення збудника. У вогнищі запалення проходить активація функцій фагоцитів. Макрофаги приходять на зміну мікрофагам. Коли запальна реакція з участю фагоцитів недостатня для очищення макроорганізму від збудників, тоді секреторні продукти макрофагів забезпечують лімфоцитами і індукцію специфічної імунної відповіді.

Існують функціональні гісто-гематичні бар’єри, які перешкоджають проникненню збудників і чужих субстратів з крові в головний мозок, репродуктивну систему, очі. Мембрана кожної клітини служить бар’єром для проникнення в неї сторонніх частинок молекул.

Чим забезпечується імунітет організму? Чим відрізняється імунний організм від неімунного? Так само як інфекційний процес являє собою захворювання всього організму, так і імунітет є результатом перебудови всього організму в цілому.

В імунному організмі виявлено особливі захисні пристосування – **імунні фактори**, які поділяються на:

1. **Клітинний фактор – фагоцитоз**, який носить специфічний характер. Засновником вчення про імунітет є І.І.Мечніков (1883), який створив вчення про *фагоцитоз* і його роль в імунітеті. Досліди були поставлені на личинках

морської зірки і прозорих рачках-дафніях. В тіло було занурено занозу, біля неї нагромадилась велика кількість клітин. Другий дослід – в тіло вноситься спори гриба. Якщо їх було мало, вони пожиралися клітинами, якщо спор було багато, то вони проростали, розмножувались і тваринка гинула. Звідси І.І.Мечніков зробив висновок, що організм тваринки за допомогою особливих клітин, які захоплюють і пожирають мікроби, звільняється від них і назвав це явище – **фагоцитозом**, а клітини, які здійснюють фагоцитоз – *фагоцитами*, тобто пожирачі мікробів.

Стадії фагоцитозу:

- Наближення фагоциту до мікробу (позитивний хемотаксис).
- Прилипання мікроорганізмів до фагоцитів (адгезія).
- Захоплення або поглинання мікроорганізмів цитоплазмою фагоцитів, утворення фагосоми.
- Утворення фаголізосоми, куди поступають ферменти і бактерицидні білки.
- Загибель (внутрішньоклітинна інактивація мікроорганізмів) і ферментативне перетравлення збудника.

До факторів, які посилюють фагоцитоз належать солі кальцію, магнію, електроліти, комплемент, антитіла – опсоніни, інтерферон, гістамін, пірогенні речовини, що мають властивість підвищувати температуру тканин і всього організму.

Процес, який закінчується загибеллю фагоцитованих мікробів, називається завершеним фагоцитозом.

Але деякі мікроорганізми не гинуть, а розмножуються в них. Таке явище отримало назву незавершеного фагоцитозу.

Функціональна діяльність лейкоцитів міняється при багатьох інфекційних захворюваннях, а часто і неінфекційних. Для оцінки функціонального стану фагоцитів визначають захоплюючу активність за двома **тестами**:

- **Фагоцитарний показник** – процент фагоцитуючих клітин (число лейкоцитів з захопленими мікробами з 100, за якими спостерігають).
- **Фагоцитарне число** середня кількість захоплених одним лейкоцитом мікробів або інших об'єктів фагоцитозу. Активність фагоцитозу пов'язана з наявністю в сироватці крові антитіл – опсонінів, які підсилюють фагоцитоз, готують поверхню клітини до захоплення її фагоцитом. Відсутність фагоцитарної властивості клітин різко погіршує перебіг і прогноз захворювання.

Всі фагоцитуючі клітини за І.І.Мечніковим, поділяються на ***макрофаги і мікрофаги,*** які походять з стовбурової клітини, яка є єдиним попередником грануло- і моноцитопоезу.

Основну роль виконують *мікрофаги* – поліморфноядерні гранулоцити крові (нейтрофіли, еозинофіли і базофіли). Вони першими проникають у вогнище запалення. *Макрофаги* поділяються на рухливі (моноцити, полібласти, гістіоцити та ін.) і нерухомі (клітини ендотелію кровоносних судин, лімфатичної тканини, ретикуло-ендотеліальної системи – печінки, селезінки і

інших органів). Презентативна або представляюча функція макрофагів – це фіксація на зовнішній мембрані антигенних епітопів мікроорганізмів. Так макрофаги представлені для специфічного розпізнавання. Макрофаги виробляють і секретують регуляторні фактори – простангландини, лейкотрієни, циклічні нуклеотиди з широким спектром біологічної активності.

Секреторна функція – секреція фагоцитами біологічно активних речовин цитокінів – речовин, які мають регулюючу дію на проліферацію, диференціацію і функції фагоцитів, лімфоцитів, фібробластів та інших клітин. Серед них інтерлейкін-1 (ІЛ-1) секретується макрофагами, активує функції Т-лімфоцитів, продукцію ІЛ-2. ІЛ1 і ІЛ-2 є клітинними медіаторами, які регулюють імуногенез та імунну відповідь.

Всі одноядерні фагоцитуючі клітини об'єднані в **систему мононуклеарних фагоцитів (СМФ),** яка рано формується в онтогенезі і має вікові особливості. Гранулоцити – це зрілі клітини крові. Моноцити, покидаючи кров, дозрівають в тканинні макрофаги. Позасудинна кількість мононуклеарних фагоцитів в десятки разів перевищує їх кількість в крові (особливо багаті ними печінка, селезінка, легені).

Всі фагоцитуючі клітини мають складчасту структуру, багато специфічних рецепторів і антигенних маркерів (позначок). Фагоцити мають лізосомний аппарат, в якому містять ферменти. Мембрани лізосом зливаються з мембранами фагосом або з зовнішньою мембраною (проходить дегрануляція клітин і секреція лізосомних ферментів у позаклітинний простір). Фагоцити мають захисну, презентаційну функцію для лімфоцитів антигенних епітопів на мембрані фагоцита, секреторну функцію – секреція лізосомних ферментів і інших біологічно активних речовин – цитокінів. Фагоцитуючі клітини мають лізосоми, в яких знаходиться більше 25 різних гідролітичних ферментів і білків, які мають антибактеріальні властивості.

Фагоцити синтезують і секретують продукти з ефекторною активністю – антибактеріальною, антивірусною і цитотоксичною: відносяться кислотні радикали (O^-_2 $-H_2O_2$), компоненти комплемента, лізоцим та інші лізосомні ферменти, інтерферон. За рахунок тих факторів фагоцити вбивають бактерії не лише в фаголізосомах, а поза клітинами.

Природні кіллери (ПК) – популяція лімфоцитоподібних клітин, які мають природну цитотоксичну дію щодо клітин-мішенів-цілей. ПК – це клітини з протипухлинною, противірусною і протипаразитарною активністю без попереднього контакту з антигеном. Морфологічно ПК – великі грануловмісні лімфоцити (азурофільні цитоплазматичні гранули є аналогами лізосом фагоцитуючих клітин). Але ПК фагоцитуючої функції не мають. ПК серед лейкоцитів крові людини складають від 2 до 12%.

Розвиток інфекційного процесу і формування імунітету повністю залежать від первинної чутливості клітин до збудника – **клітинної реактивності.** Спадковий видовий імунітет цьому приклад – відсутня чутливість клітин одного виду тварин до мікробів, патогенних для інших. Реактивність клітин міняється з віком.

2. Гуморальний фактор (*"humor"* від латинського – рідина) – **сироватка крові** нейтралізує дію мікробних токсинів (антитоксична дія) або вбиває їх (бактерицидна дія) або розчиняє мікроби (бактеріолітична дія).

Гуморальні чинники неспецифічного захисту макроорганізму – це комплемент, лізоцим, білки гострої фази, пропердин, Х-лізини, В-лізини, еритрин, лейкіни, плакіни, інтерферони, інші цитокіни, білки теплового шоку та інші.

Роль бар'єру виконує **сироватка крові.** Було проведено дослід: в сироватку крові, яка знаходилась в пробірці внесли мікроби, вони загинули. Це пояснюється наявністю в сироватці – **алексину** або **комплементу** (малостійкий, не має специфічності і може діяти на різні мікроби). Дуже добре видно роль комплементу в імунному організмі, коли він взаємодіє з імунними антитілами сироватки.

Системою комплементу називають багатокомпонентну систему білків сироватки крові, яка відіграє важливу роль в підтримці гомеостазу. Система активується в процесі зібрання, тобто послідовного приєднання до утвореного комплексу окремих білків, які називаються компонентами або фракціями комплемента. Таких фракцій дев'ять. Вони виробляються клітинами печінки, мононуклеарними фагоцитами і містяться в сироватці крові в неактивному стані. При класичному шляху активації комплемента фактором є комплекс антиген-антитіло (IgG, IgM): при участі імунного комплекса еритроцит-антиеритроцитарний Ig проходить гемоліз еритроцитів; якщо імунний комплекс складається з бактерій і антибактеріального Ig, проходить лізис бактерій. При альтернативному шляху активації комплемента необхідна участь сироваткового білка (пропердина), який активується в присутності іонів Mg^{+} та двох сироваткових білків: факторів В і D.

Фракції комплемента при їх активації класичним чи альтернативним шляхом виконують ряд ефекторних функцій:

1) мембраноатакуючий комплекс має цитолітичну і цитотоксичну дію специфічних антитіл на "клітини-мішені";
2) анафілатоксини приймають участь в імунологічних реакціях;
3) компоненти комплемента змінюють фізико-хімічні властивості імунних комплексів, зменшують ступінь агрегації і ефективність їх фагоцитів через Fc-рецептори;
4) фрагмент C3b сприяє зв'язуванню і захопленню імунних комплексів фагоцитами, опсинізуючи об'єкти фагоцитозу, фрагменти C3b, C5a, Bb, мають властивості хемоаттрактантів, беруть участь в розвитку запалення.

Білки системи комплемента швидко поновлюються, оскільки вони постійно використовуються в здоровому організмі.

Лізоцим – фермент, термостабільний білок типу муколітичного фермента, який руйнує оболонку мікробних клітин. Міститься в слині, сльозах, перитонеальній рідині, плазмі і сироватці крові, в лейкоцитах, материнському молоці. Виробляється моноцитами крові і тканинними макрофагами. Викликає

лізис сапрофітних бактерій, менше – патогенних, неактивний щодо вірусів. Механізм – гідроліз зв'язків між М-ацетилмурамовою кислотою і N-ацетилглюкозаміном в полісахаридних ланцюгах пептидогліканового шару клітинної стінки бактерій, що веде до зміни проникливості, дифузія вмісту клітини в навколишнє середовище і загибель клітини. Бактерицидними властивостями володіють: компоненти сечі, простатична рідина, екстракти різних тканин.

Білки гострої фази (БГФ). При запаленні, при онкогенезі і вагітності в організмі підсилюється вироблення БГФ. БГФ – це велика група білків, які мають антимікробну дію, сприяють фагоцитозу, активації комплемента, формуванню ліквідації запалення. БГФ виробляються в печінці під дією цитокінів, в основному ІЛ-1, ФНП-а і ІЛ-6. *Основні БГФ* – С-реактивний білок, сироваткові амілоїди А і Р.

С-реактивний білок отримав назву від властивості приєднувати і викликати преципітацію С-полісахариду *Str.pneumoniae*; приєднується також до фосфатидилхоліну – компоненту клітинної мембрани любих клітин, до мікроорганізмів, уражених клітин різних тканин, активуючи при цьому комплемент. Приєднуючись до нейтрофілів, підсилює фагоцитоз і елімінацію об'єктів фагоцитозу. СРБ пригнічує вироблення супероксиду і звільнення з гранул фагоцитів ферментів, захищаючи тканини від пошкодження.

Сироватковий амілоїд Р близький за структурою до СРБ, активує комплемент.

Сироватковий амілоїд А - ліпопротеїн, має властивість до хематракції нейтрофілів, моноцитів і лімфоцитів (при туберкульозі, ревматоїдному артриті).

Друга група БГФ складає: фактори згортання крові (фібриноген, фактор фон Віллебранда, які утворюють згустки в судинах в зоні запалення), металозв'язуючі білки (гаптоглобін, гемопексин, трансферрин – які перешкоджають розмноженню мікроорганізмів, які потребують цих елементів), інгібітори протеаз (рівень інгібіторів протеаз зростає при запаленні в 2-3 рази; антитрипсин, антихімотрипсин і макроглобулін перешкоджають руйнуванню тканин протеазами нейтрофілів у вогнищі запалення), компоненти комплемента та ін.

При запаленні рівень більшості білків зростає, визначення С-реактивного білка входить в число загальноприйнятих методів діагностики запальних процесів.

Поряд з комплементом Полімером було виявлено в 1954 році в сироватці людей і тварин речовину білкової природи – **пропердин** (від слова *"perdere"* – руйнувати). Було встановлено, що наявність пропердину в сироватці обумовлює його бактеріальну дію, оскільки сироватка без пропердину не викликає загибель мікробів. Пропердин самостійно не діє, а разом з комплементом в присутності солей магнію, кальцію. Вони перешкоджають проникненню мікробів і виникненню інфекційного захворювання. Нерідко доля макроорганізму буде залежати від того, наскільки він зможе протистояти мікроорганізму і його токсинам (наскільки організм має імунітет).

В-лізини – термостабільні (стійкі до дії температури) речовини сироватки крові людини, володіють антимікробною дією, в основному по відношенню до грампозитивних бактерій. Руйнуються при 63 ^{o}C і під дією УФ-променів. **Х-лізини** – термостабільні речовини, виділені з крові хворих з високою температурою. Мають властивість без участі комплементу лізувати бактерії, головним чином грамнегативні. Витримують нагрівання до 70-100 ^{o}C. **Еритрин** виділений з еритроцитів тварин. Має бактеріостатичну дію на збудників дифтерії і на деякі інші мікроорганізми. **Лейкіни** – бактерицидні речовини, виділені з лейкоцитів, термостабільні, руйнуються при 75-80 ^{o}C. Виявляються з крові в дуже невеликих кількостях. **Плакіни** – подібні з лейкінами, виділені з тромбоцитів.

Цитокіни – гормоноподібні медіатори міжклітинної взаємодії, які виробляють різні клітини організму і здатні вплинути на функції інших або тих самих груп клітин. Це пептиди або глікопротеїди, які діють як автокринні, паракринні або міжсистемні сигнали.

Цитокіни об'єднані в групи *залежно від їх походження* (лімфокіни, монокіни), від *характеру ефекту* (протизапальні, передзапальні). Цитокіни, які регулюють взаємодію лейкоцитів між собою і іншими клітинами, називають **інтерлейкінами** (ІЛ). "**Фактор некрозу пухлин**" перетворився в групу цитокінів, які сприяють загибелі (апоптозу) пухлинних клітин, але і стимулюють активність нейтрофільних лейкоцитів, макрофагів та інших клітин імунної системи.

В механізмах імунітету приймають участь **дві групи** протилежнодіючих **цитокінів.** *Одна група* – протизапальні цитокіни (ІЛ-1, ІЛ-6, ІЛ-8 і інші лімфокіни, фактор некрозу пухлин, інтерферон), стимулюючи різні клітини і механізми, підсилюючи вроджений неспецифічний захист організму, запалення, сприяють розвитку специфічних імунних реакцій.

Друга функціональна група – протизапальні цитокіни (ІЛ-4, ІЛ-10, ІЛ-13, ТРФ – трансформуючий фактор росту пригнічує розвиток як неспецифічних, так і специфічних імунних реакцій.

Інтерферони (ІФ) були відкриті як противірусні агенти. Вони мають імунорегулюючу дію. ІФ-α і ІФ-β відноситься до першого класу, ІФ-γ відноситься до другого класу. ІФ-α виробляється лейкоцитами, має противірусну, антипроліферативну і протипухлинну дію. ІФ-β виробляється фібробластами, має протипухлинну і антивірусну дію. ІФ-γ продукт Т-хелперів (ТХ0 і ТХ1), а також $CD8^{+}$ Т-лімфоцитів – називається лімфоцитарним та імунним. Має імуномодилюючу дію і слабкий противірусний ефект.

В здорових людей в крові ІФ не виявляються. Їх рівень підвищений при червоній вовчиці, ревматоїдному артриті, склеродермії. Наявність ІФ в крові збільшує резистентність до вірусних інфекцій і пухлин, але несприятливо впливає на розвиток автоімунних процесів, властивих цим захворюванням. Препарати ІФ застосовуються для лікування лейкемій, деяких онкологічних процесів.

Для підсилення противірусного захисту використовують засоби, які підвищують продукцію інтерферона (інтерферогени). Як індуктори ендогенного інтерферона застосовують противірусні вакцини, препарати РНК і ДНК.

Цитотоксини – це цитокіни групи факторів некрозу пухлин, вперше був виявлений як компонент сироватки крові тварин. Стимульований бактерійним токсином викликав некротичні процеси в пухлинній тканині.

Білки теплового шоку (*heat shock proteins – HSP*) – це захисні білки, які формуються при дії на мікробні та інші еукаріотичні клітини несприятливих стресових факторів – підвищеної температури, голодання, токсинів, важких металів, вірусів. Вперше білки теплового шоку були виявлені при тепловій дії на клітини. Вміст *HSP* в *E.coli* підвищується після стресу з 1,5% до 15% всіх білків клітини. В результаті підвищується термостійкість і резистентність клітин за рахунок захисту і корекції уражених стресом клітинних білків. Існує три групи бактеріальних *HSP,* які позначені за молекулярною масою *HSP* 90, *HSP* 70, *HSP* 60. *HSP* 60 – домінантний антиген мікобактерій, легіонел, трепонем і ін. Імунна відповідь проти *HSP* може бути компонентом антимікробного захисту організму. Вироблення *HSP* людини контролюється генами МНС III класу, які контролюють утворення цитокінів (ФНП – фактору некрозу рухлин).

HSP приймають участь в ендоцитозі вірусних частинок, процесинзі антигенів, входять до складу деяких рецепторних комплексів (стероїдні рецептори). Вважають, що антигенна подібність мікробних *HSP* і *HSP* людини сприяє розвитку автоімунних реакцій. Антитіла проти *HSP* виявлені в сироватках крові хворих ревматоїдним артритом, анкілозируючим спондилітом, системною червоною вовчанкою.

Система органів і тканин, яка здійснює захисні реакції організму проти порушення постійності його внутрішнього середовища (гомеостазу), називається **імунною системою**. Має три *особливості*: вона генералізована по всьому організму, клітини її постійно циркулюють по всьому тілу через кровообіг, має унікальну властивість виробляти специфічні молекули антитіл на кожен антиген.

Органи імунної системи поділяються на **центральні** та **периферичні**. **Центральні органи** імунної системи – це кістковий мозок, вилочкова залоза (тимус). В *кістковому мозку* виробляються стовбурові клітини – попередники популяцій лімфоцитів, активно фагоцитуючих клітин – макрофагів, еритроцитів, гранулоцитів, моноцитів. Стовбурові клітини виходять з кісткового мозку в кругообіг, циркулюють в організмі, надходять у вилочкову залозу та інші лімфоїдні органи, де відбувається їх лімфопоетична диференціація, що супроводжується розмноженням та нагромадженням Т- та В-лімфоцитів. У центральних органах відбувається дозрівання лімфоцитів і набуття ними імунної компетенції. У центральних органах дозрівання лімфоцитів проходить без значного впливу антигенів, у периферичних – розвиток їх залежить від дії антигену. Кістковий мозок бере участь у регуляції і

диференціації клітин імунопоезу, а також є місцем синтезу частини імуноглобулінів.

Далі проходить розвиток *двох типів лімфоцитів*: Т і В (тимусзалежних і бурсазалежних). Ці назви клітини отримали у зв'язку з їх походженням. *Т-клітини* розвиваються *в тимусі* (вилочковій залозі) і під впливом речовин, які виділяються тимусом, в периферичній лімфоїдній тканині. Назва В-лімфоцити пішла від слова “бурса” – сумка. В сумці фабріціусу в птахів розвиваються клітини, подібні з В-лімфоцитами людини. Хоч в людини не знайдено органу, аналогічного сумці, назва пов’язана з цією сумкою.

Вилочкова залоза (тимус) розміщена за грудиною у верхній частині середостіння. Вона складається з великої кількості дрібних дольок, які формують дві великі долі, покриті капсулою. Під капсулою розміщений корковий шар, в якому зосереджені практично всі лімфоцити тимуса. В мозковій зоні зосереджені ретикулярні клітини і тільця вилочкової залози. Лімфоцитів тут мало – зрілі Т-лімфоцити мігрують у мозковий шар, а звідки у кров. Крім Т-лімфоцитів вилочкова залоза викидає в кров активні гормоноподібні речовини, які сприяють дозріванню Т-лімфоцитів.

До **периферичних лімфоїдних органів** відноситься селезінка, лімфатичні вузли, мигдалики, асоційована з кишківником і бронхами лімфоїдна тканина, і кров.

Кров відноситься до периферичних тканин імунної системи. В ній циркулюють кровотворні стовбурові клітини і лімфоцити обох типів. Моноцити і нейтрофіли здійснюють фагоцитарні функції.

У селезінці лімфопоез здійснюється лише при наявності антигенного стимулу. В селезінці є біла і червона пульпа. Лімфоїдна тканина представлена білою пульпою, забезпечує нагромадження плазматичних клітин, які синтезують антитіла. У білій пульпі є тимусзалежні і тимуснезалежні зони, що заселяються відповідно Т- і В-лімфоцитами. В ретикулярній системі червоної пульпи міститься велика кількість макрофагів, лімфоцитів, плазматичних клітин, еритроцитів і гранулоцитів. Червона пульпа виконує функції органу гемопоезу. Селезінка відіграє важливу роль у резистентності організму до інфекційни агентів і підтримуванні гомеостазу.

Імунна система часто диференціює на "свої" і "чужі" антигени, реагуючи лише на останні. Але можливі реакції на власні антигени організму – **автоантигени** і виникнення проти них антитіл – **автоантитіл.** Автоантигенами стають "запарканні" антигени – клітини, речовини, які впродовж життя індивідууму не контактують з імунною системою (кришталик ока, сперматозоїди, щитоподібна залоза і ін.), а контактують з нею при різних пошкодженнях, всмоктуючись в кров. Оскільки при розвитку організму ці антигени не розпізнавались на свої, не сформувалась природня **толерантність** – специфічна імунологічна безвідповідність, тобто в організмі залишились клітини імунної системи, які здатні до імунної відповіді на ці власні антигени.

Сама людина – це складна система різних антигенів, які попавши в організм іншої людини, викликають важкі, а інколи смертельні імунологічні реакції.

Імунні реакції, які виникають при певних умовах проти власних антигенів організму, називаються автоімунними. Хоча власні антигени, які входять до складу всіх тканин організму, автоімунних реакцій не викликають. Стан ареактивності до власних антигенів називається *природною імунологічною телерантністю*. Природна імунологічна толерантність до власних антигенів закладається в ембріональному періоді завдяки контакту елементів імунної системи, яка формується до власних антигенів.

Втрата природної імунологічної толерантності до власних антигенів створює умови для розвитку автоімунних реакцій. Перспективи штучного створення або відновлення імунологічної толерантності дозволяють знайти новий шлях лікування автоімунних хвороб і трансплантації несумісних органів і тканин. Імунологічна толерантність розглядається як "імунітет із знаком мінус".

Питання для самоконтролю

1. Система органів і тканин, яка здійснює захисні реакції організму проти порушення постійності його внутрішнього середовища (гомеостазу) називається …
A. Імунологією
B. Імунітетом
C. Імунною системою
D. Резистентністю організму
E. Анти токсичністю

2. Вибрати неспецифічні фактори захисту організму людини:
A. Шкіра, слизові оболонки, мікрофлора, тканинні та клітинні бар'єри
B. Автоантигени, суперантигени
C. Антитіла, імуноглобуліни
D. Антигени мікроорганізма
E. Антигени організму людини

3. Що таке діагностикуми ?
A. Завісина еритроцитів у фізрозчині
B. Завісина вбитих мікроорганізмів у фізрозчині
C. Завісина антитіл у фізрозчині
D. Завісина антитоксинів у фізрозчині
E. Завісина лейкоцитів у фізрозчині

4. Що таке антитіла ?
A. Речовини, які мають бактерицидну і бактеріостатичну дію
B. Речовини, які виробляють Т-лімфоцити

C. Речовини, які утворюються під впливом Факторів навколишнього середовища
D. Специфічні білки крові – імуноглобуліни, які виробляються в організмі в результаті антигенного подразнення і властивістю вступати в специфічну сполуку з антигенами
E. Генетично чужі для організму речовини, на введення яких організм відповідає розвитком специфічних імунологічних реакцій

5. Що відноситься до центральних органів імунної системи ?
A. Селезінка і лімфатичні вузли
B. Лімфоїдна тканина і кров
C. Шкіра і слизові оболонки
D. Печінка і селезінка
E. Загрудинна залоза і червоний кістковий мозок

6. У кабінет до лікаря-дерматолога звернувся хворий. З гнійних виділень з уретри цього пацієнта лікар приготував мазок, забарвив його за Грамом. При мікроскопії в препараті виявлена маса лейкоцитів, у цитоплазмі яких знаходилася велика кількість грамнегативниї бобоподібної форми диплококів. Результати якого процесу спостерігаються в препараті?
A. Фагоцитозу
B. Метаболізму
C. Капсулоутворення
D. Спороутворення
E. Малігнізації

7. Природні кілери (NK) відіграють суттєву роль в протипухлинному і противірусному захисті організму. При взаємодії NK клітини з клітиною мішенню остання руйнується. Вкажіть, який механізм загибелі клітини-мішені?
A. Апоптоз
B. Комплементзумовлений цитоліз
C. Фагоцитоз
D. Дія лімфотоксину
E. Дія фактору некрозу пухлин

8. У кабінет лікаря-дерматовенеролога звернувся хворий. При мікроскопії забарвлених за Грамом мазків із гнійних виділень з уретри виявлено велику кількість грамнегативних диплококів бобоподібної форми, які розташовані в цитоплазмі лейкоцитів. Результати якого процесу спостерігаються у препараті?
A. Розмноження мікроорганізмів у тканинах
B. Алергічної реакції
C. Незавершеного фагоцитозу
D. Запального процесу
E. Завершеного фагоцитозу

9. Для прискорення загоєння рани слизової оболонки в ротовій порожнині хворому призначили препарат — термостабільний білок, що міститься в людини в сльозовій рідині, слині, грудному молоці, а також його можна виявити в свіжознесеному курячому яйці. Відомо, що він являє собою фактор природної резистентності організму і має назву:
A. Інтерферон
B. Комплемент
C. Лізоцим
D. Інтерлейкін
E. Іманін

10. Центральною клітиною імунної системи є:
A. Лімфоцит
B. Макрофаг
C. Нейтрофіл
D. Моноцит
E. Тучна клітина

АНТИГЕНИ. АНТИТІЛА. ІМУНОЛОГІЧНІ МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Антигени – генетично чужі для організму речовини (білки, нуклепротеїди, полісахариди та ін.) на введення яких організм відповідає розвитком специфічних імунологічних реакцій. Одна з таких реакцій – утворення антитіл.

Антигени мають дві основні властивості:

- *Імуногенність*, тобто властивість викликати утворення антитіл і імунних лімфоцитів.
- Властивість вступати з антитілами і імунними (сенсибілізаваними) лімфоцитами в *специфічну взаємодію*, яка проявляється у вигляді імунологічних реакцій (нейтралізації, аглютинації, лізису) і т.д.

Антигени, які мають обидві ознаки, називаються **повноцінними**. До них відносяться чужі білки, сироватки, клітинні елементи, токсини, бактерії, віруси.

Речовини, які не викликають імунологічних реакцій, вироблення антитіл, які не вступають в специфічну взаємодію з готовими антитілами, отримали назву г а п т е н і в – **н е п о в н о ц і н н и х антигенів**. Гаптени стають повноцінними при сполученні їх з крупномолекулярними речовинами – білками, полісахаридами.

Умови, які визначають антигенні властивості речовин, є:
ч у ж е р і д н і с т ь, м а к р о м о л е к у л я р н і с т ь, к о л о ї д н и й стан, р о з ч и н н і с т ь. Проявляється антигенність при попаданні речовин у внутрішнє середовище організму, де проходить зустріч його з клітинами імунної системи.

Специфічність антигенів, властивість їх сполучатися лише з відповідним антигеном – унікальне біологічне явище. Воно лежить в основі механізму

збереження постійності внутрішнього середовища організму. Цю постійність забезпечує імунна система, яка розпізнає і знищує генетично чужі речовини (в тому числі і мікроорганізми, їх отруту), які знаходяться в його внутрішньому середовищі. Імунна система людини несе постійний імунологічний нагляд. Вона здатна розпізнавати чуже при відмінності клітини всього по одному гену (ракові).

Специфічність – особливість будови речовин, по якій антигени відрізняються один від одного. Вона визначається *антигенною детермінантою*, тобто невеликою ділянкою молекули антигену, який і сполучається з антитілом. Число таких угрупувань в різних антигенів різне і визначає число молекул антитіл, з якими може сполучатись антиген (валентність).

Антигени організму людини

Сама людина – це складна система різних антигенів, які попавши в організм іншої людини, викликають важкі, часто смертельні імунологічні реакції. Можливі реакції на власні антигени організму – **автоантигени.** Автоантигени – речовини, які мають властивість імунізувати організм, з якого їх добуто. До них належить кришталик ока, сперма, паращитовидні залози, тканина сім'яних залоз (за звичайних умов тканина даних органів не контактує з імунною системою. Але при пошкодженні цих тканин, автоантигени можуть всмоктуватися в кров і спричиняти утворення антитіл, які уражують відповідні клітини).

Антигени мікроорганізмів

Антигенна структура мікробної клітини складна і в різних груп мікроорганізмів антигени мають різний склад.

О-а н т и г е н зв'язаний з клітинною стінкою мікробної клітини, соматичні ("*сома*" – тіло), є в основному в рухливих бактерій, являє собою складний ліпополісахаридопротеїновий комплекс (ендотоксин). Він термостабільний, не руйнується під дією спирту і формаліну. Складається з ядра і бокових полісахаридних ланцюгів. Специфічність О-антигенів залежить від будови і складу цього ланцюга.

К-а н т и г е н и (капсульні) зв'язані з капсулою і клітинною стінкою мікробної клітини. Їх називають також оболонковими, вони розташовані більш поверхнево, ніж О-антигени. Вони є кислими полісахаридами. Існує декілька видів К-антигенів: А, В, L і ін. Ці антигени відрізняються один від одного стійкістю до температури. А-антиген найбільш стійкий до температури, L – найменш.

До поверхневих антигенів відносять і **VI-антиген –** антиген вірулентності, який є в збудників черевного тифу і ін. Він руйнується при 60^{o}С. Наявність VI- і К-антигенів, які складаються з полісахаридів, визначають типову специфічність бактерій. В імунних сироватках відповідно можна виявити О-, Н-, VI-антитіла і антитіла проти капсульних антигенів. Поряд з цим у бактерій ще виявлено **Н-антигени** (джгутикові), вони являють собою

особливий *білок флагелін*, який руйнується при нагріванні. При обробці формаліном зберігає свої властивості.

П р о т е к т и в н и й антиген (захисний) від латинського *"protectio"* – захист, утворюється збудниками в організмі хворого (збудники сибірської виразки, бруцельозу), знаходять його в ексудаті пошкодженої тканини. Вони спричиняють вироблення специфічних антитіл, які знешкоджують одну з патогенних функцій збудника.

Виявлення *антигенів* в патматеріалі є одним з способів *лабораторної діагностики* інфекційних захворювань. Застосовують різні імуннологічні реакції.

При розвитку, рості і розмноженні мікроорганізмів їх антигени можуть змінюватися. Проходить втрата деяких антигенних компонентів – Н-антигенів. Це явище носить назву дисоціації ("S" - "R").

Антитілами називають специфічні білки крові (імуноглобуліни), які виробляються в організмі як відповідь на введення антигену і здатні специфічно реагувати з ним.

Антитіла виявляються в сироватці крові організму через декілька днів після початку захворювання, це імуноглобуліни сироватки крові людини і тварин, на них припадає 25% усіх сироваткових білків.

В сироватці людини є два види білків: альбуміни і глобуліни. Антитіла, зв'язані з глобулінами, змінені під дією антигену і названі і м у н о г л о б у л і н а м и (Ig). Глобуліни неоднорідні. За швидкістю руху в гелі при пропусканні через нього електричного струму їх ділять на три фракції: α, β, γ. Антитіла належать головним чином до γ-глобулінів. Ця фракція глобулінів має найбільшу швидкість руху в електричному полі. Імуноглобуліни характеризують за молекулярною масою, швидкістю осадження при ультрацентрифугуванні (центрифугування з дуже великою швидкістю) і т.д. Це дозволило розділити імуноглобуліни на 5 класів: IgG, IgM, IgA, IgE, IgD. Всі вони відіграють роль в розвитку імунітету проти інфекційних захворювань.

IgG складають біля 75% всіх імуноглобулінів людини. Вони найбільш активні в розвитку імунітету. Єдині з імуноглобулінів проникають через плаценту, забезпечуючи пасивний імунітет плоду. Мають невелику молекулярну масу і швидкість осадження при ультрацентрифугуванні. Вони найактивніше зв’язують розчинні антигени бактерій, екзотоксини, віруси.

IgM утворюються в організмі плоду і першими з'являються після зараження або імунізації. До цього класу належать "нормальні" антитіла, які утворюються впродовж життя, без видимого прояву інфекції або при побутовому багаторазовому інфікуванні. Мають велику молекулярну масу і швидкість осадження при ультрацентрифугуванні. Діють на грамнегативні бактерії, що проникли в кров, активізують фагоцитоз. Становлять близько 10% імуноглобулінів сироватки крові людини і утворюються в ембріональному періоді. Високий вміст свідчить про внутрішньочеревну інфекцію. Містять близько 10 активних центрів.

IgA мають властивість проникати в секрети слизових (молозиво, слина, вмістиме бронхів). За величиною молекулярної маси і швидкістю осадження при ультрацентрифугуванні близькі до IgG. **IgA** поділяються на два види: сироватковий і секреторний. Секреторний IgA виробляється лімфоїдними клітинами слизових оболонок дихальних шляхів, порожнини рота, сечових шляхів, є в молозиві, слині, слізній рідині, слизі кишок, поті. Відіграють роль в захисті слизових оболонок дихального і харчового трактів від мікроорганізмів. Сироватковий IgA – знешкоджують бактерії і їх токсини, що проникли в кров.

IgE – сенсибілізуючі антитіла або реагіни несуть відповідальність за алергічні реакції (анафілаксію, бронхіальну астму, алергічний риніт, атопічну екзему та інші). Мають властивість приєднуватись до тканинних базофілів, не проходять через плаценту. Відіграють роль в розвитку місцевого імунітету.

IgD виявлені у невеликій кількості в сироватці крові. Вважать, що вони зумовлюють низку алергічних станів при захворюваннях щитоподібної залози, збільшується їх вміст при захворюваннях шкіри, а також їх виявляють при лімфобластному лейкозі.

Структура імуноглобулінів. Молекули імуноглобулінів всіх класів побудовані однаково. Найбільш проста структура в молекули IgG: *дві пари поліпептидних ланцюгів*, сполучених *дисульфідним зв'язком*. Кожна пара складається з *легкого і важкого ланцюга*, які розрізняються за молекулярною масою. Кожен ланцюг має *постійні ділянки*, які визначені генетично, і *перемінні*, які утворюються під впливом антигену. Ці специфічні ділянки називають а к т и в н и м и ц е н т р а м и. Вони вступають у взаємодію з антигеном, який викликав утворення антитіл. Кількість активних центрів в молекулі антигенів визначає *валентність* – число молекул антигену, з яким може зв'язатись антитіло. IgG і IgA – двохвалентні, IgM – п'ятивалентні. Будова імуноглобулінів контролюється двома групами генів.

Імуногенез – утворення антитіл, залежить від дози, кратності і способу введення антигену. Реакції на власні антигени організму – **автоантигени** супроводжується виникненням **автоантитіл.** В результаті появи автоантитіл можуть розвинутися **автоімунні захворювання (автоімунні реакції проти власних антигенів організму)** як наслідок:

- Прямої цитотоксичної дії автоантитіл на клітини відповідних органів (зоб Хасимого – ураження щитоподібної залози);
- Послідовної дії комплексів автоантиген-антитіло, які відкладаються в ушкодженому органі і викликають його ураження (наприклад, ревматоїдний артрит).

Імунологічна пам’ять – це властивість набутого імунітету до швидкої відповіді на повторне введення антигену, при цьому утворюються клітини пам’яті – Т-ефектори, які характеризуються високою активністю і життєздатністю.

Клітинні механізми імунної відповіді

Лімфоїдні клітини організму виконують основну функцію в розвитку імунітету – несприятливості, не тільки по відношенню до мікроорганізмів, але і до всіх генетично чужих клітин, наприклад, при пересадці тканин. Лімфоїдні клітини володіють *властивістю* відрізняти "своє" від "чужого" і звільнятись "чужого" (елімінувати).

До моменту народження периферичні лімфоїдні органи практично несформовані, оскільки вони не контактували з антигеном. Лімфопоез відбувається в них лише при антигенній стимуляції.

Перший контакт цих лімфоцитів з антигеном викликає їх трансформацію в зріді клітини з тривалим терміном життя. Після повторного контакту з антигеном з них утворюються *клітини пам'яті* або *Т-клітини-ефектори*, які характеризуються високою активністю і життєздатністю.

Специфічна імунна відповідь проходить декілька етапів:

1) перший етап прихований або індуктивний починається з перебудови імунної системи і не супроводжується утворенням антитіл або сенсибілізованих клітин;
2) другий етап – період появи і зростання в організмі антитіл і сенсибілізованих лімфоцитів, рівень яких досягає максимуму і піку імунної відповіді;
3) третій етап – зниження вказаних показників до певного рівня або продовження вироблення невеликої кількості антитіл тривалий час для підтримки резистентності організму до збудника імунної відповіді.

І м у н н а в і д п о в і д ь у вигляді специфічних антитіл проходить наступним чином: *чужий антиген*, проникнувши в організм, перш за все *фагоцитується макрофагами*. *Макрофаги,* переробляючи і концентруючи антиген на своїй поверхні, *передають інформацію* про нього Т-клітинам, які починають ділитися, "дозрівають" і виділяють гуморальний фактор, який включає в продукцію антитіл В-лімфоцити.

При розвитку В-лімфоцитів з стовбурової клітини вони проходять декілька стадій і перетворюються в лімфоцити, які здатні утворювати плазматичні клітини. Плазматичні клітини в свою чергу утворюють антитіла заданої специфічності і на поверхні утворюються імуноглобуліни трьох класів: IgG, IgM і IgA.

Так, макрофаги, Т- і В-лімфоцити здійснюють імунні функції організму – захист від всього генетично чужого, в тому числі і від збудників інфекційних захворювань. Захист за допомогою антитіл здійснюється таким чином, що синтезовані до даного антигену імуноглобуліни, сполучаючись з (антигеном), підготовляють його, роблять чутливим до руйнування, знешкодження різними природніми механізмами: фагоцитами, комплементом тощо.

Розрізняють дві фази *первинної* імунної відповіді на антиген:

1) і н д у к т и в н у фазу – час від моменту введення антигену до появи плазматичних клітин, яків виробляють антитіла (до 20 год);

2) п р о д у к т и в н у фазу, яка починається до кінця першої доби після введення антигену і характеризується появою антитіл в сироватці крові.

Кількість антитіл постійно збільшується (до 4 дня), досягаючи максимуму на 7-10 день і зменшується до кінця місяця.

Реакції організму на перше введення антигену називаються ***первинною імунною*** відповіддю, а реакції на повторне ввведення антигену – ***вторинна імунна*** відповідь. *Вторинна імунна відповідь* розвивається при повторному введенні антигену через 2-4 тижні і навіть місяці або років. При цьому індуктивна фаза значно коротша – антитіла виробляються швидше і інтенсивніше (вдвічі більше), що грунтується на **імунологічній пам'яті**.

Існують різні **теорії утворення антитіл**:

- *Селективні теорії* допускають існування в організмі вже готових антитіл до кожного антигену або клітин, які здатні синтезувати ці антитіта. Так, Ерліх (1898 р.) допускав, що клітина має готові "рецептори" (антитіла), які сполучаються з антигеном. Після сполучення з антигеном, антитіла утворюються ще в більшій кількості.

Такої ж думки притримувались Н.Ерне (1955 р.) і Ф.Бернет (1957 р.). Вони стверджували, що вже в організмі плоду, а пізніше і в дорослому організмі є клітини, які здатні взаємодіяти з любим антигеном, але під впливом визначених антигенів певні клітини виробляють "необхідні" антитіла.

- *Інструктивні* теорії (Гауровіц Ф., Полінг Л., Ландштейнер К., 1937-1940) розглядали антиген, як "матрицю", штамп, на якому формуються специфічні угрупування молекул антитіл.
- Але ці теорії не пояснювали всіх явищ імунітету і зараз найбільш прийнятою є *клонально-селекційна теорія Ф.Бернета* (1964). Згідно цієї теорії в ембріональному періоді в організмі плоду є багато *лімфоцитів* - клітин попередників, які при зустрічі з власними антигенами руйнуються. Тому в дорослому організмі вже немає клітин для вироблення антитіл до власних антигенів. Але, коли дорослий організм зустрічається з чужим антигеном, проходить селекція (відбір) клону імунологічно активних клітин і вони виробляють специфічні антитіла, спрямовані проти даного "чужого" антигену. При повторній зустрічі з цим антигеном клітин "відібраного" клону вже більше і вони швидко утворюють велику кількість антитіл. Ця теорія найбільш повно пояснює основні явища імунітету.

Механізм взаємодії антигену і антитіл має різні пояснення. Так, Ерліх порівнював їх сполучення реакції між сильною кислотою і сильною основою нової речовини типу солі. Борде рахував, що антиген і антитіло взаємно адсорбують один одного подібно фарбі і фільтрувальному паперу. Але ці теорії не пояснювали головного – специфічності імунних реакцій.

Найбільш повно механізм сполучення антигену і антитіла пояснений гіпотезою Маррека (теорія "решітки") і Полінга (теорія "ферми"). Марек розглядав сполучення антигену і антитіла у вигляді решітки, в якій антиген чергується з антитілом, утворюючи гратчаті конгломерати. Згідно гіпотези Полінга антитіла мають дві валентності (дві специфічні детермінанти), а

антиген декілька валентностей – він полівалентний. При сполученні антигену і антитіл утворюються конгломерати, які нагадують "ферми", побудови.

При оптимальному співвідношенні антигену і антитіл утворюються великі міцні комплекси, які видно простим оком. При надлишку антигену кожний активний центр антитіл заповнений молекулою антигену, не вистарчає антитіл для сполучення з іншими молекулами антигену і утворюються дрібні, невидимі оком комплекси. При надлишку антитіл, для утворення решітки не вистарчає антигену, детермінанти антитіл відсутні і видимого прояву реакції немає.

На основі викладених теорій *специфічність реакції антиген-антитіло сьогодні являють собою як взаємодію детермінантної групи антигену і активних центрів антитіла*. Оскільки антитіла формуються під впливом антигену, їх структура відповідає детермінантним групам антигену. Детермінантна група антигена і фрагменти активних центрів антитіла мають протилежні електричні заряди і, сполучаючись, утворюють комплекс, міцність якого залежить від співвідношення компонентів і середовища, в якому вони взаємодіють.

Роль визначення класів імуноглобулінів у лабораторній діагностиці

Здатність антигенів сполучатись лише з тими антитілами, які виникли у відповідь на активацію імунної системи даним антигеном (специфічність), використовується на практиці:

- Діагностика інфекційних захворювань (визначення специфічних антитіл в сироватці хворого).
- Профілактика і лікування хворих інфекційними захворюваннями (створення несприйнятливості до певних мікробів або токсинів, специфічна нейтралізація отрути збудників хвороб при імунотерапії).

Завдяки імунології розроблені і удосконалені методи попередження інфекційних захворювань, лікування інфекційних і автоімунних імунодефіцитних захворювань, попередження смерті плоду при резусконфліктних ситуаціях, трансплантації тканин і органів, боротьби з злоякісними новоутвореннями, імунодіагностики – використання реакцій імунітету з діагностичною метою.

Імунологічні методи дослідження

Реакції між антигеном і антитілом або між антигеном і сенсибілізованими лімфоцитами, які проходять в живому організмі і можуть бути відтворені в лабораторних умовах називаються **реакціями імунітету**. Вони високо чутливі і специфічні.

Імунологічні (серологічні) реакції – це реакції антигену з антитілом (від латинського *“serum”* – сироватка); або гуморальні (від латинського *“humor”* – рідина), оскільки беруть участь антитіла (Ig), що завжди знаходяться в сироватці крові. Реакції антигену з сенсибілізованими лімфоцитами називаються *клітинними.*

Розрізняють такі реакції: аглютинації, гемаглютинації, преципітації, лізису, зв’язування комплементу, імунофлюоресценсії, радіоімунологічний

метод, імуноферментний аналіз, нейтралізації, опсоно-фагоцитарна реакція, цитотоксичні реакції та інші.

Розрізняють наступні **антитіла:** аглютиніни, преципітини, бактеріолізини, опсоніни, антитоксини, комплементзв'язуючі антитіла тощо. *Аглютиніни* викликають склеювання мікробів, дають реакцію аглютинації. *Преципітини* обумовлюють осадження бактерійного і взагалі чужого білка – преципітацію. *Бактеріолізини* викликають розчинення (лізис) бактерій – бактеріоліз. *Опсоніни* сприяють фагоцитозу. *Антитоксини* нейтралізують дію токсину.

Реакції специфічної взаємодії відповідних антитіл з антигенами, проти яких вони спрямовані, проявляються у вигляді декількох основних феноменів. Ці феномени легко спостерігати в лабораторних умовах.

Феномен аглютинації полягає в тому, що бактерії, тваринні клітини або інші корпускулярні антигенні частинки, які знаходяться у завісині, під впливом антитіл склеюються між собою. Якщо до завісини бактерій в ізотонічному розчині хлориду натрію (оскільки реакція проходить в присутності електролітів) додати сироватку імунізованої цими бактеріями тваринки, тоді мікроскопічні елементи склеюються між собою і осідають на дно пробірки у вигляді великих, які видно неозброєним оком, лопатів або зерняток.

Аналогічні явища проходять і при використанні, наприклад, еритроцитів барана і сироватки тварин, яким вводили ці еритроцити. Склеювання мікробів або еритроцитів один з одним – це прояв прямої аглютинації. Прямої тому, що в даному випадку антитіла діють безпосередньо на корпускулярні антигенні частинки.

В лабораторних умовах часто використовують не пряму, а ***пасивну гемаглютинацію (РПГА).*** Цей варіант реакції застосовують при роботі з розчинними антигенами. Для отримання феномену аглютинації антиген попередньо приєднують до корпускулярного носія – танірованим еритроцитам, частинках латексу, окису барію та ін. Додавання антитіл до завісини таких частин – пасивних носіїв антигену, приводить до їх склеювання. РПГА характеризується високою чутливістю і придатна для виявлення дуже малої кількості антитіл.

Кількість антитіл в імунній сироватці або в інших рідинах оцінюється їх титром. Під *титром антитіл* розуміють те найбільше розведення сироватки або іншої рідини, при якій реакція антиген-антитіло все ще читається (облік). Наприклад, титр антитіл можен бути 1 : 28 або 1 : 2048.

Кожне наступне розведення сироватки звичайно більше поперенього 1 : 2, 1 : 4, 1 : 8 і т.д.).

Феномен преципітації – ефект збільшення в розмірах розчинних антигенних субстанцій під впливом антитіл з виникненням помутніння прозорих розчинів. В цьому випадку ми бачимо явище агрегації розчинних частин. Залежно від технічних умов постановки і обліку даної реакції антиген-антитіло вони отримали різні назви.

Перш ніж говорити про варіанти реакції, необхідно помітити, що нерозчинний комплекс антиген-антитіло випадає лише у певному діапазоні еквівалентних концентрацій реагуючих молекул. У випадку великого надлишку антитіл або антигену феномен преципітації не розвивається. Це не значить, що взаємодія реагентів не пройшла. Вона пройшла, але утворився розчинний комплекс антиген-антитіло.

Реакція кільцепреципітації ставиться таким чином, що в пробірці на стовпчик імунної сироватки, який містить антитіла, нашаровуються різні розведення антигену. На межі зіткнення двох взаємодіючих розчинів антигену і антитіла через декілька хвилин або годин виникає кільце преципітації.

В останні роки широко застосовують реакцію *преципітації в агарі (гелі) методом двійної або зустрічної дифузії.* Чашки заливають агаром, в якому роблять дві або більше виємок. В одну вносять антиген, в другу – імунну до нього сироватку. Проходить дифузія реагентів в агар, і на місці зустрічі антигену і антитіла в зоні їх еквівалентності утворюються лінії преципітації. Ця реакція носить аналітичний характер і дозволяє визначити кількість окремих антигенних субстанцій в суміші антигенів, а також встановити ідентичність антигенів, які порівнюють. Існує декілька модифікацій методу: *метод радіальної імунодифузії* (антитіла додають до розтопленого агару і після застигання досліджуваний матеріал поміщують в заглибинки; якщо матеріал містить шуканий антиген, навколо виємки виникає кільце преципітату на деякій відстані від виємки в зоні еквівалентності. Чим більше антигену, тим дальше кільце. Існує лінійна залежність між квадратом кільця і концентрацією антигену. Побудова калібровочної лінії по антигенному стандарту дає можливість кількісно точно визначити концентрацію антигену.

Цим методом користується в клініках для визначення концентрації імуноглобулінів різних класів в крові людей. Проведення попереднього *електрофорезу в агарі* багатокомпонентного субстрату, наприклад, сироватки крові або тканинного екстракту, з наступним проявом компонентів антисироваткою забезпечує високі аналітичні можливості. Цей варіант, який отримав назву імуноелектрофорезу розроблений П.Грабаром (1963).

Зустрічний імуноелектрофорез вперше застосував Бендарид в 1969 році для виявлення преципітатів Аг-Ат – різновидність реакції імунопреципітації в гелі або на ацетат-целюльозних мембранах; однак контакт обумовлений не вільною дифузією агентів, а ефектом постійного електричного поля, що підсилює здатність до взаємодії низькореактогенних Аг і Ат. Нагромадження і преципітація комплекса між стартовими лунками проходить впродовж 30-180 хв. Основна умова для застосування методу – наявність електрофоретичної рухливості Аг, відмінної від такої в АТ. Основні переваги методу – висока чутливість, в 10 разів перевищує чутливість методу двійної імунодифузії за Оухтерлоні; можливість індикації Аг, які не виявляються методом дифузії, і швидкість – результати можна враховувати через 1-3 год (для повноцінної імунодифузії – через 24 год). Недолік методу – висока

вартість, важкість інтерпретації і неможливість отримати адекватні результати при роботі з деякими взірцями. Чутливість методу при роботі з СМР не перевищує 0,05 мг Аг/мл (біля 1000 бактерій), тому більшість лабораторій віддають перевагу методу аглютинації частинок латексу.

Імунофлюоресценсія полягає в тому, що до молекули антитіла приєднується любий флюоресціюючий барвник, наприклад, ізотіоціанат натрію. Антигенний матеріал (бактерії, клітини або їх компоненти), приєднані мічені антитіла, стають видимими в ультрафіолетовому світлі. Метод не кількісний, але дуже важливий в імуноморфології для визначення локалізації антигенних структур або антитіл.

Метод імунофлюоресценсії чи метод люмінесценсії запропонований Кунсом в 1941 році для виявлення бактерій, рикетсій, вірусів. Реакція полісистемна, непряма, гетерологічна. У діагностиці інфекційних хвороб широко застосовуються реакції прямої і непрямої імунофлюоресценсії (РІФ). Для цього використовують антитіла, мічені флюоресцентним барвником – ізоціанатом флюоресцеїну. З'єднуючись з антигеном, вони утворюють комплекс, який при дії ультрафіолетового випромінювання дає яскраво-жовте свічення.

При *прямій РІФ* взаємодія відбувається між антигеном і специфічними антитілами, попередньо оборобленими барвниками. При *непрямій РІФ* спочатку цей комплекс (антиген-антитіло) обробляють міченим анти-γ-глобуліном, який з'єднюється з ним. Комплекс антиген-антитіло-антиглобулін, що утворюється, легко виявляють у люмінесцентному мікроскопі.

Пряма РІФ – проста реакція, але для її проведення необхідно велику кількість мічених антимікробних сироваток. Виконання: на знежирене предметне скельце з досліджуваного матеріалу готують тонкі мазки з слизу з носа, з фекалій, з органів та тканин – мазки-відбитки. Препарати висушують, фіксують, наносять на них люмінесцентну сироватку, яка взята в робочому розведенні, і поміщають у вологу камеру при температурі 37° С на 20-30 хв. Промивають препарат в забуференому ізотонічному розчині хлориду натрію впродовж 10-15 хв. з наступним ополіскуванням в дистильованій чи протічній воді впродовж 10 хв. Висушують при кімнатній температурі та досліджують під люмінесцентним мікроскопом з використанням масляної імерсійної системи. Інтенсивність специфічної флюоресценсії бактеріальних клітин оцінюють за чотирьохплюсовою системою: "++++" дуже яскрава, "+++" яскрава, "++" виражена кільцева флюоресценсія, "+" слабе світіння клітин. Обов'язково три контролі обробки флюоресціюючими антитілами суспензії:

1) гомологічних бактерій (додатній контроль);
2) гетерологічної культури (від'ємний);
3) незараженого матеріалу (негативний).

Непряма РІФ – більш складна реакція. Але для її виконання обходяться однією міченою сироваткою. При цьому спочатку антиген зв'язують немміченою специфічною сироваткою, а пізніше утворений імунний комплекс антиген-

антитіло додатково обробляють міченою флюоресцеїн ізотіоціанатом (ФІТЦ) антисироваткою, яка містить антитіла проти імуноглобуліну цього комплексу.

Індикація антигена (мікроорганізму) на першому етапі проводиться імунною кролячою сироваткою, тоді як на другому етапі використовується мічена ФІТЦ антикроляча сироватка, яка одержана шляхом імунізації гамаглобулінами крілика, козликів чи інших тварин. Тому даний метод застосовується як експрес-метод при діагностиці: черевного тифу, холери, туляремії, бруцельозу, рикетсіозів, грипу, віспи, сказу і ін.

Конкуренція з радіоактивним антигеном – ***радіоімунологічний метод*** один з самих сучасних методів експрес-діагностики. Облік реакції антиген-антитіло може здійснитись за допомогою радіоізотопних методів у випадку застосування "мічених" антитіл або антигенів. Вимірювання радіоактивності преципітату дає можливість оцінити кількість антитіл або антигену в досліджуваних зразках. Це збільшує об'єктивність оцінки, прискорює облік і підвищує чутливість реакції. Найбільш чутливими (визначення 1-10 нг речовини) методи конкуренції за антитіла неміченого антигену з міченим. Принцип методу полягає в тому, що використовують стандартну кількість антисироватки проти досліджуваного антигену і стандартну кількість цього антигену, міченого радіактивними ^{125}J, ^{131}J, ^{2}H або іншим ізотопом. Співвідношення їх таке, що 70-80% міченого антигену зв'язується антитілами, утворюючи радіоактивний преципітат з величиною радіоактивності N. Якщо в реагуючу систему внести досліджуваний на присутність даного антигену субстрат, то при наявності антигену він конкурує з міченим антигеном і радіоактивність преципітату знижується. Чим більше антигену в досліджуваному зразку, тим менша радіоактивність преципітату. За допомогою цього методу визначають концентрацію в крові, сечі і інших субстанціях таких речовин, які із-за малих концентрацій не виявляються біохімічними методами (гормони: інсулін, гормон росту, АКТГ, гонадотропін, дигоксин, соматотропін і ін.).

Для проведення РІА антигени чи антитіла мітять радіоактивними ізотопами. Залежно від методу і мети дослідження ті та інші сорбують на твердому носії. Так, при конкурентному методі РІА на поверхні полістеролових заглибинок (лунок) сорбують антитіла. До цих імобілізованих антитіл додається досліджуваний матеріал, який містить до них антиген. Після утворення імунного комплексу додають мічений ^{125}J антиген, який має таку ж саму специфічність до імобілізованих антитіл. Внесений мічений антиген буде реагувати лише з тією частиною активних центрів імобілізованих антитіл, які залишилися незаблокованими антигеном досліджуваного матеріалу. В порівнянні з контролем розхід міченого антигену буде тим меншим, чим більше заблоковані імобілізовані тіла, на що вкаже радіоактивність рідкої частини суміші. Для цього, звичайно, необхідна спеціальна радіометрична апаратура.

70-80% міченого антигену зв'язується антитілами з утворенням радіоактивного преципітату. При введенні до цієї системи субстрату, який досліджують на присутність цього антигену, відбувається конкуренція з

міченим антигеном, і радіоактивність преципітату знижується. Чим більше антигену в досліджуванорму матеріалі, тим менша радіоактивність преципітату.

Імуноферментний метод по чутливості не вступає попередньому, але більш простий при наявності комерційних реагентів. На стінці полістеролових пробірок сорбовані антитіла проти певного антигену. В цю пробірку вносять досліджуваний субстрат. При вмісті даного антигену він сполучається з антитілами. Субстрат зливають, в пробірку вносять антитіла проти цього ж антигену. Ці антитіла мічені ферментом, часто пероксидазою хрому. Мічені антитіла приєднуються до попереднього комплексу і також залишаються на стінках пробірки. Вмістиме пробірки замінюють на суміш хромогену (ортофенілен-диамін) з субстратом для даного ензиму – H_2O_2: виділений кисень забарвить хромоген в жовтий колір.

Метод Уаньє пропонує для обліку преципітації фотоелектронефелометр, за допомогою якого реєструється зміна оптичної густини сироватки після додавання антигену. При розведенні сироватки дистильованою водою оптична густина знижується. Якщо в сироватці є антитіла, а як розчинник використовується розчин антигену, то крива зміни оптичної щільності буде інша. Спочатку проходить зниження оптичної густини, при нагромадженні достатньої кількості антигену зниження припиняється, і пізніше спостерігається підвищення оптичної густини суміші антиген-антитіло.

ІФА заснований на виявленні імунного комплексу. Один з компонентів якого (антитіло чи антиген) мічені ферментом – найчастіше пероксидаза, які здатні розкладати субстрат (хромоген) з утворенням забарвлених продуктів.

Схема виконання ІФА: предметні скельця з зараженою культурою клітин промивають, фіксують в метанолі 10-20 хв. і висушують на повітрі. На препарат наносять 1-2 краплі міченого імуноглобуліну, переносять у вологу камеру і витримують при 37 °С 30хв. Мазок промивають ізотонічним розчином хлориду натрію, нашаровують на нього декілька крапель хромогенного субстрату і залишають у вологій камері ще на 1 год. Промивають дистильованою водою, висушують. Для контролю гомологічний антиген обробляють міченим нормальним гама-глобуліном. А гетерологічний – міченим антитілом (реакції негативні, клітини не забарвлюються). Результати враховують візуально або за допомогою спектрофотометру.

Зараз застосовується *твердофазна модифікація ІФА,* при цьому *антигени* (або антитіла) сорбуються в лунках полістеролових планшет (на твердій фазі). В більшості випадків до твердої фази приєднюються *антитіла,* які при інкубації з патологічним матеріалом вловлюють специфічний антиген. До утвореного при цьому імунокомплексу додається *пероксидазний коньюгат* (мічені пероксидазою антитіла проти імуноглобулінів людини), які специфічні чи до антигену чи до антитіла. В результаті утворюється імунопероксидазний трійний комплекс. Непрореагований пероксидазний коньюгат усувають промиванням планшету. При додаванні до комплексу ортофенілендиаміну з перекисом водню як хромогенного субстрату для пероксидази *(субстрано-індикаторного розчину)* проходить пожовтіння (від світло жовтого до

оранжево-коричневого кольору). Додають “стоп-реагент” для зупинки реакції. Результати твердофазної модифікації ІФА враховують спеціальним спектрофотометром, визначають екстинцію антитіл.

Отже ІФА – це взаємодія антигену з антитілом, хімічно зв’язаним з ферментом (пероксидаза хріну або лужна фосфатаза). Комплекс антиген-антитіло, що утворюється, набуває ферментативної активності і розщеплює відповідний субстрат з появою забарвлення і люмінесцентним ефектом.

За допомогою прямого ІФА визначають наявність антигену. Непрямий метод використовують для виявлення антитіл (до комплексу антиген-антитіло проти якого-небудь антигену добавляють мічений ферментом антиглобулін проти першої імунної сироватки і хромогенний субстрат).

Видимим ефектом додатньої реакції є темно-коричневе забарвлення, що несе імуноферментний комплекс, з імуноглобуліном досліджуваної сироватки крові. Якщо досліджуваний антиген не відповідає імунній сироватці, то імуноферментний комплекс не утвориться, кольорової реакції не настане.

Феномен лізису – це здатність деяких антитіл розчиняти клітини, проти яких вони виникли. Ці антитіла до бактерій називаються бактеріолізинами, до еритроцитів – еритролізинами або гемолізинами. Реакції імунного лізису характеризуються тим, що вони не проходять при наявності лише двох інградієнтів – антигена і антитіла. Необхідна присутність третього компоненту, який отримав назву комплементу. В різних кількостях комплемент міститься в сироватці крові багатьох тварин; особливо багато його в сироватці крові морських свинок. Спочатку реакція йде по типу аглютинації, пізніше до комплексу антиген-антитіло приєднується комплемент і проходить локальне розчинення оболонки бактерій, еритроцитів або інших клітин.

Феномен цитотоксичності визначається антитілами, які називаються цитотоксинами. Їх дія полягає в тому, що вони проявляють токсичний ефект, лишаючи клітину життєдіяльності. Реакцію по виявленню цитотоксинів ставлять з завісиною клітин в ізотонічному буферному розчині хлориду натрію. До них додають барвник, наприклад, еозин або трипановий синій. Живі клітини не фарбуються, а мертві швидко сприймають фарбу впродовж 30 сек. Якщо до завісини клітин додати імунну сироватку, яка містить цитотоксини і комплемент, тоді клітини будуть гинути і при пробі з барвниками забарвляться. Процент клітин, що загинули свідчить про кількість цитотоксинів в сироватці крові. Реакція обов’язково вимагає комплементу.

Реакція зв’язування комплементу **(РЗК)** – заснована на описаній вище властивості комплементу приєднуватись до комплексу антиген-антитіло. Комплемент фіксується на спеціальній ділянці важкого ланцюга молекули антитіла. Але ця ділянка стає доступною лише після приєднання антитіла до антигену. З’єднуючись з одним комплексом антиген-антитіло, комплемент не може перейти на другий комплекс, який вводиться в реагуючу систему після взаємодії першого комплексу і доданого у певній кількості комплементу. Як другий комплекс застосовують так звану гемолітичну систему – суміш еритроцитів барана з антитілами проти них. Якщо перший комплекс є комплексом антиген-антитіло, то вільного комплементу в реагуючій суміші не

буде; гемоліз еритроцитів не пройде. Навпаки, якщо в досліджуваному матеріалі (наприклад, в сироватці крові) немає антитіл до даних антигенів, тоді комплемент залишається вільним і забезпечує гемоліз еритроцитів. РЗК застосовують при діагностиці сифілісу (реакція Вассермана – РВ), вивченні протитканевих антитіл і автоантитіл; а також застосовується при діагностиці вірусних інфекцій. Феномен *специфічної затримки* часто застосовують для порівняння двох антигенів, які вивчаються. Наприклад, готують імунну сироватку проти еритроцитів миші. Щоб визначити, чи містяться в ній антитіла проти еритроцитів родинного виду тварин (щурів), сироватку обробляють еритроцитами щура. Рівень антитіл в сироватці знижується. Якщо рівень антитіл в сироватці знижується, то є родинні антигени; а якщо зовсім падає, тоді антигени однойменні. За допомогою цієї реакції проаналізовано багато родинних антигенів і гаптенів.

Реакція нейтралізації токсинів. Антитоксинами називають антитіла проти бактерійних і деяких інших (наприклад, отрута змії) токсинів антигенної природи. Антитоксини, сполучаючись з відповідними токсичними речовинами, нейтралізують їх. Ступінь нейтралізації може бути врахований введенням сприятливій тваринці суміші токсин-антитоксин. Кількість антитоксину в імунній сироватці характеризується тією кількістю мінімальних смертельних доз токсину, яке може бути нейтралізовано певною кількістю сироватки. РН користуються для визначення концентрації токсинів збудників дифтерії, правцю і ін. Для цього застосовують стандартні антитоксичні сироватки.

Однією з захисних реакцій імунного організму є підсилення фагоцитарної активності лейкоцитів, чому сприяють антитіла сироватки – опсоніни. Виявлення фагоцитарної активності організму може бути використане для діагностики шляхом проведення ***опсоно-фагоцитарної реакції.***

Феномен опсонізації полягає в тому, що антитіла підсилюють фагоцитарну активність нейтрофілів і макрофагів у відношенні тих антигенних субстанцій або мікроорганізмів, проти яких вони отримані. Наприклад, активність фагоцитів підсилюється у відношенні стафілококів, якщо обробити лейкоцити або донора лейкоцитів антистафілококовою сироваткою. Таку дію зв'язували з наявністю особливих антитіл – опсонінів, гемолізинів, бактеріолізинів або преципітинів, хоча спеціальних таких антитіл немає. Це лише прояв основної функції молекул імуноглобулінів дати специфічний комплекс антиген-антитіло.

Д.Грей наводить добрий приклад цієї функції. Антитіла, виготовлені проти пневмококового полісахариду 1 типу, можуть:

- викликати аглютинацію пневмококів 1 типу і набухання їх капсули;
- викликати преципітацію розчинного екстракту з пневмококів 1 типу;
- приєднувати комплемент, тобто забезпечувати РЗК;
- опсонізуюче діяти на лейкоцити у відношенні пневмококів 1 типу;
- здійснювати специфічний захист тварин проти пневмококової інфекції.

Не зважаючи на це, в різних конкретних експериментальних або клінічних ситуаціях перевагу надають кокретним реакціям антиген-антитіло. При діагностиці черевного тифу використовують реакцію Відаля – аглютинацію бактерій; для аналізу антигенних компонентів складних біологічних або тканевих екстрактів – реакції преципітації в агарі у вигляді імунодифузії або імуноелектрофорезу. При роботі з токсинами і розчинними антигенами користуються методами пасивної гемаглютинації. Для визначення рівня гормонів в крові застосовується радіоімунологічний метод. Різні класи імуноглобулінів по різному проявляють функцію сполучення з антигеном.

Реакція імобілізації. При захворюваннях, які викликані патогенними мікроорганізмами, часто трепонемами, в крові хворих людей утворюються антитіла, які зупиняють рух трепонем і викликають їх смерть. Імобілізуюча дія антитіл проходить в присутності комплементу. Хоча і не проходить його зв'язування або воно спостерігається обмежено. Реакцію імобілізації можна спостерігати у збудників амебіазу, деяких рухомих бактерій і інших, при яких участь комплементу не завжди приводить до смерті мікробів.

Імунологічні (серологічні) реакції застосовують в двох напрямках:

- серодіагностика бактеріальних, вірусних і інших інфекційних хвороб; виявлення з діагностичною метою антитіл в сироватці крові людини, невідомою є сироватка крові (антитіла), антиген відомий. Позитивний результат реакції свідчить про наявність в крові антитіл, гомологічних застосованому антигену, негативний – про відсутність таких антитіл. Достовірні результати серологічної діагностики отримують при вивченні "парних" сироваток крові хворих, які взяті в перші дні захворювання. В цьому випадку вдається спостерігати динаміку зростання титру антитіл. При вірусних інфекціях лише чотирьохразове і більше підвищення титру антитіл у другій сироватці має діагностичне значення.
- серологічна ідентифікація – встановлення роду, виду і серовару мікроорганізмів (вірусу). В цьому випадку невідомим компонентом в реакції є антиген. При цьому необхідна відома діагностична імунна сироватка.

Імунні діагностичні сироватки містять антитіла до того антигену яким проведена імунізація, готують на підприємствах. Їх отримують з крові тварин (часто кроликів або коней), яким попередньо багаторазово був введений відповідний антиген. Антиген – завісина живих або вбитих мікробів, лізати і екстракти клітин і тканин, еритроцити і ін.

При отриманні імунних сироваток визначають їх титр, тобто те найбільше розведення, в якому сироватка зберігає властивість реагувати з відповідним специфічним антигеном. Готову сироваткку розливають в ампули і вказують на етикетці її назву і титр. Часто сироватку висушують. Суху сироватку перед застосуванням розчиняють дистильованою водою до початкового об'єму, котрий вказаний на етикетці ампули.

Сироватка може бути специфічною в межах роду, виду, варіанту (типу), її специфічність обумовлена тим, що вона реагує лише з гомологічними культурами і не реагує з гетерологічними.

Для *серологічної ідентифікації* мікробів (вірусів) *діагностичні* сироватки випускають *нативні* (неадсорбовані) і *адсорбовані*. Противірусні сироватки звільняють від неспецифічних інгібіторів. *Неадсорбовані* сироватки мають високий титр, який в противірусних сироватках досягає 1 : 2560 – 1 : 5120, в антибактеріальних – 1 : 12800 – 1 : 25 000 і вище. Недоліком цих сироваток є та обставина, що вони не вільні від антитіл до мікробів, які мають загальні антигени в межах групи, роду, родини, в результаті чого вони здатні давати групові реакції. *Адсорбовані* сироватки відрізняються строгою специфічністю, але володіють низькими титрами – від 1 : 40 до 1 : 320. Адсорбовані сироватки застосовують в реакції аглютинації на склі. Ці сироватки не розводяться.

Серологічні дослідження широко застосовують в епідеміологічній практиці для встановлення природи спалаху інфекції і джерела інфекції. Багато захворювань з подібною клінічною картиною, наприклад, рікетсіози, ентеровірусні інфекції, можуть бути диференційовані лише серологічно.

Для серологічного дослідження *кров* беруть натще з ліктєвої вени або з пальця; в грудних дітей роблять невеликий надріз п'ятки вісп'яним пером або вузьким скальпелем. При взятті крові необхідно дотримуватись правил асептики. Кров в кількості 5-6 $см^3$ беруть в стерильну пробірку (краще центрифужну), яку зразу ж ставлять на 1 год в термостат при 37°С. Кров'яний згусток відділяють від стінок стерильною скляною паличкою або пастерівською піпеткою, після чого залишають на 18-20 год в прохолодному місці (4-10 °С). Сироватку, що залишилася зливають в другу стерильну пробірку через край або краще за допомогою пастерівської піпетки з гумовим балончиком. При попаданні в сироватку домішків еритроцитів її центрифугують і знову зливають з осаду. Сироватка може залишатися на згустку не більше 48 год після взяття крові; чиста сироватка може зберігатись в стерильних умовах при температурі 4-10 °С до одного місяця. При необхідності зберегти сироватку до 2-3 місяців її необхідно заморозити при температурі від –20 до –70 °С і зберігати, не даючи відтаяти. Якщо вдається взяти малу кількість крові, наприклад в маленьких дітей, її набирають градуйованою піпеткою 0,1-0,2 $см^3$ і вносять в пробірку, куди налито 0,9-1,8 $см^3$ стерильного ізотонічного розчину хлориду натрію (краще з вмістом 0,25% цитрату натрію), що відповідає розведенню сироватки 1 : 10. Для осадження форменних елементів отриману завісину центрифугують або залишають в холодному місці до ранку. Відстояну сироватку, розведену 1 : 10, переносять в чисту стерильну пробірку і роблять з неї послідовні дворазові розведення (1 : 20, 1 : 40, 1 : 80 і т.д.).

В умовах експедиції, коли неможливо провести серологічну реакцію на місці, можна застосувати *метод "сухої краплі"*. На складений вдвоє фільтрувальний папір наносять 0,1-0,5 $см^3$ сироватки без домішків еритроцитів. Попередньо на папері надписують прізвище хворого, дату взяття і кількість

сироватки. Сироватку висушують при кімнатній температурі. Папір з висушеною сироваткою складають у вигляді пакетика для порошку, який вкладають в конверт. В лабораторії папір нарізають ножицями і опускають в пробірку, куди додають ізотонічний розчин хлориду натрію до розведення 1 : 50 (необхідно взяти 4,9см^3 ізотонічного розчину хлориду натрію + 0,1 см^3 сироватки). Далі роблять наступні розведення, і дальніша постановка реакції нічим не відрізняється від звичайної.

Антигенами можуть бути завісина живих мікробів. Для виготовлення завісини досліджуваного мікроорганізма користуються 24 годинною культурою. Мікробну масу, яка виросла на скошеному агарі, змивають 3-4 см^3 фізіологічного розчину. Отримана завісина повинна бути густою (містити 3 млрд мікробних тіл в 1 см^3) і гомогенною.

З деяких мікробів, наприклад стрептококів, дуже важко отримати гомогенну завісину. Необхідно або відбирати спеціальні культури, або піддавати завісину необхідній обробці. В деяких випадках завісину відмивають центрифугуванням у фізіологічному розчині 3-4 рази, а в інших осад мікробів обробляють 1/50 розчином NaOH, нейтралізують 1/100 розчином HCl, після чого готують завісину. Інколи користуються бульйонною культурою мікробів. Якщо отримана завісина нестійка і легко випадає в осад, тобто дає спонтанну аглютинацію, її необхідно готувати на 0,4 % розчині NaCl.

Застосування завісини вбитих мікробів, тобто ***діагностикумів,*** полегшує роботу і робить її безпечною. Часто застосовують діагностикуми виготовлені у виробничих інститутах (черевнотифозні, рікетсіозні, еритроцитарні діагностикуми).

Посуд для серологічних реакцій повинен бути чистим і сухим, стерилізація для нього необов'язкова. Пробірки, піпетки не потрібно поміщати в розчини сулеми, карболової кислоти, формаліну, кислот, лугів. Скло кип'ятять в простій воді, а піпетки просушують етиловим спиртом і ефіром.

Питання для самоконтролю

1. Що лежить в основі всіх реакцій імунітету?
A. Взаємодія антигену з комплементом
B. Розпізнавання антитіла бактеріями
C. Розпізнавання антигеном рецепторів лімфоцитів
D. Взаємодія антигену з антитілом

2. Серологічні реакції використовують:
A. Для виявлення титру комплементу
B. Для виявлення невідомого антитіла за допомогою відомого антигену
C. Для виявлення невідомого антигену
D. Для визначення активності лізоциму

3. Для постановки реакції аглютинації необхідно:
A. Антиген, антитіло, комплемент

B. Антитіло, антиген, електроліт
C. Мікроорганізми, антитіло, лізоцим
D. Аглютиніни, віруси, електроліт

4. Компонентами реакції аглютинації, яка застосовується для серологічної ідентифікації є:
A. Сироватка пацієнта, електроліт, антиген
B. Специфічна сироватка, відомий антиген, бактерії
C. Специфічні антитіла, невідома культура бактерій
D. Невідомі антитіла, культура бактерій

5. Всі реакції імунітету базуються на:
A. Процесі розпізнавання антигену рецепторами макрофагу
B. Взаємодії антигену з дендритними клітинами
C. Розпізнаванні антитіла епітопами антигену
D. Взаємодії антигену з антитілом

6. Основними компонентами реакції аглютинації є:
A. Бактерії, макрофаги, електроліт
B. Алютиногени, антигени, електроліт
C. Бактерії, антитіла, електроліт
D. Алютиніни, аглютиногени, сироватка

7. За титр реакції аглютинації приймають:
A. Найбільше розведення сироватки
B. Найбільше розведення специфічної сироватки, яке дає позитивну реакцію з антигеном
C. Найбільше розведення антигену, яке дає позитивну реакцію із специфічною сироваткою
D. Найменше розведення специфічної сироватки, яке дає позитивну реакцію з антигеном

8. В якості антигену в РНГА використовують:
A. Еритроцити барана
B. Антиген, адсорбований на еритроцитах
C. Антиген, адсорбований на частинках латексу
D. Танізовані еритроцити людини

9. Реакція коаглютинації використовується для:
A. Виявлення антитіл у сироватці крові, сечі
B. Виявлення аутоантитіл
C. Виявлення антигену в сироватці, сечі
D. Виявлення неповних антитіл

10. Для прямої реакції імунофлуоресцеції (РІФ) необхідно:
A. Невідоме антитіло і антиген, мічений флуорохромом
B. Специфічна сироватка, антиген, барвник
C. Специфічна сироватка, зв'язана з флуорохромом і антиген
D. Антиглобулінова флуоресцуюча сироватка, специфічна сироватка, антиген

СПЕЦИФІЧНА ІМУНОПРОФІЛАКТИКА ТА ІМУНОТЕРАПІЯ ІНФЕКЦІЙНИХ ХВОРОБ

Для специфічної профілактики і лікування інфекційних захворювань велике значення має створення вакцин і одержання імунних сироваток. Ще в стародавньому Китаї були спроби імунізації людей проти віспи шляхом введення в ніс шкірочок від віспових пустулок. В 1796 р. Дженнер прищепив дитині коров'ячу віспу, в результаті чого в дитини розвинувся імунітет до натуральної віспи. З того часу всі препарати, за допомогою яких можна викликати активний штучний імунітет організму назвали вакцинами (від слова vaccina - коров'яча віспа), а метод імунізації (введення вакцин) - назвали вакцинацією, тобто активною імунопрофілактикою.

Розрізняють: з мікробних клітин:

живі:

- *атенуйовані;*
- *дивергентні;*
- *векторні рекомбінантні*;

вбиті:

- *молекулярні:* які одержані шляхом біосинтезу; хімічного синтезу; методом генної інженерії;
- *корпускулярні*: з цільних клітин, цільновіріонні;
  субклітинні, субвіріонні;
  синтетичні, напівсинтетичні.

Існують живі бактеріальні вакцини; живі вірусні вакцини; вакцини з убитих мікробних клітин; вакцини з інактивованих вірусів; хімічні (за новою термінологією субклітинні і субвіріонні вакцини), в тому числі, анатоксини (токсоїди).

Живі вакцини першого покоління – являють собою спеціальні штами збудників, що мають знижені вірулентні властивості але збережені імуногенні. Вони викликають прихований інфекційний процес, який закінчується формуванням активного стійкого імунітету. Перші живі бактеріальні і вірусні вакцини проти *сибірської виразки і сказу* були одержані Л.Пастером. Учні Л.Пастера А.Кальмет і К.Герен одержали нову живу бактеріальну вакцину проти *туберкульозу* - БЦЖ (в честь відкривачів). Одержана шляхом атенуації штаму збудника туберкульозу бичачого типу. Використовується для планової імунізації, починаючи з періоду новонародження. Вчені М.П.Покровська, Н.Н.Жуков-Вережніков, Е.І.Коробкова одержали вакцину проти *чуми* – атенуйований штам збудника, використовується для вакцинації за

епідемічними показами, Н.А.Гайський і Б.Я.Гінсбург - проти *сибірської виразки* – атенуйований штам збудника, використовується для профілактики професійної сибірської виразки та за епідемічними показами, П.А.Вершилова з співробітниками - проти *бруцельозу* – атенуйований штам бруцел, який використовується для імунізації за епідпоказами, вакцина проти *туляремії* – це атенуйований штам збудника, який використовується для імунізації у вогнищах хвороби, вакцина проти *висипного тифу* – атенуйований штам рикетсій, вирощений у жовтковому мішку курячого ембріона, використовується за епідпоказами. В.М.Жданов, В.Д.Соловйов, А.А.Смородінцев і М.І.Соколов – виготовив вакцину проти *грипу* – атенуйований варіант віруса типу А, вирощується на курячих ембріонах, використовується обмежено для зменшення інтенсивності епідемій грипу. Американський вчений А.Себін одержав живу вакцину проти *поліомієліту* - спеціально відібрані вірулентні штами поліовірусів трьох типів, використовується для пасивної імунізації дітей. Створено вакцину проти *кору* – атенуйований штам збудника, вирощується на диплоїдних клітинах людини, використовується для планової імунізації дітей. Створено також живу вірусну вакцину проти *сказу (антирабічну)* – є кілька варіантів одержання на основі атенуйованого штаму збудника, частково інактивованого формаліном. Варіанти отримані з віруса, вирощеного в мозку тварин (білих щурів), є високореактогенні і замінюються тканинною вакциною, виготовленою із збудника, вирощеного на культурі клітин сірійського хом′яка. Вакцина використовується для попередження сказу в укушених, скаженими або підозрілими тваринами. Вакцина проти *жовтої гарячки* – використовується для планової профілактики хвороби в тропічних країнах. Вакцина проти *натуральної віспи* – спеціальний штам віруса, одержаний шляхом пасажів на тваринах з віруса віспи коів, але не ідентичний йому (вірус вісповакцини). Вирощується шляхом зараження телят нашкірним методом. Зараз вакцинація проти натуральної віспи не проводиться у зв′язку з ліквідацією хвороби на всій земній кулі (ерадикація). Одержані також живі вакцини проти *москитної лихоманки*, *епідемічного паротиту* – атенуйований штам збудника, вирощується на курячих ембріонах, використовується для планової імунізації дітей. Деякі атенуйовані вакцини виготовлені з маловірулентних штамів мікробів, які виділені в різний час від хворих людей: *штам EV* - для чумної вакцини, *штам №19* - при бруцельозі, *штам Мадрід Е* - при висипному тифі. Одна доза вакцини повинна містити визначену кількість мікробних тіл. Широке застосування має вакцина для профілактики *кліщового енцефаліту* (ембріональна і тканинна). Одержано низку вакцин із інактивованих вірусів, які використовуються для профілактики арбовірусів та інших інфекцій, розповсюджених у тропіках.

До недоліків живих вакцин належить введення в організм прищеплених нуклеїнових кислот, тобто чужого генетичного матеріалу; здатність вакцинних штамів вірусів до персистування, яка часто виявляється, а також можливість виникнення ускладнень при застосуванні вірусних атенуйованих штамів.

Останнім часом ширше застосовують **інактивовані вакцини** проти лептоспірозу, коклюшу, гонореї, бруцельозу, грипу, кліщового енцефаліту.

Розробляються **живі вакцини** для профілактики інших вірусних і бактеріальних інфекцій (аденовірусна, проти краснухи, легіонельозу і ін.). До живих вакцин відносять так звані векторні рекомбінантні вакцини, які одержують методом генної інженерії. Векторні вакцинні штами конструюють, вбудовуючи в геном (ДНК) вакцинного штама віруса або бактерій ген чужого антигена. В результаті векторний вакцинний штам після імунізації викликає імунітет не лише до вакцинного штаму-реципієнта, але і до нового чужого антигена. Вже одержані рекомбінантні штами віруса віспяної вакцини з вбудованим антигеном HB_s віруса гепатиту В. Така векторна вакцина може створити імунітет проти віспи і гепатиту В одночасно. Вивчається також векторна вакцина на основі віруса вісповакцини і антигена віруса сказу, кліщового енцефаліту.

Для одержання ослаблених (атенуйованих) культур мікробів користуються різними методами. Готують їх так: підбирають штами культур, які мають найбільш типові властивості і високу антигенність. Усі вакцини повинні містити протективні антигени, що зумовлюють створення достатнього для захисту від інфекції імунітету. Інколи використовують штами близькородинних в антигенному відношенні, нехворобливих для людини мікроорганізмів (дивергентні штами), з яких одержані д и в е р г е н т н і в а к ц и н и (для щеплення проти віспи використовують вірус віспи корів).

Для виготовлення вакцин необхідно мати велику кількість мікробної маси – біомаси, або вірусовмісного матеріалу (одержують шляхом культивування в поживних середовищах в спеціальних реакторах або скляних вмістилищах); вірусовмісний матеріал одержують шляхом зараження сприйнятливих тваринок, з органів або культур тканин: з легень мишей, заражених збудниками висипного тифу, які містять масу рикетсій; вакцини проти сказу - з мозку кроликів, заражених вірусом сказу. Інактивують (вбивають), діють на них різними фізичними (нагріванням до 60^0С – *гріті вакцини*) і хімічними речовинами (формаліном – *формолвакцини, анавакцини*, спиртом – *спиртові вакцини*), фагами, антибіотиками, декілька разів заражають сприйнятливих тваринок або ультрафіолетовим випромінюванням, ультразвуком. Застосовують для імунізації проти кишкових інфекцій кожного року весною, щоб запобігти хворобі, створити імунітет до сезонного підйому захворювання (черевним тифом, паратифами, дизентерією, холерою та інші). Готову вакцину контролюють на стерильність, безвредність і імуногенність. Суспензію мертвих мікробів розливають по флаконах або ампулах, на яких вказують час виготовлення, густину, термін зберігання (звичайно 1-2 роки). Термін зберігання бактерійних і вірусних вакцинних препаратів вказаний на етикетці. Зберігати при температурі не нижче 3 ^{o}С і не вище 10 ^{o}С в холодильнику. Існує система Державного контролю за якістю медичних імунобіологічних препаратів. Не можна піддавати препарати заморожуванню, відтаюванню, дії високої температури. При транспортуванні дотримуватись особливих умов. Не можна застосовувати препарати, які мають тріщини на ампулах і змінений зовнішній вигляд. Щоб мікроорганізми могли добре зберігатися, їх висушують в вакуумі при низькій температурі (в живому вигляді).

Вакцини можуть містити мікроби тільки одного виду – моновакцини (віспяна, антирабічна, туберкульозна та ін.), двох видів – дивакцини (дифтерійно-правцевий анатоксин), трьох видів – тривакцини (коклюшно-дифтерійно-правцева) і тетравакцини (проти черевного тифу, паратифів А і В та правцю), які містяться з декількох антигенів.

На сьогоднішній день для активної імунізації організму широко застосовують **асоційовані препарати** які, застосовують для одночасного щеплення проти декількох інфекцій. Прикладом асоційованої вакцини першого типу може бути секстаанатоксин проти правцю, анаеробної інфекції (газової гангрени) і ботулізму. Другого типу – АКДП. Виготовляють їх з антигенів різних бактерій і їх токсинів: *дифтерійно-коклюшна вакцина* містить дифтерійний анатоксин і вбиті бактерії коклюшу; *коклюшно-дифтерійно-правцева вакцина* (вакцина з убитих мікробних клітин) містить ще правцевий анатоксин. Асоційовані препарати випускають в сорбованому вигляді. Наприклад: *хімічну сорбовану тифо-паратифозно-правцеву вакцину* і *адсорбовану коклюшно-дифтерійно-правцеву вакцину,* сорбент – гель гідрату окису алюмінію, який адсорбує на своїй поверхні бактерійні антигени, анатоксини і вірусні частинки. При введенні в організм сорбованого препарату утворюються "депо", з якого антиген помалу всмоктується в організм. Це приводить до підвищення його імуногенності і зниження реактогенності препарату (ускладнень). За епідпоказами застосовують вакцини проти *черевного тифу, паратифів А і В, холерну вакцину, вакцину проти висипного тифу* з убитих рикетсій, вирощених у кишківнику вошей. *Жива полівалентна асоційована поліомієлітна вакцина* складається з живих вакцинних штамів вірусів поліомієліту I, II, III типів.

Вакцини застосовують для створення активного штучного імунітету серед населення, з метою профілактики інфекційних захворювань, для лікування хронічних інфекційних захворювань (**вакцинопрофілактика і вакцинотерапія):** бруцельозу, фурункульозу, хронічної гонореї.

Добрий лікувальний ефект дають **автовакцини** які виготовлені з збудників, виділених з організму хворого. Вакцини з живих мікробів вводять одноразово, вбиті – двохразово або трьохразово з інтервалом в 1-2 тижні.

Метод введення вакцин називається **вакцинація.** Застосовується нашкірно, внутрішньошкірно, підшкірно, інтраназально, внутрішньом'язево, внутрішньовенно, перорально (проти поліомієліту), на слизову оболонку носа, зіва, інгаляційно. Повторне введення вакцин – **ревакцинація** дуже часто застосовується при дифтерії.

Система вакцинації для профілактики інфекційних хвороб серед населення країни регламентується *календарем щеплень*, в якому з народження і до старості визначено проведення обов'язкових щеплень за показами. Для масової вакцинації за епідемічними показами застосовується *безголковий цівковий ін"єктор* (тонка цівка під тиском пробиває шкіру і проникає на певну глибину). Висока економність, простота дотримання стерильності, виключення

передачі *"шприцевих" інфекцій* (гепатит В, СНІД), без болю – є перевагами даного методу.

До протипоказів належать: гострі запальні захворювання, недавно перенесені гострі інфекції, хронічні інфекції (туберкульоз, малярія), пороки серця, тяжкі ураження внутрішніх органів, вагітність у другій половині, перші місяці годування груддю, алергічні стани (бронхіальна астма, підвищена чутливість до якихось хаорчових продуктів) та ін.

Хімічні або молекулярні вакцини другого покоління одержують шляхом руйнування мікробних клітин з наступною витяжкою з них різних антигенних фракцій – хімічних комплексів (протективних антигенів патогенних видів бактерій, які індукують захисний імунітет). Такі вакцини застосовуються для профілактики дизентерії, черевного тифу, холери. Наприклад, для профілактики черевного тифу і правцю застосовують хімічну сорбовану вакцину з О- і Vi-антигенів черевнотифозних бактерій та очищеного концентрованого правцевого анатоксину. Бактеріальні антигени і правцевий анатоксин адсорбовані на гідроокису алюмінію або фосфат алюмінію (ад'юванти – підвищують імуногенність).

Хімічні вакцини довго зберігаються, вони менш реактогенні, не мають сенсибілізуючу та іншу побічну дію на організм і дають змогу значно ширше використовувати асоційовані варіанти різних антигенів. Проте їх ефективність є недостатньою. Перспективним є дальше одержання молекулярних вакцин з окремих антигенів мікробної клітини або навіть з окремих антигенних детермінант, що дає змогу поєднати в одному препараті вакцину проти кількох інфекцій. Комбінуючи антигенні детермінанти в одній штучно створеній молекулі можна отримати препарат, що викликає виражену імунну відповідь, а також сприяє виробленню її в тих випадках, коли природний антиген є недостатньо імуногенним. Річ у тому, що сила й специфічність імунної відповіді на антиген закодовані в різних генах. І, якщо на даний антиген запрограмована слаба імунна відповідь, то навіть введення великої кількості антигену не матиме впливу на силу імунної відповіді. Об'єднавши в одній молекулі специфічну детермінанту одного антигену з детермінантою, що сприяє виробленню добре вираженої імунної відповіді від іншого антигену, можна одержати препарат, який буде відповідати бажаним параметрам. У такому напрямку ведуться роботи по створеню вакцин проти грипу, вірусу імунодефіциту та ін.

На даний час застосовуються такі хімічні субодиниці вакцин: *висипнотифозна, холерна* (холероген + О-антиген), *менінгококова, черевнотифозна і грипозна*.

Анатоксини (токсоїди) – це вакцинні препарати, знешкоджені екзотоксини бактерій обробкою 0,3%-0,4% формаліном впродовж 80 діб при температурі 37-40 ^{o}С, які втратили токсичні властивості, але зберегли імуногенність. Вперше спосіб виготовлення анатоксинів був запропонований французьким вченим в 1923 р. Рамоном. Зараз також використовують цей спосіб: до фільтрату бульйонної культури мікробів, який містить екзотоксин, додають 0,4% формалін і витримують довгий час в термостаті при температурі

39-40 ^{o}C. В результаті екзотоксин губить токсичні властивості, але зберігає імуногенність і антигенність.

Анатоксини одержані з екзотоксинів *дифтерійного, правцевого, ботулінічного, стафілококового і дизентерійного* мікробів (збудник дизентерії Шіга), з токсинів збудників *анаеробної інфекції, отрути* деяких *змій і рослин*. Широко застосовують холерний анатоксин. При використанні анатоксинів в організмі виробляється активний антитоксичний імунітет. Широко використовують для активної імунізації проти дифтерії і правцю *дифтерійний і правцевий анатоксини, а також ботуліновий, стафілококовий, проти газової гангрени*. Випускають їх сорбованими на гелі гідрату окису алюмінію. Вводять 2-3 рази підшкірно або внутрішньом'язево, зберігаючи правила асептики.

Специфічну активність анатоксину визначають у реакції флокуляції, в так званих флокуляційних одиницях (ФО) або в реакції зв'язування анатоксину, що виражається в одиницях зв'язування (ОЗ). Кількість антигену (токсину або анатоксину), що дає в суміші з 1МО (Міжнародна анатоксична одиниця) сироватки ініціальну (початкову) флокуляцію, називається одиницею флокуляції – *Idmes flocculationis* (поріг флокуляції). Титр анатоксину – це вміст в 1см^3 препарату.

Ще один перспективний напрямок пов'язаний з антиідіотиповими антитілами. В синтезованих у відповідь на певний антиген антитіл просторова структура специфічної частини молекули є дзеркальним відображенням антигена. Така структура є імунологічно чужою для організму, тому на неї також утворюються антитіла (антиідіотипові). Просторова структура специфічної частини молекули таких антитіл є точною копією просторової структури антигенної детермінанти. З цього випливає, що антиідіотипові антитіла мають такі самі імуногенні властивості як антиген і можуть бути використані як вакцини.

Ускладнення при вакцинації. Ускладнення при вакцинації живих вакцин можуть бути пов'язані з реверсією вакцинного штаму (відновлення вірулентних властивостей). Таке явище описано для *живої поліомієлітної вакцини*, зокрема для поліовірусу III типу. Відомі окремі факти, коли така вакцина давала поліомієлітоподібні паралітичні захворювання.

У деяких осіб, що мають порушення імунітету, живі вакцини можуть викликати ускладнення, які за клінічною картиною не відрізняються від хвороби, викликаної вірулентим збудником. Такі випадки зустрічалися при вакцинації проти *віспи, кору*.

Ускладнення можуть виникати внаслідок присутності у вакцині компонентів, що використовується в процесі виготовлення вакцини, наприклад, мозкової тканини для антирабічної вакцини.

Убиті вакцини можуть викликати алергічні прояви, включаючи важкі ураження нервової системи. Такі ускладнення може викликати вакцина *КДП,* особливо її кашлюковий компонент.

Висловлюється думка, що додаткові компоненти вакцинних препаратів (ад'юванти, консерванти) також можуть викликати ускладнення. Проте детальні дослідження не підтверджують цього. Наприклад, доза ртуті, що

вводиться з вакциною *КДП*, не перевищує кількості, яка попадає в організм з їжею та водою.

Для попередження ускладнень насамперед вдосконалюють вакцинні препарати, усуваючи з них компоненти, що можуть давати небажану дію (наприклад, алергени палички кашлюка та баластні речовини).

При вакцинації потрібно врахувати також покази та протипокази.

Розробляють і вивчають вакцини проти гонореї, менінгококової і стрептококової інфекції, лепри, трахоми, орнітозу, низки рикетсіозів та ентеровірусних захворювань, малярії, вірусного гепатиту В, ВІЛ-інфекції, COVID-19 та інших захворювань.

Досягнення сучасної фундаментальної імунології і молекулярної біології дозволяють отримати в чистому вигляді **антигенні детермінанти (<u>епітопи</u>)**. Створення вакцин нового покоління вимагає кон'югації антигенних детермінант з молекулою-носієм – білками або синтетичними поліелектролітами.

Інший принцип використовується при створенні вакцин наступного покоління – **генноінженерних**: на основі картування геномів мікроорганізмів гени, які контролюють необхідні антигенні детермінанти, переносять в геном інших мікроорганізмів і клонують в них, добиваючись експресії цих генів в нових умовах. Створена молекулярна вакцина проти ВІЛ з антигенів віруса, що продукується рекомбінантними штамами E.coli.

Недавно була обгрунтована можливість <u>отримання вакцин на основі антиідіотипових антитіл</u>. Це пояснюється близькою структурною подібністю між епітопом антигена і активним центром антиідіотипового антитіла, яке розпізнає ідіотиповий епітоп антитіла до даного антигена. Показано, що антитіла проти антитоксичного імуноглобуліна (антиідіотипові) можуть імунізувати тваринку подібно анатоксину.

Вакцинація повинна забезпечити доставку антигенних епітопів до імунокомпетентних клітин, при цьому необхідно виключити можливість зміни їх структури під дією ферментів. Одним з перспективних рішень цієї проблеми зв'язано з використанням **ліпосом –** мікроскопічних піхурців, які складаються з двохшарових фосфоліпідних мембран. Завдяки подібності з клітинними мембранами ліпосоми нетоксичні для організму, а речовина яке є в них захищена від розбавлення і деградації в крові. Ліпосоми здатні адсорбуватися на клітинах, причому їх вміст повільно поступає всередину клітини. Фагоцитуючі клітини можуть захоплювати ліпосоми шляхом ендоцитозу з наступною деградацією їх мембран. Антигени, які входять до складу поверхневої мембрани ліпосом, набувають властивостей ад'юванта – властивість викликати сильну імунну відповідь. Інші антигени можна вводити у вмістиме ліпосом. В експерименті такі **"ліпосомні" вакцини** викликали тисячекратне підсилення імунної відповіді.

<u>Пасивна імунопрофілактика</u> здійснюється шляхом введення в організм препаратів, що містять антитіла. Оскільки час виведення антитіл з організму становить 10-14 діб, то така профілактика розглядається як допоміжний засіб

екстренного запобігання інфекційних хвороб, зокрема осіб, які були в контакті з хворими.

Лікувально-профілактичні сироватки – це препарати сироваток крові людини або тварини, які містять специфічні антитіла. Одержують ці сироватки шляхом імунізації відповідними антигенами.

Сироватки містять імунні антитіла - імуноглобуліни, використовують їх для лікування. Введення антитіл забезпечує швидке знешкодження мікробів і їх токсинів. Застосування лікувальних сироваток створює пасивний штучний імунітет в організмі. Інколи застосовують з профілактичною метою для створення несприйнятливості в людини, яка контактує з хворим кором або гепатитом.

Розрізняють сироватки **антитоксичні, антибактеріальні, противірусні.**

Антитоксичні отримують шляхом інтенсивної імунізації тварин анатоксинами або токсинами мікробів. Сучасні препарати сироваток містять практично тільки глобулінову фракцію білків.

Антимікробні одержують при багаторазовій імунізації бактеріями, ендотоксинами, фільтратами бактерій (менш ефективні).

Для отримання імунних антитоксичних сироваток імунізують здорову тварину. Наприклад: коня імунізують токсинами-анатоксинами за спеціально розробленою схемою. Через 10-12 діб випускають кров і одержують сироватку (кров відстоюється), встановлюють кількість антитоксичних одиниць в 1 $см^3$, додають для зберігання стерильності консервант: хлороформ 0,75% і фенол 0,5%, розливають в ампули і піддають ДОСТу. Для отримання лікувального ефекту сироватку вводять у великих дозах 150-200 $см^3$ внутрішньом'язево. До антитоксичних сироваток належить *протидифтерійна, протиботулінічна, протиправцева, проти анаеробної інфекції, укусу змій.*

Сила антитоксичної сироватки вимірюється в антитоксичних одиницях. За антитоксичну одиницю приймається та найменша кількість імунної сироватки, яка знешкоджує визначену кількість Dlm токсину. Зараз антитоксині сироватки очищують від баластних білків різними фізико-хімічними методами: діалізом, осадженням різних фракцій білків на сірнокислому амонії, ферментативним гідролізом баластних білків, спиртовим методом, хроматографією, ультрафільтрацією, ультрацентрифугуванням, електрофорезом. В результаті одержують очищені сироватки з високою концентрацією антитіл (до 5.000 - 10.000 АО в 1 мл). Такі сироватки на етикетках мають написи "Діаферм", "Діалізована". Очищені і концентровані імунні сироватки називають **імуноглобулінами.** Імунні сировоткові препарати, одержані з крові тварин, називають *гетерологічними*, а з крові людей – *гомологічними*.

Сироватки вводять в певних дозах залежно від характеру і тяжкості інфекційного процесу: внутрішньом'язево, внутрішньовенно, інтралюмбально, застосовують метод Безредко (в 2 прийоми). Перевіряється чутливість організму до кінського білка шляхом постановки внутрішньошкірної проби з кінською сироваткою в розведенні 1:100 в об'ємі 0,1мл. Якщо шкірна реакція через 20-30 хвилин від'ємна вводять антитоксичну сироватку дробно.

Антитоксичні імунні сироватки вводять як можна раніше від моменту зараження, оскільки антитіла здатні нейтралізувати отруйну дію токсину лише до його адсорбції на клітині "мішені." Зберігають в темному місці, на холоді. Сироватку можна вводити і з профілактичною метою, сироватка викликає пасивний імунітет, оскільки вводять готові антитіла (2-3 тижні тривалість імунітету). Як приклад - серопрофілактика правцю - 3000 АО пораненому, коли рана забруднена землею, пилюкою, частинками одягу і т.д. Для серопрофілактики застосовують сироватку реконвалесцентів (виздоровлюючих) людей або які перехворіли - перенесли дане захворювання.

Антибактеріальні і противірусні сироватки застосовують у вигляді глобулінів та імуноглобулінів (γ-глобуліни). Це сироватки проти сибірки, чуми, натуральної віспи, сказу, кору, поліомієліту, гепатиту А, скарлатини та ін.

Гамма-глобуліни та імуноглобуліни – це одна з фракцій білків сироватки (глобулінів), яка містить антитіла в найбільшій концентрації. Отримують їх з донорської і плацентарної крові, з екстрактів плаценти жінок, що родили. Спеціально підібраних донорів імунізують грипозними, коклюшними та іншими антигенами з тим, щоб з венозної крові отримати гамма-глобуліни. Імуноглобуліни дістають методом фракціонування сироваткових білків за допомогою спиртових сумішей при температурі нижче 0^{o}C. Розділення білкових фракцій грунтується на їх різній розчинності при зміні концентрації спирту, pH і вмісту електролітів. Розроблено методи, які дають змогу мати стабільні, електрофоретично чисті препарати імуноглобуліну.

Імуноглобуліни містять різноманітні антитіла, оскільки являють собою суміш білків багатьох людей, що могли перехворіти різними інфекційними хворобами. *Людський гама-глобулін* використовують для профілактики *кору, поліомієліту, вірусного гепатиту А, вітряної віспи, скарлатини, натуральної віспи, краснухи, паротиту, коклюшу і сказу.* Одержані також специфічні людські гама-глобуліни: *стафілококовий* з крові донорів, імунізованих стафілококовим анатоксином; *протиправцевий* з донорської крові. Як допоміжний препарат *для профілактики сказу* використовують гама-глобулін з крові тварин, імунізованих антирабічною вакциною *(антирабічний гама-глобулін).* Для лікування *сибірки* використовують відповідний *гама-глобулін*, одержаний з крові імунізованих тварин. Як імунодепресивний препарат застосовується *антилімфоцитарний* гама-глобулін.

Використання нормального імуноглобуліну людини для екстренної профілактики і лікування кору, коклюшу, менінгококової інфекції, поліомієліту, скарлатини обумовлено присутністю антитіл проти відповідних збудників в крові дорослих людей.

Концентровані очищені імунні сироватки і гаммаглобуліни мають значні переваги перед неочищеними нативними сироватками. Їх можна вводити в невеликій кількості 3-6 мл, вони не дають алергічних реакцій.

Для лікування хворих, уражених тяжкими бактеріально-септичними і вірусними захворюваннями у гострій фазі, а також при гіпо-, гамаглобулінеміях та хірургічних ускладненнях внутрішньовенно вводять *імуноглобулін сироватки крові здорової людини*, що містить головним чином IgG і має

знижені антикомплементарні властивості; його готують із венозної або плацентарної крові здорових породіль.

До імунопрепаратів відносять *альбумін і протеїн,* що застосовуються при лікуванні хворих з тривалими гнійними процесами; *гістоглобулін* (комплекс γ-глобуліну і гістаміну), що має антиалергічну дію; *фібринолізин*, який спричиняє лізис згустків фібрину; *амінокровін* (розчин амінокислот і низькомолекулярних пептидів), що має дезінтоксикаційну дію і застосовується при захворюваннях шлунка і кишок.

Застосування в медичній практиці вакцин і сироваток з лікувальною і профілактичною метою одержало назву специфічної профілактики і терапії інфекційних захворювань.

Моноклональні антитіла

Навіть при імунізації низькомолекулярними антигенами ніколи не одержують антитіл однієї специфічності внаслідок наявності кількох антигенних детермінант в одній молекулі або через модифікацію антигена в організмі. Розроблена методика одержання гібридних клітин (гібридом) з лімфоцита – моноклон, який синтезує антитіла і мієломної клітини заданої специфічності – моноклональні антитіла, що інтенсивно розмножуються в пробірці. Моноклональні антитіла можуть застосовуватись для ідентифікації антигенів, розпізнавання антигенів, близьких між собою (наприклад, антигенів нормальних і пухлинних тканин). Часто моноклональні антитіла мітять ферментом або радіоактивною міткою. На основі моноклональних антитіл розроблені тест-системи для імунодіагностики ракових пухлин різних органів та ін. Останнім часом розробляються і лікувальні препарати на основі моноклональних антитіл, наприклад, для лікування інтоксикацій, викликаних ліпополісахаридом грамнегативних бактерій.

Еубіотики

В результаті порушення нормального біоценозу мікрофлори кишківника виникають дисбактеріози, які лежать в основі багатьох хвороб або супроводжують хвороби. Для лікування дисбактеріозів застосовують препарати, виготовлені з мікроорганізмів, які є представниками нормальної мікрофлори кишківника людини. Ці препарати нормалізують кишкову мікрофлору і називаються *еубіотиками: біфідумбактерин, колібактерин, лактобактерин, субтілін, біфікол та інші*. Це препарати живих, висушених культур відповідних мікроорганізмів в таблетках, капсулах, флаконах, де є вказана кількість мікробних клітин в препараті. Назначають еубіотики перорально по 2-3 рази в день від 1 до 6 міс, як правило, в комбінації з іншими методами лікування.

Імуномодулятори

Це імуномодулюючі лікарські препарати хімічної або біологічної природи, які здатні модулювати, тобто стимулювати, пригнічувати або регулювати імунні реакції, в результаті дії на імунокомпетентні клітини, регуляторні механізми, процеси утворення імунних факторів або інші імунні процеси. Імуномодулятори за походженням поділяють на *гомологічні і гетерологічні*. До *гомологічних* відносяться імуномодулятори, які виробляються

в організмі, так звані ендогенні імуномодулятори (*цитокіни*, до яких належить *інтерферон*, *інтерлейкіни*, *фактор некрозу пухлин, міелопептиди, речовини тимуса* і ін.). До *гетерологічних* імуномодуляторів відноситься *група хімічних речовин,* які мають вплив на імунну систему. Це *левамізол* (декаріс), який регулює дозрівання Т-лімфоцитів і гранулоцитів; *левакадін* (2-карбамоплазіпірід), що стимулює Т-хелпери і інгібує Т-супресори; *циклоспорин А* – імунодепресант. Ці препарати використовують для пригнічення трансплантаційного імунітету при пересадці органів і ін.

Є імуномодулятори, які впливають на систему мононуклеарних фагоцитів (*нуклеїнат натрію*), а також препарати, в основному мікробного походження (*полісахариди або ліпополісахариди, продігіозан, пірогенал, мурамілдипептид і ін*.), які підвищують антиінфекційну резистентність. Як імуномодулятори застосовують також *антилімфоцитарну сироватку* і *імуноглобуліни (пентаглобін, інтраглобін).*

За ефектом імуномодулятори поділяють на три групи: імуностимулятори, імунодепресанти і засоби замісної терапії. За механізмом дії поділяють на речовини, які впливають на *Т-систему* імунітету, *В-систему* імунітету і на *систему мононуклеарних фагоцитів*.

Імуномодулятори залежно від механізму дії назначають при первинних і вторинних імунодефіцитах, злоякісних захворюваннях, автоімунних хворобах та інших імунопатологічних станах.

Діагностичні препарати

Діагностичні імунобіологічні препарати широко застосовують для діагностики інфекційних хвороб, алергічних захворювань, пухлин, імунопатологічних проявів і т.д. Принцип дії діагностичних препаратів заснований на імунологічних реакціях (реакція антиген – антитіло; клітинні реакції), які реєструються за фізичним, хімічним або клінічним ефектом.

Для діагностики інфекційних і неінфекційних хвороб створено багато діагностичних імунобіологічних препаратів. За їх допомогою діагностують ВІЛ-інфекцію, вірусні гепатити, черевний тиф, дифтерію, кір і багато інших інфекційних хвороб; харчові, професійні і інші види алергії; локалізацію злоякісних пухлин (рак печінки, легень, прямого кишківника і ін.); імунні взаємовідношення матері і плоду, вагітність; сумісність органів і тканин при пересадці; імунодефіцитні стани.

Чутливість і специфічність діагностичних препаратів, заснованих на імунологічних принципах, як правило, вище, ніж інші методи діагностики. Застосування моноклональних антитіл і очищених антигенів ще більше підвищило специфічність діагностичних препаратів.

АЛЕРГІЯ

Алергія (від латинського "allos" - інший, "ergon" - дія) - це явище зміненого стану організму, що розвивається у відповідь на дію певних чужих речовин (антигенів) і є передумовою для виникнення імунопатологічних процесів.

Речовини, які викликають стан підвищеної чутливості (гіперчутливості) організму, називають алергенами. Алергени можуть бути: мікроорганізми, продукти розпаду мікробних клітин; білки тваринного походження; білки рослинного походження, лікувальні гетерологічні сироватки і ін. Всі ці речовини є повноцінними антигенами. Але алергію можуть викликати гаптени – речовини, які стають алергенами після сполучення з білками організму: виробничі алергени (фарби, лак, мила і ін.); побутові алергени (пилюка, шерсть собак і кішок, пух подушки і ін.); рослинні алергени (пилок рослин під час цвітіння), лікарські речовини (антибіотики, аспірин і ін.).

Алергія – це специфічна гіперчутливість організму до різних агентів. В її основі лежить реакція антиген-антитіло. Вперше попадаючи в організм, одні алергени утворюють антитіла, інші алергени сенсибілізують Т-лімфоцити.

Всі алергічні реакції за механізмом розвитку поділяються на 4 типи алергічних реакцій:

1.Реакції, зв'язані з IgE (анафілактичні).

2.Гуморальні цитотоксичні імунні реакції, зумовлені IgG та комплементом.

3. Реакції, пов'язані з утворенням імунних комплексів.

4. Патологічні імунні реакції, пов'язані з Т-лімфоцитами (реакції повільного типу).

Алергічні реакці першого типу

Механізм розвитку цих реакцій зумовлений взаємодією антигену зі специфічними IgE, зв'язаним відповідними F_c – рецепторами на поверхні тканинних базофілів. При контакті алергена з такими імуноглобулінами базофіли руйнуються з виділенням медіаторів першого порядку: гістаміну, серотиніну, гепарину, субстанції анафілаксії та інше; медіаторами другого порядку в цих реакціях виступають простагландини.

Клінічними проявами реакцій першого типу є алергічні кон'юнктивіти, риніти, дерматити, бронхіальна астма. Найважчим проявом реакцій цього типу є анафілаксія.

Анафілаксія – гостра алергічна реакція, що розвивається у сенсибілізованому організмі в умовах повторної дії алергену. Речовини, які викликають анафілаксію, називають анафілактогенами. До них відносяться чужі білки, бактеріальні токсини, полісахариди мікробної клітини, різні медикаментозні препарати, тобто повноцінні антигени і гаптени. Як правило, анафілаксія виникає при парентеральному введенні алергенів.

В людини анафілаксія проявляється колапсом, набряком слизової оболонки дихальних шляхів, бронхоспазмом, кропивницею. При різкому прояві цих явищ клінічна картина носить назву анафілактичного шоку, який становить небезпеку для життя хворого.

В людини анафілактичний шок розвивається частіше всього при порушенні правил ін'єкцій сироваткових препаратів або при введенні пеніциліну та інших лікарських засобів. Реакція супроводжується корчі гладкої мускулатури, порушення діяльності серцево-судинної системи. Температура

тіла падає на 1-2 ^{o}С, людина важко дихає, частий пульс, падає артеріальний тиск, болі в суглобах і т.д. Інколи анафілактичний шок закінчується смертю.

Для його попередження необхідно провести десенсибілізацію, тобто зняти підвищену чутливість. З цією метою до введення всієї кількості речовини вводять невелику його дозу, яка не викликає шоку, але зв'язує антитіла до введеного анафілактогену. Наприклад, якщо необхідно ввести людині чужу кінську сироватку (імунну протиправцеву, протидифтерійну, то спочатку в передпліччя внутрішкірно вводять 0,5-1 см^3, розведеної 1:100. Якщо реакція негативна (невелике почервоніння і припухлість менше 1 см), через 20 - 30 хв. вводять підшкірно 0,1 - 0,5 см^3 нерозведеної сироватки. При негативній реакції через 30 - 60 хв вводять всю дозу. Це спосіб введення сироватки за Безредко. Сироваткові препарати завжди вводять дроблячи.

Механізм анафілаксії. Перше введення анафілактогену (наприклад сироватки коня в організм морської свинки) викликає специфічну сенсибілізацію. Виникають антитіла (Ig E), які нагромаджуються в максимальному титрі через 10 - 12 діб. Циркулюючи в крові, ці антитіла частково адсорбуються на клітинах тіла.

Перша доза чужого білка, яка викликає сенсибілізацію, називається сенсибілізуючою. Це невелика доза 0,01 - 0,0001 см^3 кінської сироватки для морської свинки. Сенсибілізація проходить при парентеральному введенні антигену. Але вона може наступити і при проходженні антигенів через слизову оболонку кишківника або легень. Стан алергії може зберігатися довго, декілька місяців і навіть років.

Повторне введення того ж анафілактогену викликає реакцію – анафілактичний шок, від якого тварина гине. Умовами розвитку анафілактичного шоку є: повторна доза, яка перевищує сенсибілізуючу в 10-100 раз; ця доза повинна бути введена безпосередньо в кров.

В патогенезі анафілаксії основну роль відіграють антитіла, які утворилися у відповідь на введення чужого білка або інших анафілактогенів. Ці антитіла частково адсорбуються на клітинах, які називають клітини-цілі (базофіли і ін.). При повторному введенні дози алергену він вступає в реакцію з антитілами на поверхні цих клітин, руйнується цілісність клітинних мембран. При цьому з клітин викидаються речовини типу гістаміну, які обумовлюють розвиток анафілактичного шоку. Сполучення антигену з антитілами, які циркулюють в крові, приводить до утворення преципітатів, які також викликають активацію медіаторів.

Клінічна картина анафілактичного шоку різна в різних тварин. В морської свинки реакція після внутрішньовенного введення другої дози анафілактогену наступає зразу ж: тварина стає неспокійна, чеше лапками ніс, пчихає, задихається, пізніше з’являються корчі, мимовільне виділення сечі і калу, тваринка гине. При розтині відмічають корчі бронхів, роздуті легені, гіперемію і крововиливи в травному каналі.

В собак шок супроводжується корчами судин і застоєм крові в печінці. Смерть тваринки наступає при вираженому падінні кров’яного тиску.

Кролики при анафілаксії гинуть від зупинки дихання і падіння кров'яного тиску. Ці явища викликані корчами артерій малого кола кровообігу.

Гіпосенсибілізація (десенсибілізація). Алергічні реакції можна попередити або зменшити інтенсивність проявів при поступовому введенні наростаючих доз алергенів, починаючи з мінімальних концентрацій, які не викликають побічних реакцій. Цей метод має назву специфічної гіпосенсибілізації (десенсибілізації). Виготовлені спеціальні лікувальні алергени для цієї мети, які можна вводити перорально, інгаляційно, але найефективнішим є парентеральне введення.

Для попередження алергічних реакцій на сироватки спосіб введення наростаючими дозами є обов'язковим (метод Безредко).

На сьогоднішній день лікування алергічних захворювань, в основі яких лежать реакції першого типу, за допомогою лікувальних алергенів вважається найбільш ефективним при умові встановлення алергену, що спричинив захворювання.

Алергічні реакції другого типу

Цей тип алергічних реакцій зв'язаний з антитілами, що переважно належать до Ig E. Ці антитіла можуть фіксуватися на клітинах крові, на яких адсорбовані алергени. Активуючи комплемент, вони викликають руйнування клітин. Алергенами, які беруть участь у розвитку цих реакцій, можуть бути медикаментозні препарати. Клінічними проявами реакцій другого типу є гемолітична анемія, тромбоцитопенія, лейкопенія.

Алергічні реакції третього типу

Цей тип алергічних реакцій зв'язаний з утворенням стійких комплексів антиген-антитіло. Найчастіше в утворенні імунних комплексів беруть участь Ig G та Ig M. Імунні комплекси фіксуються на ендотелії судин, нирок, шкіри та інших органів. При цьому наступає пошкодження стінки судин, що зумовлює ураження тканин, органів. Найбільшу біологічну активність мають комплекси з помірною перевагою антигенів.

Імунні комплекси можуть утворюватися з участю мікробних антигенів, наприклад, стрептококових, що зумовлює особливості патогенезу захворювань, викликаних цими збудниками. З утворенням імунних комплексів перебігають алергічні реакції на деякі ліки.

Сироваткове захворювання розвивається на 7-14 день після введення людині з лікувальною метою імунних гетерогенних сироваток (чужої кінської сироватки). Вона може зразу виникнути після введення препарату і перебігає важко за типом анафілактичного шоку. Це переважно проходить при повторному введенні сироватки, коли в організмі вже є антитіла до неї. Але сироваткове захворювання може розвинутися і при одноразовому введенні великої дози сироватки. В цьому випадку вона з'являється через 8 - 12 діб після введення, оскільки за цей період в організмі синтезуються антитіла до сироватки. З'являється висип на шкірі (кропивниця), біль в суглобах, припухлість лімфатичних вузлів, підвищується температура, ураженням нирок. З часом всі ці симптоми зникають.

Механізм її розвитку такий: білки лікувальної сироватки, що вводяться в організм, є для нього чужими, і на них утворюються антитіла. До 7 - 10-го дня кількість цих антитіл стає достатньою, щоб утворилися імунні комплекси з білками лікувальної сироватки, які ще присутні в організмі. Для попередження сироваткової хвороби необхідно мати препарати лікувальних сироваток, максимально звільнених від баластних білків. Для попередження сироваткового захворювання сироватку необхідно вводити за Безредко. Застосування імуноглобулінів дозволяє уникнути сироваткового захворювання.

Атопічні реакції (атопії) (від лат. *atopos* незвичайність, дивакуватість) виникають у відповідь на попадання в організм алергенів в осіб з підвищеною до них чутливістю. Розташування до підвищеної чутливості передається по спадковості. Механізм цих реакцій складається також з взаємодії між алергеном і антитілами, які утворилися при першій зустрічі організму з даним алергеном. При цьому з'являються всі такі ж ознаки як і при анафілаксії.

Залежно від органу і тканини, на клітинах яких проходить фіксація (прикріплення) антитіл, виникає різний стан: пошкодження дихальних шляхів, алергічна нежить і бронхіальна астма; ураження слизової оболонки очей – коньюнктивіт; шкіри – кропивниця і т.п.

Крім цього, атопії проявляються у вигляді невинозливості визначених речовин: харчових, лікарських, рослинних. На відміну від анафілаксії атопічні схеми не піддаються десенсибілізації і спостерігаються тільки в людини.

Бронхіальна асма. Важкий спазмовий кашель. Він розвивається в результаті спазму м'язів і набухання слизової оболонки бронхіол. Причиною астми є дія різних алергенів: пилок рослин, шерсті тварин, лікарських препаратів.

Поллініоз (сінна лихоманка) розвивається весною і влітку, в період цвітіння рослин. При вдиханні пилку рослин або контакті з спорами грибів виникають коньюнктивіти, насморк, біль голови, інколи напади задухи. Розвиток захворювання зв'язаний з минулою сенсибілізацією організму. В крові можна виявити антитіла до пилка рослин. При цьому зміна чутливості може відноситися до одного виду рослин або зразу ж до багатьох (георгіни, клен та інше).

Кропивниця – це висип у вигляді червоних плямок, свербить. Виникає після вживання харчових продуктів (гриби, яйця, полуниці тощо) або при контакті з хімічними речовинами (фенолфталеїн).

Алергічні рекції четвертого типу

Реакції зв'язані з сенсибілізованими лімфоцитами. Цей тип реакцій проявляється не раніше ніж через 24 години після контакту з алергеном. Тому їх називають гіперчутливістю (надчутливістю) повільного типу. Цей вид алергії часто розвивається при сенсибілізації бактерійними алергенами – ліпополісахаридом, білками клітинної стінки і цитоплазматичної мембрани, кордфактором туберкульозної палички, грибковими алергенами, алергенами найпростіших, вірусів та ін.

Механізм розвитку цього типу алергії полягає в активації сенсибілізованих лімфоцитів, виділенні лімфокінів, що викликають запальний

процес, периваскулярній інфільтрації лімфоцитами, а далі – дистрофічними і некротичними змінами в тканинах.

Місцеві прояви алергії

Місцева анафілаксія - феномен Артюса-Сахарова. Реакція проявляється місцево при внутрішньошкірному або підшкірному введенні. Цей феномен полягає у розвитку некротичного запалення на місці введення алергена в сенсибілізованому організмі. В основі феномену Артюса лежить ушкодження стінки судин імунними комплексами, в утворенні яких бере участь алерген і антитіла класу IgG. На відміну від реакцій негайного типу в розвитку цього феномену бере участь комплемент. В дослідах на кроликах було доведено, що 3 – 4 разове введення кінської сироватки під шкіру проходять безслідно, а на 5 - 7 день ін'єкції на шкірі з'являється запальна реакція і некроз. Це явище використовують на практиці для виявлення стану сенсибілізації в людей різними речовинами. Внутрішньошкірно вводять невелику кількість речовини (лікарські засоби, білки, сироватки). Почервоніння і припухлість (більше 1 см) свідчить про підвищену чутливість.

За типом феномену Артюса перебігають такі захворювання як сироваткова хвороба, алергічні екзогенні альвеоліти, що розвиваються при вдиханні алергену, алергічні реакції на введені ліки та ін.

Феномен Сапарелі-Шварцмана. Цей феномен проявляється геморагічним запаленням на місці введення ендотоксину (ліпополісахариду) грамнегативних бактерій у попередньо сенсибілізований організм. У людини, сенсибілізованої ліпополісахаридом, може розвинутися генералізована форма феномену при введенні невеликих доз алергену, наприклад, з недостатньо очищеними розчинами для парентеральних переливань. При цьому спостерігається порушення системи згортання крові з розвитком геморагічного діатезу та утворення внутрішньосудинних тромбів, найбільше в капілярах ниркових клубочків.

Набряк Квінке алергічний. Ангіоневротичний набряк алергічний може бути зумовлений медикаментами, отрутою комах і проявляється ділатацією судин глибокого шару дерми, переважно венул, викликаного медіаторами алергії негайного типу з набряком тканин, у розвитку якого беруть участь комплемент, імунні комплекси, Ig E. Цей набряк розвивається через кілька хвилин після контакту з алергеном і супроводжується іншими проявами алергії – кропивницею, свербінням, еозинофілією.

Небезпеку становить набряк гортані, що виникає при укусі деяких комах.

Реакції повільного типу проявляються почервонінням та інфільтрацією шкіри через 24-48 годин після введення алергенів.

При нашкірному (аплікаційному) способі постановки проби алерген наносять на непошкоджену або злегка скарифіковану шкіру.

При деяких модифікаціях алерген наносять у вигляді компресу (закриті шкірні проби). Нашкірні проби використовуть для діагностики алергодерматитів.

Інфекційна алергія – це стан підвищеної чутливості до повторного контакту з мікроорганізмами або продуктами їх життєдіяльності. Відіграє

велику роль в патогенезі і зберігається після виздоровлення. Інфекційна алергія спостерігається при туберкульозі, бруцельозі, сифілісі і інших.

Контактні дерматити – алергічні захворювання шкіри. Вони розвиваються при довгому контакті з різними хімічними речовинами: мило, клей, барвники, гума. Вони є гаптенами, але при сполученні з білками організму, стають антигенами (алергенами). Прояви захворювання: від почервоніння до некрозу. До них відносять екзему (піхурці, які локалізовані в епідермісі, в дермі спостерігаються нагромадження лімфоцитів). Багато алергічних реакцій можна попередити при попередженні повторного контакту з алергеном.

Лікарська алергія виникає після довготривалого або повторного прийому солей йоду, брому, хініну, ацетилсаліцилової кислоти та інших препаратів. Механізм лікарської алергії залежить від способу проникнення лікарського препарату в організм. Лікарська алергія миттєвого типу розвивається при парентеральному або пероральному введенні лікарських засобів. Попадаючи в організм, вони можуть вступати в реакцію з білками організму і стають повноцінними антигенами, до яких виробляються антитіла. Реакція між антитілами і препаратами, які поступають в організм, приводить до алергічних проявів типу кропивниці і розладів функції кишківника. Лікарська алергія сповільненого типу виникає при проникненні лікарських алергенів через шкіру, контактним шляхом. Прості хімічні речовини, проникаючи через шкіру і сполучаючись з її білками, стають антигенами. Для цього виду алергії характерна шкірний висип – дерматит. Часто мають професійний характер.

М Е Т О Д И А Л Е Р Г О Д І А Г Н О С Т И К И

Алергодіагностика – це комплекс досліджень, спрямованих на підтвердження стану алергії і виявлення причин її розвитку.

До методів алергодіагностики відносять алергологічний анамнез, алергологічні проби – шкірні, провокаційні, елімінаційні і алергодіагностику in vitro. Алергологічні шкірні проби – передбачають внутрішньошкірне, нашкірне, підшкірне введення і на слизові оболонки. При нашкірному (аплікаційному) способі постановки проби алерген наносять на непошкоджену або злегка скарифіковану шкіру. При деяких модифікаціях алерген наносять у вигляді компресу (закриті шкірні проби). Нашкірні проби використовуть для діагностики алергодерматитів.

Підвищену чутливість організму можна виявити при введенні спеціальних діагностичних препаратів – алергенів. Це можуть бути антигени мікробів, отримані різними методами; фільтрати багатоденних культур мікробів, їх лізати, вбиті нагріванням або хімічними речовинами мікроби, полісахариди та інші фракції антигену. Для постановки внутрішньошкірних проб необхідна доза алергену вводиться в об’ємі від 0,05 до 0,1 $см^3$. Обов’язково вводиться контрольна рідина (розчинник для алергену). Реакція негайного типу проявляється через 10 - 15 хв. після введення з утворенням запального елементу типу кропивниці і зникає через три-чотири години. Алергічна реакція, що перебігає з утворенням імунних комплексів,

проявляється через три-чотири години і зникає через 24 години. Такі реакції характерні для багатьох бактеріальних та грибкових алергенів.

Якщо людина чутлива до даного алергену, на місці виникають місцеві реакції: почервоніння, набряк, хворобливість шкіри, коньюнктивіт при нанесенні алергену на коньюнктиву. У хворих туберкульозом при введенні алергену – туберкуліну спостерігаються і запальні реакції: слабкість, депресія, загострення процесу в легенях. Реакції підвищеної чутливості використовують в діагностиці багатьох інфекційних захворювань. Цей алергічний метод діагностики застосовується при туберкульозі (проба Манту – внутрішньошкірне введення туберкуліну), туляремії (ведення тулярину), бруцельозі (проба Бюрне), токсоплазмозі, орнітозі, грибкових і протозойних захворюваннях. Алергени називають за назвою захворювання: туберкулін, бруцелін, тулярин, токсоплазмін. Очну пробу застосовують для виявлення безсимптомного сапу в коней.

Питання для самоконтролю

1. У хворої на дифтерією дитини через 10 днів після введення антитоксичної протидифтерійної сироватки, з'явився висип на шкірі, що супроводжувався сильною сверблячкою, підвищилася температура тіла до 38 °С, з'явилися болі в суглобах. Яку причину цих явищ Ви припускаєте?
A. Атопія
B. Анафілактична реакція
C. Сироваткова хвороба
D. Гіперчутливість уповільненого типу
E. Контактна алергія

2. У розвитку певних типів алергічних реакцій в осіб, які тривалий час контактують з надлишком антигена (працівники сфери виробництва антибіотиків, птахівництва, фермери), у патогенетичному механізмі відіграють основну роль:
A. Цитолітичні реакції
B. Туберкулінові реакції
C. Атопічні реакції
D. Імунокомплексні реакції
E. Трансплантаційні реакції

3. У механізмі гіперчутливості сповільненого типу головну роль відіграють:
A. Т-лімфоцити і лімфокіни
B. Реакції антиген-антитіло
C. В-лімфоцити
D Макрофаги і В-лімфоцити
E. Гістамін і серотонін

4. Виберіть клітини, які відіграють основну роль у розвитку анафілаксії:
A. Тимоцити
B. Макрофаги
C. Тучні клітини
D Плазмоцити
E. Еозинофіли

5. Який тип гіперчутливості найкраще характеризує гемолітичну хворобу новонародженого, спричинену резус конфліктом?
A. Атопія або анафілаксія
B. Цитотоксичні реакції
C. Імунокомплексний
D. Сповільнений тип

6. До якого типу алергенів належить пилок?
A. Контактних
B. Харчових
C. Ін'єкційних
D. Інгаляційних

7. Прикладом III типу імунокомплексної хвороби є
A. Сироваткова хвороба
B. Контактний дерматит
C. Трансплантаційна реакція
D. Атопії

8. Принципова різниця між гіперчутливістю II типу (цитотоксичною) та III типу (імунокомплексною) полягає в:
A. Класі імуноглобулінів
B. Місці, в якому комплекс антиген-антитіло формується
C. Участі комплементу
D. Участі Т-лімфоцитів

9. Після укусу бджоли дитина раптово почала задихатись і через декілька хвилин втратила свідомість. Ця реакція була зумовлена:
A. IgE антитілами
B. IgG антитілами
C. Сенсибілізованими Т-лімфоцитами
D. Комплементом
E. IgM антитілами

СПЕЦІАЛЬНА МІКРОБІОЛОГІЯ

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ПАТОГЕННИХ КОКІВ

За класифікацією Берджі 1974 р., коки належать до трьох родин:

1. *Micrococcaceae* – рід мікрококи, стафілококи, стоматококи, тетракоки, сарцини
2. *Neisseriaceae* – нейсерії: менінгококи, гонококи, вейлонели; крім них в родину входять грамвід'ємні палички – кінгелла, моракселла, ацінетобактер і інші грамвід'ємні коки
3. *Streptococcaceae* – стрептококи, пептострептококи та інші.

У даній групі мікроорганізмів зустрічаються як сапрофіти, що розповсюджені у зовнішньому середовищі, в організмі людини і тварин, так і патогенні види, які викликають різноманітні гнійні захворювання. Вважають, що патогенні властивості набуті в процесі еволюції, в результаті якої вони пристосувались до паразитичного способу існування в організмі людини і тварин. До патогенних коків відносять стафілококи, стрептококи, стрептококи пневмонії, менінгококи, гонококи. У клінічній мікробіології їх об'єднують в групу гнійних коків. Всі патогенні коки нерухомі, спор не утворюють. Стрептококи пневмонії та *S. pyogenes* утворюють капсулу.

КЛАСИФІКАЦІЯ СТАФІЛОКОКІВ

Рід *Staphylococcus* налічує 22 види, але лише частина з них екологічно пов'язана з організмом людини.

Рід *Staphylococcus* поділяються на дві групи – коагулазододатні й коагулазовід'ємні стафілококи.

МІКРОБІОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА СТАФІЛОКОКІВ
МОРФОЛОГІЯ

Стафілококи мають форму круглих кульок, які розташовуються купками і нагадують грони винограду. В патматеріалі утворюють поодинокі коки, диплококи, короткі ланцюжки, можуть утворювати капсулу. Добре фарбуються аніліновими барвниками, грамдодатні.

КУЛЬТУРАЛЬНІ ВЛАСТИВОСТІ

Факультативні анаероби, але краще ростуть в аеробних умовах. Лише один вид – *Staphylococcus saccharolyticus* – облігатні анаероби.

На МПБ дають рівномірне помутніння з осадом на дні пробірки. На МПА утворюють гладкі, круглі, випуклі, блискучі з рівним краєм колонії.

Під дією пеніциліну й інших речовин стафілококи можуть утворювати L-, R- і G–форми колоній. Елективними середовищами для стафілококів є жовтково-сольовий і молочно-сольовий агар (ростуть в присутності 15%-ного NaCl): колонії можуть бути золотистого, жовтого, цитриново-жовтого,

кремового і білого кольору. При бактеріоскопічному дослідженні колонії мають грубозернисту структуру і твердий центр, непрозорі. На КА патогенні стафілококи спричиняють гемоліз.

ФЕРМЕНТАТИВНІ ВЛАСТИВОСТІ СТАФІЛОКОКІВ

Стафілококи ферментують вуглеводи з утворенням кислоти: гліцерин, лактозу, глюкозу, ксилозу, маніт, мальтозу, сахарозу; утворюють сірководень; відновлюють нітрати в нітрити. Уреазододатні. Зброджують в анаеробних умовах глюкозу з утворенням кислоти без газу. Протеолітичні властивості: розріджують желатин, який на четверту – п'яту добу набуває вигляду лійки, наповненої рідиною; розчиняють казеїн. Рід стафілококів каталазододатні, містять цитохроми, звичайно оксидазовід'ємні, чутливі до дії лізостафіна.

ПАТОГЕНЕТИЧНА ДІЯ ТОКСИНІВ, ФЕРМЕНТІВ СТАФІЛОКОКІВ, ФАКТОРІВ АДГЕЗІЇ

Екзотоксин	викликає синдром токсичного шоку (СТШ): підвищення температури, зниження артеріального тиску, висипання на шкірі, лімфоцитопенію, інколи діарею, ураження нирок, мають сильні алергізуючі властивості
Гемолізин α	лізують еритроцити людини і тварин (кроля, коня, барана), має кардіотоксичну дію, викликає спазм коронарних судин і зупинку серця в систолі, уражує нейрони, лізує мембрани і лізосоми клітин, що приводить до звільнення лізосомальних ферментів
Лейкоцидини	руйнують фагоцитарні клітини (поліморфноядерні лейкоцити і макрофаги), спричиняють загибель кровотворних клітин кісткового мозку і макрофаги), спричиняють загибель кровотворних клітин кісткового мозку і нервових клітин

Дермонекротоксини	некроз шкіри (дермонекротична проба)
Ексфоліативні токсини А і В	спричиняють некроз епітелію шкіри, стафілококове імпетиго у дітей і пухирчатку у новонароджених, скарлатиноподібний висип
Ентеротоксини (A, B, C1, C2, C3, D, E, F	ентеротоксини А і D часто викликають харчові отруєння типу інтоксикації, мають мітогенну дію у відношенні лімфоцитів
Антикоагулянт	не дає згортатися крові і утворюється у запальних ексудатах
Гемаглютиніни	зумовлюють склеювання еритроцитів кролів
Білок А	мають мітогенну дію у відношенні лімфоцитів

Капсула, білок А, пептидоглікан, тейхоєві кислоти, токсини	пригнічують фагоцитоз, що знижує імунну відповідь організму

ФЕРМЕНТИ АГРЕСІЇ СТАФІЛОКОКІВ

1. Плазмокоагулаза
2. Гіалуронідаза
3. Плазмін (фібринолізин)
4. Фосфатаза
5. Дезоксирибонуклеаза – ДНК-азу (деполімеризує ДНК)
6. Мурамідаза
7. Лецитовітелаза (лецитиназа)
8. Ліпаза
9. Лізоцим
10. Протеїназа
11. Пеніциліназа
12. Телуритредуктаза
13. Желатиназа

АНТИГЕНИ СТАФІЛОКОКІВ

50 полісахаридних типоспецифічних антигенів А, В, С…

Один загальний білковий антиген, протеїновий антиген А

Бактеріоцини (стафілоцини)

Виділено 30 сероварів

Ідентифіковано 4 біовари *S. Epidermidis*

40 фаговарів, які мають епідеміологічне значення.

Видоспецифічними антигенами є тейхоєві кислоти:

для *S. aureus* – рибіттейхоєві

для *S. epidermidis* – гліцеринтейхоєві

у *S. saprophyticus* виявляють обидва типи кислот.

ПАТОГЕНЕЗ СТАФІЛОКОКОВИХ ІНФЕКЦІЙ

У здорових людей разом з непатогенними дуже часто зустрічаються патогенні стафілококи. Локалізація їх – слизова зіву і носа. Лише частина людей вільна від патогенних стафілококів, більшість є бактеріоносіями, носоглотка яких постійно містить патогенні стафілококи, стійкі до антибіотиків. Вони є причиною масових захворювань у лікарнях. Формуванню бактеріоносійства сприяє низький вміст SIgA слизової носа й інші функціональні недоліки імунної системи.

ДЖЕРЕЛО СТАФІЛОКОКОВОЇ ІНФЕКЦІЇ

хворі з відкритими гнійно-запальними процесами

МЕХАНІЗМ ПЕРЕДАЧІ ІНФЕКЦІЇ

контактний, аерогенний

ШЛЯХ ПЕРЕДАЧІ ІНФЕКЦІЇ

через предмети, при контакті з хворим, повітряно-крапельний, повітряно-пороховий, не виключено – харчовий.

СТАФІЛОКОКОВІ ПАТОЛОГІЇ ЛЮДИНИ

Ураження	**Захворювання**
гнійничкові ураження шкіри і підшкірної клітковини, лімфатичних вузлів	фурункули, карбункули, нагноєння ран, мастити у жінок, абсцеси, лімфаденіти, флегмони, піодермії
органи дихання	бронхіти, пневмонії, плеврити
уражати вухо, носоглотку і пазухи носа	отити, ангіни, гайморити, тонзиліти, фронтити
органи зору	кон’юнктивіти, виразку рогівки ока
центральну нервову систему	менінгіт, абсцеси мозку
серцево-судинну систему	ендокардит, міокардит
травний канал	ентероколіт, харчові отруєння
жовчевивідні шляхи	холецистит
опорно-руховий апарат	остеомієліт, артрит
у людей з імунодефіцитним станом	сепсис або септикопіємія
генералізація будь-якої форми місцевого процесу	уретрити, гідроаденіти, апендицити, піоміозити
гнійні процеси в шкірі	цукровий діабет, фенілкетонурія, авітамінози, аліментарна дистрофія, гіпергідроз, дрібні травми шкіри професійного характеру, подразнення хімічними речовинами
у молодих жінок	гостре запалення сечових шляхів
вторинні інфекції при віспі, грипі	стафілококовий сепсис і стафілококова пневмонія у дітей та розвиток везикуло-пустульозної стафілодермії, імпетиго, епідемічної пухирчатки, інфільтратів, абсцесів, кон’юнктивіту, назофарингіту, отиту

молочні і м’ясні продукти	харчові інтоксикації

МЕТОДИ МІКРОБІОЛОГІЧНОЇ ДІАГНОСТИКИ

Матеріал на дослідження	**Основні методи дослідження**	**Середовища**
гній	мікроскопічний мікробіологічний серологічний біологічний	МСА, ЖСА і КА
виділення слизової оболонки носа і слиз з зіву		МСА, ЖСА і КА
харкотиння		МСА, ЖСА і КА
сеча		МСА, ЖСА і КА
доуденальний вміст		МСА, ЖСА і КА
кров		0,25% цукровий бульйон або двохфазне середовище
блювотні маси		ЖСА
промивні води шлунку		МСА, ЖСА і КА
випорожнення		МСА, ЖСА і КА
змиви		МСА, ЖСА і КА
харчові продукти		ЖСА

СЕРОДІАГНОСТИКА

Коли виявити збудника бактеріологічним методом не вдається, особливо при діагностиці хронічних стафілококових інфекцій (остеомієліт, септикопіємія та ін.) на фоні масивної антибіотикотерапії, *досліджують сироватку крові хворих на наявність антитоксинів.* В основі реакції лежить метод нейтралізації гемолітичних властивостей стафілококового токсину антитоксином сироватки хворого. Для цього до стафілококового токсину, що взятий у дозі *Lh* (*Limes haemolyticus*), додають сироватку хворого розведену 1:5, 1:10, 1:20, 1:40 і т.д., добре перемішують і до суміші додають 0,05 мл еритроцитів кроля. Результати реакції враховують після інкубування пробірок у термостаті при температурі 37^0С упродовж 1 год та після 1 год інкубації при кімнатній температурі. Кількість сироватки, яка дає затримку гемолізу, приймають за титр. У здорових людей і тих, які перенесли стафілококову інфекцію шкірних покривів, титр стафілококового антитоксину невисокий, у хворих з хронічними стафілококовими інфекціями – значно вищий.

СЕРОЛОГІЧНІ РЕАКЦІЇ

Застосовують *серологічні реакції* для діагностики гнійно-септичних захворювань: РПГА та ІФА (імуноферментний аналіз) для визначення антитіл до тейхоєвої кислоти або до видоспецифічних антигенів.

БІОЛОГІЧНА ПРОБА

Проводиться проба на визначення летальних властивостей культури і дермонекротична проба на кролі: збоку або на спині вискубують шерсть і вводять внутрішньошкірно 0,2 мл двомільярдної завісини стафілококової культури в ізотонічному розчині хлориду натрію. При наявності у виділеній культурі некротичних властивостей на місці введення утворюється інфільтрат і некроз. Ракцію враховують через 18-24 год.

КЛАСИФІКАЦІЯ СТРЕПТОКОКІВ

До роду *Streptococcus* належить 21 вид стрептококів серед яких є патогенними:

Streptococcus pyogenes (гемолітичний)

Streptococcus pneumoniae (стрептокок пневмонії)

СТРЕПТОКОКИ

МОРФОЛОГІЯ

Стрептококи мають сферичну форму, розташовуються ланцюжками або у вигляді тетракоків. В мазках із мікробних культур, виготовлених з щільних середовищ, утворюють короткі ланцюжки; з бульйонних культур – довгі ланцюжки. Деякі стрептококи, виділені з патматеріалу, утворюють ніжну капсулу. На ультратонких зрізах видно мікрокапсулу, під нею розташована клітинна стінка і тришарова мембрана. Добре фарбуються аніліновими барвниками, грамдодатні.

КУЛЬТУРАЛЬНІ ВЛАСТИВОСТІ СТРЕПТОКОКІВ

Факультативні анаероби. Культивуються на середовищах з глюкозою, кров'ю, сироваткою при pH 7,2-7,6 і температурі 37 ^{0}C. На цукровому бульйоні ростуть на дні або на стінках пробірки у вигляді пластівців, залишаючи бульйон прозорим. На щільних середовищах колонії дрібні або середньої величини (0,5-2,5 мм), напівпрозорі, мутні, плоскі, блискучі, гладкі, рідше шорсткуваті, сірого кольору.

Класифікують стрептококи за ростом *на кров'яному агарі*:

1. β-гемолітичні – утворюють зону повного гемолізу (нагадують крапельки роси сіро-білого кольору з характерним злегка піднятим центром);

2. α-зеленіючі – утворюють зону зеленого гемолізу в результаті переходу оксигемоглобіну в метгемоглобін *(S.viridans)* – колонії сіро-зеленого кольору з гладкою або нерівною поверхнею;

3. γ-стрептококи – не змінюють середовища.

ФЕРМЕНТАТИВНІ ВЛАСТИВОСТІ СТРЕПТОКОКІВ

Розщеплюють лактозу, глюкозу, маніт (не завжди), мальтозу і сахарозу з утворенням кислоти без газу (крім *S. kefir,* який утворює кислоту і газ). Цитохромвід'ємні, каталазовід'ємні.

Протеолітичні властивості в них виражені слабо: пептонизують молоко, желатин не розріджують.

Деякі стрептококи групи А і С синтезують екстрацелюлярні антигени (токсини); О-стрептолізин є протеїном; S-стрептолізин складається з ліпідно-протеїнового комплексу, обидва вони спричиняють гемоліз.

ПАТОГЕНЕТИЧНА ДІЯ ТОКСИНІВ, ФЕРМЕНТІВ СТРЕПТОКОКІВ, ФАКТОРІВ АДГЕЗІЇ

стрептолізин О і S	руйнують еритроцити: О – має кардіостатичну і цитотоксичну дію, S – має гемолітичну і цитотоксичну дію
лейкоцидин	руйнує поліморфноядерні лейкоцити
еритрогенний (скарлатинний) токсин	зумовлює клінічну картину скарлатини – інтоксикацію, судинні реакції, висип
цитотоксини (нефротоксини)	викликають гломерулонефрит
некротоксини	спричиняють некроз шкіри і зумовлюють розвиток гострого гломерулонефриту
летальний токсин	має некротичну дію на інші, окрім шкіри, тканини і летальні властивості

ФЕРМЕНТИ ПАТОГЕННОСТІ

1. Гіалуронідаза
2. Фібринолізин
3. Стрептокіназа
4. Дифосфопіридиннуклеотидаза
5. Фактор помутніння (гідроліз ліпопротеїдів сироватки крові)
6. Протеїназа
7. Дезоксирибонуклеаза
8. Нейрамінідаза
9. Стрептоліаза
10. Амілаза
11. Ліпаза
12. Виявлено капсулу
13. М-протеїн
14. Антихемотоксичний фактор
15. ДНК-азу (A, B, C, D) – гідроліз ДНК

АНТИГЕННА СТРУКТУРА СТРЕПТОКОКІВ

1. Видовий нуклеопротеїдної будови антиген Р
2. Полісахаридний груповий С-антиген, за яким стрептококи поділяються на 20 серологічних груп
3. Протеїнові типові антигени М
4. Т-білок складається з О-, К- і L-антигенів.

КЛАСИФІКАЦІЯ СТРЕПТОКОКІВ ЗА ЛЕНСФІЛЬД

Класифікація стрептококів заснована Ленсфільд (1933) і Гріффітсом (1935) за антигенною структурою.

Найбільше значення мають групи А, В, С, D.

До групи А входить 100 М-сероварів гемолітичного стрептокока. Серологічна група В включає як сапрофіти, так і патогенні типи. Група D складає непатогенні штами, до неї входили ентерококи – нормальні представники кишківника людини і тварин, вони більш стійкі, температурний діапазон їх росту 10-45 ^{0}С, коли в інших він становить 20-40 ^{0}С.

З 53 типів стрептококів, що виявлені у людини, 49 входять до групи А, 3 типи до групи С і 1 до групи D. Стрептококи групи D з 1984 р. виділені в окремий рід. Основою для виділення було відкриття унікального для всіх стрептококів групового антигену – гліцеринтейхоєвої кислоти, яка містить D-аланін і глюкозу. У людини ураження часто викликають *E. faecalis, E. faecium і E. durans.*

ПАТОГЕНЕЗ СТРЕПТОКОКОВИХ ІНФЕКЦІЙ

ДЖЕРЕЛО СТРЕПТОКОКОВОЇ ІНФЕКЦІЇ

носій і хвора людина, рідше тварини або інфіковані продукти

МЕХАНІЗМ ПЕРЕДАЧІ ІНФЕКЦІЇ

контактний, аерогенний, інколи фекально-оральний

ШЛЯХ ПЕРЕДАЧІ ІНФЕКЦІЇ

повітряно-краплинним і повітряно-пороховим шляхом, інколи харчовим, контактно-побутовим.

Стрептококи зустрічаються рідше, ніж стафілококи. Вони є коменсалами на слизовій оболонці зіву, порожнини рота, зустрічаються у виділеннях піхви, верхніх дихальних шляхів, кишківника.

Патогенез стрептококової інфекції визначається дією бактерій та їх екзотоксину. За допомогою адгезинів стрептококи взаємодіють з цитоплазматичною мембраною бар'єрного епітелію і колонізують уражену тканину. Такі захворювання, як ендокардит, поліартрит, гайморит, хронічний тонзиліт, бешиха, пов'язані зі зміненою реактивністю організму, є основою хронічного перебігу інфекції.

СТРЕПТОКОКОВІ ПАТОЛОГІЇ ЛЮДИНИ

Ураження	Захворювання
екзогенне зараження шкірних покривів і слизових оболонок	абсцеси, флегмони, травматичний сепсис, бешиха, стрептодермія, рожа
ендогенне інфікування	бронхопневмонія, отит, менінгіт, септицемія, нефрит, цистит, ревматизм, ендокардит та ін.
верхні дихальні шляхи	катар, вторинна інфекція при грипі, гостра респіраторна інфекція, пневмонія
слизові оболонки ротоглотки	ангіна, карієс зубів, пародонти, скарлатини
слизові оболонки піхви	післяпологових септичних захворювань
травний канал	харчова токсикоінфекція

МЕТОДИ МІКРОБІОЛОГІЧНОЇ ДІАГНОСТИКИ

Матеріал на дослідження	Основні методи дослідження	Середовища
слиз з зіву	мікроскопічний мікробіологічний	5% кров’яний агар
зішкряб з ураженої ділянки шкіри		5% КА
гнійні виділення		5% КА
кров		бульйон з глюкозою, Кітта-Тароцці (1:10), 5% КА, середовище Діф-3 або Діф-5
харкотиння		5% КА
сеча		5% КА

СТРЕПТОКОКИ ПНЕВМОНІЇ

МОРФОЛОГІЯ

Стрептококи пневмонії – це диплококи овальної, злегка витягнутої ланцетоподібної форми, які нагадують полум'я свічки.

У рідких поживних середовищах утворюють короткі ланцюжки, подібні до стрептококів.

Стрептококи пневмонії в організмі утворюють капсулу, яка оточує обидва коки. В капсулі міститься термостійка речовина антифагін, який захищає їх від фагоцитозу і антитіл.

При рості на середовищах капсула втрачається. Під капсулою міститься М-білок. Грамдодатні.

КУЛЬТУРАЛЬНІ ВЛАСТИВОСТІ СТРЕПТОКОКІВ ПНЕВМОНІЇ

Факультативні анаероби. Ростуть на середовищах з додаванням нативного білка (крові або сироватки).

На СА утворюють дрібні, ніжні, прозорі колонії діаметром 1 мм. На КА нагадують росинки, прозорі в прохідному світлі, з вдавленим центром, оточені зоною неповного гемолізу, зеленуватого відтінку (альфа-гемоліз – результат переходу оксигемоглобіну в метгемоглобін).

Ріст на сироватковому бульйоні з 0,2% глюкозою характеризується дифузним помутнінням і осадом на дні у вигляді порошинок. Додавання тваринного білка до рідкого середовища сприяє утворенню капсул у стрептококів (звичайно їх немає).

ФЕРМЕНТАТИВНІ ВЛАСТИВОСТІ СТРЕПТОКОКІВ ПНЕВМОНІЇ

Стрептококи пневмонії біохімічно активні: розщеплюють лактозу, глюкозу, мальтозу, сахарозу й інулін з утворенням кислоти. Не ферментують маніт. Протеолітичні властивості: пептонизують молоко, не розріджують желатин, індол не утворюють, розчиняються в жовчі. Розщеплення інуліну і розчинення в жовчі є важливою діагностичною ознакою, яка відрізняє *S. pneumoniae* від *S.pyogenes*. Дуже чутливі до оптохіну.

Стрептококи пневмонії містять ендотоксин.

ФЕРМЕНТИ ПАТОГЕННОСТІ СТРЕПТОКОКІВ ПНЕВМОНІЇ

1. Гіалуронідаза
2. Фібринолізин
3. Гемотоксин
4. Лейкоцидин
5. М-білок
6. Капсула
7. Пептидаза

АНТИГЕННА СТРУКТУРА СТРЕПТОКОКІВ ПНЕВМОНІЇ

У всіх пневмококів є один загальний видовий антиген, який міститься в цитоплазмі. В капсулі перебувають різні полісахаридні антигени, специфічні для кожного типу, М-білок.

Стрептококи пневмонії за капсульним антигеном налічують 85 сероварів. 56 з них розділені на 19 груп, 27 подаються самостійно.

ПАТОГЕНЕЗ ІНФЕКЦІЙ СПРИЧИННИХ СТРЕПТОКОКОМ ПНЕВМОНІЇ

Стрептококи пневмонії населяють слизову оболонку верхніх дихальних шляхів здорової людини. Звідти вони потрапляють у нижні дихальні шляхи, і при сприятливих для них умовах виникають застійні явища в легенях.

ДЖЕРЕЛО ІНФЕКЦІЇ

бактеріоносій і хвора людина

МЕХАНІЗМ ПЕРЕДАЧІ ІНФЕКЦІЇ

аерогенний

ШЛЯХ ПЕРЕДАЧІ ІНФЕКЦІЇ

повітряно-краплинний і повітряно-пороховий

ПНЕВМОКОКО-СТРЕПТОКОКОВІ ПАТОЛОГІЇ ЛЮДИНИ

Ураження	**Захворювання**
уражуються долі або вся легеня	крупозна пневмонія
слизові оболонки очей	повзуча виразка рогівки ока
слизові оболонки	отити, катари верхніх дихальних шляхів
інші органи	менінгіти, ендокардити, перитоніти, септицемії, ураження суглобів

МЕТОДИ МІКРОБІОЛОГІЧНОЇ ДІАГНОСТИКИ

Матеріал на дослідження	**Основні методи дослідження**	**Методики, середовища**
харкотиння	мікроскопічний мікробіологічний біологічний	фарбування за Грамом і Бурі-Гінсом, зараження мишей
слиз із зіву		кров’яний агар, зараження мишей
виділення з вуха і		кров’яний агар, зараження

виразки		мишей
гній з абсцесу		кров'яний агар, зараження мишей
плевральний пунктат		бульйон з сироваткою і на СА
кров		цукровий або сироватковий бульйон (1:10), 5% КА

СЕРОЛОГІЧНІ ТЕСТИ ТА СЕРОЛОГІЧНІ РЕАКЦІЇ

Серологічні тести засновані на реакції полісахаридних антигенів капсули з відповідними антисироватками. Використовують реакцію Нейфельда і аглютинацію на скельці. Ізоляти, виділені з порожнин, наприклад при менінгіті, необхідно серотипувати, використовуючи комерційні реагенти для реакцій латекс-аглютинації або коаглютинації, за допомогою яких виявляють капсульні антигени.

Зараз використовуються *серологічні методи дослідження* (РЗК, РНГА) для визначення стрептококових антитіл.

Питання для самоконтролю

1. Виберіть оптимальне поживне середовище для виділення стафілококів з клінічного матеріалу для вивчення гемолітичних властивостей:
A. Кров'яний МПА
B. Сироватковий агар
C. Жовточно-сольовий агар
D. Жовчний бульйон
E. МПА

2. Виникла підозра, що серед працівників підприємства по виготовленню сироваткових препаратів обласної станції переливання крові поширене носійство патогенного золотистого стафілокока. На яке середовище необхідно висіяти матеріал з носоглотки працівників для виявлення стафілококового носійства ?
A. Середовище Ендо
B. Жовтково-сольовий агар
C. М'ясо-пептонний бульйон
D. Середовище Ресселя
E. Кров'яний агар

3. Для специфічної профілактики стафілококових інфекцій застосовують:
A. Вбиту вакцину
B. Живу вакцину

C. Специфічний бактеріофаг
D. Анатоксин
E. Лізоцим

4. Щоб запобігти післяпологової стафілококової інфекції, вагітній жінці було призначено специфічну профілактику. Який препарат найбільш доцільно використати з цією метою ?
A. Стафілококовий анатоксин
B. Вбита стафілококова вакцина
C. Жива стафілококова вакцина
D. Стафілококовий бактеріофаг
E. Ампіцилін

5. Через декілька днів після оперативного втручання з приводу гнійного апендициту стан хворого Б. різко погіршав. Лікар запідозрив сепсис і призначив посів крові на стерильність. Яке живильне середовище необхідно вибрати для цього ?
A. Цукровий бульон
B. Середовище Леффлера
C. Кров'яний агар
D. МПА
E. Середовище Ендо

6. Вкажіть лабораторний тест, позитивні результати якого з великою вірогідністю вказують на інфекцію Streptococcus pyogenes:
A. Наявність в мазках грампозитивних коків, розміщених ланцюжками
B. Наявність в мазках грампозитивних коків, розміщених парами
C. Чутливість до бацитрацину
D. β-гемоліз на кров’яному агарі
E. Гідроліз ескуліна в присутності солей жовчних кислот

7. Які з перерахованих ознак дозволяють диференціювати ентеро- і стрептококи ?
A. Здатність рости в присутності 6% NaCI
B. Невибагливість до живильних середовищ
C. Здатність гідролізувати ескулін в присутності 40% солей жовчних кислот
D. Каталазопозитивність
E. Наявність в мазках коків, розміщених ланцюжками

8. Від хворого з підозрою на крупозну пневмонію з харкотиння виділено грампозитивні коки, здатні до утворення капсул. Капсула яких з вірогідних збудників збільшується у розмірах, в присутності спеціальної імунної сироватки ?
A. Streptococcus pneumoniae
B. Staphylococcus aureus

C. Streptococcus pyogenes
D. Streptococcus viridans
E. Streptococcus haemolyticus

МЕНІНГОКОКИ

Менінгокок належить до родини *Neisseriaceae*, роду *Neisseria.* До родини *Neisseriaceae* входить чотири роди: *Neisseria, Moraxella (з підродами – власне Moraxella і Branhamella), Acinetobacter і Kingella.*

Рід *Neisseria* налічує 14 видів. З них два патогенних види: *N. meningitidis і N. gonorrhoeae,* а решту представників цього роду непатогенні бактерії, що зустрічаються в порожнині рота, носоглотки і верхніх дихальних шляхів. Три інші роди родини *Neisseriaceae (Moraxella, Acinetobacter і Kingella)* налічують непатогенні і потенційно патогенні для людини бактерії, які паразитують на слизових оболонках і можуть спричиняти гнійно-запальні захворювання (менінгіти, отити, кон'юнктивіти, ангіни) і з 1970 року виділені в окремі роди.

МОРФОЛОГІЯ МЕНІНГОКОКІВ

Менінгококи – це диплококи, бобоподібної форми, з'єднані ввігнутими сторонами один до одного. У мазках із чистих культур розташовуються тетрадами, а також безладно; у мазках, виготовлених з спинномозкової рідини, частіше розташовуються попарно; в гнійному матеріалі характерно парне розташування всередині лейкоцитів різної величини і різної інтенсивності забарвлення, рідше – поза лейкоцитами. Грамвід'ємні. В організмі людини можуть утворювати ніжну капсулу (крім групи В), яка втрачається при культивуванні на штучних середовищах.

КУЛЬТУРАЛЬНІ ВЛАСТИВОСТІ МЕНІНГОКОКІВ

Облігатні аероби. Ростуть на середовищах, які містять нативний білок (10-20% сироватки, 5% крові, асцитичної рідини, яєчного білка, жовтка і молока), вимагають вологості середовища і підвищеного вмісту вуглекислого газу (5-8%). Оптимальне pH середовища 7,2-7,4. Ростуть при 37^0C, а при 22^0C ріст припиняється. На сироватковому агарі колонії менінгокока дрібні, діаметром 0,5-1 мм, ніжні, злегка випуклі, напівпрозорі, голубі, в'язкі з гладкою поверхнею. Свіжовиділені штами бактерій утворюють гладкі S-форми колоній, а для старих культур характерно утворення R-форм колоній. В сироватковому бульйоні при рості спостерігається помутніння з осадом на дні і плівкою.

ФЕРМЕНТАТИВНІ ВЛАСТИВОСТІ МЕНІНГОКОКІВ

Розщеплюють глюкозу і мальтозу з утворенням оцтової кислоти, оксидазо- і каталазопозитивні.

ФЕРМЕНТИ ПАТОГЕННОСТІ МЕНІНГОКОКІВ

1. Гіалуронідаза
2. Нейрамінідаза

3. Протеаза
4. Плазмокоагулаза
5. Фібринолізин
6. Мають гемолітичну і антилізоцимну активність

Патогенність менінгококів обумовлюється наявністю капсули. Пілі сприяють прикріпленню бактерій до поверхні епітеліальних клітин.

ТОКСИНОУТВОРЕННЯ МЕНІНГОКОКІВ

При руйнуванні бактеріальних клітин звільняється сильний термостійкий ендотоксин, який є ліпополісахаридом клітинної стінки і сприяє інвазійності менінгококів серогрупи А. Він, крім токсичності, має пірогенну, некротоксичну і летальну дію.

АНТИГЕННА СТРУКТУРА МЕНІНГОКОКІВ

В менінгококів виділені чотири антигенні фракції:

1. Вуглеводна С-субстанція
2. Протеїнова Р-субстанція
3. Білкові антигени зовнішньої мембрани
4. Типоспецифічні антигени (складаються з полісахаридів або полісахаридполіпептидів і ліпополісахаридні антигени).

За полісахаридним (капсульним) антигеном та в залежності від їх специфічності розрізняють такі серогрупи менінгококів: A, B, C, Y, X, Z, D, N, 29E, W135, H, I, K, L. Згідно з міжнародною класифікацією, основними групами вважають А, В і С.

ПАТОГЕНЕЗ МЕНІНГОКОКОВИХ ІНФЕКЦІЙ

ДЖЕРЕЛО ІНФЕКЦІЇ

хворі або здорові носії менінгокока, а також особи, що перенесли стерті форми у вигляді короткочасної лихоманки з явищами катару верхніх дихальних шляхів

МЕХАНІЗМ ПЕРЕДАЧІ ІНФЕКЦІЇ

аерогенний, не виключений контактний

ШЛЯХ ПЕРЕДАЧІ ІНФЕКЦІЇ

повітряно-краплинний

Менінгококи серогрупи А викликають генералізовані процеси і мають найбільше епідеміологічне значення, менше – менінгококи серогрупи С. У зв’язку з створенням вакцин проти серогруп А і С, сьогодні основну роль в епідеміології менінгіту відіграють менінгококи серогрупи В. Решта серогруп викликають спорадичні захворювання.

МЕНІНГОКОКОВІ ПАТОЛОГІЇ ЛЮДИНИ

Ураження	Захворювання
слизові оболонки носоглотки	назофарингіт
кров	менінгококцемію бактеріальний або ендотоксичний шок
оболонки головного та спинного мозку мозок	цереброспінальний епідемічний менінгіт менінгоенцефаліт
серцевий м'яз	менінгококовий ендокардит

У багатьох людей, які заразилися менінгококами, захворювання не виникає. В одного із 10 заражених розвивається картина гострого назофарингіту і лише в окремих людей – генералізовані форми.

В результаті подолання гематоенцефалітичного бар'єру менінгококи проникають в оболонки спинного та головного мозку, і викликають у них гнійне запалення – епідемічний цереброспінальний менінгіт. Після 2-4 діб інкубаційного періоду захворювання починається гостро, піднімається температура, з'являються головний біль, блювота, корчі, ригідність м'язів та інші ознаки ураження центральної нервової системи. Захворювання триває декілька тижнів. При менінгіті цереброспінальна рідина мутна, на відміну від туберкульозного менінгіту. При спинномозковій пункції рідина витікає цівкою внаслідок підвищеного внутрішньочерепного тиску. Менінгіальні явища характерні для дітей, дорослі частіше хворіють назофарингітом або є носіями.

Непатогенні нейсерії переважно є коменсалами. В ослаблених хворих вони можуть викликати менінгіт, ендокардит, сепсис, пневмонію, отит, синусит, бронхіальну астму.

МЕТОДИ МІКРОБІОЛОГІЧНОЇ ДІАГНОСТИКИ

Матеріал на дослідження	Основні методи дослідження	Методики, середовища
спинномозкова рідина - ліквор	мікроскопічний мікробіологічний біологічний	фарбування за Грамом, метиленовим синім, 5% кров'яний і 10% сироватковий агар
кров		сироватковий бульйон з 0,1% глюкозою
слиз із носоглотки		5% кров'яний і 10%

		сироватковий агар
трупний матеріал (забір у перші години після смерті).		5% кров'яний і 10% сироватковий агар

Зі спинно-мозкового каналу, дотримуючись правил асептики, беруть стерильною голкою для спинномозкової пункції 2-5 мл **ліквору**, переносять в центрифужну пробірку, доставляють у лабораторію. Якщо неможливо доставити в лабораторію, зберігають декілька годин у термостаті при 37^0 С. Посів проводять не пізніше 2-3 год. При зберіганні і транспортуванні взятий матеріал необхідно оберігати від охолодження і висихання (температура повинна бути не нижче 20^0С, тримати у ваті або в термосі). Спинномозкову рідину центрифугують при 3500 об/хв упродовж 5 хв. Із дна беруть 0,3-0,5 мл осаду і засівають дві-три краплі на свіжовиготовлений, підігрітий в термостаті, 5% кров'яний і 10% сироватковий агар у чашках Петрі. Осад ліквору в центрифужних пробірках заливають 5 мл 0,1% напіврідкого агару і ставлять в ексикатор з підвищеним вмістом вуглекислого газу. Культивують добу в термостаті при 37^0С.

Слиз із носоглотки забирають алюмінієвим ватним тампоном, який згинають на краю пробірки під кутом 135^0 на відстані 3-4 см від краю дроту, на який накручена вата. Пізніше стерильним шпателем, який міститься у лівій руці, притискають корінь язика, а правою рукою вводять тампон кінцем вгору під м'яке піднебіння в носоглотку і легкими рухами забирають слиз. Витягати тампон треба обережно, щоб не зачепити язик, щоку, не торкнутися зубів. Проводять посів на свіжовиготовлений сироватковий агар відразу, втираючи в середовище і повертаючи тампон. Оскільки слиз містить різну флору, то засівають на щільне середовище з ристоміцином або лінкоміцином, який пригнічує ріст грамдодатних коків і не діє на нейсерії. Деякі автори вважають, що частина менінгококів не росте в присутності ристоміцину. Засіяні чашки транспортують у лабораторію і поміщають у термостат.

5-10 мл **крові** беруть стерильно з ліктьової вени і сіють у флакон з бульйоном і 0,1% глюкозою у відношенні 1:10. Матеріал необхідно брати до початку лікування, натще або не раніше ніж через 3-4 год після останнього сніданку. Флакони поміщають у термостат при 37 ^{0}С. При менінгококцемії менінгококи можна виявити в "товстій" краплі крові, забарвленій 2-3 хв. водним розчином метиленового синього без фіксації (на голубому фоні препарату видно забарвлені в темно-синій колір лейкоцити, а між ними дрібні, темно-сині коки розташовані купками, попарно або по одному).

СЕРОЛОГІЧНІ МЕТОДИ

Сьогодні з діагностичною метою використовують *серологічні методи* дослідження за допомогою яких виявляють у хворих або специфічні менінгококові антигени, або антитіла до них. Для виявлення антитіл в крові хворих і перехворівших застосовують *РПГА з менінгококовими*

еритроцитарними діагностикумами А, С та інших серогруп, застосовується також *імуноферментний метод (ІФМ).*

При менінгіті можна провести дослідження спинномозкової рідини на вміст у ній менінгококових антигенів у *реакції зустрічної дифузії методами імуноелектрофореза* (ІЕФ), *радіоімунний аналіз* (РІА) зі специфічними груповими сироватками; застосувати для виявлення антигенів *реакцію коаглютинації*, *латекс-аглютинації*, *реакцію зустрічного імуноелектрофореза, ІФМ* і *мікрометод еритроімуноадсорбції*.

ГОНОКОКИ

МОРФОЛОГІЯ

Гонококи нагадують зерна кави або боби, обернені один до одного ввігнутими сторонами. Мають пілі, фімбрії. У гною розташовуються в цитоплазмі лейкоцитів (явище незавершеного фагоцитозу). Навколо гонокока утворюється слизова капсулоподібна речовина.

В чистій культурі розташованих безладно. Грамвід'ємні. Але під дією лікарських речовин і при хронічній гонореї поряд з грамвід'ємними можуть зустрічатися грамдодатні коки (форми Аша), неправильної форми, різної величини, можуть утворювати L-форми бактерій, поліморфні.

КУЛЬТУРАЛЬНІ ВЛАСТИВОСТІ ГОНОКОКІВ

Облігатні аероби, ростуть при 10% вуглекислого газу на середовищах, які містять нативний білок крові людини (сироватку, кров або асцитичну рідину). Потребують вітамінів, заліза. Додавання до поживних середовищ крохмалю, холестерола, альбуміна або частинок вугілля сприяє росту гонококів, а додавання іонів Ca^{++} підвищує їх життєдіяльність. Вимоги: вологість середовища, свіжовиготовлені.

На СА колонії 1-2 мм, прозорі, блискучі, з рівними краями, які нагадують крапельки роси. На КА гемолізу не дають. На асцит-агарі колонії з рівними краями і блискучою поверхнею. Виділяють 4 типи бактерій: дрібні, блискучі у вигляді крапель колоніЇ (P^{+}, P^{++}; характерні для вірулентних бактерій) і великі плоскі (P^{-}, які не мають пілей, невірулентні) колонії. В сироватковому бульйоні вони дають слабке помутніння і плівку, яка осідає на дно пробірки.

ФЕРМЕНТАТИВНІ ВЛАСТИВОСТІ ГОНОКОКІВ

Гонококи ферментують глюкозу до кислоти без газу, утворюють каталазу і оксидазу.

ТОКСИНОУТВОРЕННЯ

В клітинній стінці гонококів міститься ендотоксин ліпополісахаридної природи.

АНТИГЕННА СТРУКТУРА

Виявлено групову вуглеводну С-субстанцію, білкові антигени зовнішньої мембрани (гонококи поділені на 16 сероварів), специфічні протеїнові антигени (розрізняють три типи). Гонококи синтезують бактеріоцини.

ПАТОГЕНЕЗ ГОНОКОКОВИХ ІНФЕКЦІЙ

ДЖЕРЕЛО ІНФЕКЦІЇ

хвора людина

МЕХАНІЗМ ПЕРЕДАЧІ ІНФЕКЦІЇ

прямий контакт, не виключений контактно-побутовий

ШЛЯХ ПЕРЕДАЧІ ІНФЕКЦІЇ

статевий, через предмети – губки, рушник, пелюшки та ін.

ГОНОКОКОВІ ПАТОЛОГІЇ ЛЮДИНИ

Ураження	Захворювання
слизові оболонки уретри у чоловіків, піхви і шийки матки в жінок	гонорея
слизова оболонка порожнини рота	гонорея
запалення слизової оболонки очей	бленорея
екстрагенітальна локалізація гнійно-запального процесу (в прямій кишці, глотці).	сепсис

Фактором патогенності гонококів є наявність у них пілей, які, з'єднуючись з мікроворсинками циліндричного епітелію, сприяють проникненню гонокока всередину клітини епітелію (шляхом ендоцитозу), обумовлюючи в слизовій оболонці гострий запальний процес. Інкубаційний період від одного дня до двох-трьох тижнів. Хоча часто становить три-чотири дні.

Клінічно гонорея проявляється болями при сечовипусканні, виділенням гною з уретри та піхви й іншими симптомами. У жінок уражуються шийка матки, маткові труби, яєчники; у дівчаток – вульва, піхва; у чоловіків – сечовипускний канал, сім'яні міхурці, передміхурова залоза. Захворювання перебігає гостро, але інколи переходить у хронічну форму (в'ялі прояви клінічних симптомів). Рідко гонокок може розповсюджуватись з течією крові в різні органи, осідаючи в суглобах, серцевих клапанах. Можливий сепсис, екстрагенітальна локалізація гнійно-запального процесу (в прямій кишці, глотці).

При бленореї у новонароджених виникає запалення слизової оболонки очей. Спостерігається бленорея у дітей, народжених від інфікованої гонококами

матері. Збудниками бленореї в 30% випадків можуть бути стрептококи, кишкові палички, хламідії.

МЕТОДИ МІКРОБІОЛОГІЧНОЇ ДІАГНОСТИКИ

Матеріал на дослідження	Основні методи дослідження	Методики, середовища
виділення з передньої уретри сперма	мікроскопічний мікробіологічний серологічний	забарвлюють за Грамом, посіви на СА, КА, середовище Бейлі, асцит-агар,
виділення передміхурової залози в чоловіків		
піхви, шийки матки, уретри, прямої кишки і глотки в жінок		
гній з ока		
осад і нитки із сечі		
кров для отримання сироватки		
у чоловіків-гомосексуалістів матеріал забирають з ротової порожнини, глотки і прямої кишки		

Виділення забирають стерильним ватним тампоном або стерильною петлею. При заборі гною з ока необхідно тампон зволожити стерильним ізотонічним розчином хлориду натрію. В чоловіків матеріал беруть спеціальною ложечкою для уретри. 5-6 мл крові забирають з ліктьової вени. Матеріал забирають до початку лікування антибіотиками, або не раніше ніж через 10 діб після закінчення лікування антибіотиками, не раніше ніж через 2 год після сечовипускання і спринцювання. При хронічній гонореї досліджують сечу.

При гострій формі гонореї з матеріалу готують мазки на двох предметних скельцях, забарвлюють за Грамом. При хронічній формі, коли гонококи виявити не вдається, або при мікроскопії виявляються гонококи типу Аша – клітини диплокока неоднакової величини і форми, проводять посів досліджуваного матеріалу на поживні середовища: СА, КА, середовище Бейлі, асцит-агар. Посіви культивують при 37 ^{0}С в ексикаторі з 10% CO_2. Гонококи чутливі до незначних коливань температур (в межах 0,5 ^{0}С). Якщо неможливо провести культуральне дослідження на місці забору матеріалу, можна провести посів ватним тампоном на транспортні середовища (наприклад, середовище Стюарта).

Інколи застосовують *шкірно-алергійну пробу* з гонококовою вакциною.

При хронічній гонореї та в сумнівних випадках ставлять *РЗК на холоді* з сироваткою хворого. Антиген – вбита культура гонокока, яку готують на підприємстві, або діагностикум, виготовлений з вбитих гонококів. Можна використовувати реакцію непрямої гемаглютинації (*РНГА*).

ПРОФІЛАКТИКА ТА ЛІКУВАННЯ КОКОВИХ ІНФЕКЦІЙ

Профілактика стафілококових інфекцій. Ізоляція хворих; санація носіїв і хворих лізоцимом, екмоновоциліном, фурациліном, риванолом, маззю "Оксикорт"та ін.; поліпшення санітарно-гігієнічного режиму; дотримання правил асептики і антисептики в лікарнях з метою запобігти розповсюдженню інфекції; оздоровлення умов праці і побуту; попередження авітамінозу; запобігання травматизму на виробництві; виконання правил особистої гігієни; проведення бактеріологічних обстежень працівників стаціонарів на бактеріоносійство; підвищення захисних сил організму – введення стафілококового анатоксину, антифагіну, стафілококової полівалентної вакцини, полівалентного стафілококового бактеріофагу, автовакцини, антитоксичної сироватки, антистафілококової плазми та імуноглобуліну; введення глюкози; переливання крові.

Для **лікування стафілококових** захворювань застосовують бета-лактамні антибіотики в комбінації з імунопрепаратами. Для обробки ран широко застосовують рідини, які висихають за 2 хв й утворюють еластичну плівку на рані.

Профілактика стрептококової інфекції. Дотримання санітарно-гігієнічних заходів, особистої гігієни, укріплення загальної резистентності організму.

Специфічна профілактика не розроблена. Вивчаються вакцини, виготовлені з М-білкових фракцій стрептококів.

Лікування. Застосовують антибіотики: пеніцилін, біцилін, еритроміцин і тетрациклін. При хронічних процесах рекомендується вакцинотерапія (авто- і полівакциною).

Профілактика стрептококопневмококової інфекції. Профілактика зводиться до гартування організму, раптово охолоджувати організм не можна. Вживаються заходи для попередження ендогенної інфекції: хворі, які вимушені довго лежати, приймають гормони, променеву терапію, при зниженні загальної резистентності організму здійснюється стимуляція захисних механізмів (режим харчування, вітамінотерапія, підсилення вентиляції легень масажем та ін.).

Специфічна профілактика і лікування пневмонії. Застосовують полівалентну вакцину проти стрептококових пневмоній. Вакцина, виготовлена з високоочищених капсульних полісахаридів тих 12-14 сероваріантів, які часто викликають захворювання (1, 2, 3, 4, 6A, 7, 8, 9, 12, 14, 18C, 19, 25). Вакцини високо імуногенні. Для лікування з успіхом використовують сульфаніламідні препарати і антибіотики – пеніцилін, тетрациклін, макроліди.

Профілактика менінгіту. Профілактика зводиться до ранньої діагностики захворювання, госпіталізації хворого, проведення карантинних заходів у вогнищі інфекції, виявлення і санації здорових носіїв, дотримання санітарно-гігієнічного режиму в жилих приміщеннях, на підприємствах, зменшення скупченості людей.

Специфічна профілактика. Для специфічної профілактики використовують менінгококову хімічну вакцину (полісахаридні антигени серогруп A, C, Y і W135), яка ефективна при імунізації людей у колективах, де є носії і формує групоспецифічний імунітет. Полісахарид серогрупи В виявився неімуногенним. Для екстреної профілактики використовується імуноглобулін.

Лікування. Для лікування застосовують антибіотики (бензилпеніцилін, оксацилін, ампіцилін, тетрациклін, левоміцетин, рифампіцин), сульфаніламідні препарати. Проводять дезінтоксикацію (сольові розчини, глюкоза, плазма крові та ін.).

Профілактика гонореї. Профілактика зводиться до санпросвітроботи серед населення, своєчасного виявлення і лікування хворих. Для індивідуальної профілактики гонореї рекомендується відразу після випадкового статевого стосунку використати 0,05% розчин біглюконату хлоргексидину, який випускається у флаконах з піпеткою.

Специфічна профілактика не проводиться.

Для **лікування** бленореї новонародженим в кон'юнктивний мішок вводять по 1-2 краплі 30% розчину альбуциду натрію або дві краплі 3%-ного масляного розчину пеніциліну. Застосовують антибіотики (біцилін 6, метациклін, пеніцилін, стрептоміцин, напівсинтетичні тетрацикліни) і сульфаніламідні препарати пролонгованої дії. Проти гонококів, які продукують пеніциліназу, застосовують спектиноміцин (аміноциклічний антибіотик для внутрішньом'язевого введення). Правильне їх використання виліковує гонорею. При хронічній гонореї застосовують гонококову вакцину за спеціально розробленою схемою разом з антибіотиками.

Питання для самоконтролю

1. У бактеріологічній лабораторії проводять діагностику хронічної гонореї у реакції Борде-Жангу. Для цього були виготовлені такі реактиви: гонококовий антиген, розчин комплементу, гемолітична сироватка та суспензія еритроцитів. Яку функцію виконує комплемент у цій реакції ?

A. Адсорбується на комплексі "антиген- антитіло"
B. Блокує неспецифічні антитіла у досліджуваній сироватці
C. Входить до складу гемолітичної системи
D. Виступає як індикатор
E. Перетворює корпускулярний антиген на розчинний

2. У дитини, хворої на епідемічний цереброспінальний менінгіт, для підтвердження діагнозу за допомогою люмбальної пункції взяли

спинномозкову рідину. Як з ліквору виготовити і забарвити мазок для бактеріоскопічного дослідження ?
A. З осаду після центрифугування, метиленовим синім
B. З нативного ліквору, метиленовим синім
C. З сітки фібрину, за Цілем-Нільсеном
D. З осаду після центрифугування, за Грамом
E. З плівки на поверхні, фуксином

3. Які вакцини використовують для профілактики менінгіту?
A. Полівалентні вбиті
B. Анатоксини
C. Живі вакцини серогруп A, B і C
D. Спиртові полівакцини
E. Хімічні вакцини серогруп A, B і C

4. Від хворої на цереброспінальний менінгіт дитини отримано спинномозкову мутну рідину, яка містить велику кількість лейкоцитів. Якою із серологічних реакцій слід скористатися для експрес-діагностики захворювання ?
A. Зв'язування комплементу
B. Аглютинації
C. Імунофлуоресценції
D. Гемаглютинації
E. Нейтралізації

5. Хворій на назофарингіт дитині лікар діагностував менінгококовий назофарингіт. Який метод лабораторної діагностики найраціональніший для підтвердження діагнозу ?
A. Серологічний
B. Біологічний
C. Бактеріологічний
D. Мікроскопічний
E. Алергійний

6. До лікарні доставили дитину 3,5 років, з вираженим головним болем, блювотою, порушеннями мовлення. При спинальній пункції у лікворі виявлені грамнегативні диплококи, розташовані, здебільшого, внутрішньоклітинно. Чим, на Ваш погляд, може бути спричинений цей симптомокомплекс ?
A. N. meningitidis
B. S. aureus
C. Вірусом грипу
D. Вірусом імунодефіциту людини
E. Вірусом поліомієліту

7. У хворої дитини з явищами гнійного кератокон'юнктивіту лікар-офтальмолог

запідозрив бленорею (гонорейний кон'юнктивіт). Якими методами лабораторної діагностики слід скористатися для підтвердження діагнозу ?
A. Мікроскопічним та серологічним
B. Серологічним та алергійним
C. Біологічним та методом фагодіагностики
D. Біологічним та алергійним
E. Мікроскопічним та бактеріологічним

8. При дослідженні гнійних виділень із шийки матки під час бактеріоскопії виявлено грамнегативні бобоподібні диплококи, які містилися як у середині, так і поза лейкоцитами. Який чинник гнійного запалення шийки матки ?
A. Chlamidia trachomatis
B. Neisseria gonorrhoeae
C. Haemophilus vaginalis
D. Trichomonas vaginalis
E. Calymmatobacterium granulomatis

9. При бактеріоскопії мазків, виготовлених з виділень уретри, виявлено внутрішньоклітинно розташовані грамнегативні диплококи і велику кількість лейкоцитів. Які мікроорганізми виявлено в досліджуваному матеріалі ?
A. Гонококи
B. Менінгококи
C. Стрептококи
D. Стафілококи
E. Пептострептококи

10. Який чинник визначає здатність Neisseria gonorrhoeae інфікувати епітелій в уретрі ?
A. Утворення ферментів, які розщеплюють молекули Ig
B. Антифагоцитарна дія капсульних полісахаридів
C. Виживання і розмноження бактерій всередині клітин
D. Наявність пілей і мікроворсинок, які зумовлюють адгезію бактерій на поверхні епітеліальних клітин
E. Стійкість Neisseria gonorrhoeae до бактерицидних факторів сироватки крові

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОДИНИ КИШКОВИХ БАКТЕРІЙ

Родина кишкових бактерій *Enterobacteriaceae* об’єднує широку групу грамвід’ємних неспороутворюючих оксидазонегативних бактерій. Вони широко розповсюджені в природі, містяться в кишківнику людини і тварин. Серед них зустрічаються як сапрофіти, умовно-патогенні бактерії, так і паразити.

За класифікацією Кауфмана, вся родина кишкових бактерій поділена на 14 родів, із яких найбільше значення мають:

1. Рід *Escherichia*;
2. Рід *Salmonella*, куди входять збудники черевного тифу, паратифів, харчових токсикоінфекцій та внутрішньолікарняних інфекцій;
3. Рід *Schigella* – збудники бактеріальної дизентерії;
4. Рід *Proteus;*
5. Рід *Klebsiella*, група капсульних бактерій, збудників інфекцій дихальних і сечових шляхів;
6. Рід *Yersinia* – збудників чуми, ієрсиніозу і псевдотуберкульозу.
7. Рід *Citrobacter*.
8. Рід *Enterobacter та інші*.

Рід *Escherichia* налічує сім видів. Основне значення має вид *E. coli.*

Роди поділені на види, а види в свою чергу, на біовари і серовари.

Для диференціації родів і видів родини кишкових бактерій використовують більше 40 біохімічних тестів.

ЕШЕРИХІЇ

Кишкова паличка – E.coli вперше була виділена з випорожнень хворого Т.Ешерихом у 1885 р. Зустрічаються багато різновидностей кишкових паличок, які об'єднані в один рід *Escherichia*, що є типовим представником нормальної мікрофлори травного каналу людини і тварин. Розповсюджені у навколишньому середовищі, що пов'язано з фекальним забрудненням, а тому кишкову паличку відносять до санітарно-показникових мікроорганізмів.

МОРФОЛОГІЯ

E. coli – це короткі, поліморфні палички розміром 1,1-1,5х2,0-6,0 мкм. Мають перетрихіальне розташування джгутиків. На поверхні клітин є фімбрії, пілі, на яких адсорбуються деякі фаги; мікрокапсула не завжди чітко виражена. Зустрічаються нерухомі штами. Спор не утворюють. Грамвід'ємні. Відзначаються поліморфізмом.

КУЛЬТИВУВАННЯ

Факультативні анаероби або аероби. Добре ростуть на простих поживних середовищах при pH 7,2-7,8, температурі 37 ^{o}C і витримують значні коливання температур.

КУЛЬТУРАЛЬНІ ВЛАСТИВОСТІ ЕШЕРИХІЙ

Середовище	Ріст на середовищі
В рідких середовищах	*E. coli* дають дифузне помутніння і осад або плівку на поверхні, кільце на стінці пробірки
На щільних поживних	колонії середьої величини (2-4 мм), круглі з

середовищах	рівним краєм, слизові, злегка випуклі, мутні, з гладкою блискучою поверхнею (гладкі форми) або більш плоскі, сухі, хвилястий край (шорсткуваті форми)
На середовищі Ендо	1) **лактозододатні штами** утворюють колонії червоно-малинові або малинові з металевим полиском (забарвлюються в колір індикаторної фарби, яка входить до складу середовища); 2) культури, **які сповільнено ферментують лактозу -** рожеві або безбарвні з інтенсивно забарвленим центром. 3) **які не ферментують лактозу**, утворюють безбарвні колонії
на Плоскірєва	червоні з жовтуватим відтінком або безбарвні
на Левіна (ЕМС)	утворюють темно-сині з металевим полиском колонії
на агарі Мак Конки	червоні
на Аселя-Лібермана	темно-коричневі з червонуватим відтінком
на кров'яному агарі	можуть утворювати повний гемоліз

ФЕРМЕНТАТИВНІ ВЛАСТИВОСТІ

Ферментують з утворенням кислоти і газу лактозу (інколи сповільнено), глюкозу (інколи без газу), маніт, мальтозу, непостійно сахарозу і арабінозу, не ферментують адоніт і інозит (дуже рідко спостерігаються додатні реакції). Більша частина культур утворює індол і сірководень, відновлюють нітрати в нітрити, не розріджують желатин, молоко згортають без пептонизації. Окремі біовари не ферментують лактозу і сахарозу. Оксидазовід'ємні, каталазододатні. Реакція Фогеса-Проскауера від'ємна. Ешерихії виділяють бактеріоцини – коліцини, які викликають загибель родинних бактерій. Встановлено, що коліциногенія більш характерна для патогенних кишкових паличок.

ПАТОГЕНЕТИЧНА ДІЯ ТОКСИНІВ ЕШЕРИХІЙ

термостабільний ліпополісахаридний *ендотоксин*	має ентеропатогенну дію
екзотоксинів: 1) *цитотоніни* **2)** *цитотоксини*	1) стимулюють гіперсекрецію рідини клітинами кишківника; 2) руйнують клітини ендотелію капілярів і стінок кишківника;
два варіанти	термолабільні (LT) і термостабільні (ST)

цитотонінів	ентеротоксини. В складі голомолекули LT є два фрагменти – А і В;
два типи цитотоксинів	шигаподібними токсинами – *SLT*: *SLT-I* (майже антигенно споріднений до токсину Шига і нейтралізується антисироваткою до цього токсину) і *SLT-II* (відрізняється за антигеном від *SLT-I* і не нейтралізується антисироваткою до токсину Шига);
чотири типи гемолізинів	руйнують еритроцити

АНТИГЕННА СТРУКТУРА

Ешерихії розрізняють за антигенною структурою мікробної клітини, що покладено в основу класифікації бактерій цього роду.

О-антиген	соматичний, термостабільний ліпополісахаридно протеїновий комплекс, розташований у клітинній стінці бактерій. О-антиген визначає відношення культури до серологічної групи.Описано 173 О-сероваріантів;
К-антиген	капсульний, К-антигени ешерихій різні: А, В, L, М. Антигени А і М – термостабільні, В і L – термолабільні; відомо близько 90 сероварів за К-антигеном, в основному типу В-антигенів (термолабільних);
Н-антиген	джгутиковий; у ешерихій відомо 57 сероварів за Н-антигеном;

Характеристику антигенного складу виділеної культури ешерихій дають на основі результатів реакції аглютинації з сироватками, які містять О-, К-, Н-антитіла. При цьому визначають, які антигени є в культурі, а їх зіставлення характеризує антигенну формулу виділеної культури, тобто її сероваріант.

Серед E.coli виявлено фаговари і коліциновари, які застосовують у лабораторній діагностиці для додаткової характеристики виділених штамів. Є набори бактеріофагів, які лізують ешерихії окремих серогруп. За лізисом культури одним із фагів встановлюють її фаговар. Визначення фаговарів має епідеміологічне значення.

РЕЗИСТЕНТНІСТЬ

E. coli досить стійкі. При 55 ^{0}С вони гинуть упродовж години, при 60 ^{0}С – за 15 хв. У грунті і воді зберігаються до 2-3 міс, в молоці не тільки зберігаються, але й розмножуються. Розчини дезречовин (3% хлораміну, 5% розчину фенолу, розчин сулеми 1:1000 та ін.) вбивають їх за 20-30 хв. Особливо чутливі до брильянтового зеленого.

E. coli використовують як тест-об'єкт при оцінці методів дезінфекції і дезінфікуючих речовин, а також при титруванні деяких антибіотиків.

ПАТОГЕНЕЗ ІНФЕКЦІЙ

Ешерихії – умовно-патогенні мікроорганізми. Як сапрофіти в товстому кишківнику беруть участь у синтезі вітамінів групи В, К, Е та інших речовин. Вони мають антагоністичні властивості до збудників дизентерії, черевного тифу та різних гнійних бактерій кишківника, що, зокрема, пояснюється дією коліцину. Властивість пригнічувати ріст патогенних мікробів була використана для виготовлення лікувальних і профілактичних препаратів, що застосовуються при кишкових інфекціях (колібактерин, біфікол). Відсутність кишкової палички веде до дисбактеріозу. При дисбактеріозі з'являються різновидності кишкової палички слабоферментуючі, гемолітичні, адгезивні.

ДЖЕРЕЛО ІНФЕКЦІЇ

Джерелом є хворі люди або бактеріоносії

МЕХАНІЗМ ПЕРЕДАЧІ ІНФЕКЦІЇ

фекально-оральний, контактний, аерогенний

ШЛЯХ ПЕРЕДАЧІ ІНФЕКЦІЇ

аліментарний, повітряно-краплинний, непрямий контакт (через посуд, іграшки, білизну, їжу, мух)

ПАТОЛОГІЇ ЛЮДИНИ

Ураження	Захворювання
різні органи і тканини	гнійно-запальні захворювання: перитоніт, пієліт, пієлонефрит, цистит, холецистит, отит, ендометрит, діарею мандрівників, раневу та хірургічну інфекцію
з товстого кишківника може проникати в тонкий	важку інтоксикацію (коліентерит, гастроентерит)
в кров	сепсис
через забруднену їжу	харчової токсикоінфекції

КАТЕГОРІЇ ДІАРЕЄГЕННИХ ЕШЕРИХІЙ

Ентеропатогенні (ЕРЕС)	колонізують плазмолему ентероцитів тонкого кишківника, інфікуюча доза 10^5-10^{11} клітин, уражується поверхня епітелію, відпадають мікроворсинки й утворюються ерозії, коліентерит у дітей раннього віку, викликають ЕРЕС серогруп О26, О55, О111; різні форми

	гострих кишкових захворювань (ГКЗ);
Ентеротоксигенні (ЕТЕС)	за допомогою адгезинів прикріплюються до ворсинок епітелію в тонкому кишківнику, інфікуюча доза 10^8-10^{10} клітин, викликають холероподібні гастроентерити ентеротоксигенні *E. coli* серогруп О1, О15, О148, О6, О78;
Ентероінвазивні (ЕІЕС)	адсорбуються на поверхні епітеліальних клітин слизової оболонки товстого кишківника і нижньому відділі клубової кишки, проникають в епітеліоцити, у цитоплазмі яких розмножуються - дизентерієподібним синдромом; інфікуюча доза 10^5 клітин; **Дизентерієподібні ГКЗ** у дітей і дорослих викликають ентероінвазивні E.coli серогруп О124, О144, О23, О32, О124, О144, О151 (“Крим”). Вони нерухомі і не здатні ферментувати лактозу;
Ентерогеморагічні (ЕНЕС)	шигаподібні токсини (SLT-I або SLT-II), які руйнують клітини ендотелія дрібних кровоносних судин; утворюються згустки крові, фібрин порушує кровообіг, виникає **кровотеча, що спричиняє ішемію і некроз** в клітинній стінці; спостерігається гемолітичний синдром, часто з летальним кінцем;
Ентероадгезивні	адгезують клітини Нер-2 *in vitro*;
серовари О1, О2, О4, О6, О7, О11, О18, О75.	запальні процеси сечовидільних шляхів
бактерії серогруп О6, О4, О2, О16, О18, О7, О1 і О75	бактеріємій в новонароджених і дорослих
бактерії серогруп О7, О18, О1 і О6.	менінгіти в новонароджених

ІМУНІТЕТ

Нестійкий, нетривалий, типоспецифічний. Виробляється тільки стосовно одного сероваріанта ешерихій. Колі-бактеріози виникають на фоні імунодефіцитних станів. Патологічний процес знижує активність фагоцитозу і бар’єрну функцію тканин. Виздоровленню сприяє активація неспецифічних факторів захисту.

Природний імунітет проти збудників колі-інфекції (коліентериту) дітей раннього віку забезпечується біфідумбактеріями, які є антагоністами ЕРЕС. Важливо є те, що вони колонізують епітелій травного каналу до п'ятого дня життя дитини.

У розвитку імунітету в дітей велике значення має утворення IgM – антитіл, які не проходять через плаценту, а, значить, не передаються від матері. IgA – антитіла до ешерихій передаються дитині від матері з грудним молоком. IgG передаються від матері через плаценту, тому діти до одного року не хворіють дизентерієподібним ешерихіозом і дизентерією, але легко хворіють коліентеритом при зараженні ЕРЕС.

МЕТОДИ МІКРОБІОЛОГІЧНОЇ ДІАГНОСТИКИ

<table>
<tr><th>Матеріал на дослідження</th><th>Основні методи дослідження</th><th>Середовища</th></tr>
<tr><td>Випорожнення
в 30% гліцериновій суміші</td><td rowspan="11">Мікробіологічний
Серологічна діагностика коліентериту - РНГА.</td><td rowspan="6">Ендо, ЕМС, Аселя-Лібермана</td></tr>
<tr><td>блювотні маси</td></tr>
<tr><td>виділення з носа і зіву</td></tr>
<tr><td>гній із вуха</td></tr>
<tr><td>кров</td></tr>
<tr><td>сеча</td></tr>
<tr><td>цистино-лактозний агар</td></tr>
<tr><td>трупний матеріал (кров із серця, жовч, шматочки печінки, селезінки, легені, нирок, вміст тонкої і товстої кишок, гній)</td><td rowspan="5"></td></tr>
<tr><td>харчові продукти</td></tr>
<tr><td>змиви з рук персоналу з іграшок та інших предметів</td></tr>
<tr><td>повітря палат</td></tr>
<tr><td>залишки їжі</td></tr>
</table>

Залежносто від характеру патологічного процесу розрізняють такі напрямки дослідження:

1) на дисбактеріоз – визначення титру кишкової палички, процентного вмісту гемолітичних і малоферментуючих бактерій;

2) співвідношення аеробних і анаеробних бактерій;

3) виявлення умовно-патогенних мікробів із сечі, рани, жовчі, наявність ознак вірулентності;

4) виявлення патогенних кишкових паличок.

ЗАБІР МАТЕРІАЛУ

Забір матеріалу. Матеріал необхідно забирати до прийому антибіотиків Якщо матеріал не може бути транспортований у лабораторію в перші 2 год з моменту забору, його зберігають у холодильнику при 1-4 ^{0}С, але не довше доби.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

На другий день дослідження виймають з термостата засіяні чашки і оглядають ріст. Колонії ЕРЕС не відрізняються від колоній умовно-патогенних кишкових паличок. На чашках з середовищем Ендо вони мають круглу форму, рівний, чітко окреслений край, матову поверхню, малиново-червоний колір колоній, але без металевого полиску. На середовищі ЕМС (Левіна) колонії ЕРЕС темно-синього або фіолетового кольору, а на середовищі Аселя-Лібермана мають рожевий колір. Проводять постановку оксидазного тесту і серологічне типуваня виділеної культури, оскільки на основі культуральних та ферментативних властивостей не можна диференціювати патогенні ешерихії. Ставлять пробну реакцію аглютинації на склі для диференціації ЕРЕС від інших різновидностей ешерихій. Проводять мікроскопію мазків з колоній.

Для постановки орієнтовної реакції аглютинації досліджують не менше 10 ізольованих колоній, відмічаючи або нумеруючи їх на зворотній стороні чашки: частинку кожної відміченої колонії знімають петлею і аглютинують в краплі полівалентної ОК-сироватки широкого спектру дії або імуноглобуліну. Досліджують тільки частину колонії, щоб у випадку додатньої реакції аглютинації можна було виділити чисту культуру з решти колонії.

Типові або полівалентні ешерихіозні сироватки (або імуноглобуліни) готують на виробництві. Полівалентні ешерихіозні ОК-сироватки (або ОК-імуноглобуліни) містять антитіла до декількох О- і К-антигенів ешерихій.

В Росії випускається 5 наборів діагностичних ОК-сироваток: ОКА, ОКВ, ОКС, ОКД і ОКЕ. Основна полівалентна сироватка ОКА містить антитіла до О- і К-антигенів більше 20 головних серологічних груп, решту ОК-сироватки містять антитіла до О- і К-антигенів тих самих серогруп, але в меншій комбінації. Спочатку визначають ОК-серогрупу з живою культурою (одночасно визначають її біохімічні властивості), а пізніше ідентифікують О-серогрупу, використовуючи адсорбовані О-сироватки і гріту культуру (для зруйнування К-антигена).

На Україні можна виготовити суміш окремих ОК-сироваток, змішуючи не більше п’яти із них, щоб розведення кожної було не більше 1:10. За їх допомогою орієнтовно визначають, чи належить виділена культура до ЕРЕС.

Наприклад, полівалентна сироватка О26, О55, О111 дозволяє виявити однойменні культури ешерихій. Сироватки розводять згідно з вказівками на етикетці.

На третій день виймають посіви з термостата і оглядають ріст. На МПА ентеропатогенні кишкові палички утворюють вологий, блискучий, сіруватий наліт, деколи мутний. На середовищі Олькеніцького ферментацію лактози, глюкози, сахарози з утворенням кислоти і газу виявляють за зміною кольору всієї поверхні скошеної частини і стовпчика середовища, реакція на сірководень і сечовину від"ємна. Другий раз культуру перевіряють в реакції аглютинації на склі з полівалентними ешерихіозними ОК-сироватками або ОК-імуноглобулінами більш вузького спектру дії – ОКА, ОКВ, ОКС, ОКД, ОКЕ. Якщо виділена культура дає реакцію аглютинації з *полівалентною* сироваткою, її аглютинують з кожною *типовою* сироваткою (імуноглобуліном) окремо в розведенні 1: 5-1:10. Контролем є завісина мікробів у краплі ізотонічного розчину хлориду натрію. Аглютинація з живою культурою має орієнтовне значення, бо вказує на вміст К-антигена, але не може віднести виділений штам до тієї чи іншої О-групи.

Проводять ідентифікацію виділеної культури за такими біологічними тестами: посів на напіврідкі середовища Гіса з лактозою, глюкозою, манітом, сахарозою, мальтозою, на бульйон Хотінгера і Строгова з папірцями на індол і сірководень, у напіврідкий (0,2%) агар Кларка для визначення рухливості (посів уколом) та інші субстрати та тести для вивчення біохімічних властивостей. Рухливі бактерії дають помутніння (перевернуту ялинку) всього середовища, нерухомі ростуть за ходом укола.

Для кінцевої ідентифікації виділеної культури ставлять розгорнуту реакцію аглютинації в пробірках з живою і грітою культурами та ОК-сироваткою, яка аглютинувала культуру на предметному склі: з живою – для визначення К-антигену, з грітою – для визначення О-антигену. Якщо пройшла додатна аглютинація на склі з декількома типовими сироватками, тоді розгорнуту аглютинацію ставлять зі всіма сироватками. В такому випадку серологічний варіант визначають за найвищим титром з тією або іншою сироваткою. Для постановки реакції готують антиген: змивають культуру зі скошеного агару 3-5 мл ізотонічного розчину хлориду натрію та суспензію розливають у дві пробірки. Одну із них прогрівають на водяному нагрівачі при 100 ^{o}С 60 хв. для зруйнування поверхневих антигенів.

Розгорнуту реакцію аглютинації ставлять у двох рядах пробірок. Сироватку розводять у відношенні 1:50-1:100 (в 1-й пробірці) до титру, вказаного на етикетці ампули. В перший ряд додають по дві краплі живої культури, в другий – по дві краплі грітої культури. Останні дві пробірки контрольні: контроль антигену (КА) – досліджувана культура в ізотонічному розчині хлориду натрію і контроль сироватки (КС) – сироватка в розведенні 1:50. Штатив із пробірками струшують і помі- щають термостат на 18-24 год.

На четвертий день дослідження проводять облік результатів посівів на середовищах Гіса, в пробірках з папірцями на індол і сірководень, в пробірці з напіврідким агаром, в пробірках і чашках з тестами біохімічної активності (на ацетатному середовищі і цитратному середовищі Крістенсена ешерихії виростають на першу, інколи на другу добу).

Облік розгорнутої реакції аглютинації проводять за допомогою лупи або аглютиноскопа. Аглютинація з живою культурою грубозерниста, з вбитою – дрібнозерниста. Реакцію вважають додатною, якщо аглютинація з грітою культурою відмічається в розведенні сироватки не нижче половини титру сироватки, а жива культура аглютинується сироваткою, розведеною не менше ніж 1:200. Титр сироватки, в якому спостерігається аглютинація з грітою культурою, повинен перевищувати розведення сироватки, в якому аглютинується жива культура, не менше ніж у 2 рази.

Можливі три варіанти реакції: гріта культура аглютинується сироваткою у більших розведеннях, ніж жива, реакція додатна; жива і гріта культури дають аглютинацію в однакових розведеннях сироватки (такий результат свідчить про відсутність у культурі К-антигена, оскільки аглютинація живою і грітою культурою викликана О-антигеном; у таких випадках необхідно повторити постановку реакції аглютинації); аглютинація живої культури при відсутності аглютинації грітої дозволяє дати від"ємну відповідь, бо в культурі немає О-антигену, який відповідає О-антитілам сироватки. Обов'язково проводять контроль самоаглютинації.

Пересів культури з встановленою або орієнтовно визначеною ОК-групою на гліцериновий агар, скошений у пробірці для типування бактерій за Н-антигеном в аглютинаційному тесті на скельці (при наявності діагностичних препаратів). Інкубація 18-20 год при 37 ^{0}С.

Серологічне типування за Н-антигеном культури з гліцеринового агару проводять в аглютинаційному тесті на скельці спочатку з полівалентною, а пізніше з моновалентною Н-сироваткою, яка входить у відповідну полівалентну з якою реагувала культура. Після визначення О-, К- і Н-антигена встановлюють серовар штаму ешерихій.

Визначення *фаговару і коліциногеновару* виділеного штама має значення для виявлення джерела інфекції.

Встановлення діагнозу ешерихіозу і диференціація його з бактеріоносійством допомагає виявленню антитіл в **РА з аутоштамом**. Цінність *серологічної діагностики* зростає при диференційованому визначенні антитіл за класами імуноглобулінів: зміна специфічних антитіл класу IgM на IgG свідчить про гострий інфекційний процес, тоді як виявлення в сироватках антитіл тільки класу IgG характерно для бактеріоносійства.

Для *серологічної діагностики* коліентериту проводять постановку **РНГА**. Використовують парні сироватки хворого, наростання титру О-антитіл в динаміці підтверджує діагноз захворювання.

Для *прискореної ідентифікації* виділених культур або досліджуваного матеріалу застосовують **РІФ** з використанням групоспецифічних мічених сироваток, яка дає змогу отримати попередню відповідь через 1-2 год.

Для визначення LT і ST у ЕТЕС можна використати реакцію коаглютинації, ІФМ і біологічні проби.

Для *ідентифікації* EIEC може бути використана кератокон'юнктивальна проба, проба з дизентерійним фагом, ІФМ (для виявлення білків зовнішньої мембрани, які кодуються плазмідою). Деякі представники EIEC нерухомі, не ферментують лактози і саліцин, не утворюють лізин декарбоксилази. Для прискореної ідентифікації штамів ЕРЕС може бути використана реакція коаглютинації на скельці для виявлення білка зовнішньої мембрани. Ідентифікації серовару O157:H7 (ЕНЕС) сприяє те, що він не ферментує сорбіт на агарі Мак-Конки, не проявляє β-глюкуронідазної активності. У бактерій типу ЕТЕС виявляють токсини – термостабільний на мишах-сисунцях, термолабільний – на культурах клітин Y1 наднирників. При аналізі ферментативної активності звертають увагу на відсутність ферментації сорбози. Для виявлення *SLT-I і SLT-II* у випорожненнях хворих може бути використаний *ІФМ. Експрес-метод діагностики* діареєгенних *E. coli* є застосування відповідних ДНК-зондів. Вони дозволяють виявити гени плазмід, які відповідають за патогенність *E. coli* або синтез їх цитотоксинів.

ПРОФІЛАКТИКА ТА ЛІКУВАННЯ

Профілактичні заходи – це правила санітарно-гігієнічного режиму й особистої гігієни; раннє виявлення хворих і їх госпіталізація; систематичне обстеження працівників дитячих закладів і матерів; хворих на диспепсію; захист води і харчових продуктів від забруднення фекаліями; знищення мух, дотримання санітарно-гігієнічної культури населенням. Специфічну профілактику не проводять. Для лікування використовують антибіотики: левоміцетин, неоміцин, поліміксин, ампіцилін, тетрациклін; аміноглікозиди; нітрофуранові препарати; при хронічній інфекції застосовують колібактеріофаги і автовакцину; при кишковому дисбактеріозі використовують колібактерин, виготовлений з живої культури штаму кишкової палички $M_{17;}$ біфідумбактерин; лактобактерин; біфікол та інші. Тепер випускають коліпротейний фаг, використання якого дає добрі результати. Для порушення водно-сольового обміну застосовують оральні солеві розчини. Їх випускають в пакетах у вигляді порошку: NaCl – 3,5 г; $NaHCO_3$ – 2,5 г; KCl – 1,5 г і глюкози – 20,0 г на один літр води.

Останнім часом збільшилась кількість стійких до антибіотиків штамів ешерихій, які виділяються як від здорових, так і від хворих людей. Резистентність зумовлена передачею R-плазмід.

Питання для самоконтролю

1. На дослідження в бактеріологічну лабораторію було відправлено випорожнення хворої дитини грудного віку, з яких виділена культура ентеропатогенних кишкових паличик О55К59. На основі яких критеріїв виділена культура віднесена до ЕПКП О55 ?
A. Антигенних властивостей
B. Морфологічних ознак
C. Культуральних ознак
D. Біохімічних властивостей
E. Визначення фаговару

2. У 1,5-річної дитини з'явилась блювота, пронос, підвищилась температура. На дослідження взято фекалії, які засіяно на середовище Ендо. Через 18 год на поверхні середовища виросли середніх розмірів, круглі, слабковипуклі червоні колонії з металевим полиском. Колонії яких бактерій виросли на середовищі Ендо ?
A. Shigella sonnei
B. Salmonella cholerae
C. Salmonella typhi
D. Escherihia coli
E. Staphylococcus aureus

3. Що потрібно зробити з лактозопозитивними колоніями E. coli, які виросли на середовищі Ендо після посіву матеріалу від хворого з підозрою на коліентерит?
A. Реакцію аглютинації з сумішшю ОВ-сироваток патогенних серогруп
B. Мазок, який забарвити за методом Грама
C. Відсіяти мікроорганізми на середовище Олькеніцького
D. Провести фаготипування мікроорганізмів
E. Всі відповіді вірні

4. Який результат серологічого дослідження при ГКЗ (гострі кишкові захворювання) свідчить про етіологію умовно-патогенних мікроорганізмів родини Enterobacteriaceae ?
A. Титр специфічних антитіл в реакції агглютинації 1:20
B. Титр специфічних антитіл в реакції непрямої гемаглютинації 1:40
C. Чотирикратне зростання титру специфічних антитіл при дослідженні парних сироваток, відібраних у динаміці захворювання
D. Титр антитіл в реакції преципітації 1:100
E. Титр антитіл в реакції преципітації 1:200

5. До складу середовища Ендо входять:
A. МПБ, глюкоза, індикатор
B. МПА, глюкоза, індикатор
C. МПА, лактоза, індикатор

D. МПА, мальтоза, індикатор
E. МПБ, маніт, індикатор

6. За яким продуктом розпаду пептонів виявляють пептолітичні ферменти ?
A. Індол, H_2S
B. H_2O, CO_2
C. H_2O_2 , O_2
D. За всіма перерахованими
E. Утворенням газу

7. Якого кольору колонії E. coli на середовищі Ендо ?
A. Синього
B. Червоного
C. Фіолетового
D. Безбарвні
E. Чорного

8. E. coli на короткому ряді Гісса розкладає:
A. Всі вуглеводи до кислоти і газу
B. Глюкозу і маніт до кислоти
C. Всі вуглеводи, крім сахарози, до кислоти і газу
D. Не ферментує вуглеводів
E. Немає таких властивостей

9. Якого кольору колонії E. coli на середовищі Плоскірєва ?
A. Голубого
B. Рожевого
C. Жовтого
D. Безбарвні

10. Які з наведених представників бактерій роду Escherichia викликають дизентерієподібні захворювання у дітей, старших 1-го року та у дорослих людей ?
A. Ентеропатогенні E.coli
B. Ентеротоксигенні E.coli
C. Ентероінвазивні E.coli
D. Ентерогемолітичні E.coli
E. E.coli, що входять до складу нормальної мікрофлори кишечника

САЛЬМОНЕЛИ

До роду родини ентеробактерій належить більше 2000 різних бактерій, які викликають захворювання людини і тварин. Ці захворювання називаються сальмонельозами. Сальмонели подібні за морфологічними, культуральними і

ферментативними властивостями, але відрізняються за антигенною структурою.

Сальмонели поділяються на монопатогенні і поліпатогенні. До монопатогенних належать збудники черевного тифу, паратифу А і паратифу В. Ці хвороби уражують тільки людину. Друга група включає збудники захворювань, які уражують людину і тварин.

S. typhi вперше були виявлені К.Ебертом (1880) в органах людини, яка загинула від черевного тифу. В чистій культурі виділив Гаффкі (1884). Збудника паратифу А виявив Гвін (1898), а в самостійний рід виділили Бріон і Кайзер (1902). Збудника паратифу В вперше виділили в чистій культурі Ш.Ашар і Р.Бенсод (1896) при захворюваннях, подібних до черевного тифу із гною і сечі хворих. Детально вивчив Шотмюллер (1900). Майже одночасно американський вчений Д.Сальмон (1885) вперше описав збудника, виділеного при холері свиней (*S. cholerae suis*). Збудника паратифу С вперше виділив Хіршфельдт. Пізніше було описано багато подібних бактерій, об'єднаних у рід сальмонел, який названо за іменем американського вченого.

МОРФОЛОГІЯ

Всі сальмонели дрібні палички з закругленими кінцями, грамнегативні, перетрихи. Спор і капсул не утворюють. Окремі серовари, наприклад

S. gallinarum, S. pullorum, не мають джгутиків.

КУЛЬТИВУВАННЯ

Сальмонели – факультативні анаероби. Вони не вибагливі до поживних середовищ. Добре ростуть на МПА і МПБ при 37°С (від 20 до 40°С) і pH середовища 5,0-8,0.

КУЛЬТУРАЛЬНІ ВЛАСТИВОСТІ САЛЬМОНЕЛ

Середовище	**Ріст на середовищі**
селенітовий бульйон, середовище Мюллера, середовище Кауфмана, МПБ, жовч (10-20%) і середовище Рапопорт	S-форми утворюють рівномірне помутніння, а R-форми – осад
МПА	утворюють невеликі, діаметром 2-4 мм, ніжні, напівпрозорі, злегка випуклі, блискучі голубі колонії
На середовищі Ендо	колонії сальмонел злегка рожеві, прозорі
на ЕМС-агарі	ростуть у вигляді прозорих колоній, інколи з фіолетовим відтінком
на Плоскірєва	ростуть у вигляді безбарвних колоній, але виглядають більш щільними і мутними (*S. typhi),*

	оскільки не розщеплюють вуглеводи, які входять до складу середовища.
на вісмут-сульфіт агарі	через 48 год вони утворюють колонії чорного кольору з характерним металевим полиском, які залишають після себе слід, коли їх знімають петлею; *S.paratyphi B (S. schottmuelleri)* утворюють слизовий вал (диференціально-діагностична ознака даного серовару). Колонії сальмонел паратифу В товстіші.

ФЕРМЕНТАТИВНІ ВЛАСТИВОСТІ САЛЬМОНЕЛ

Сальмонели розщеплюють глюкозу, маніт, мальтозу, арабінозу, манозу, рамнозу, сорбіт, трегалозу і ксилозу з утворенням кислоти і газу. Винятком є збудники черевного тифу (*S. typhi*), які розщеплюють ці цукри тільки до кислоти без газу. Сальмонели не ферментують лактозу і сахарозу. Протеолітичні властивості: більшість сальмонел розщеплює білкові середовища з утворенням сірководню (збудники паратифу А не мають цієї властивості). Індол не утворюють. Желатин не розріджують. У природних умовах черевнотифозні сальмонели зустрічаються у вигляді двох біохімічних варіантів: ксилозододатних та ксилозовід'ємних. Оксидазовід'ємні, каталазододатні. Реакція Фогеса-Проскауера від'ємна.

ТОКСИГЕННІСТЬ

Ендотоксин – ліпополісахаридно-протеїновий комплекс

Ентеротоксин

ФАКТОРИ ПАТОГЕННОСТІ САЛЬМОНЕЛ

фібринолізин, плазмокоагулаза, гіалуронідаза, лецитиназа, виявляються у збудників черевного тифу і паратифів дуже рідко. Часто виявляється ДНК-аза (у 75-85% вивчених культур *S. typhi і S. paratyphi B*). Встановлено, що штами *S. typhi* , які мають плазміду, дуже вірулентні.

АНТИГЕННА СТРУКТУРА І КЛАСИФІКАЦІЯ САЛЬМОНЕЛ

Ще на початку XX ст. вчені помітили різну природу антигенів сальмонел. Кауфман і Уайт (1934) на основі результатів реакції аглютинації різних сальмонел з набором сироваток поділив всі сальмонели на групи, серовари і запропонував діагностичну схему їх антигенної структури. У відповідності з цією схемою тепер здійснюють ідентифікацію сальмонел. Сальмонели містять три антигенні комплекси: О, Н і Vi.

О-антиген – ліпополісахариднопротеїновий комплекс; він термостабільний. Всі сальмонели поділені на О-групи, кожна з яких характеризується наявністю певних О-антигенів: основного, який позначений цифрою (2, 4, 7, 8, 9 і т.д.), і додаткових, спільних для декількох О-груп (1, 12). Сьогодні відомо 67 О-груп, які позначені прописними буквами латинського алфавіту (A, B, C, D, E і т.д.).

Н-антиген зв'язаний з джгутиками, має білкову природу; він термолабільний. Н-антиген сальмонел неоднорідний, складається з двох фаз: першої – специфічної (становить 80 варіантів Н-антигенів I фази), що аглютинується специфічною видовою сироваткою, та другої – неспецифічної (становить 9 Н-антигенів II фази), яка аглютинується не лише видовою, а й груповою сироватками сальмонел, що мають дві фази Н-антигена; називаються двофазними на відміну від монофазних, які мають лише специфічний Н-антиген.

Сальмонели різних сероваріантів однієї О-групи мають різну першу фазу Н-антигена, яку позначають буквами латинського алфавіту. Другу фазу Н-антигена звичайно позначають арабськими цифрами: 1, 2, 5, 6, 7 і латинськими буквами. Число сероварів за Н-антигеном в 1992 році налічувало 2 324. Співвідношення різних О- і Н-антигенів визначає антигенну структуру культур і їх назву.

Є ще групи F, G, Y, J і інші групи.

S. typhi містить, крім цього, Vi-антиген (антиген вірулентності), який розташований у мікробній клітині більш поверхнево, ніж О-антиген, і перешкоджає аглютинації культури з О-сироваткою. Цей антиген термолабільний. Складається з трьох різних фракцій, але його основу становить складний полімер N-ацетилгалактозаміноуронова кислота. Його присутність зв'язували з вірулентністю збудника. Vi-антиген міститься також у клітинах *S. paratyphi C (S. hirschfeldii).* Втрата Vi-антигена супроводиться відновленням О-аглютинабельності. Кількісний вміст Vi-антигена у *S. typhi* може сильно змінюватися, тому Ф.Кауфман запропонував класифікацію *S. typhi* за вмістом Vi-антигена на три групи:

1). чисті v-форми (від нім. viel – багато),

2). чисті w-форми (від нім. wenig – мало) і

3). проміжні vw-форми.

На практиці для визначення антигенної структури сальмонел використовують діагностичні адсорбовані полівалентні і монорецепторні аглютинуючі О- і Н-сироватки, які містять антитіла (аглютиніни) до одного антигена тих сероварів сальмонел, які часто викликають захворювання людей і тварин. Ставлять реакцію аглютинації на склі і за наявністю аглютинації з певними сироватками характеризують антигенну структуру виділеної культури. Наприклад, культура аглютинується О-сироваткою "9" і "12" і Н-сироваткою "d"; знаходять за схемою серовар з таким антигенним складом (*S. typhi*), ставлять додаткову реакцію з Vi-сироваткою. Необхідно також відмітити, що в реакції аглютинації при взаємодії Н-антигенів з відповідними антитілами з'являється грубозерниста Н-аглютинація, О- і Vi-аглютинація – дрібнозерниста.

Є набори специфічних сальмонельозних **фагів**, які лізують тільки сальмонели відповідного фаговару (відомо більше 100). Встановлено, що одні фаги лізують сальмонели, які містять О-антиген, інші – (Vi-фаги) – тільки штами, які місять Vi-антиген. Ці дослідження проводяться для визначення джерела і шляхів поширення інфекції.

РЕЗИСТЕНТНІСТЬ

Сальмонели досить стійкі. При 100°С гинуть раптово, при 60-70°С – за 10-15 хв. Вони добре переносять низьку температуру, можуть зберігатися в чистій воді і льоді впродовж декількох місяців; в кип'яченому і соленому м'ясі – до 2 міс. Стійкі до висихання, довго зберігаються в поросі. Під дією дезінфікуючих речовин гинуть упродовж декількох хвилин (2-5% розчин фенолу, 3% розчин лізолу, 1 : 1000 розчин сулеми, 3-10% розчин хлораміну). Вміст у водопровідній воді активного хлору в дозі 0,5-1,0 мг/л або озонування води забезпечує її надійне знезараження як від сальмонел, так і від інших патогенних кишкових бактерій.

ПАТОГЕНЕЗ

Черевний тиф і паратифи – гострі інфекційні хвороби, які супроводжуються бактеріємією, загальною інтоксикацією, лихоманкою, ураженням лімфатичного апарата тонкого кишківника.

ДЖЕРЕЛО ІНФЕКЦІЇ

Джерело інфекції – черевного тифу і паратифів А і В є хвора людина і бактеріоносій. Джерелом інфекції паратифу В, окрім людини, можуть бути і тварини, в тому числі птахи.

Збудником внутрішньолікарняної сальмонельозної інфекції найчастіше є *S. typhimurium.* Відмічено також "лікарняні" спалахи, викликані *S. heidelberg, S. derby* і ін.

Харчові токсикоінфекції, які викликають сальмонели, називаються сальмонельозами. Сьогодні налічується більше 2200 сероварів сальмонел. У виникненні сальмонельозу основна роль належить:

1. *S. typhimurium* (бреславська паличка);
2. *S. enteritica (S.cholerae suis)* – (бактерії холери свиней);
3. *S. enteritidis* (бактерії Гертнера).

МЕХАНІЗМ ПЕРЕДАЧІ ІНФЕКЦІЇ

фекально-оральний, контактний

ШЛЯХ ПЕРЕДАЧІ ІНФЕКЦІЇ

через предмети, забруднені виділеннями людини,
через руки, воду, їжу, мухи

Зараження відбувається через рот. Інфікуюча доза в межах 100 000 особин. З ротової порожнини мікроорганізми потрапляють у шлунок, де частково руйнуються під дією шлункового соку і ферментів. Решта сальмонел надходять у тонкий кишківник, пілі 1-го, 3-тього і 4-го типів сприяють адгезії до клітин епітелію, проникають у лімфоїдну тканину тонкого кишківника (групові лімфатичні і солітарні фолікули), в якій розмножуються упродовж інкубаційного періоду (10-14 діб). До кінця цього терміну збудники надходять у лімфу і кров (бактеріємія) і розносяться по всьому організму. Збудники черевного тифу і паратифів виживають і розмножуються в фагоцитах. У період бактеріємії частина мікроорганізмів руйнується, при цьому звільняється

ендотоксин і виникають явища інтоксикації (стадія інтоксикації): підвищується температура, з'являється загальне недомагання, слабість, головний біль і т.п. Ендотоксин пригнічує діяльність ЦНС (окрім паратифу А), а також може спричинити розвиток міокардиту, міокардіодистрофії й інфекційно-токсичного шоку. В цей період вони локалізуються в лімфоїдній тканині внутрішніх органів, системі макрофагів, печінці, селезінці, кістковому мозку (стадія паренхіматозної дифузії). Сальмонели нагромаджуються в жовчному міхурі, де є сприйнятливі умови для розмноження, оскільки жовч – добре поживне середовище для бактерій. При цьому вони другий раз потрапляють у тонкий кишківник і, уражуючи вже сенсибілізовану лімфоїдну тканину (групові лімфатичні і солітарні фолікули), викликають утворення специфічних черевнотифозних виразок.

На восьмий-дев'ятий день хвороби, а інколи і пізніше, у багатьох хворих з'являється розеольозний висип на шкірі живота, грудей і спини. Дрібні червоні плямки є наслідком місцевих запальних процесів алергічної природи на поверхневих шарах шкіри біля лімфатичних вузлів, в яких містяться збудники. З кінця другого і початку третього тижня сальмонели починають виділятися з організму з калом і сечею, слиною, потом, молочними залозами (видільна алергічна стадія). Період реконвалесценсії (виздоровлення) характеризується очищенням організму від збудника, підсиленням фагоцитарної активності клітин, нагромадженням антитіл у крові.

Але при черевному тифі і паратифах бактеріовиділення інколи не закінчується з виздоровленням хворого, а формується бактеріоносійство. В залежності від клінічних проявів виділяють типові і атипові форми; за важкістю – легкі, середньотяжкі і тяжкі ураження. За характером перебігу – циклічні, рецидивуючі, неускладнені і ускладнені.

ІМУНІТЕТ

Вроджений імунітет слабкий. Після перенесеного захворювання залишається стійкий імунітет. Під час захворювання в кінці першого тижня виробляються різні антитіла: аглютиніни, преципітини, опсоніни, бактеріолізини, комплементзв'язуючі антитіла, які зберігаються упродовж декількох років, максимум їх досягає на 14-15 добу. У формуванні імунітету має значення підвищення активності фагоцитів та інші клітинні фактори. Імунітет після вакцинації нетривалий (біля 12 міс.).

МЕТОДИ ЛАБОРАТОРНОЇ ДІАГНОСТИКИ ЧЕРЕВНОГО ТИФУ І ПАРАТИФІВ

Черевний тиф і паратифи – гострі інфекційні хвороби, які можна диференціювати лише за допомогою бактеріологічних та імунологічних досліджень. При цьому черевний тиф викликає Salmonella typhi, а паратифи А і В –S.paratyphi A і S.schottmuelleri. Диференціювати їх за морфологічними ознаками неможливо. Вони, як і інші види з родини ентеробактерій (ешерихії, шигели, збудники сальмонельозів), безспорові і безкапсульні грамнегативні палички з закругленими кінцями розміром 1,5 – 3,0 х 0,5 мкм.

Мета дослідження: виділення збудників захворювання і їх ідентифікація до виду: визначення хемовару, серовару, фаговару сальмонел.

Матеріал для дослідження: кров, випорожнення, сеча, доуденальний вміст, жовч.

Крім того, залежно від стадії захворювання досліджують різний матеріал: вміст розеол; кістковий мозок; харкотиння; матеріал, одержаний при розтині – шматочки органів. Від бактеріоносіїв досліджують випорожнення, сечу, жовч.

При токсикоінфекціях матеріалом для дослідження можуть бути промивні води шлунка, блювотні маси, залишки харчових продуктів.

Методи забору матеріалу

Кров (рання діагностика, виділення гемокультури сальмонел): 10-20 мл беруть стерильним шприцом з ліктьової вени і засівають біля ліжка хворого у флакони з елективним середовищем: 10-20% жовчний бульйон або середовище Рапопорта, основою якого також є 10% жовчний бульйон з додаванням 1% маніту чи 2% глюкози, 1% індикатора Андреде. Флакони з середовищем Рапопорта містять поплавок, у який потрапляє газ, що дозволяє думати про нагромадження в середовищі збудників паратифів.

Під час лихоманкового періоду достатньо взяти для посіву 5-10 мл крові. Після зниження температури тіла кількість бактерій у крові зменшується, тому необхідно брати 15-20 мл крові. Засівають кров у колби з середовищем у відношенні 1:10 (наприклад, 10 мл крові на 100 мл середовища). Флакони з посівом поміщають у термостат при температурі 37^0С не менше восьми діб (а при виявленні L-форм – до трьох-чотирьох тижнів). При розмноженні черевнотифозних сальмонел у результаті розщеплення ними маніту або глюкози до кислоти відбувається почервоніння середовища. При рості паратифозних сальмонел спостерігається почервоніння бульйону і заповнення поплавка газом, який утворюється при ферментації вуглеводів.

На наступний день посіви виймають з термостата, оглядають і, незалежно від ознак росту, проводять висів на щільні середовища Ендо, Плоскірєва.

При відсутності росту флакони з посівом залишають у термостаті. При відсутності росту на чашках через кожні дві доби повторюють висів на диференціальні середовища.

Відсутність росту після восьмої доби дозволяє дати негативну відповідь. Якщо є ріст, із підозрілих колоній виділяють чисту культуру, поміщають у термостат. Далі дослідження ведуть за загальною схемою.

Якщо кров не може бути засіяна біля ліжка хворого в поживне середовище, її транспортують в лабораторію в пробірці. Сироватку відділяють від згустка, який добре подрібнюють і засівають на ті ж самі поживні середовища, що і кров.

Випорожнення (дослідження з перших днів захворювання і до виписки хворого з стаціонару проводиться перший раз – до початку антибактеріальної терапії, а пізніше – не раніше 48 год після закінчення антибіотикотерапії). З другого-третього тижня хвороби найбільш результативним є дослідження калу,

бо в цей час черевнотифозні і паратифозні сальмонели надходять із жовчю в кишківник. 3-5 г випорожнень поміщають у баночку чи пробірку з 30% гліцериновою сумішшю. Проводять посів на диференціальні середовища Ендо, Плоскірєва, вісмут-сульфіт агар і одну з середовищ збагачення: селенітове, Мюллера або Кауфмана з наступним (через 24 год) висівом на диференціальні середовища. Таким чином, посів на диференціальні середовища проводять двічі з інтервалом в один день. Зберігати зібраний матеріал у гліцериновій суміші можна 6-8 год (краще на холоді).

Метод посіву: зібраний матеріал шляхом струшування емульгують у консервуючій суміші, пізніше скляною паличкою чи трубочкою одну краплю емульсії наносять на поверхню поживного середовища в чашках Петрі та насухо втирають скляним шпателем спочатку на місці посіву, а пізніше по всій поверхні середовища. Метод дозволяє отримати ізольовані колонії.

Засіяні чашки поміщають у термостат. Через 18-24 год чашки виймають з термостата, оглядають. З підозрілих колоній виділяють чисту культуру. Далі дослідження проводять за загальноприйнятою схемою.

При відсутності підозрілих колоній дають негативну відповідь.

Сеча (дослідження з перших днів захворювання і до виписки хворого зі стаціонару, а також дослідження у здорових носіїв). До взяття сечі зовнішній отвір сечовипускного каналу обмивають ізотонічним розчином натрію хлориду. Першу порцію сечі зливають. Після цього 20-50 мл сечі збирають у стерильний посуд і центрифугують чи відстоюють. Проводять посів сечі та осаду сечі (центрифугують 15 хв при 3 000 об/хв) на диференціальні середовища Ендо, Плоскірєва, вісмут-сульфіт агар і на одну з середовищ збагачення – селенітове, Мюллера або Кауфмана з наступним (через 24 год) пересівом на диференціальні середовища. Посіви поміщають у термостат. На наступний день із підозрілих колоній виділяють чисту культуру. Далі дослідження проводиться за загальноприйнятою схемою.

Копрокультура (культура, виділена з калу) та уринокультура (культура, виділена з сечі) виділяється в кінці хвороби. Дослідження випорожнень, сечі і жовчі проводять для підтвердження діагнозу, контролю бактеріологічного виздоровлення при виписці реконвалесцентів і для діагностики бактеріоносійства.

Вміст розеол (виділення розеолокультури). Ділянку шкіри з вираженими розеолами протирають спиртом, промивають ізоточним розчином хлориду натрію, і стерильним скальпелем зішкрябують поверхню розеол. На скарифіковану частину шкіри наносять краплю 10-20% жовчного бульйону, який змішується з вмістом розеол. Декілька крапель цієї суміші насмоктують пастерівською піпеткою. Тонкий кінець піпетки запаюють і відсилають у лабораторію. В лабораторії зібраний матеріал засівають на диференціальні (в чашках Петрі) і елективні середовища – 10-20% жовчний бульйон. Посіви поміщать у термостат. Далі досліджують за загальноприйнятою схемою.

Кістковий мозок. Збудники черевного тифу і паратифів можуть довгий час зберігатися в кістковому мозку. Для отримання вмісту кісткового мозку

проводять стерильну пункцію (0,5-0,75мл). Отриманий пунктат засівають на середовище збагачення з наступним (через 24 год) висівом на диференціальні середовища. Далі дослідження проводять за загальноприйнятою схемою.

Дуоденальний вміст. Дослідження жовчі можна проводити з перших днів захворювання, впродовж усього лихоманкового періоду і в період реконваленсценції. Матеріал забирають натще шляхом дуоденального зондування в лікувальному закладі в стерильні пробірки дуоденальний вміст, жовч з піхура і жовч з жовчевивідних шляхів, роздільно порції А, В і С відповідно. Посів можна проводити з окремих порцій і з їх суміші. Сама жовч є поживним середовищем для сальмонел, тому отриману жовч інкубують у термостаті. На наступний день проводять посів на диференціальні середовища. При відсутності росту після першого висіву жовч залишають у термостаті на десять діб, періодично проводячи висіви через дві доби. Культура, виділена із дуоденального зондування називається білікультурою.

Якщо на щільних середовищах виростають підозрілі колонії, їх дослідження проводять за загальноприйнятою схемою.

Блювотні маси (забирають в об'ємі біля 100мл). Якщо блювотні маси густої консистенції, їх розводять ізотонічним розчином хлориду натрію у відношенні 1:10. Дві-три краплі з верхнього шару засівають на диференціальні середовища і середовища збагачення. Далі досліджують за загальноприйнятою схемою. Промивні води шлунку (перші порції) і блювотні маси досліджують при тонсикоінфекціях. Вони, як правило, мають кислу рекцію, тому перед посівом їх нейтралізують 5-10% розчином бікарбонату натрію (питтєва сода). Промивні води центрифугують 15 хв при 3 000 об/хв і для посіву застосовують осад. Якщо неможливо відцентрифугувати промивні води – допускається посів нативного матералу.

Харчові продукти. Рідкі чи напіврідкі продукти розмішують, дві-три краплі засівають на диференціальні середовища і середовища збагачення. При дослідженні щільних продуктів стерильним шпателем чи ножем беруть 5-10 г з глибини, емульгують в ізотонічному розчині хлориду натрію або 0,1% пептонній воді у відношенні 1:5 чи 1:10 і засівають на диференціальні середовища і середовища збагачення. Якщо виростають підозрілі колонії, далі дослідження проводиться за загальноприйнятою схемою.

Секційний матеріал. Досліджують шматочки органів (маса 20г): печінки, селезінки, нирок, кісткового мозку, тонкого кишківника (стінки і вмісту), а також кров і жовч. Кров і жовч набирають пастерівською піпеткою; місце введення піпетки попередньо припікають нагрітим на спиртівці скальпелем.

Шматочки органів беруть стерильними ножицями і пінцетом та поміщають у стерильний посуд (краще в чашки Петрі). Пізніше їх розтирають у стерильній ступці і проводять посів на диференціальні середовища і середовища збагачення, які забезпечують нагромадження і пригнічення росту інших мікроорганізмів. Далі дослідження ведуть за загальноприйнятою схемою.

При менінгіальному або менінгоенцефалітичному синдромі досліджують спинно-мозкову рідину (3-5мл), яку в термосі транспортують в лабораторію оберігаючи від замороження. Дослідженню підлягає молоко матерів,

харкотиння (гнійні комочки засівають на середовище Плоскірєва і кров'яний агар). Незалежно від характеру взятого для дослідження матеріалу з моменту виділення чистої культури дослідження ведуть за загальною схемою.

О С Н О В Н І М Е Т О Д И Д О С Л І Д Ж Е Н Н Я:

1.Бактеріологічний.

2.Серологічний.

У перший день дослідження зібраний і підготовлений матеріал висівають на диференціальні середовища і середовища збагачення (селенітове або жовчний бульйон). На середовище Плоскірєва і вісмут-сульфіт агар засівають у два рази більше матеріалу, ніж на середовище Ендо, бо в першому середовищі є фактори, які затримують ріст; на селенітове середовище посів проводять у відношенні 1:5.

На другий день дослідження виймають чашки з термостата (інкубація 18-24год) і оглядають колонії, які виросли, неозброєним оком і за допомогою лупи. Декілька (5-6) підозрілих лактозовід'ємних колоній виділяють на середовище Олькеніцького чи Ресселя або середовище ДУКС. Посів проводять так: зняту колонію обережно, не торкаючись краю пробірки, вносять у конденсаційну рідину, пізніше штрихами засівають всю скошену поверхню середовища і роблять укол по центру в глибину стовпчика для виявлення газоутворення.

Пробірки з посівами поміщають у термостат. Якщо досліджуваний матеріал був посіяний на середовище збагачення, то через 18-24 год проводять висів із середовищ збагачення на чашки з диференціальними середовищами. Далі дослідження проводять за загальноприйнятою схемою.

На третій день дослідження виймають пробірки з посівами із термостата і оглядають характер росту.

До складу комбінованих середовищ входить лактоза, глюкоза, сахароза, сечовина й індикатор Андреде. Якщо культура ферментує лише глюкозу, то індикатор змінює тільки глибину стовпчика, бо на поверхні є невелика кількість кислоти, яка нейтралізується лужними продуктами розпаду пептону. Якщо ж ферментується лактоза і сахароза – кислоти утворюється багато, змінюється pH середовища, індикатор забарвлює як скошену поверхню, так і стовпчик середовища. Якщо виділені культури зброджують лактозу чи розщеплюють сечовину, змінюючи колір всього середовища, то вони не є сальмонелами, і можна дати негативну відповідь.

Культуру, яка розщеплює лише глюкозу, вивчають далі: роблять мазки, забарвлюють їх за Грамом і мікроскопують. При виявленні в мазках грамнегативних паличок проводять ідентифікацію: посів на строкатий ряд Гіса, бульйон Хотінгера, середовище Строгова з папірцями на індол та сірководень, на середовище Аселя-Лібермана (10% лактоза), в пробірку з лакмусовим молоком та желатиною, посів мінімальної дози культури на цитратний агар Сімонса (склад середовища: солі, дистильована вода, агар-агар, 1,5% спиртовий розчин бромтимолового синього; якщо сальмонели засвоюють або не засвоюють цитрати, вони дають або не дають зміну кольору середовища на

волошковий, облік проводиться до чотирьох діб культивування при 37^0C упродовж 18-20 год), масивний посів чистої культури по косяку на середовище Крістенсена з сечовиною (склад середовища: пептон, хлорид натрію, однозаміщений фосфорнокислий калій, глюкоза, феноловий червоний, сечовина, агар-агар; культивування при 37^oC, облік через 2,4,6 год та до семи діб культивування, сальмонели не дають росту на середовищі Крістенсена), ацетатні середовища (різні результати), мінімальний посів культури на середовища з лізином і орнітином для виявлення декарбоксилаз амінокислот (в серологічні пробірки наливають по 1% L-лізину, 1% L-орнітину, третя – контрольна; склад середовища: пептон, дріжджовий екстракт, глюкоза, 1,6% спиртовий розчин бромтимолового синього, 1% L-лізин, 1% L-орнітин, вазелінове масло; культивування при 37^oC 24 год, сальмонели утворюють лужні продукти та забарвлюють першу пробірку з лізином у голубий колір, жовте забарвлення з'являється внаслідок ферментації глюкози, сальмонели ведуть себе по різному).

Рухливість можна визначити у ″завислій″ чи в ″роздавленій″ краплі, а також за характером росту на напіврідкому середовищі Гіса чи в 0,2% агарі Кларка. При посіві уколом ріст рухливих бактерій на середовищі дифузний, середовище мутніє.

Для вивчення біохімічної активності використовуються також СІП (системи індикаторні паперові) та планшетні набори тестів: ентеротести 1, 2 та ін. Широко розповсюджені диференціально-селективні ксилозо-лізин-деоксихолатні (XLD-агар) середовища для сальмонел і шигел (SS-агар); колонії сальмонел червоні з чорним центром (за рахунок утворення H_2S). Однак ці середовища не більш селективні, ніж вісмут-сульфітний агар або агар з брильянтовим зеленим.

На четвертий день враховують біохімічну активність за результатами ферментації вуглеводневих і інших середовищ. Після вивчення біохімічних, морфологічних, культурних властивостей виділеної культури необхідно провести аналіз антигенної структури.

Серологічну ідентифікацію сальмонел починають з реакції аглютинації на склі з полівалентною адсорбованою О-сироваткою до сальмонел груп ABCDE, що містить аглютиніни до специфічних антигенів груп A,B,C,D,E і виділеною культурою. При відсутності аглютинації виділену культуру досліджують з полівалентною О-сироваткою до груп сальмонел, які рідко зустрічаються (11, 13, 14, 16, 17, 23 і ін.). При додатній реакції з полівалентною сироваткою ABCDE культуру досліджують з груповими сироватками (2, 4, 7, 8, 9, 12). Після встановлення, до якої О-групи належить культура, визначають повну структуру її О-антигенів. Після цього визначають Н-антигени з монорецепторними Н-сироватками першої, а пізніше другої фази. Складають антигенну формулу виділеної культури та визначають сероваріант за таблицею Кауфмана-Уайта.

Для аглютинації з О-сироваткою необхідно брати верхню частину культури, що виросла на скошеній поверхні, а для аглютинації з Н-сироватками – з конденсату або з найнижчої частини (найбільш рухливі особини).

Культуру *S. typhi, S. dublin i S. paratyphi* С досліджують також з Vi-сироваткою з метою виявлення Vi-антигена.

При відсутності аглютинації з полівалентною О-сироваткою ABCDE і додатною реакцією аглютинації з полівалентною О-сироваткою до груп сальмонел, що рідко зустрічаються, для серологічної характеристики культури необхідно за допомогою додаткових біохімічних тестів підтвердити відношення виділеної культури до підроду *Salmonella*. Після чого визначають антигенну структуру за допомогою моновалентних О-сироваток (11, 13, 14, 16 і т.д.) і Н-сироваток.

S. typhi, яка містять Vi-антиген, досліджують Vi-фагами. Визначення фаговаріанта має велике епідеміологічне значення. Сьогодні прийнята схема фаготипування Крейгі і Фелікса (1947), яка складає 78 Vi-бактеріофагів і 78 фаготипів. Частину з них позначають латинськими буквами (А-Т), частину – арабськими цифрами (25-50). Культуру досліджують на вміст Vi-антигену в пробі з декількома Vi-бактеріофагами (I, IV, VII та ін.). Набори вкомплектовані фагами декількох серотипів.

Вкінці бактеріологічного дослідження визначається антибіотикограма.

Осіб, які виздоровіли, виписують із лікарні після дворазових від'ємних результатів бактеріологічних досліджень їх випорожнень.

Дослідження води на наявність тифопаратифозних бактерій проводять фільтруванням великих об'ємів (2-3 л) через мембранні фільтри, які потім вміщують на чашки з ВСА. Якщо є сальмонели, через одну-дві доби утворюються колонії чорного кольору.

СЕРОЛОГІЧНА ДІАГНОСТИКА ЧЕРЕВНОГО ТИФУ І ПАРАТИФІВ

Реакція Відаля. З другого тижня захворювання в крові хворих нагромаджуються антитіла проти збудника інфекції. Для їх виявлення досліджують сироватку крові хворого в реакції аглютинації. Як антиген застосовують вбиті культури сальмонел – діагностикуми. Інколи використовують живу культуру, виготовлену з автоштаму.

Для постановки реакції Відаля використовують сироватку хворого, набір діагностикумів, ізотонічний розчин хлориду натрію.

Поставити реакцію можна двома методами: *крапельним і об'ємним*.

На практиці частіше використовують *об'ємний* метод. При постановці лінійної реакції аглютинації кількість рядів повинна відповідати кількості антигенів (діагностикумів). Сироватку хворого послідовно розводять у трьох паралельних рядах пробірок від 1:100 до 1:1600, вносять О-діагностикуми: в пробірки першого ряду – черевнотифозний, другого – паратифозний А і третього – паратифозний В. О-антитіла до них в діагностичному титрі з"являються на другому тижні від моменту захворювання. Збудником захворювання вважають мікроорганізм, діагностикум з якого аглютинувався сироваткою хворого. Якщо сироватка крові хворого аглютинує одночасно два

або три види діагностикумів, необхідно враховувати титр аглютинації, бо збудники тифу і паратифів володіють спільними груповими антигенами. В цьому випадку специфічна аглютинація проходить у великих розведеннях, а групова – в менших розведеннях сироватки.

Виявлення Vi-антитіл пов'язують із наявністю в організмі збудників черевного тифу, тому визначення цих антитіл має велике епідеміологічне значення, оскільки дозволяє виявити бактеріоносіїв. Реакцію Відаля з Vi-діагностикумами використовують для виявлення антитіл у здорових носіїв черевнотифозних сальмонел.

Для виявлення бактеріоносіїв застосовується *алергічна шкірна проба* з Vi-тифіном (містить Vi-антиген). Через 20-30 хв утворюється почервоніння і припухлість – позитивна реакція (наявність Vi-антитіл в організмі). Для ідентифікації L-форм *S. typhi* запропоновані спеціальні імунофлуоресціюючі антитіла (до антигенів L-форм збудника). Оригінальний метод виявлення бактеріоносіїв був запропонований В.Муром. Він полягає в тому, що проводиться дослідження тампонів з каналізаційних люків населеного пункту.

Експрес-діагностика вірулентності черевнотифозних бактерій. Проводять зараження моношару клітин Hela, Нер-2 та ін. Для того завісину бактерій вносять в середовище 199 без антибіотиків з розрахунку 1 млрд бактерій /мл. Після 18-20 год інкубації при 37^0С визначають цитопатичний ефект.

ПРОФІЛАКТИКА

Дотримання правил особистої гігієни і проведення всіх санітарно-гігієнічних заходів: нагляд за джерелами водопостачання, контроль продуктів харчування і контроль за підприємствами громадського харчування.

Профілактика включає ветеринарно-санітарні, санітарно-гігієнічні і протиепідемічні заходи. Ветеринарно-санітарні заходи спрямовані на попередження розповсюдження сальмонельозу серед домашніх ссавців і птахів (контроль за тваринами, які підлягають забою, своєчасне виявлення хворих тварин, слідкування за дотриманням правил забою, зберігання і транспортування м'яса, м'ясних продуктів). Необхідний контроль санітарного режиму на м'ясокомбінатах і на молочних підприємствах. Санітарно-гігієнічні заходи спрямовані на попередження забруднення сальмонелами харчових продуктів при їх обробці, транспортуванні і продажу. На харчових підприємствах і у сфері громадського харчування забезпечення санітарно-гігієнічного режиму, дотримання правил кулінарної обробки й особистої гігієни є важливою умовою профілактики харчових отруєнь. Працівників харчових підприємств, їдалень, дитячих закладів у плановому порядку обстежують на батеріоносіїв. У вогнищах захворювання проводять поточну і остаточну дезинфекцію. Хворих госпіталізують за клінічними і епідеміологічними показами. Осіб, які перехворіли, виписують після клінічного виздоровлення і при негативних контрольних бактеріологічних дослідженнях випорожнень, жовчі, сечі.

СПЕЦИФІЧНА ПРОФІЛАКТИКА

Застосовують вакцинацію: проти черевного тифу (моновакцина), проти черевного тифу і паратифу В (дивакцина), проти черевного тифу, паратифів А і В (тривакцина). Застосовується асоційована адсорбована вакцина, яка містить О- і Vi-антигени бактерій черевного тифу, паратифу В, а також концентрований очищений і сорбований правцевий анатоксин. Усі антигени, що входять до цієї вакцини, адсорбовані на гідраті окису алюмінію. Застосовують також тифозну спиртову вакцину, збагачену Vi-антигеном.

Створено нову нереактогенну вакцину, яка складається з Vi-антигена черевнотифозних сальмонел. Вона має високу ефективність і застосовується для імунізації як дорослих, так і дітей дошкільного віку.

Вакцинацію роблять у плановому порядку і за епідемічними показами, згідно з інструкціями і спеціальними вказівками санітарно-протиепідемічної служби.

Для профілактики черевного тифу особам, які живуть разом з хворим або користуються харчовими продуктами і водою, зараженими або підозрілими на зараженість сальмонелами черевного тифу, призначають сухий черевнотифозний фаг у вигляді таблеток.

ЛІКУВАННЯ

Антибіотики: левоміцитин, тетрациклін, ампіцилін, нітрофуранові препарати, застосування яких значно знижує тяжкість захворювання і зменшує його тривалість. Перенесення R-плазмід сальмонелами від *E. coli* або інших ентеробактерій може викликати появу небезпечних епідемічних клонів. Дуже складною проблемою є санація носіїв тифозних і паратифозних сальмонел.

Всім хворим з гастроінтестинальною формою сальмонельозу в перші години показано – промивання шлунка, при легкому перебігу – дієта №4 і велика кількість пиття; при середній тяжкості і тяжкому перебігу інфекції – внутрішньовенне введення сольових розчинів “Трисоль”, “Ацесоль”, “Квартосоль”.

При розвитку гіповолемічного шоку проводять реанімаційну терапію. При генералізованих формах поряд з патогенетичною терапією показано етіотропне лікування з включенням антибіотиків. Курс лікування призначають індивідуально залежно від форми і тяжкості захворювання. Застосовують левоміцитин, канаміцин, гентаміцин, цепорін.

Питання для самоконтролю

1. При визначенні родової належності ентеробактерій враховують:
A. Тип дихання
B. Харчові потреби
C. Біохімічні властивості
D. Морфологічні властивості

E. Культуральні властивості

2. Чи можлива попередня аглютинація ентеробактерій з середовища Ендо ?
A. Ні
B. Так

3. Які морфологічні і тинкторіальні властивості притаманні представникам родині ентеробактерій ?
A. Грамнегативні коки
B. Грампозитивні коки
C. Грамнегативні палички
D. Грампозитивні палички
E. Грамнегативні спіралеподібні бактерії

4. Вкажіть максимальний термін доставки нативних випорожнень до бактеріологічної лабораторії:
A. 12 годин
B. 6 годин
C. 8 годин
D. 2 години
E. 1 година

5. Вкажіть максимальний термін доставки випорожнень, відібраних в консервант, до бактеріологічної лабораторії:
A. 2 години
B. 6 годин
C. 8 годин
D. 12 годин
E. 16 годин

6. Яке співвідношення має бути витримано між випорожненнями та консервантом ?
A. 1:50
B. 1:25
C. 1:10
D. 1:3
E. 1:1

7. Від хворого з підозрою на черевний тиф виділено чисту культуру збудника. Які з наведених ознак характеризують збудника цього захворювання ?
A. Нерухомі, не мають капсули
B. Перитрихи, грампозитивні
C. Амфітрихи, грамнегативні

D. Грамнегативні, перитрихи
E. Мають капсули, грамнегативні

8. У лікарню поступив хворий з підозрою на черевний тиф. На яке середовище треба посіяти матеріал хворого і які культуральні властивості сальмонел на цьому середовищі ?
A. Середовища Ендо, Левіна; безбарвні колонії
B. Середовища Ендо, Левіна; колонії забарвлені в червоний колір
C. Середовищі Олькеницького; жовтіє стовпчик агару
D. Середовище Олькеницького; жовтіє стовпчик агару і скошена поверхня
E. МПА, прозорі; опуклі колонії

9. Від хворого з підозрою на черевний тиф виділено чисту культуру S. typhi. Яке середовище було для цього використано і які зміни цього середовища спостерігали ?
A. Середовища Ендо, Левіна; забарвлення колоній у червоний колір
B. Середовища Ендо, Левіна, колонії забарвлені в жовтий колір
C. Середовище Олькеницького; жовтіє стовпчик агару
D. Середовище Олькеницького; жовтіє стовпчик агару і скошена поверхня
E. Середовище Олькеницького; почорніння середовища на межі скошеної частини і стовпчика

10. Від хворого з підозрою на черевний тиф виділено чисту культуру збудника. Необхідно провести біохімічну ідентифікацію збудника. Які біохімічні ознаки властиві сальмонелам ?
A. Не розкладають лактози і сахарози
B. S. paratyphi A виділяє H_2S
C. За ступенем розкладання вуглеводів S. typhi не відрізняється від збудників паратифів
D. S. typhi, S. schottmuelleri на середовищі Олькеницького дають пожовтіння середовища на межі скошеної частини і стовпчика
E. Сальмонели розкладають всі вуглеводи ряду Гісса, крім сахарози

ШИГЕЛИ

Перші спроби виявити роль бактерій в етіології дизентерії були зроблені А.Шантемесом і Ф.Відалем (1888), описані А.В.Григор'євим (1891). Дещо пізніше збудники дизентерії виділяли і вивчали К.Шига (1898), В.Краузе (1900), С.Флекснер (1900) і К.Зонне (1915). М.І.Штуцер і К.Шмітц (1917), Дж.Бойдом (1932), Д.Ларджем (1934), А.Саксом (1943).

Бактеріальна дизентерія – поліетіологічне захворювання. Його спричиняють різні види бактерій шигел, які названі так, в честь К.Шига.

МОРФОЛОГІЯ

Шигели – невеликі палички з закругленими кінцями. Відрізняються від решти представників родини кишкових бактерій відсутністю джгутиків. Вони не мають спор і капсул. Грамнегативні. У деяких штамів шигел Флекснера виявлено фімбрії, що виконують функцію адгезії до епітелію слизової оболонки товстого кишківника і мають статеві пілі, які беруть участь в кон'югації.

КУЛЬТИВУВАННЯ

Шигели – факультативні анаероби. Розмножуються на МПА і МПБ при 37^0 С і pH 7,2-7,4.

На середовищах Плоскірєва, Ендо, ЕМС (Левіна)	напівпрозорих, сіруватих, круглих колоній розміром 1,5-2 мм в S-формі. Винятком є шигели Зонне, які дисоціюють, утворюючи великі, плоскі, мутні, з порізаними краями колонії R-форми
На МПБ	S-форми шигел утворюють рівномірне помутніння, R-форми – осад, середовище прозоре
На селективно-диференціально ксилозо-лізин-дезоксихолатному середовищі (XLD), в яке входить феноловий червоний	утворюють червоні колонії (не ферментують ксилолу)

ФЕРМЕНТАТИВНІ ВЛАСТИВОСТІ

За міжнародною класифікацією, шигели поділяються на дві групи: які не ферментують маніт (манітвід′ємні) і які ферментують маніт (манітдодатні). Манітвід'ємними є шигели дизентерії: серовар 1-12, Флекснер 6 (біовар Ньюкастл), а манітдодатні – переважно шигели Флекснера, Бойда, Зонне. Вони ферментують вуглеводи без газоутворення (глюкозу – *S. dysenteriae*; *S. flexneri* слабо активні у відношенні мальтози, сахарози, арабінози і рамнози – не ферментують або розщеплюють на 6-10 добу або пізніше, майже всі утворюють індол, бактеріїї серогрупи 6 – варіант Ньюкастл, а також Манчестер, утворюють невелику кількість газу при ферментації глюкози і інших вуглеводів, не ферментують лактозу, дульцит і ксилозу; *S. boydii* ферментують в перші 24 год ксилозу, дульцит і арабінозу, деякі шигели Бойда можуть ферментувати мальтозу на 6-20 добу, не ферментують адоніт, інозит; не утилізують малонат і цитрат натрію в середовищі Сімонса, не продукують ацетоїн в реакції Фогес-Проскауера, не містять фенілаланіндезамінази, лізинкарбоксилази, не олужнюють середовища Крістенсена, але дають додатню реакцію з метилротом.

Винятком є *S. sonnei*, які через 48 год ферментують глюкозу, а на третю-п'яту добу розщеплюють лактозу, а також розщеплюють ксилозу, арабінозу і рамнозу, не ферментують сорбіт і дульцит, не утворюють індол. Зараз шигели Зонне поділяють на чотири ферментативні типи. Розрізняються вони за властивістю ферментувати рамнозу, ксилозу, мальтозу. Протеолітичні властивості у шигел мало виражені – утворення індолу і сірководню не постійне, молоко не пептонизують, желатин не розріджують, сечовину не гідролізують. Не мають уреази. Оксидазовід'ємні, каталазододатні. Всі шигели не утворюють сірководню на агарі Кліглера, трьохцукровому агарі та агарі з ацетатом свинцю.

Біохімічні властивості бактерій роду Shigella

Тест або субстрат	Реакція	Тест або субстрат	Реакція
Адоніт	-	Реакція Фогеса-Проскауера	-
Арабіноза	х	Індол	-,+
Гліцерин	х	Сірководень	-
Глюкоза (газ)	-, +	Сечовина (гідроліз)	-
Дульцит	х	Желатин (22^0C)	-
Інозит	-	Фенілаланіндезаміназа	-
Ксилоза	х	Лізиндекарбоксилаза	-
Лактоза	-, +	Аргініндегідролаза	х
Мальтоза	х	Орнітиндекарбоксилаза	-, +
Маніт	+, -	Цитрат Сімонса	-
Рамноза	х	Цитрат Крістенсена	-
Рафіноза	х	Ацетат	-
Саліцин	-	Малонат	-
Сахароза	-	Мукат	-
Сорбіт	х	D-Тартрат	-
Трегалоза	х	β-Галактозидаза	-, +
Целобіоза	-	KCN	-
Реакція з метиловим червоним	+	Рухливість	-

ПАТОГЕНЕТИЧНА ДІЯ ТОКСИНІВ ШІГЕЛ

екзотоксини Шига	виражений тропізм до нервової системи і слизової оболонки кишок
шигаподібні (*SLT-I і SLT-II*)	у токсина Шига встановлена гемолітична активність *in vitro*

ендотоксини	має імуносупресивну дію – пригнічує активність клітин імунної пам'яті

АНТИГЕННА СТРУКТУРА І КЛАСИФІКАЦІЯ ШІГЕЛ

О-антиген	соматичний, термостабільний ліпополісахариднопротеїновий комплекс, розташований у клітинній стінці бактерій. О-антиген визначає відношення культури до серологічної групи
К-антиген	Деякі серовари *S. dysenteriae, S. flexneri*, *S. boydii* мають капсульний, К-антигени

Схема класифікації бактерій роду Shigella (1982)

Підгрупа, вид	Серовар	Підсеровар	Скорочена антигенна формула	
			Типовий антиген	груповий антиген
A. S. dysenteriae	1-12	-	-	
B. S. flexneri	1	1a	1:	2.,4…
		1b	1:S	6: 2,4
	2	2a	II:	3,4…
		2b	II:	7,8…
	3	3a	III:	6:7,8…
		3b	III:	6:3,4
		3c	III:	6
	4	4a	IV:	B:3,4…
		4b	IV:	B:6:3,4…
	5	5a	V :	(3,4)…
		5b	V:	7,8…
	6	-	VI:	2,4
	X-variant	-	-:	7,8…
	Y-variant	-	-:	3,4…
C. S. boydii	1-18	-		
B. S. sonne	-			

РЕЗИСТЕНТНІСТЬ

Шигели малостійкі до дії фізичних, хімічних і біологічних факторів навколишнього середовища, куди вони проникають з випорожненнями хворих дизентерією або бактеріоносіїв. Температура 100 ^{0}С вбиває їх миттєво, 60 ^{0}С –

через 20-30 хв. До низьких температур шигели стійкі. В річковій воді вони зберігаються до 3 місяців, на овочах і фруктах – до 10-15 місяців. Ультрафіолетові промені діють згубно впродовж 10 хв. Сонячне проміння вбиває їх через 2-3 год, а шигели Шига – через 20 хв. Дезрозчини в звичайних концентраціях гублять їх через 20-30 хв. Найменш стійкі до впливу навколишніх факторів шигели групи А, а найбільш стійкі шигели Зонне.

У шлунковому соку шигели виживають декілька хвилин. В пробах фекалій можуть зберігатися не довше 6-10 год внаслідок згубної дії кислого середовища кишківника і мікробів-антагоністів. Але у висушених чи заморожених фекаліях залишаються життєздатними впродовж декількох місяців.

Протягом двох-трьох діб дизентерійні палички залишаються життєздатними в кишківнику і на поверхні тіла мух. Доступ мух до нечистот і харчових продуктів може відігравати велику роль у розповсюдженні дизентерії.

ПАТОГЕНЕЗ

Дизентерія – інфекційне захворювання, яке характеризується інтоксикацією організму, проносами з хворобливими корчами сигмовидної і прямої кишки. Збудником цього захворювання є група бактерій, об’єднана спільною родовою назвою – *Schigella*.

ДЖЕРЕЛО ІНФЕКЦІЇ

є людина, хвора на гостру або хронічну дизентерію, носій.

МЕХАНІЗМ ПЕРЕДАЧІ ІНФЕКЦІЇ

фекально-оральний, контактний;

ШЛЯХ ПЕРЕДАЧІ ІНФЕКЦІЇ

аліментарний, водний, контактно-побутовий.

Зараження проходить через інфіковані продукти (молоко і молочні продукти), воду, мухи, різні предмети, брудні руки. Інфікуюча доза 200-300 живих клітин. Інкубаційний період від двох до семи діб. Проникаючи перорально, в кислому середовищі шлунка і під впливом захисних механізмів тонкого кишківника частина шигел гине. Дизентерійні бактерії локалізуються в клітинах слизової оболонки і підслизового шару товстої кишки, де розмножуються без проникнення у кров й інфікують сусідні клітини. Викликають спочатку гостре катаральне, а пізніше – дифтеритичне запалення слизової оболонки. При руйнуванні бактерій звільняється ендотоксин, який сенсибілізує слизову оболонку, судини і рецептори слизової оболонки, діє на нервові закінчення. При цьому підвищується проникливість кровоносних судин, ендотоксин всмоктується у кров, викликаючи інтоксикацію. З’являються перші симптоми захворювання: морозить, лихоманить. Ураження супроводжується глибокими некрозами, геморагіями. В результаті цього утворюються виразки.

Симптоми захворювання: слабкість, блювота, підвищення температури тіла, апатія, випорожнення рідкі, слизові, кров'яні, до 40 разів на добу, які супроводжуються різкими болями. Характерні тенезми (хворобливий поклик на дефекацію прямої кишки), синдром коліту, ураження нервової системи і внутрішніх органів. Як було сказано, цитотоксини, крім того, що руйнують епітеліальний покрив кишківника, викликаючи розвиток катарально-виразкового запалення, порушують водно-сольовий, вуглеводний і білковий обмін речовин, обумовлюючи полігіповітаміноз. Ентеротоксин викликає діарею, ендотоксин – загальну інтоксикацію. У кишківнику виникає дисбактеріоз.

Токсичні та важкі форми дезинтерії викликаються *S. dysenteriae* серовар 1. Найбільш розповсюджені форми дезинтерії Флекснера і Зонне. Водні спалахи інфекції були виявлені шигелами Флекснера, в молоці виявлені шигели Зонне.

ІМУНІТЕТ

Слабковиражений, короткочасний, групоспецифічний. Після захворювання розвивається місцевий імунітет – підсилюється синтез лімфоїдними клітинами слизової оболонки кишківника SIgA, які покривають слизову оболонку і перешкоджають адгезії і проникненню шигел в епітеліальні клітини. В крові хворих виявляють різні антитіла (аглютиніни, бактеріолізини, опсоніни, комплементзв'язуючі антитіла і антитоксини – при дизентерії, яка викликана токсигенними штамами).

МЕТОДИ МІКРОБІОЛОГІЧНОЇ ДІАГНОСТИКИ

Мета дослідження: виявлення й ідентифікація шигел для постановки діагнозу; виявлення бактеріоносіїв; виділення шигел із харчових продуктів.

Матеріал на дослідження	**Основні методи дослідження**	**Середовища**
Випорожнення секційний матеріал блювотні маси і промивні води шлунка і кишок змиви харчові продукти сироваткою хворого	Мікробіологічний Серологічна діагностика – **РНГА,** опсоно-фагоцитарну реакцію; реакцію зв'язування комплементу; визначають імуноглобуліни класу G, РЕМА, ІФА, коаглютинацію; **біологічну пробу** на морських свинках (розвивається кон'юнктивіт)	Плоскірєва, Ендо, ЕМС; селенітовий бульйон (у відношенні 1:4, 1:5) і інкубують до 16 год. Всі посіви поміщають у термостат при 37^0 С.

ЗАБІР МАТЕРІАЛУ

Матеріал необхідно забирати до прийому антибіотиків, перші порції калу. З підкладного судна, промитого гарячою водою, з паперових тарілок чи серветок, беруть 3-5 г випорожнень. відбір проб калу (слизу, домішок слизу) з горшка і тампонами (петлями) безпосередньо з прямої кишки (сліди дезречовин можуть відобразитися на результатах дослідження).

Промивні води кишківника отримують за допомогою клізм. При транспортуванні на великі відстані випорожнення збирають у велику широку пробірку з консервуючою рідиною (30% нейтрального гліцерину і 70% фізрозчину) в кількості 1/3 фекалій на 2/3 (5-10 мл) цієї суміші. Зберігають у темному місці при низькій температурі. Посів випорожнень повинен бути проведений не пізніше 12-24 год з моменту взяття матеріалу. Консервантом може бути 1,5-3% гіпертонічний розчин кухонної солі (2-3 г випорожнень на 10 мл консерванта) і середовище Лейфсона (входить селенітокислий натрій, який стимулює ріст дизентерійних бактерій, одночасно пригнічуючи розвиток супутньої мікрофлори – кишкової палички, стафілококів, ентерококів та інших мікроорганізмів).

Секційний матеріал – два-три відрізки товстого кишківника розтирають у ступці, додаючи фізіологічного розчину у відношенні 1:5, 1:10 зі стерильним піском. Отриману суспензію засівають.

Харчові продукти забирають, як при токсикоінфекціях.

ДОСЛІДЖЕННЯ

Середовище Плоскірєва одночасно є елективним середовищем, бо пригнічує ріст кишкової палички і перешкоджає розмноженню бактеріофага, який нерідко перебуває у виділеній культурі.

ПРОФІЛАКТИКА

Забезпечується здійсненням комплексу загальних заходів: захистом води, харчових продуктів від інфікування збудниками дизентерії; ранньою лабораторною діагностикою; госпіталізацією або ізоляцією хворих вдома з дотриманням відповідного режиму; дезинфекцією вогнищ захворювання; повноцінним лікуванням хворих; наглядом за вогнищами захворювання і здійсненням профілактичних заходів; додержанням санітарно-гігієнічних режимів у дитячих закладах, житлових і робочих приміщеннях, на підприємствах харчової промисловості, у їдальнях і магазинах. В сезон під'йому захворюваності, а також у вогнищі інфекції за епідемічними показами з метою профілактики можна застосувати дизентерійний полівалентний бактеріофаг, який випускається в сухому, рідкому вигляді та у формі супозиторій. Застосовується не рідше одного разу в три дні (термін його виживання в кишківнику).

Ведуться випробування протидизентерійних живих вакцин, призначених для перорального введення.

ЛІКУВАННЯ

Застосування бактеріальних препаратів (біфікол, біфідумбактерин), переливання плазми, здійснення дезинтоксикаційних заходів відновлення порушеного водно-електролітного обміну, точно диференційоване призначення антибіотиків широкого спектру дії (левоміцетин, вітациклін, морфоциклін), сульфаніламідних препаратів (фталазол, сульгін та ін.) з врахуванням чутливості. Застосовується полівалентний дизентерійний бактеріофаг, особливо в таблетках з пектиновим покриттям, яке оберігає фаг від дії соляної кислоти шлункового соку; в тонкому кишківнику пектин розчиняється, фаги звільняються і проявляють свою дію.

Питання для самоконтролю

1. У хворого з типовою клінічною картиною шигельозу внаслідок раннього застосування антибіотиків під час бактеріологічного дослідження випорожнень шигели не виявлені. Титр антишигельозних антитіл у РПГА у парних сироватках у цього хворого виріс у 4 рази. Про що це свідчить?
A. Вакцинальну реакцію
B. Виключає діагноз шигельозу
C. Переніс шигельоз раніше
D. Неспецифічну реакцію
E. Підтверджує діагноз шигельозу

2. Під час бактеріологічного дослідження випорожнень хворого на кишкову інфекцію було виділено Shigella sonnei. Яку з названих серологічних реакцій було застосовано для ідентифікації виділеної чистої культури ?
A. Зв'язування комплементу
B. Преципітації
C. Аглютинації
D. Нейтралізації
E. Лізису

3. В інфекційне відділення лікарні госпіталізовано хворого зі скаргами на нудоту, рідкі випорожнення зі слизом і прожилками крові, підвищення температури тіла, слабкість. Лікар запідозрив шигельоз. Який метод лабораторної діагностики найдоцільніше призначити для підтвердження діагнозу ?
A. Бактеріологічний
B. Серологічний
C. Мікологічний
D. Мікроскопічний
E. Алергічний

4. У пацієнта з ознаками коліту виділено чисту культуру бактерій, яка за

морфологічними, культуральними та біохімічними властивостями віднесена до роду шигел. Яку з названих реакцій доцільно застосувати для серологічної ідентифікації ?
A. Гальмування гемаглютинації можливих збудників захворювання
B. Зв'язування комплементу
C. Непрямої гемаглютинації

D. Преципітації
E. Аглютинації з діагностичними сироватками

5. На основі яких досліджень можлива найбільш повна ідентифікація шигел ?
A. Визначення кератокон`юнктивальної проби
B. Визначення біохімічних властивостей і антигенної структури
C. Визначення антигенної структури
D. Постановка алергічної проби
E. Визначення культуральних властивостей

6. Четверо членів сім'ї сільськогосподарських імігрантів – мати, батько і двоє дітей – поступили в клініку із скаргами на діарею і гарячку тривалістю 6 - 12 годин. У них частий стілець, у фекаліях – кров. Декілька інших людей, які зайняті роботою в їх господарстві, перехворіли подібною діареєю. Це були особи, які готували вечерю минулого дня. У батьків нормальний стані. У дітей виражена втрата рідини та електролітів. Вірогідною причиною цього захворювання є:
A. Salmonella typhimurium
B. Salmonella typhi
C. Shigella flexneri
D. Ротавірус
E. Ентеротоксигенна Escherichia coli (ETEC)

7. У 18-річного студента спазмуючий біль у животі і пронос. Матеріал засіяно на середовище Плоскірева, на якому виросли грамнегативні палички. На середовищі Олькеницького ідентифіковано наявність сальмонел або шигел. Який тест буде свідчити про наявність одного з цих мікробів ?
A. Продукція urease
B. Рухомість на середовищі
C. Нездатність до ферментації лактози і сахарози
D. Ферментація глюкози
E. Продукція газу в середовищі

8. Виберіть властивості, які характеризують шигели:
A. Грамнегативні
B. Нерухомі
C. Не утворюють спор
D. Безкапсульними

E. Всі відповіді вірні

9. Охарактезуйте ріст шигел на диференціально-діагностичних середовищах:
A. На середовищі TCBS колонії жовті
B. На середовищі Левіна колонії фіолетові
C. На середовищі Плоскирєва колонії червоні
D. На середовищі Плоскирєва колонії безбарвні
E. На середовищі Ендо колонії червоні

10. Виберіть вірні твердження про біохімічні власивості шигел:
A. S. flexneri розкладають маніт
B. S. dysenteriae розкладають маніт
C. S. boydii розкладають сахарозу
D. S. dysenteriae розкладають глюкозу з виділенням газу
E. S. flexneri розкладають лактозу

УМОВНО-ПАТОГЕННІ БАКТЕРІЇ

КЛЕБСІЄЛИ

Рід *Klebsiella,* названий на честь німецького бактеріолога Е.Клебса, 4 роди входить до родини *Entherobacteriaceae,* які об'єднують капсульні бактерії, що викликають пневмонію і гнійно-запальні процеси – *K. pneumoniae. K. pneumoniae* поділяються на три підвиди: *K. pneumoniae* subsp. *pneumoniae,* риносклерому – *K. pneumoniae* subsp. *rinoscleromatis*, озену – *K. pneumoniae* subsp. *ozaenae.* З'явилися нові види клебсієл: *K. oxytoca, K. mobilis, K. planticola, K. terrigena* – роль яких в патології людини з'ясовується.

МОРФОЛОГІЯ

Клебсієли – короткі товсті палички із закругленими кінцями, грамвід'ємні еліпсовидні бактерії. Вони можуть розташовуватись поодиноко, парами або ланцюжками. Нерухомі. Не утворюють спор. Утворюють товсту полісахаридну капсулу, яка захищає бактерії від фагоцитозу. В мазках розташовуються поодиноко, попарно або короткими ланцюжками. *K. pneumoniae* subsp. *pneumoniae і K. pneumoniae* subsp. *ozaenae* мають фімбрії.

КУЛЬТИВУВАННЯ

Факультативні анаероби. Хемоорганотрифи. Ростуть на простих поживних середовищах при 35-370 С, рН 7,2. В молодих двох-чотирьох годинних колоній бактерії озени розташовуються розсіяно-концентричними рядами, риносклероми – концентричними, пневмонії – петлеподібно, що легко можна виявити при мікроскопії колоній при малому збільшенні мікроскопа та може бути застосовано для їх диференціації.

Вони дисоціюють з утворенням S- і R-форм. В окремих випадках можуть утворювати L-форми. На МПБ різні за структурою, дуже слизові, тягучі, блискучі колонії з трохи піднятим центром, куполоподібні, каламутні, а також

дрібні, неслизові, сухі; на бульйонії- нтенсивне помутніння або осад, слизова плівка на поверхні чи кільце на стінці пробірки. В напіврідких середовищах ростуть більше у верхній частині середовища. На середовищі Ендо лактозододатні колонії, на середовищі Плоскірєва утворюють лактозовід'ємні колонії, на середовищах Мак Конки колонії з металевим полиском.

ФЕРМЕНТАТИВНІ ВЛАСТИВОСТІ

Ферментують лактозу до кислоти, розщеплюють глюкозу і маніт з утворенням кислоти і газу, розкладають сечовину, утилізують цитрат і малонат, не утворюють індолу (крім *K. oxytoca*) і сірководню. Відновлюють нітрати в нітрити, желатин не розріджують, молоко не завжди згортають. Дають додатну реакцію Фогеса-Проскауера, позитивну реакцію на уреазу. Оксидазовід'ємні. Каталазододатні. Диференціація підвидів клебсієл проводиться за біохімічними ознаками.

ТОКСИНИ КЛЕБСІЄЛ

Виробляють термостабільний ендотоксин і термолабільний токсин. Клебсієли пневмонії утворюють термо- і кислотостабільний ентеротоксин (білок), дія якого проявляється в підсиленні виходу рідини в просвіт тонкого кишківника.

АНТИГЕННА СТРУКТУРА

Клебсієли розрізняють за антигенною структурою мікробної клітини, що покладено в основу класифікації бактерій цього роду.

О-антиген	соматичний, термостабільний 12 О-антигенів ліпополісахариднопротеїновий комплекс, розташований у клітинній стінці бактерій.
К-антиген	полісахаридні капсульhs К-антигени - відомо 82 Серологічне типування клебсієл засновано на визначенні К-антигенів.

РЕЗИСТЕНТНІСТЬ

Завдяки капсулі клебсієли стійкі до факторів навколишнього середовища. Добре зберігаються у воді, грунті, на предметах вжитку. В молочних продуктах виживають і розмножуються при зберіганні в холодильнику і при кімнатній температурі. При температурі 650 С гинуть упродовж 1 год. Чутливі до дії дезречовин – хлораміну, фенолу та ін. Спостерігається висока резистентність до антибіотиків (виявлено R-плазміди).

ПАТОГЕНЕЗ

Клебсієли розвиваються як вторинна інфекція в людей зі зниженою резистентністю організму та в новонароджених (недоношених дітей). Бактерії з верхніх дихальних шляхів і кишківника проникають в різні органи і кров та викликають гнійно-запальні процеси, сепсис, менінгіт.

ДЖЕРЕЛО ІНФЕКЦІЇ

хвора людина і здоровий бактеріоносій

МЕХАНІЗМ ПЕРЕДАЧІ ІНФЕКЦІЇ

фекально-оральний, контактний, аерогенний;

ШЛЯХ ПЕРЕДАЧІ ІНФЕКЦІЇ

контактно-побутовий, повітряно-крапельний і харчовий

Фактори передачі – білизна, інструментарій, іграшки, м'ясні і молочні продукти, вода, повітря.

клебсієли пневмонії	Бронхопневмонію, менінгіт, септицемію, піємію, мастоїдит, цистит, збудники запальних процесів у сечостатевій системі і при змішаній інфекції, збудники внутрішньо-лікарняних інфекцій
клебсієли озени	хронічне ураження верхніх дихальних шляхів (гортань, трахея), атрофію навколоносових пазух і носових раковин, виділення сірого в'язкого секрету, що підсихає, з утворенням твердих брудно-сірих кірок, які утруднюють дихання і мають різкий неприємний запах.
клебсієли склероми	розвиток хронічного гранулематозного або атрофічного процесу в слизовій оболонці носа, глотки, гортані, трахей, бронхів з утворенням хрящевидних інфільтратів, які закінчуються рубцюванням – риносклерома.
клебсієли оксітока	викликають внутрішньолікарняну інфекцію, інфекції сечовидільних шляхів, ураження мозкових оболонок, суглобів і хребта, очей, а також бактеріємії і септикопіємії.

ІМУНІТЕТ

Після захворювання імунітет недовготривалий та розвивається лише до одного серовару. В крові людей, уражених озеною і риносклеромою, виявляють аглютиніни, комплементзв'язуючі антитіла. У виздоровленні основна роль належить фагоцитозу, який активується специфічними опсонінами. Виникненню хронічних форм клебсієльозів сприяє внутрішньоклітинна локалізація збудника і розвиток реакції ГСТ.

МЕТА МІКРОБІОЛОГІЧНОЇ ДІАГНОСТИКИ

Виділенні чистої культури збудника, ідентифікації клебсієл з патматеріалу та об'єктів навколишнього середовища за морфологічними, культуральними, біохімічними, антигенними ознаками та диференціації його від інших ентеробактерій.

Матеріал на дослідження	Основні методи дослідження	Середовища
харкотиння	мікроскопічний (орієнтовний), мікробіологічний, серологічний - РЗК склеромним діагностикумом з убитих клебсієл склероми	на чашки з МПА або гліцериновим агаром, Ендо, Плоскірєва, диференціально-діагностичне середовище К-1 (з сечовиною, рафінозою, бромтимоловим синім), 0,2% глюкозний бульйон
слиз з носа		
зішкряб зі слизової оболонки верхніх дихальних шляхів		
шматочки біоптату склерозованої тканини		
гній із вуха		
виділення рани		
випорожнення		
змиви з об'єктів навколишнього середовища		

Взяття матеріалу: харкотиння забирають натще від хворого. Інструктують його про забір матеріалу: почистити зуби пастою без антисептиків, пополоскати ротову порожнину кип′яченою водою та зібрати матеріал у стерильну баночку (баночка з 10 мл ізотонічного розчину та скляними кораликами, з притертим корком чи закрита восковим папером). Слиз, гній – забирають стерильним ватним тампоном, який поміщають у стерильні пробірки. Випорожнення – як при кишкових інфекціях. Змиви – стерильним ватним тампоном, змоченим фізрозчином.

ПРОФІЛАКТИКА

Дотримання санітарно-гігієнічного режиму в пологових будинках, лікарнях, дитячих закладах, а також дотримання санітарно-гігієнічних норм зберігання харчових продуктів. Профілактика забезпечується виявленням ранніх форм риносклероми й озени, запобіганням зараження здорових людей від хворих. Специфічна профілактика відсутня.

ЛІКУВАННЯ

Проводиться ампіциліном, гентаміцином, канаміцином, тетрацикліном, левоміцетином, аміноглікозидами, β-лактамовими антибіотиками широкого спектру дії. Необхідно пам'ятати, що широко розповсюджені антибіотикорезистентні штами, і тому важко вибрати необхідний антибіотик. Також призначають вакцинотерапію. При обезводненні призначають пероральне або парентеральне введення солевих розчинів. При генералізованих і хронічних формах крім антибіотиків застосовують автовакцини, автогемотерапію, пірогенотерапію.

ПРОТЕЙ

Протей виділений Г.Хаузером у 1885 р. До групи протею входять чотири роди: *Proteus, Providencia, Morganella, Rettgerella*.

Рід *Proteus* родини *ентеробактерій* об'єднує п’ять видів:
Proteus vulgaris, Proteus mirabilis, Proteus morganii, Proteus rettgeri, Proteus inconstans

МОРФОЛОГІЯ

Бактерії дрібні, поліморфні, грамнегативні палички з закругленими кінцями, середній розмір 0,4-1,0 – 3,0 мкм. Рухливі, перитрихи. Спор і капсул не утворюють. Розташовується попарно або ланцюжками. У *P. morganii і P. mirabilis* виявлено фімбрії. Вміст в ДНК Г+Ц 39,3 мол %.

КУЛЬТИВУВАННЯ

Протеї – факультативні анаероби, хемоорганотрофи. Добре ростуть на простих поживних середовищах при 20-370С, рН 7,2-7,4. *P. vulgaris і P. mirabilis* дають повзучий ріст (роїння) на поживному середовищі, а при посіві в конденсаційну воду скошеного агару – ріст по всій поверхні середовища у вигляді тонкого вологого нальоту сизо-голубого кольору (спосіб виділення чистої культури за Шукевичем). Для *P. vulgaris і P. mirabilis* характерний феномен Дієнеса, утворення концентричних кілець росту по периферії центральної колонії.

на МПА	Н-форма колоній має вигляд “роїння” з утворенням дочірніх відростків, це типова; За несприятливих умов утворюються О-форми з неприємним гнилісним запахом
В МПБ	рівномірне помутніння з випаданням густого білого осаду та утворюють ніжну плівку на поверхні середовища
На КА	деякі штами викликають гемоліз еритроцитів
На Плоскірєва	прозорі, ніжні, блискучі ізольовані колонії, О-форми з характерним запахом, злегка залужнюють середовище, яке забарвлюється в жовтий колір; колонії великі 2-, напівпрозорі ізольовані колонії правильної форми, злегка випуклі з жовто-рожевим перламутровим відтінком
На вісмут-сульфіт агарі	сіро-коричневий колір колоній
На агарі Мак Конки і Ендо	безбарвні колонії

ФЕРМЕНТАТИВНІ ВЛАСТИВОСТІ

Мають цукролітичні і протеолітичні ферменти.

Відмінні ознаки бактерій роду Proteus

Тест або субстрат	*P. mirabilis*	*P. myxofaciens*	*P. penneri*	*P. vulgaris*
Утворення індолу	-	-	-	+
Реакція Фогеса-Проскауера	+,-	+	-	-
Цитрат Сімонса	+,-	+	-	-,+
Утворення сірководню	+	-	-,+	+
Орнітиндекарбоксилаза	+	-	-	-
Ферментація (К)*:				
мальтози	-	+	+	+
сахарози	-,+	+	+	+
ксилози	+	-	+	+

*К- ферментація з утворенням кислоти.

Біохімічні властивості Proteus vulgaris і Proteus mirabilis

Тест або субстрат	*Proteus*		Тест або субстрат	*Proteus*	
	vulgaris	*mirabilis*		*vulgaris*	*mirabilis*
Лактоза	-	-	Індол	+	-
Глюкоза (газ)	+,-	+	Сірководень	+	+
Маніт	-	-	Сечовина (гідроліз)	+	+, (+)
Сахароза	+	x	Желатин (22°C)	+	+
Адоніт	-	-	Фенілаланіндезаміназа	+	+
Арабіноза	-	-	Лізиндекарбоксилаза	-	-
Гліцерин	+, (+)	+	Аргініндегідролаза	-	-
Дульцит	-	-	Орнітиндекарбоксилаза	-	+
Інозит	-	-	Цитрат Сімонса	x	+, (+)
Ксилоза	+, (+)	+	Цитрат Крістенсена	-, +	+
Мальтоза	+	-	Ацетат	x	x
Рамноза	-	-	Малонат	-	-
Амігдалін	+	-	Мукат	-	-
Рафіноза	-	-	D-Тартрат	.	.
Саліцин	x	x	KCN	+	+
Сорбіт	-	-	Рухливість	+	+
Трегалоза	x	+	Реакція Фогеса-		
Целлобіоза	(+), -	x	Проскауера (370C)	-	-,+
Ескулін	x	-	Потреба для росту:		
Реакція з метиловим			нікотинової кислоти	+	+
червоним (37°C)	-	-, +	пантотенової кислоти	-	-

ТОКСИНИ ПРОТЕЮ

Містять ендотоксин. Ліпополісахарид клітинної стінки протея є важливим фактором патогенності.

АНТИГЕННА СТРУКТУРА

О-антиген	соматичний, термостабільний ліпополісахариднопротеїновий комплекс, розташований у клітинній стінці бактерій. О-антиген визначає відношення культури до серологічної групи.Описано 150 О-антигенів; 49 сероварів
Н-антиген	джгутиковий; відомо 80 Н-антигенів; 19 сероварів
Виявлено сьогодні і К-антигени	капсульний антиген

РЕЗИСТЕНТНІСТЬ

Порівняно стійкі до навколишнього середовища. Переносять нагрівання до 600 С упродовж 1 год. Стійкі до багатьох антибіотиків. Витримують низькі температури, дію 10-12% розчину натрію хлориду, риванолу. Можуть зберігати життєдіяльність у слабих розчинах фенолу і в інших дезрозчинах.

ПАТОГЕНЕЗ

Протеї – мешканці кишківника людини і багатьох тварин (*P. myxofaciens*). У природі беруть участь в процесах гниття, добре розмножуються в органічних субстратах. Протеї звичайно потрапляють у навколишнє середовище з випорожненнями людини

ДЖЕРЕЛО ІНФЕКЦІЇ

хвора людина і здоровий бактеріоносій

МЕХАНІЗМ ПЕРЕДАЧІ ІНФЕКЦІЇ

фекально-оральний, контактний;

ШЛЯХ ПЕРЕДАЧІ ІНФЕКЦІЇ

аліментарний, контактно-побутовий

Фактори передачі – через брудні руки, білизну, предмети вжитку, хірургічний інструментарій.

ЗАХВОРЮВАННЯ - харчові токсикоінфекції, гастроентериту та диспепсії у дітей, гнійно-запальні процеси в різних органах і септичні хвороби: отит, цистит, кон’юнктивіт, піеліт, гнійні ускладнення ран і опікових поверхонь, флегмони, абсцеси, плеврит, пневмонію остеоміеліт, менінгіт, сепсис. При попаданні протею в пупкову рану новонароджених може виникнути бактеріємія або розвиток менінгіту.

МЕТА МІКРОБІОЛОГІЧНОЇ ДІАГНОСТИКИ

виділення й ідентифікація протею за культуральними і біохімічними властивостями з патматеріалу й об'єктів навколишнього середовища.

Матеріал на дослідження	Основні методи дослідження	Середовища
випорожнення	мікробіологічний і серологічний	В 0,1 % пептонну воду на чашки з МПА
блювотні маси		

сеча		
виділення рани		
гній із вуха		
слиз із зіву і носа		
секційний матеріал		
змиви з предметів навколишнього середовища		

ПРОФІЛАКТИКА

Дотримання санітарно-гігієнічного режиму на харчових підприємствах, у лікарнях і дитячих закладах, а також захист води і продуктів харчування від забруднення випорожненнями і гнійними виділеннями.

ЛІКУВАННЯ

Для лікування застосовують левоміцетин, гентаміцин, ампіцилін, цефалоспорини 3-тього покоління, фторхінолони, налідіксову кислоту, карбеніцилін, канаміцин, а також протейний бактеріофаг (місцево або в уражену ділянку). При ураженні сечостатевої системи застосовують препарати нітрофуранового ряду: фурагін, 5-НОК та ін. Застосовується колі-протейний бактеріофаг у випадку змішаної інфекції, викликаної ешерихіями і протеєм. При харчовій токсикоінфекції проводять дезінтоксикацію (промивання шлунка, пиття великої кількості рідини і т. д.). При коліті, пов'язаному з дисбактеріозом кишківника, коли протей міститься у великих кількостях, використовуються інтести-бактеріофага, в склад яких входить протейний фаг, а також протейного або колі-протейного бактеріофага.

СИНЬОГНІЙНА ПАЛИЧКА

Pseudomonas aeruginosa – синьогнійна паличка, типовий вид роду *Pseudomonas,* родини *Pseudomonadaceae,* який налічує більше 20 видів. Відкрита А.Люкке (1862), виділена і описана Дж.Шретером (1872). Перший спалах інфекції, викликаний *Pseudomonas aeruginosa*, зареєстрований в 1897 році (Багінскі), але вже в 1899 р. С.Н.Серковський вказав, що патогенні властивості мікроорганізму часто реалізуються в організмі ослаблених осіб. Ці бактерії є типовими умовно-патогенними мікроорганізмами. Вони широко розповсюджені в навколишньому середовищі, постійно перебувають в організмі людини і тварин.

МОРФОЛОГІЯ

Дрібні поліморфні грамнегативні палички з закругленими кінцями, монотрихи або лофотрихи. Виявлено піліарні структури – F-пілі, фімбрії. Спор

не утворюють. Інколи утворюють капсулоподібний позаклітинний слиз. У мазках з чистих культур розташовуються поодиноко, парами або короткими ланцюжками. В мазках з патматеріалу їх частіше можна виявити в цитоплазмі фагоцитів, при цьому палички можуть бути деформовані. В клінічному матеріалі поліморфізм відсутній.

КУЛЬТИВУВАННЯ

Облігатні аероби. Хемоорганотрофи. Добре ростуть на простих поживних середовищах. Оптимальна температура росту 370С, але можуть рости і при 420С (можна використати як диференціально-діагностичну ознаку), pH 4,5-9,0.

на МПА	колонії розміром 2-5 мкм, круглі, напівпрозорі, голубо-сірі з перламутровим відтінком, в центрі колонії темніші, ніж по периферії; слизові; на скошеному МПА утворюють тонкий блискучий наліт
В МПБ	помутніння і утворюють сіро-сріблясту плівку, з наступним випаданням осаду
На КА	зони β-гемолізу; феномен ″лізису вінчиком″ культур, що характеризується ніжним блискучим металевим полиском.
На Ендо	утворюють синій або зелено-синій чи фіолетовий пігменти, які проникають у субстрати. Один із них – піоціанін, дає синє або синьо-зелене забарвлення; колонії неправильної форми, або які нагадують ешерихії, з нерівною поверхнею, слизові і мукоїдні, карликові або крапкові. У багатьох штамів спостерігається феномен лізису у вигляді вінчика; флюоресцеїн дає зелено-жовте забарвлення; Розрізняють п’ять морфологічних типів колоній: 1) плоскі колонії неправильної форми; 2) колонії, що нагадують кишкову паличку; 3) складчасті – ″квітка маргаритки″; 4) слизові, які рідко дають пігментацію при первинному виділенні, утворюють слизовий наліт, який з часом набуває зеленого забарвлення; 5) карликові, які з’являються лише через 18 год. Відбирають чашки з поживним агаром, де середовище забарвлене в синьо-зелений колір, колонії середнього розміру і мають запах жасмину (полуничного мила).
На Плоскірєва	
На Левіна	
На ЦПХ-агар	

Біохімічні ознаки деяких видів і біоварів роду Pseudomonas

Властивості	*P. aeruginosa*	*P. putida біовар I*	*P. putida біовар II*	*P. cepacia*	*P. fluorescens, біовари* I	II	III	IV	V
Кількість джгутиків	1	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1
Флуоресціюючий розчинний пігмент	+	+	+	-	+	+	+	+	+
Нефлуоресціюючий розчинний пігмент	+(синьо-зелений)	-	-	+(різні кольори)	-	-	-	-	-
Нагромадження полі-β-оксибутирата	-	-	-	+	-	-	-	-	-
Аргінін дигідролаза	+	+	+	-	+	+	+	+	+
Оксидаза	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Гідроліз желатини	+	-	-	+,-	+	+	+	+	+
Гідроліз крохмалю	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Утилізація									
глюкози	+	+	+	+	+	+	+	+	+
трегалози	-	-	-	+	+	+	+	+	+
2-кетоглюконата	+	+	+	+	+	+	+	+	+
пропіоната	?	?	?	?	+	+	+,-	-	?
L-арабінози	?	?	?	?	+	+	-	+	?
сахарози	?	?	?	?	+	+	-	+	?
Ріст при 420С	+	-	-	+,-	-	-	-	-	-
при 50С	-	+,-	+	-	+	+	+	+	+,-
Лецитиназа	-	-	-	+,-	+	слабо	+	+	+,-
Денітрифікація	+	-	-	-	-	+	+	+	-
Використання нітрату як джерела азоту	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Примітка: + позитивний результат; - від'ємний результат; +,- непостійна ознака; ? невідомо.

ТОКСИНОУТВОРЕННЯ ПСЕВДОМОНАД

термолабільний гемолізин	з лецитиназною активністю (фосфоліпаза С)
термостабільний гемолізин (фосфоліпаза)	мають гемолітичну дію
Токсини - лейкоцедин	лізують лейкоцити людини
екзотоксин А	білок, який складається з двох субодиниць, чутливий до трипсину, підвищеної температури, кислого pH середовища
екзофермент S	викликає глибокі патологічні процеси в легенях
ентеротоксичний фактор	фактор проникнення
ліпополісахаридний	надає збудникові антигенної специфічності

ендотоксин	
протеазу I (нейтральну), протеазу II (еластазу), протеазу III (лужну протеазу	спричиняє структурні зміни ендотелію судин, пригнічує синтез білка в клітинах печінки, уражує мітохондрії

АНТИГЕННА СТРУКТУРА СИНЬОГНІЙНОЇ ПАЛИЧКИ

О-антиген	соматичний, термостабільний ліпополісахариднопротеїновий комплекс, розташований у клітинній стінці бактерій. О-антиген визначає відношення культури до серологічної групи.Описано 20 О-антигенів; сероварів
Н-антиген	джгутиковий; відомо 15 Н-антигенів; сероварів

РЕЗИСТЕНТНІСТЬ

Синьогнійна паличка розповсюджена в грунті, воді, на рослинах. Таке розповсюдження сприяє легкому інфікуванню людини. Виділяється від хворих і довго може зберігатися на предметах, медичних інструментах, в раневому вмісті, в опікових кірочках (до 8 тижнів) і пилюці приміщень (до 2 тижнів). При 600С бактерії гинуть упродовж 15 хв, при кип′ятінні – миттєво. Витримують УФ-промені. Синьогнійна паличка чутлива до 3% розчину перекису водню, 2% розчину фенолу, 0,1% розчину сульфохлоратину. Стійка до більшості антибіотиків і антисептиків. Такі штами можуть контамінувати лікарські препарати і залишатися життєздатними в антисептиках, дезинфікуючих розчинах. Доведено збереження її в розчинах фурациліну. Чутлива до поліміксину, неоміцину. В синьогнійної палички виявлено R-плазміди, які обумовлюють резистентність до багатьох антибіотиків.

ПАТОГЕНЕЗ

Збудник постійно забруднює медичне обладнання і циркулює серед персоналу і пацієнтів.

ДЖЕРЕЛО ІНФЕКЦІЇ

хвора людина і бактеріоносій

МЕХАНІЗМ ПЕРЕДАЧІ ІНФЕКЦІЇ

контактний і аерогенний

ШЛЯХ ПЕРЕДАЧІ ІНФЕКЦІЇ

непрямий контакт, має місце і повітряно-пороховий.

ЗАХВОРЮВАННЯ - гнійно-запальні процеси (отит, пієліт, уретрит, кератит, плеврит, остеомієліт, артрит, пневмонію, менінгоенцефаліт, абсцеси печінки, сепсис, септицемію, перитоніт), локалізація яких залежить від вхідних воріт інфекції: опіки, рана, дихальні шляхи, рогівка ока і т.д. Захворювання розвивається у дітей та осіб похилого віку зі зниженою стійкістю або в результаті внутрішньолікарняного зараження: холецистити, цистити,

пієлонефрити, гнійно-запальні ускладнення після операцій і опіків. Особливо чутливі до синьогнійної інфекції діти дошкільного віку й ослаблені хворі. У хворих з ураженням синьогнійною паличкою гній і марлеві пов'язки забарвлюються в синьо-зелений колір.

МЕТА МІКРОБІОЛОГІЧНОЇ ДІАГНОСТИКИ

виділення й ідентифікація синьогнійної палички з патматеріалу і об'єктів навколишнього середовища.

Матеріал на дослідження	**Основні методи дослідження**	**Середовища**
виділення з ран	мікробіологічний і серологічний	ЦПХ-агар, 1,5% поживний агар, 5% кров″яний агар, ЦПХ-агар, середовища Ендо, Плоскірєва, Мюллера-Хінтона або Мак-Конки цукровий бульйон
слиз із зіву і носа		
кров		
сечу		
секційний матеріал		
змиви з різних предметів і рук персоналу (хірургічний інструментарій, матеріал для перев'язки, білизну)		
харкотиння		
виділення цервікального каналу або піхви		

За сукупністю всіх ознак: наявність синьо-зеленого пігменту, запах жасмину, грамнегативні палички, відсутність розщеплення лактози в анаеробних умовах, позитивна проба на цитохромоксидазу, відновлення нітрату до газоподібного азоту, розрідження 15% желатини, окислення глюкози в аеробних умовах, ріст на ацетамідному агарі при 50С та 420С, внутрішньовидова диференціація за фагами, піоціанами, за чутливістю до антибіотиків і антисептиків – видають відповідь: "Виділена культура *P. aeruginosa*".

ПРОФІЛАКТИКА

Дотримання санітарно-гігієнічного режиму в стаціонарах. У США хворих з великими опіками лікують вакциною, виготовленою з інактивованих синьогнійних бактерій. Для специфічної профілактики розроблена асоційована вакцина, яка включає антигени синьогнійної палички, протею, стафілокока. При опіках місцево можна застосовувати піоімуноген.

ЛІКУВАННЯ

Антибіотики: карбеніцилін, поліміксин, гентаміцин, амікоцин, цефалоспорин, цефсулодин. Добрий ефект дає введення плазми донорів, вакцинованих проти *P. aeruginosa*, імуноглобулін і застосування бактеріофагу

(піофагу). При хронічних процесах, викликаних синьогнійною паличкою, при не раціональній антибіотикотерапії, можна використати автовакцину.

Питання для самоконтролю

1. За якою з наведених ознак диференціюють мікроорганізми роду Klebsiella та Escherichia?
A. Рухливість
B. Декарбоксилювання орнітину
C. Ріст на середовищі з малонатом натрію
D. Реакція VP (реакція Фогеса-Проскауера)
E. Ріст на середовитщі з цитратом натрію

2. За якою ознакою Klebsiella pneumoniae відрізняють від Escherichia coli?
A. Утворення сірководню
B. Дезамінування фенілаланіну
C. Розщеплення маніту
D. Здатність до росту на цитратному середовищі Сімонса
E. Ріст на середовищі Ендо

3. За яким з наведених тестів диференціюють Pr.vulgaris та Pr.mirabils ?
A. Утворення сірководню
B. Гідроліз желатини
C. Утворення індолу
D. Капсулоутворення
E. Чутливість до антибіотиків

4. Вкажіть метод, що використовують для якісного посіву при діагностиці протейної інфекції:
A. Посів на рідкі середовища
B. Посів за Голдом
C. Посів в конденсат (за Шукевичем)
D. Посів за Дригальським
E. Посів на щільні середовища

5. Виберіть культуральні особливості синьогнійної палички:
A. Вимагає складних живильних середовищ, збагачених нативною сироваткою
B. Вимагає 10 % CO2 для культивування
C. Вимагає складних, збагачених середовищ, що містять адсорбенти метаболітів типу деревного вугілля
D. Росте на простих середовищах
E. Не росте на поживних середовищах

6. У яких представників відсутня здатність до індолоутворення?
A. P.vulgaris

B. P.morganii
C. P.rettgeri
D. P.inconstans
E. P.mirabilis
E. Shigella

КИШКОВІ ЄРСИНІОЗИ

ЗБУДНИК КИШКОВОГО ЄРСИНІОЗУ

Рід *Yersinia* організований в 1944 р. і названий (за пропозицією Логхема) в честь Олександра Ієрсена. Рід включає 11 видів (*Y. aldovae, Y. bercovieri, Y. enterocolitica, Y. frederiksenii, Y. intermedia, Y. kristensenii, Y. mollaretii, Y. pestis, Y. pseudotuberculosis, Y. rohdei і Y. ruckeri*). Збудник кишкового ієрсиніозу – *Y. enterocolitica* – один із представників родини кишкових бактерій. Був виділений від тварин (зайців, кролів, мавп, свиней). Вивчення ієрсиніозу почалося з 1964 р.

МОРФОЛОГІЯ

Грамвід'ємна паличка з закругленими кінцями завдовжки 1,8-2,3 мкм, завширшки – 0,7-0,9 мкм, часто овоїдної форми, рухома при 18-250 С і відсутня рухомість при 370С. Перетрих. Має фімбрії. Не утворює спор і капсул. В старих культурах може набувати вигляду довгих ниток, нерівномірно забарвлених, інколи кокобацил. Вище 370С бактерії набувають поліморфізму.

КУЛЬТИВУВАННЯ

Факультативні психрофіли. Добре ростуть на звичайних поживних середовищах при pH – 6,6-7,8 і низькій температурі 22-280С, що є для них характерною особливістю. Можуть розмножуватись навіть при температурі 40С.

на МПА	дрібні блискучі безбарвні колонії (росинки)
на МПБ	утворює помутніння і осад на дні (R-форми) або рівномірне помутніння (S-форми)
на лужному агарі при 220С	на першу добу виростають круглі, помірно випуклі, з рівним краєм, прозорі, блискучі з голубим відтінком колонії, м′якої консистенції, S-форми, діаметром 0,1-0,2мм; на другу добу діаметр колоній 0,3-0,5мм. Колонії випуклі з рівним краєм, прозорі, при старінні мають тенденцію до суцільного росту
на лужному агарі при 370С	на першу добу діаметр колоній 0,3-0,5мм, колонії круглі, випуклі, з невеликою покресленістю, напівпрозорі, незабарвлені, S-форма колоній переходить в R-форму. На другу добу діаметр колоній 0,5мм, колонії напівпрозорі, жовто-золотистого відтінку з нерівними краями, R-форми

на Ендо	при 22^0С на першу добу у вигляді дрібних, круглих, випуклих, блискучих, незабарвлених колоній S-форми. На другу добу колонії діаметром 0,1-0,2мм, випуклі, блискучі, з рівними краями, рожевого кольору
на пектиновому агарі	колонії оточені зоною розрідження (пектиназна активність)

Біохімічні властивості єрсиній

Тест або субстрат	Р е а к ц і я		Тест або субстрат	Р е а к ц і я	
	Y. pseudo-tuberculosis	*Y. entero-colitica*		*Y. pseudo-tuberculosis*	*Y. entero-colitica*
Амігдалін	-	+	Дезоксирибонуклеаза	+	-
D-Ксилоза	+	+,-	Лецитиназа	-	+
Мелібіоза	+	-	Ліпаза (твін-80)	-	+,-
Рафіноза	+,-	-	Цитрат Сімонса	-	-
Рамноза	+	-	Орнітин декарбоксилаза	-	+,-
Салицин	+	+,-	Тетратіонат редуктаза	-	+
Сахароза	-	+	Ацетат	-	-,+
Сорбіт	-	+	Реакція Фогеса-Проскау-		
Сорбоза	-	+	ера (18-250С)	-	+
Трегалоза	+	+,-	Нітратредуктаза	-	+, -
Целлобіоза	-	+	β-Ксилозидаза		
Ескулін	+	+,-	(PNPX при 370С)	+	-
Індол	-	+, -	Уреаза	+	+
Інозит	-	+	Сірководень	-	-
Мукат	-	-			

ТОКСИНИ ЄРСИНІЙ	**АНТИГЕННА СТРУКТУРА**
ендотоксин	За О-антигеном штами кишкового ієрсиніозу поділяються на 34 серовари
деякі штами виробляють екзотоксин	К-антигени
	Н-антигени

РЕЗИСТЕНТНІСТЬ

Розповсюджені в навколишньому середовищі, гинуть при кип′ятінні, автоклавуванні і при дії дезінфікуючих речовин (сулеми, хлораміну, фенолу). При нагріванні до 60-800С гинуть через 15-20хв. Добре зберігаються при низькій температурі (-15-200С), при 4-140С не лише зберігаються, але й розмножуються. Пряме сонячне проміння вбиває їх через 30 хв, розсіяне – через 6-8 год. Швидко гинуть від висихання. В харчових продуктах можуть довго зберігатися і навіть розмножуватися.

Штами, виділені від людей, стійкі до пеніциліну, чутливі до стрептоміцину, левоміцетину, тетрацикліну, канаміцину.

ПАТОГЕНЕЗ

Циркуляція серед домашніх штамів тварин, патогенних і для людини, свідчить про їх роль як джерела інфекції харчових продуктів. Встановлена забрудненість різних продуктів – овочів, м'яса, м'ясних виробів, молока. Відомі спалахи внутрішньосімейні, міжсімейні, вогнища в дитячих та інших колективах, в лікарнях, відділеннях гематології, реанімації, грудних дітей, вірусного гепатиту. Особливо важко хворіють діти у віці від 4 міс та особи до 80 років. Серовари О3 і О9 виділені від гризунів, свиней, птахів, риб; О5 – від собак, з виділень котів і корів.

Кишковий єрсиніоз – це інфекційне захворювання з фекально-оральним механізмом зараження, яке характеризується ураженням травного каналу, діареєю, ентеритом, псевдоапендицитом, ілеїтом, вузловою еритемою і (інколи) септицемією або гострим артритом, тенденцією до генералізації і ураженням різних органів і систем.

ДЖЕРЕЛО ІНФЕКЦІЇ

Хвора людина та інфіковані харчові продукти

МЕХАНІЗМ ПЕРЕДАЧІ ІНФЕКЦІЇ

фекально-оральний, контактний

ШЛЯХ ПЕРЕДАЧІ ІНФЕКЦІЇ

непрямий контакт, аліментарний

ЗАХВОРЮВАННЯ – харчова токсикоінфекція, ентероколіт, гастроентероколіт, мезентеріальний лімфаденіт, септицемія і сепсис, хронічні ураження травного каналу (холецистит, ілеотіфліт). Може бути паренхіматозний гепатит, ураження суглобів, реактивний артрит, анкілозуючий спондиліт мозкових оболонок і сепсис, ураження окремих органів. При всіх формах проявляються зміни в печінці, поліартрит, вузлова еритема. Інкубаційний період від 1-2 до 15 діб.

МЕТА МІКРОБІОЛОГІЧНОЇ ДІАГНОСТИКИ

виділення й ідентифікація єрсиній з патологічного матеріалу.

Матеріал на дослідження	**Основні методи дослідження**	**Середовища**
кал	мікробіологічний і серологічний - реакції аглютинації, непрямої гемаглютинації, імунофлюоресцентний аналіз. Діагностичний титр	консервант: фосфатно-буферний розчин (pH 7,2-7,4), середовище Ендо, ЕМС, середовище Сєрова і CIN-агар. Інкубують у
блювотні маси		
промивні води шлунка		
кров		
сеча		

слиз із зіву й носа	1:400 і вище.	термостаті при 25-280С 18-36 год
виділення рани		
спинномозкова рідина		
секційний матеріал		
змиви		
продукти		

ПРОФІЛАКТИКА

Дотримання санітарних норм зберігання харчових продуктів, виготовлення і зберігання готової продукції, гігієнічного зберігання холодильників і холодильних камер. Необхідно звертати увагу на організовані колективи, лікарні, підприємства харчування. Виявляти та ізолювати від виготовлення їжі, догляду за маленькими дітьми, ослаблених хворих з гострими шлунково-кишковими захворюваннями.

ЛІКУВАННЯ

При важких формах рекомендується водно-сольова терапія, антибіотики: тетрациклін, левоміцетин, стрептоміцин, гентаміцин, ампіцилін і сульфаніламіди. Залежно від показів проводять протиалергічну й інші види терапії.

ЄРСИНІЇ ПСЕВДОТУБЕРКУЛЬОЗУ

МОРФОЛОГІЯ

Збудник *Yersinia pseudotuberculosis* – грамнегативні кокобактерії. Спор не мають, утворюють капсулу, перетрихи. Можуть мати біполярне забарвлення в мазках виготовлених з вологого агару.

КУЛЬТИВУВАННЯ

Факультативні анаероби. Культивуються на звичайних поживних середовищах при pH 7,2-7,4 і температурі 22-280 С. Можуть рости в кислому і лужному середовищах (голодно-кислому середовищі) при температурі від +4 до +380 С.

на МПБ	R-форми у вигляді лопатевидного осаду, S-форми викликають помутніння
на Ендо	колонії діаметром 0,1-, круглі, випуклі, блискучі, з рівним краєм, безбарвні (не ферментують лактозу), через декілька діб розмір колоній 0,5-.
на Плоскірєва	не ростуть на середовищі Плоскірєва

ФЕРМЕНТАТИВНІ ВЛАСТИВОСТІ ЗБУДНИКА ПСЕВДОТУБЕРКУЛЬОЗУ

Збудник псевдотуберкульозу ферментує до кислоти без газу глюкозу, рамнозу, мелібіозу, манозу, маніт, мальтозу, саліцин, ескулін, сорбіт, не ферментує сахарозу, лактозу, інулін, має виражену уреазну активність. Не має фібринолітичної, плазмокоагулюючої і протеолітичної активності.

РЕЗИСТЕНТНІСТЬ

Штами псевдотуберкульозу чутливі до левоміцетину, тетрацикліну, стрептоміцину, більшість із них стійкі до пеніциліну.

ТОКСИНИ ЗБУДНИКА ПСЕВДОТУБЕРКУЛЬОЗУ	АНТИГЕННА СТРУКТУРА
ендотоксин	два соматичних О-антигени (S-гладкий, R-шорсткуватий); поділяються на 8 груп (I –VIII); 13 сероварів і підсероварів
деякі штами I і III серологічного варіанта виробляють екзотоксин	Н-антиген - джгутиковий

ПАТОГЕНЕЗ

Сприйнятливі 175 видів ссавців, 124 видів птахів, 7 видів риб. У природних умовах збудник існує як паразит гризунів – звичайних полівок, польових мишей, зайців, птахів, зараження відбувається через корм. Заражені гризуни, тварини і люди виділяють збудника з випорожненнями і сечею, забруднюючи воду, рослини і інші об”єкти навколишнього середовища, а через них заражається і людина.

Далекосхідна скарлатиноподібна лихоманка (псевдотуберкульоз) – гостре інфекційне захворювання, яке перебігає циклічно. Характеризується поліморфізмом симптомів, ураженням травного каналу, печінки та опорно-рухового апарату. Діагноз генералізованої форми псевдотуберкульозу заснований на епідеміологічних (весняна сезонність, груповий характер захворювання, пов’язаний з використанням овочевих страв) і клінічних (лихоманка, біль у животі, диспепсичні явища, висип) даних.

ДЖЕРЕЛО ІНФЕКЦІЇ

Хворі тварини та інфіковані харчові продукти

МЕХАНІЗМ ПЕРЕДАЧІ ІНФЕКЦІЇ

фекально-оральний, контактний

ШЛЯХ ПЕРЕДАЧІ ІНФЕКЦІЇ

аліментарний, водний шлях

Фактори передачі – сирі овочі на овочевих складах. ЗАХВОРЮВАННЯ – псевдотуберкульоз. Розрізняють такі форми інфекції:

- Локалізована форма поділяється на інтестинальну (гастроентерит, ентероколіт), мезентеріальний лімфаденіт,

термінальний ілеїт, псевдотуберкульозний гепатит.

- Генералізована форма може перебігати як гастролихоманкове захворювання – “далекосхідна скарлатиноподібна лихоманка” чи з формуванням вторинних вогнищ – септицемія.
- Вторинно-вогнищеві ураження органів і систем виділяють як окрему форму (поліартрит, хронічні захворювання кишківника
- коліт, дуоденіт та ін.).

Інкубаційний період – 3-18 діб.

МЕТА МІКРОБІОЛОГІЧНОЇ ДІАГНОСТИКИ

виділення й ідентифікація ієрсиній псевдотуберкульозу з патологічного матеріалу.

Матеріал на дослідження	**Основні методи дослідження**	**Середовища**
випорожнення	мікробіологічний і серологічний - реакцію аглютинації (за типом Відаля) з живими мікробами типових штамів I, III і IV сероварів. Діагностичний титр – 1 : 100–200. РНГА. Діагностичний титр 1:400 і вище. ІФМ	консервант: фосфатно-буферний розчин (pH 7,2-7,4) або 0,5 % розчин глюкози на пептонній воді з індикатором., середовище Ендо, ЕМС, середовище Сєрова Інкубують у термостаті при 25-280С 18-36 год
кров		
лімфатичні вузли		
некротизовані частини кишківника, апендикса		
змиви з зіву		
спинномозкову рідину		
сироватку крові		

Виділені штами диференціюють від збудників кишкового ієрсиніозу та чуми: збудник псевдотуберкульозу нерухомий, росте на голодному середовищі Безсонової, не лізується чумним бактеріофагом, ферментує сорбіт, сорбозу, целлобіозу, швидко залужнює лакмусове молоко, гідролізує сечовину, утворює β-галактозидазу, дезоксирибонуклеазу, не має фібринолітичних властивостей, не дає тесту на тетратіонатредуктазу, реакція Фогеса-Проскауера від’ємна при 220С, патогенний для морських свинок і непатогенний для щурів. Фаготипування збудників псевдотуберкульозу не проводиться.

ПРОФІЛАКТИКА

Дератизація, попередження проникнення гризунів до харчових продуктів, на овочеві склади, періодичний бактеріологічний контроль за інфікованістю овочів, проведення дезинфекційних заходів на овочевих базах, особливо перед завантаженням овочів нового урожаю. Як і при інших кишкових інфекціях, провідна роль належить санітарно-гігієніч-

ному стану харчових об’єктів, дотримання технології виготовлення і зберігання їжі (готової продукції в холодильниках).

ЛІКУВАННЯ

При гострому гастроентериті рекомендується промивання шлунка. Водно-сольова терапія і патогенетичні засоби за показами дають ефект в лікуванні хворого. При тяжких генералізованих формах необхідна етіотропна терапія: стрептоміцин (добова доза 1 г), левоміцетин (2-2,5 г), тетрациклін (1-2 г) упродовж 10-14 діб. Лікування необхідно проводити загальноскріплюючою і стимулюючою терапією з обов'язковим використанням десенсибілізуючих і дезінтоксикаційних засобів. При жовтяниці основу лікування становить дієта, вітаміни, введення 5% розчину глюкози.

Питання для самоконтролю

1. В інфекційне відділення обласної лікарні із сільської місцевості поступила дитина 2-х років з болями в животі, проносом (випорожнення 5 разів на добу). Кал рідкий, пінистий. В анамнезі температура 38,5° С перенесений єрсиніоз. Які дослідження слід провести для встановлення етіологічного діагнозу "кишковий єрсиніоз" ?
A. Виділення збудника з фекалій, РА, РНГА, РНІФ
B. Бактеріологічне дослідження спинно-мозкової рідини, РЗК, ІФА
C. Виділення збудника із ротоглотки, виявлення антитіл до кампілобактерій в РА, РНГА
D. Виділення збудника з фекалій, серологічна ідентифікація в РА
E. Бактеріологічне дослідження крові, виділення антитіл в РА, РНГА.

2. Для серологічної діагностики єрсиніозів використовують:
A. РЗК
B. РА
C. РНГА
D. Всі три реакції
E. Жодна з них

3. Найбільш надійною ідентифікацією єрсиній є:
A. Мікроскопічна
B. Серологічна
C. Біохімічна
D. Біологічна
E. За тинкторіальними ознаками

4. Джерелом інфекції при єрсиніозі є:
A. Хворі люди
B. Хворі тварини
C. Хворі люди і хворі тварини
D. Продукти харчування
E. Хворі люди і бактеріоносії

5. У лікарню поступив хворий з діагнозом „єрсиніоз”. Який матеріал для дослідження в бак лабораторію повинен направити лікар ?
A. Кров
B. Сечу
C. Випорожнення
D. Мизово-гнійні грудочки калу
E. Мазок із зіва

6. До правила забору матеріалу для бактеріологічного дослідження належать всі, КРІМ:
A. Забирати фекалії натще серце
B. Забирати фекалії до початку етіотропної терапії
C. Відбирати з фекалій слизово-гнійні комочки
D. Судно (горшок) попередньо обробити дезрозчином
E. Негайно засіяти фекалії на середовище збагачення (або помістити в консервант)

7. Під час бактеріологічного дослідження випорожнень хворого на кишкову інфекцію було виділено єрсинії. Яку з названих серологічних реакцій було застосовано для ідентифікації виділеної чистої культури ?
A. Зв'язування комплементу
B. Преципітації
C. Аглютинації
D. Нейтралізації
E. Лізису

8. У хворого з типовою клінічною картиною шигельозу внаслідок раннього застосування антибіотиків під час бактеріологічного дослідження випорожнень єрсинії не виявлені. Титр антитіл у РПГА у парних сироватках у цього хворого виріс у 4 рази. Про що це свідчить ?
A. Вакцинальну реакцію
B. Виключає діагноз єрсиніозу
C. Переніс єрсиніоз раніше
D. Неспецифічну реакцію
E. Підтверджує діагноз єрсиніозу

9. Вкажіть максимальний термін доставки нативних випорожнень до бактеріологічної лабораторії:
A. 12 годин
B. 6 годин
C. 8 годин
D. 2 години
E. 1 година

10. З фекалій хворого виділено єрсинії. Які потрібно провести додаткові дослідження

для встановлення джерела інфекції ?
A. Зробити антибіотикограму
B. Провести фаготипування виділеної чистої культури
C. Поставити реакцію преципітації
D. Поставити реакцію зв'язування комплементу
E. Поставити реакцію нейтралізації

ЗБУДНИКИ ОСОБЛИВО-НЕБЕЗПЕЧНИХ ІНФЕКЦІЙ

ХОЛЕРНІ ВІБРІОНИ

Холера належить до особливо небезпечних інфекцій. Роботу з ОНІ регламентує спеціальна інструкція Міністерства охорони здоров'я України. Роботу проводять в лабораторіях з діагностки особливо небезпечних інфекцій. Забір матеріалу і лабораторні дослідження виконують у спеціальному захисному костюмі, який складається з комбінезона або піжами, протичумного халата, шапочки або хустини, ватно-марлевої маски, шоферських або авіаційних окулярів, гумових рукавиць, шкарпеток, водостійкого фартуха, нарукавників, рушника, гумових або шкіряних чобіт.

Одягання і зняття протичумного костюма проводять у певному порядку перед дзеркалом. Всі зняті речі занурюють в 5%-ний розчин лізолу, а окуляри – в посудину з 70%-ним етиловим спиртом, після чого одяг автоклавують.

Порядок одягання протичумного костюма

Одягають костюм лише перед дзеркалом – комбінезон або піжаму, шкарпетки, чоботи, капюшон або велику хустину (якщо необхідно фонендоскоп, його одягають перед хустиною), протичумний халат (тасьми біля комірця і комірця халата зав'язують спереду петлею з лівою сторони, після чого зав'язують на рукавах), маску одягають так, щоб були закриті рот і ніс (для чого верхній край маски повинен бути на рівні нижньої частини орбіт, а нижній на підборідді; верхні шнурки зав'язати на потилиці, а нижні – на тім'ячку; по обидві сторони носа закладають шматочки вати, щоб маска щільно прилягала до обличчя), окуляри повинні бути добре підігнані, не пропускати повітря і бути міцними; скла натирають спеціальним олівцем або милом, щоб вони не запотіли, рукавиці одягають після перевірки, чи цілі; за пасок халата з правої сторони закладають рушник. При розтині трупа людини додатково одягають халат, фартух, нарукавники, другу пару гумових рукавиць, справа закладають рушник.

Порядок зняття протичумного костюма

Руки в рукавицях миють 3-5 хв в 5% розчині хлораміну, 2-5% розчині лізолу, 3% розчині карболової кислоти. Чоботи або калоші протирають зверху вниз дезрозчином – 5% розчином лізолу (використовують миску для миття). Для кожного чобота використовують окрему серветку або шматочки вати. Виймають рушник. Протирають ватним тампоном фартух, знімають і повільно

згортають. Обтирають нарукавники і знімають другу пару рукавиць, якщо вони необхідні. Знімають окуляри, спочатку відтягуючи їх вперед. Фонендоскоп і окуляри занурюють в банку з 70о спиртом. Знімають ватно-марлеву маску та опускають у каструлю з дезрозчином. Знімають халат, хустину, фонендоскоп, рукавиці (перевіряють в дезрозчині, чи цілі), чоботи (але перед входом в чисте приміщення їх ще раз обмивають у баку дезрозчином) і по черзі знімають в чистому відділенні, шкарпетки, комбінезон. Одяг автоклавують при 2 атм одну годину і після того віддають до прання. Марлю від масок можна використовувати декілька разів, а вату одноразово.

Вперше вібріон був виявлений у 1854 р. Ф.Паціні у випорожненнях хворих діареєю. Збудник холери був відкритий Робертом Кохом під час епідемії з випорожнень хворих і трупів загиблих від холери в Єгипті у 1883 р. В 1906 р. Ф.Готшліх виділив вібріон Ель-Тор, який був подібний до вібріона Коха, але відрізнявся від нього гемолітичними властивостями. Етіологічну роль вібріона Ель-Тор при холері довгий час піддавали сумніву, і лише в 1962 р. за рішенням XV Асамблеї ВООЗ вібріон Ель-Тор був також визнаний збудником холери. В 1993 р. з'явилися повідомлення про спалах холери в південно-східній Азії. Тут холера була викликана вібріонами невідомої раніше серогрупи, що позначені як серовар О139 (Бенгал).

Холерні вібріони належать до роду *Vibrio*, родини *Vibrionaceae*. Рід *Vibrio* налічує понад 25 видів, із яких найбільше значення для людини мають *V.cholerae, V.parahaemolyticus, V.alginolyticus, V.vulnificus і V.fluvialis*. Крім холерних, цей рід включає велику кількість вібріонів, що широко розповсюджені в природі. Вони зустрічаються у воді відкритих водойм, у кишківнику людини, тварин і є близькими за морфологічними, культуральними, біохімічними властивостями. Тому ці вібріони отримали назву холероподібних. Деякі з них можуть викликати різні патологічні процеси.

МОРФОЛОГІЯ

Холерний вібріон має форму зігнутої палички, що нагадує кому, монотрих (джгутик має чохлик і поздовжній виріст), не утворює спор і капсул, грамвід'ємний. У деяких видів є два і більше полярно розташованих джгутики. В досліджуваному матеріалі вібріони часто розташовуються у вигляді зграйки риб. Вібріони добре фарбуються аніліновими барвниками, для забарвлення органоїдів, джгутиків вживається протрава з застосуванням солей важких металів.

КУЛЬТИВУВАННЯ

Холерні вібріони – факультативні анаероби, хемоорганотрофи. Розмножуються при температурі 37-39оС і ph 8,6-9 на МПА і МПБ. Елективним середовищем є лужна 1% пептонна вода з 0,5-1,0% NaCl. Деякі види (галофіли) не ростуть в присутності NaCl.

На МПБ, лужна 1% пептонна вода з 0,5-1,0% NaCl	через 3-4 год вібріони утворюють легке помутніння, а через 6 год – ніжну голубу плівку, краї якої припідняті біля стінки пробірки. При збовтуванні плівка легко руйнується і осідає на дно у вигляді

	пластівців, а пептонна вода трішки мутніє
На **лужному агарі**	на лужному агарі – великі (1-), плоскі, круглі, гладкі колонії голубого кольору, гомогенні з рівними краями, консистенція масляниста, добре знімаються петлею, прозорі в прохідному світлі і сіро-голубі під стереоскопічним мікроскопом
На щільному середовищі **TCBS і**	гладкі колонії жовтого кольору маслянистої консистенції (внаслідок ферментації сахарози) на голубому середовищі упродовж 12-14 год
На середовищі **СЕДХ**	плоскі, великі, щільні, жовті, напівпрозорі, на блакитно-зеленому фоні середовища, з часом при стоянні змінюють колір на зелений
на с. **Аронсона**	колонії червоні з блідо-рожевою периферією
на с. **Монсура**	колонії прозорі або напівпрозорі з темним центром або сіро-чорного кольору з помутнінням на краях

ФЕРМЕНТАТИВНІ ВЛАСТИВОСТІ

Добре виражені цукролітичні, протеолітичні і діастатичні властивості. Розріджують згорнуту сироватку, желатину. На пластинках желатини через 48 год виростають білі зернисті колонії, оточені зоною розрідження. При посіві уколом через 48-72 год виникає лійкоподібне розрідження, його верхня частина при огляді збоку виглядає як міхурці повітря; пізніше розрідження збільшується пошарово, і порожнина заповнюється масою вібріонів.

У вібріонів виражені діастатичні властивості (розщеплення розчинного крохмалю), утворення індолу, аміаку, відновлення нітратів до нітритів (за нітрозо-індоловою реакцією), пептонизація молока і згортання плазми кролика, сірководню не утворюють. Часто дають додатну реакцію Фогеса-Проскауера, тобто утворюють ацетилметилкарбінол. Продукують індофенолоксидазу, декарбоксилюють лізин і орнітин, не мають аргініндегідролази. Більшість штамів роду *Vibrio* чутливі до препарату О/129 (2,4-диаміно-6,7-діазопропілптерідин).

Ферментують до кислоти D-глюкозу, лактозу (повільно – до 48 год), сахарозу, маніт, мальтозу, левульозу, манозу, утилізують солі амонію. Інертні до арабінози, дульциту, інуліну, інозиту і рамнози. При посіві на цукри: манозу, сахарозу і арабінозу (тріада Хейберга) визначають біохімічну групу за Хейбергом. Холерні вібріони не ферментують арабінозу – це важлива діагностична ознака, яка дозволяє віднести холерний вібріон до О1-біохімічної групи Хейберга. По ферментації на вказані три цукри всі вібріони розділяють на 8 груп.

На основі біохімічних та інших властивостей холерні вібріони поділяють на 2 біовари: класичний (*V.cholerae asiaticae*) і Ель-Тор (*V. cholerae eltor*). Для

диференціації холерних вібріонів від споріднених грамвід'ємних паличок застосовують біохімічні тести.
Вібріони групи О139 стійкі до поліміксину і не проявляють гемолітичної активності.

ТОКСИНОУТВОРЕННЯ ХОЛЕРНОГО ВІБРІОНА

<u>Токсин I типу</u> – ендотоксин	білкова речовина з полісахаридним компонентом, термостабільна
<u>Токсин II типу</u> – екзотоксин (холероген), цитотоксин **екзотоксини типу LT, ST і SLT**	ін'єкція його кроликам супроводжується розвитком у них холероподібного синдрому. Має ентеротоксигенну дію; підсилює функцію секреторних клітин тонкого кишківника; має цитопатогенну дію на культури тканин
<u>Токсин III типу</u>	Термостабільний, пригнічує транспорт натрію через епітелій кишківника

Вібріони, які не належать до О1-групи, містять **ентеротоксини типу *LT*** і ***ST,*** які стимулюють або аденілат-, або гуанілатциклазні системи відповідно. Вони здатні викликати спорадичні або групові діарейні захворювання людей.

ФЕРМЕНТИ ПАТОГЕННОСТІ ХОЛЕРНОГО ВІБРІОНА

Утворюють фібрінолізин, плазмокоагулазу, гіалуронідазу, лецитиназу, колагеназу, протеїназу, муциназу, нейрамінідазу та ін. Певну роль в ураженні, викликаному біоваром Ель-Тор, відіграють гемолізини.

АНТИГЕННА СТРУКТУРА ХОЛЕРНОГО ВІБРІОНА

О-антигени (соматичні)	термостабільні типоспецифічні, поділено на А і В групи; 139 серогруп
Н-видоспецифічні антигени	термолабільні (джгутикові)

V.cholerae і V.eltor є збудниками холери – належать до серогрупи О1. Антиген О1 складається з компонентів А, В і С. Комбінації компонентів антигену АВ належить серовару Огава, АС – Інаба, АВС – Гікошима (проміжковий, зустрічається рідко). О-антиген у всіх представників виду *V.cholerae* однаковий.

НАГ-вібріони мають загальний з холерними вібріонами Н-антиген, а О-антигени в них різні, у зв'язку з чим їх називають вібріонами не О1-групи.
НАГ-вібріони не належать до О1 серологічної групи та за специфічністю О-антигену поділяються на 90 самостійних сероварів, частина з яких (О2, О5, О8, О9, О17, О34, О37, О47, О50) здатні викликати гострі кишкові захворювання.

Вважать, що вони є наслідком мінливості холерних вібріонів. НАГ-вібріони досить часто виділяють із води та інших об'єктів зовнішнього середовища.
У 1992-1993 рр. в Бангладеш, Індії, Китаї, Малайзії та інших країнах виникла епідемія холери, збудник якої виник внаслідок мутацій О-антигена *V.cholerae O1*, він має антиген О139 (новий збудник *V.cholerae O139*).

РЕЗИСТЕНТНІСТЬ

Холерні вібріони швидко гинуть при висушуванні і при дії сонячного опромінення. Довго зберігаються при низьких температурах – в льоді виживають до одного місяця; у випорожненнях до 5 місяців, у грунті до 3 місяців; в устрицях, крабах, креветках, на тілі риб і в їх кишках від 1 до 40 діб, у воді – кілька діб. Можуть зберігатися понад 4 тижні в морській і річковій воді, до 10 діб на продуктах, 4-5 діб у кишківнику мух. Добре розмножуються у свіжому молоці, на м'ясних продуктах. На забрудненій випорожненнями білизні зберігаються до 2 діб, а на вологій тканині – тиждень. При нагріванні до 60оС гинуть через 5 хв, а при кип'ятінні – миттєво. Дуже чутливі до дії дезінфікуючих речовин, кислот, спирту, шлункового соку. Вібріони біовару Ель-Тор більш стійкі в навколишньому середовищі. Високочутливі до хлору: доза активного хлору 0,3-0,4 мг/дм3 води викликає знезараження від холерного вібріона за 30 хв.

ПАТОГЕНЕЗ ХОЛЕРИ

Холера – гостра кишкова інфекція, яка перебігає за типом гастроентериту з проносом і фонтанною блювотою, важкою інтоксикацією, різким порушенням водно-сольового і білкового обміну, зневодненням і розладом серцево-судинної діяльності. Збудниками холери є *V.cholerae* серогрупи О1 (біоварів cholerae і Ель-Тор; сероварів Інаба, Огава і Гікошима) і О139 серогрупи.

ДЖЕРЕЛО ІНФЕКЦІЇ

хвора людина, бактеріоносій (реконвалесцент, транзиторний або хронічний носій).

МЕХАНІЗМ ПЕРЕДАЧІ ІНФЕКЦІЇ

фекально-оральний, рідше контактний

ШЛЯХ ПЕРЕДАЧІ ІНФЕКЦІЇ

водний, рідше харчовий.

Фактор передачі – харчові продукти, вода, об'єкти навколишнього середовища. Певну роль відіграють мухи, які можуть переносити збудника випорожнень на харчові продукти.

Ступені дегідратації (зневоднення) холери

I ступінь. У хворих з дегідратацією I ступеня випорожнення рідкі, блювота частіше 2-5 разів, втрачається 3% рідини від маси тіла, спостерігається слабість, сухість у роті, спрага (**холерний ентерит**).

II ступінь. При дегідратації II ступеня (**холерний гастроентерит**) з рідиною втрачається 4-6% рідини від маси тіла. Захворювання починається раптово, з'являється велика кількість випорожнень (до 15-20 разів на добу), які з часом починають нагадувати рисовий відвар без запаху.

III ступінь. Хворі з дегідратацією III ступеня втрачають рідину в об'ємі 7-9% від маси тіла. З перших годин захворювання – велика кількість і об'єм водянистих випорожнень, які нагадують рисовий відвар, з *солодким* "*рибним*" запахом. Хворих турбують спрага, поклики на блювоту; корчі м'язів верхніх і нижніх кінцівок супроводжуються болями і періодичним збудженням. Спостерігаються й інші симптоми ексикозу: ціаноз, зниження тургору шкіри, хрипкий голос аж до афонії; знижений артеріальний тиск, слабий частий пульс, температура тіла падає до 35оС, олігурія чи анурія, язик сухий. При пальпації живота відзначається бурчання, можлива легка болючість в епігастрії і біляпупковій ділянці.

Домішки крові в калі (надають йому характеру "м'ясних помиїв"), слиз спостерігається при комбінації холери з іншими захворюваннями травного каналу, в тому числі з паразитарними. В перші години велика блювота, швидке зневоднення, недомагання, раптова слабість, запаморочення, сухість у роті, спрага. Шкіра суха, бліда. Часто спостерігається нестійкий ціаноз губ і пальців рук, хрипкий голос. Іноді можуть спостерігатися корчі литкових м'язів, м'язів стопи, жувальних м'язів. Тахікардія, гіпотонія, олігурія, спостерігається гіпокаліємія і гіпохлоремія.

IV ступінь. Дегідратація IV ступеня або **декомпенсоване зневоднення** зустрічаються у 8-15% випадків і відповідають найбільш важкій формі холери, яка раніше мала назву холерний алгід. Швидкий розвиток захворювання, який починається з безперервних дефекацій і значної блювоти, вже в перші 10-12 год приводить до зневоднення організму на десять і більше відсотків від маси тіла. Загострюються риси обличчя, з'являються темні "окуляри" навколо очей, шкіра холодна на дотик, липка; відзначається загальна синюшність, корчі довготривалі. Характерні гіпотермія, афонія, різке *зниження тургору шкіри* ("руки прачки"). Хворі перебувають у прострації, розвивається гіповолемічний шок, холерна кома, анурія, дихання до 50-60 разів на хвилину. Без лікування летальність досягає 60%.

ІМУНІТЕТ

Імунітет стійкий, має антимікробний і антитоксичний характер, пов'язаний з наявністю аглютинінів, вібріолізинів, антитоксинів, вібріоцинів (IgA), опсонінів, бактеріотропінів та з фагоцитарною активністю макрофагів. У природному фізіологічному механізмі захисту важливу роль відіграє нормальна кислотність шлункового соку. Повторні захворювання зустрічаються рідко.

МЕТОДИ МІКРОБІОЛОГІЧНОЇ ДІАГНОСТИКИ ХОЛЕРИ

Мета дослідження: діагностика типових і атипових випадків хвороби, виявлення носіїв вібріонів, осіб, які були в контакті з хворими, та з метою контролю за забрудненням об'єктів навколишнього середовища.

Матеріал на дослідження	Основні методи дослідження	Середовища
кал блювотні маси секційний матеріал вода харчові продукти змиви з об'єктів навколишнього середовища	Бактеріологічний метод Серологічні методи дослідження - розгорнута реакція аглютинації, РНГА, РВА, РНАг Прискорені методи лабораторної діагностики - ІФМ, метод специфічної іммобілізації вібріонів, імунопреципітацію в гелі, ПЛР зі специфічними праймерами	1% пептонну воду (середовище нагромадження), лужну 1% пептонну воду з телуритом калію (1:100000), рідке середовище Монсура, лужний агар, середовище TCBS, середовище Аронсона чи його модифікацію, середовища Дьєдона, Оксоїда

ЗАБІР МАТЕРІАЛУ

Матеріал від хворих беруть до початку лікування антибіотиками. Посуд, який використовується для взяття матеріалу, повинен бути хімічно чистим, перевіреним на цілісність. Банки, пробірки повинні бути закриті скляними або гумовими корками, які не вбирають рідини. При використанні коркових корків під них підкладають пергаментний папір. Після взяття матеріалу корки заливають парафіном, обв'язують подвійним вощеним папером.

Виписують скерування, в якому вказують прізвище та ініціали, вік хворого, його домашню і службову адреси, діагноз, дату початку хвороби і госпіталізації, а також дату і час взяття матеріалу, прізвище й ініціали особи, яка скерувала матеріал. Скерування не повинно міститись у транспортній тарі разом з досліджуваним матеріалом.

Час від взяття матеріалу до проведення дослідження не повинен перевищувати трьох годин. На флаконах, пробірках і чашках для первинного посіву повинні бути зазначені назва середовища і дата виготовлення. Краще засівати матеріал в 1% пептонну воду (середовище нагромадження), можна використати лужну консервуючу рідину з морською сіллю. Якщо матеріал не буде посіяний упродовж 3 год, необхідно використати консервуючу рідину (1% лужна пептонна вода з телуритом калію, середовище Мансура, Кері-Блека та ін.).

Забраний матеріал необхідно обгорнути серветкою, змоченою дезінфікуючим розчином (5% розчином лізолу або карболової кислоти). Пробірки з засіяним матеріалом вкладають у металеві пенали, а чашки Петрі – в металеві банки, бікси. На пеналах і банках відмічають "верх". Пересилають матеріал спеціальним транспортом з довіреною особою.

Обстеження перехворілих, вібріоносіїв перед виписуванням із стаціонару проводиться не раніше 24 год після закінчення лікування антибіотиками триразово з інтервалом у добу.

МЕТОДИ ЗАБОРУ МАТЕРІАЛУ

Ректальний	1) стерильний тампон вводять у пряму кишку на глибину 5см, збирають вміст із стінок кишківника і вносять у флакон або пробірку з 1% пептонною водою. Дерев'яний стержень використовують одноразово 2) стерильну алюмінієву петлю змочують стерильним фізрозчином або 1% пептонною водою, вводять у пряму кишку на 8см і переносять забраний матеріал у флакон або пробірку з 1% пептонною водою
у судна підкладають чашки Петрі або поліетиленову плівку	беруть останню порцію *випорожнення* в кількості 10-20 см3 металевою, дерев'яною або картонною ложечкою і переносять у скляні баночки, щільно закриваючи їх корками
гумовим катетером	один кінець якого вводять у пряму кишку, а інший опускають у стерильну баночку; легко натискають на черевну порожнину, і рідкий кал потрапляє в посудину
блювотні маси	10см3 стерильною металевою ложкою і переносять у широкогорлу баночку
жовч	беруть при дуоденальному зондуванні в лікувальній установі (проби В і С)
секційний матеріал	Беруть відрізки верхньої, середньої і нижньої частин тонкого кишківника – жовчний міхур беруть цілим після того, як перев'язують протоку
воду	беруть у кількості 1 дм3 по 500 см3 у стерильні скляні бутлі
гідробіонти (риби, жаби, молюски)	в закритих банках доставляють у лабораторію
змиви з об'єктів навколишнього середовища	проводять тампонами, змоченими 1% пептонною водою, з поверхні 0,5х0,5 м2 та сіють у пробірку або флакон з 1% пептонною водою
харчові продукти	200 г твердих і 0,5 дм3 рідких поміщають у стерильний скляний посуд або беруть повністю упаковки
мух	ловлять у спеціальні скляні муховловлювачі, заповнені 1% пептонною водою з 1% глюкози

Другу порцію калу і блювотних мас (1-2 см3) біля ліжка хворого засівають в 1% пептонну воду (50 см3) і скеровують у лабораторію в опломбованому вигляді.

ПРОФІЛАКТИКА

Профілактика холери полягає в організації протиепідемічних заходів: локалізація і ліквідування епідемічного спалаху холери (виявлення перших випадків холери, старанний облік хворих і негайне інформування органів охорони здоров'я; ізоляція і госпіталізація хворих і носіїв, обсервація і лабораторне обстеження контактних осіб; поточна і заключна дезінфекція у відділенні для хворих на холеру та у вогнищі); боротьба із забрудненням водоймищ (цілеспрямоване дослідження води поверхневих водоймищ в зонах санітарної охорони водозабору, місцях, де купаються, стічних водах), боротьба з мухами, санпросвітробота (неухильне дотримання правил особистої гігієни, кип'ятіння або старанне хлорування води, знезараження посуду), запобігання занесенню збудників холери ззовні.

СПЕЦИФІЧНА ПРОФІЛАКТИКА

Застосовують корпускулярну вбиту холерну вакцину, яка містить 8 млрд вібріонів біоварів *Vibrio cholerae і Vibrio eltor* сероварів Інаба і Огава (по 2 млрд кожного серовару, вбитих нагріванням чи формаліном); живу холерну вакцину застосовують через рот; холероген-анатоксин; ентеральну хімічну бівалентну вакцину, яка складається з анатоксину і соматичних антигенів сероварів Інаба і Огава, оскільки перехресний імунітет не формується. Імунітет триває не більше 6-8 місяців, вакцина вводиться за епідемічними показами.

ЛІКУВАННЯ

При лікуванні в першу чергу необхідно компенсувати втрату рідини й електролітів в організмі і пригнітити життєдіяльність вібріонів. Хворим парентерально вводять до 10 л і більше рідини на добу, введенням сольових розчинів натрію і калію, плазми або сухої сироватки, глюкози, застосуванням зігрівальних ванн, які стимулюють функцію органів кровообігу. Проводиться антибіотикотерапія спочатку внутрішньовенно, а потім перорально напівсинтетичними тетрациклінами, левоміцетином, триметоприм-сульфаметоксазолом і фуразолідоном.

Питання для самоконтролю

1. Які з перерахованих середовищ використовуються для виділення холерного вибріону ?

A. Середовище Ендо і МПБ (м`ясо-пептонний бульон)
B. Середовище Плоскірєва, бульйон Хоттінгера
C. 1 % пептонна вода, лужний агар
D. Середовище Кітт-Тароцці та кров'яний МПА
E. Середовище Бучина і асцит-бульйон

2. В який термін має бути видано заключну позитивну відповідь про виділення збудника холери при використанні лужного агару і 1 % пептоної води ?
A. 72 години
B. 9 годин
C. 6 годин
D. 3 години
E. 10-48 годин

3. До якого з наведених родів належить збудник холери ?
A. Aeromonas
B. Plesiomonas
C. Vibrio
D. Pseudomonas
E. Helicobacter

4. Діагностичне значення для діагностики холери має тріада Хейберга. За якими з наведених властивостей представники роду Vibrio розділені на групи за Хейбергом ?
A. Серологічними
B. Морфологічними
C. Біологічними
D. Культуральними
E. Біохімічними

5. За якими властивостями визначається належність V.cholerae до серологічної групи О1 ?
A. Біологічними
B. Біохімічними
C. Антигенними
D. Культуральними
E. Морфологічними

6. За якими з наведених антигенів визначається належність холерного вібріону до сероварів Огава, Інаба, Гікошима ?
A. Н-антиген
B. К-антиген
C. Vi-антиген
D. О-антиген
E. F1-антиген

7. На які середовища необхідно посіяти випорожнення хворого холерою ?
A. МПА, МПБ, Кауфмана
B. Кров'яний МПА, жовтково-сольовий агар
C. Лужну ПВ, ЛМПА, Монсура TCBS
D. Середовище Клауберга, Ру

E. Середовище Мюллера, Рапопорт, Плоскирева

8. Вкажіть фактори, які обумовлюють розвиток діареї при холері ?
A. Інвазія епітелію кишечника
B. Циркуляція в кровотоці
C. Утворення дефектів кишкової стінки
D. Дія екзотоксину
E. Дія ендотоксину

9. Чим можна проводити екстренну профілактику холери ?
A. Живою вакциною
B. Вбитою вакциною
C. Холероген-анатоксином
D. Тетрацикліном
E. Холерним бактеріофагом

10. У портовому місті зареєстровано 35 випадків гострої кишкової інфекції. Запідозрили холеру. Який матеріал необхідно взяти для дослідження ?
A. Випорожнення, блювотні маси
B. Сечу
C. Кров
D. Харкотиння
E. Сироватку крові

ЄРСИНІЇ ЧУМИ

Збудник чуми належить до родини *Enterobacteriaceae,* роду *Yersinia*. Рід *Yersinia* має 11 видів, серед яких *Y.pestis* (збудник чуми) і *Y.pseudotuberculosis i Y.enterocolitica,* які найчастіше викликають захворювання у людини (псевдотуберкульоз і кишковий єрсиніоз). Збудник чуми виявив Г.Н.Мінх у 1878 р. Незалежно від нього збудник чуми відкрили в 1894 р. французький мікробіолог А. Йєрсен і японський вчений С. Кітасато під час епідемії чуми в Гонконзі. На честь ученого Йєрсена і названо рід *Yersinia*.

МОРФОЛОГІЯ

Збудник чуми – коротка з заокругленими кінцями паличка, овоїдної форми, грамвід'ємна. В мазках з патматеріалу забарвлюється метиленовим синім біполярно, оскільки цитоплазма розміщується по полюсах клітини. Паличка поліморфна, нерухома, спор не утворює. В мазках із бульйонної культури паличка розташовується ланцюжком, а в мазках з агарових культур – безладно. Біполярне забарвлення в мазках з агарових культур дещо слабше. Краще фарбується лужними і карболовими барвниками (синькою Лефлера).

КУЛЬТИВУВАННЯ

Єрсинії чуми – факультативні анаероби. Розмножуються при pH 6,9-7,1 на простих поживних середовищах. Оптимальна температура росту 27-28 ^{0}C. На

МПБ утворюють плівку, від якої опускаються до дна нитки, схожі на печерні сталактити. Утворюють пластівцевий осад на дні, бульйон прозорий. На МПА через 10-12 год росту колонії нагадують бите скло. Через 18-48 год – ромашку або хусточку з мереживом. На скошеному агарі – через 48 год при 28 ^{0}С культура росте у вигляді в'язкої, прозорої, сірувато-білої слизової маси, нальоту, який вростає у середовище. На КА колонії бактерій чуми мають зернистий характер зі слабо вираженою периферичною зоною. Збудник чуми – природний ауксотроф, потребує цистеїну, метіоніну, ізолейцину, фенілаланіну, валіну, сульфату натрію, крові та її препаратів, лізатів, культури сарцин та інших стимуляторів росту. Елективним середовищем є казеїнові середовища і гідролізати кров'яних згустків.

ФЕРМЕНТАТИВНІ ВЛАСТИВОСТІ

Біохімічна активність невелика: ферментують з утворенням кислоти глюкозу (не завжди), сахарозу, маніт, мальтозу, галактозу, арабінозу, левульозу, не ферментують рамнозу і сечовину. Одні штами бактерій чуми ферментують гліцерин, інші не ферментують. За властивістю розкладати гліцерин, рамнозу, утворювати нітрити розрізняють кілька різновидностей чумних бактерій, які циркулюють у різних вогнищах і резервуаром яких є щурі, байбаки, ховрахи, полівки, піщанки. Протеолітична властивість виражена слабо: утворюють сірководень, не розріджують желатини, не згортають молока. Оксидазонегативні, не утворюють індол, каталазопозитивні. Деякі штами продукують пестицини, активні як проти бактерій чуми, так і проти псевдотуберкульозу.

За біохімічною характеристикою і місцем розповсюдження розрізняють три біовари.

ТОКСИНОУТВОРЕННЯ І ФАКТОРИ ПАТОГЕННОСТІ ЗБУДНИКІВ ЧУМИ

екзотоксин	термолабільний, складається з двох фракцій: А і В. Токсин А видоспецифічний, токсин В спільний для збудника чуми і псевдотуберкульозу. Чумний токсин називають "мишача отрута", бо миші чутливі до його дії
ендотоксин	спричиняє алергійну і токсичну дію
бактеріоцини	пестицин I і пестицин II
Ферменти: гемолізини, гіалуронідазу, фібринолізин, плазмокоагулазу, протеази, ендогенні пурини, нейрамінідазу, аденілатциклазу, амінопептидази широкого спектру дії, деякі біовари утворюють уреазу	
утворюють капсулу	захищає від фагоцитозу
три класи плазмід патогенності, токсигенності і вірулентності	це забезпечує високу патогенність збудника, який відносять до першої групи за ступенем біологічної небезпеки

АНТИГЕННА СТРУКТУРА ЗБУДНИКІВ ЧУМИ

О-антиген	соматичний, термостабільний W-антиген, ліпополісахариднопротеїновий комплекс, спільні для єрсиній
К-антиген	термолабільні капсульні специфічні антигени (фракція F_1 - білкової природи, є основним компонентом поверхневої структури клітин чумних бактерій, який захищає бактерії від фагоцитозу), V і W-антигени (V-антиген є білком, а W-антиген – ліпопротеїдним комплексом). V- і W-антигени проявляють антифагоцитарні властивості і сприяють внутрішньоклітинному росту бактерій.
pH6-антиген	спричиняє пригнічення фагоцитозу і має цитотоксичну дію на макрофаги

КЛАСИФІКАЦІЯ

Згідно з класифікацією, залежно від географічного розповсюдження збудника і його біохімічної особливості розрізняють три біовари бактерій чуми: *Y.antiqua, Y.mediaevalis, Y.orientalis.* За класифікацією російських вчених, вид *Y.pestis* поділений на 5 підвидів: *Y.pestis* subs. *pestis* (основний вид), *Y.pestis* subs. *altaica* (алтайський підвид), *Y.pestis* subs. *caucasica* (кавказький підвид), *Y.pestis* subs. *hissarica* (гісарський підвид) і *Y.pestis* subs. *ulegeica* (улегейський підвид).

РЕЗИСТЕНТНІСТЬ

Збудник стійкий до дії факторів навколишнього середовища, добре переносить низькі температури. В гної зберігається до 30 діб; в харкотинні – до 10 діб; на білизні – тижнями, оскільки білок і слиз захищають його від висихання; в заморожених трупах, блохах – до одного року; в трупах гризунів при 0оС – до 6 місяців. На продуктах (зерно, хліб, овочі) чумні мікроби зберігаються тижнями, в молоці до 3 місяців, у воді, грунті, на одежі – до 5 місяців. Пряме сонячне проміння викликає їх загибель через дві-три години. Чутливий до дії дезінфікуючих речовин: 5% розчин лізолу – через 2-10 хв. При нагріванні до 50о С мікроби гинуть через 30 хв, при кип'ятінні – упродовж 1 хв. У бактерій чуми виявлено штами, резистентні одночасно до кількох антибіотиків.

ПАТОГЕНЕЗ

Чума – особливо небезпечна, зоонозна, природно-вогнищева, карантинна інфекція, яка супроводжується важкою інтоксикацією, геморагічно-некротичним запаленням лімфатичних вузлів, шкіри, легенів, кишківника і розвитком сепсису. Розрізняють природні, синантропні і антропонозні вогнища чуми.

ДЖЕРЕЛО ІНФЕКЦІЇ

хворі тварини, в основному гризуни (чорний щур, сірий щур або пацюк, хатня миша, байбаки, ховрашки, полівки, піщанки, зайці, щурі) та їх ектопаразити – блохи (близько 100 видів)

МЕХАНІЗМ ПЕРЕДАЧІ ІНФЕКЦІЇ

трансмісивний; контактний; аспіраційний

ШЛЯХ ПЕРЕДАЧІ ІНФЕКЦІЇ

через укуси інфікованих бліх; від хворих тварин і при знятті шкірок з гризунів і зайців; аліментарний - при вживанні погано провареного зараженого м'яса; повітряно-краплинним і повітряно-пороховим шляхом зараження – від людини, хворої легеневої формою чуми, або у випадку аварії з культурою збудника в лабораторних умовах.

Інкубаційний період від декількох годин до 9 діб (в осіб, які пройшли серопрофілактику, до 12 діб).

Клінічні форми чуми в людини (Г.П.Руднев, 1970 р.) в порядку зростання їх епідеміологічного значення:

- ✖ локальні форми – шкірна, бубонна (рис.11), шкірно-бубонна;
- ✖ генералізовані форми – первинно- і вторинно-септична;
- ✖ зовнішньо дисеміновані форми – первинно- і вторинно-легенева, кишкова.

Найчастіше виникає бубонна форма чуми (79%), рідше септична (14%) і легенева (5%). Захворювання починається раптово, хворого лихоманить, температура піднімається до 39оС і вище, з'являється слабкість, біль голови, м'язовий біль, безсоння, нудота. Порушується свідомість, людина марить з галюцинаціями, збуджена або загальмована, з виразом страху на загостреному обличчі, темні кола під очима, ціаноз обличчя – "чорна смерть". Обличчя і кон'юнктива гіперемовані, язик потовщений, покритий товстим білим нальотом ("натертий крейдою язик"), слизова рота суха, зів гіперемований, з дрібними крововиливами, мова невиразна. Шкіра гаряча і суха на дотик. Бактеріємія при чумі – явище постійне. У важких випадках можуть бути петехії і великих розмірів геморагії. На трупах вони стають темно-бордовими, тому чуму і назвали "чорною смертю". На фоні різкої інтоксикації розвивається серцева недостатність з аритмією, артеріальною гіпотензією, людині важко дихати, ціаноз. З'являються ураження, характерні для окремих клінічних форм захворювання. У важкохворих з'являється блювота з домішками крові, частий рідкий стілець з домішками слизу і крові.

ІМУНІТЕТ

Природна сприйнятливість людей дуже висока. Після перенесеного захворювання виробляється стійкий і тривалий імунітет, зумовлений переважно фагоцитарною активністю Т-лімфоцитів і макрофагів. У перехворілих і вакцинованих фагоцитоз носить завершений характер та обумовлює набутий імунітет. Істотну роль в індукуванні імунітету відіграє протективний антиген.

МЕТОДИ ЗАБОРУ МАТЕРІАЛУ

виділення виразки	забирають стерильно добре підігнаним шприцем
пунктат з бубону	після дезінфекції спиртом ураженої ділянки вводять голку в край виразки, карбункула або бубона і, помалу вводячи голку до середини, набирають матеріал
харкотиння і випорожнення	забирають в стерильну широкогорлу скляну банку
кров	3-5 $см^3$ беруть стерильним шприцом і засівають біля ліжка хворого в бульйон і на спеціальне середовище в чашках Петрі
блохи	досліджують вміст кишківника мертвих блох за допомогою лупи
гризуни	умертвляють і розтинають, з органів готують мазки-відбитки та посіви на спеціальні середовища.

МЕТОДИ МІКРОБІОЛОГІЧНОЇ ДІАГНОСТИКИ ЧУМИ

Матеріал на дослідження	**Основні методи дослідження**	**Середовища**
вміст бубона **виділення виразки** **випорожнення, блювотні маси** **слиз із зіву, сечу і мокротиння** **змиви з об'єктів** **кров** **патологоанатомічний матеріал** **трупи гризунів, блохи** **вода,** **харчові продукти** **проби повітря**	мікроскопічний, бактеріологічний, біологічний, люмінесцентно-серологічний - РГПГА, РНАт, реакцію нейтралізації антигена – РНАг) *Прискорені методи діагностики чуми* - РІФ, ІФА з моно- і поліклональними антитілами, РЗГА, реакції преципітації в гелі, РНАт або РНАг	для консервації рекомендується забирати в суміш Берліна і Башевої або в рідину Брока; поживні середовища МПА, МПБ (додаючи стимулятори росту – сульфіт натрію, лізовану кров, перевар Філдса, стимулятор Карпузіді – фільтрат культури сарцин або маніфестатор Покровської – фільтрат культур *B.mesentericum siscus*); на середовище Туманського або Коробкової з 0,1% крові кролика або коня;

Дослідження матеріалу на чуму, проводять лише в спеціально обладнаних лабораторіях у протичумних костюмах з дотриманням режиму.

ПРОФІЛАКТИКА

Рання діагностика, ізоляція і госпіталізація хворих, запровадження карантину, профілактичне лікування стрептоміцином і вакцинація, обсервація, дезинфекція, дезинсекція, дератизація, виконання вимог міжнародних конвенцій щодо профілактики чуми, забезпечення охорони кордонів країни від занесення чуми.

СПЕЦИФІЧНА ПРОФІЛАКТИКА

Специфічну профілактику проводять живою вакциною EV або хімічною чумною вакциною. Вакцина EV (висушена в сахарозо-желатиновому середовищі завісина живих бактерій вакцинних штамів чумного мікроба) вводиться підшкірно, внутрішньошкірно, нашкірно одноразово або дворазово, створює імунітет до одного року. За епідданими, через 6 або 12 місяців проводять ревакцинацію. Ефективність вакцинації невисока. Вакцина EV отримана в 1931 р. Жіраром і Ж.Робіком шляхом 5-річного культивування чумних бактерій при зниженій температурі (16-20^{o}C). Вперше жива протичумна вакцина отримана А.М.Покровською завдяки дії на мікроби бактеріофага (вакцина АМП), пізніше Н.Н.Жуковим-Вережніковим (вакцина ЖВР), Е.І.Коробковою та іншими дослідниками. Перші спроби запобігти чумі запропонував Д.С. Самойлович (XVIII ст.). Активну імунізацію проводять в ендемічних районах мисливцям та особам, які виловлюють гризунів і працюють зі збудником.

Для оцінки вакцинації і ретроспективної діагностики чуми запропонована внутрішньошкірна алергічна проба з пестином. Реакція вважається додатною, якщо на місці введення пестина через 24-48 год утворюється ущільнення не менше 10 мм в діаметрі і почервоніння. Алергічна проба позитивна в осіб, які мають післяінфекційний імунітет.

ЛІКУВАННЯ

Великий внесок у вивчення чуми належить вченим Д.К.Заболотному, Н.К.Клодницькому, І.А.Лебединському, Н.Ф.Гамалеї, а також індійським ученим, які для лікування чуми запропонували стрептоміцин.

Для лікування чуми використовують стрептоміцин, сизоміцин, гентаміцин, біоміцин, левоміцетин і тетрациклін. При важких формах вводять протичумний імуноглобулін і специфічний фаг. При ускладненнях, спричинених коковою мікрофлорою, рекомендується введення пеніциліну, сульфаніламідних препаратів. При ентероколітах не завжди призначають антибіотики, оскільки добрий ефект дає інфузійна терапія. Використовуються патогенетичні засоби – вводять 5-10% розчин глюкози з аскорбіновою кислотою, дезінтоксикаційні рідини - внутрішньовенно 500-1000 мл фізрозчину хлориду натрію, реополіглюкін, гемодез та інші, серцево-судинні препарати. При нагноєнні

бубонів призначають антибіотики, здійснюють вітамінотерапію. Хворих поміщають у палати-бокси з постійним спостереженням (індивідуальний пост). Для лікування застосовують антимікробну сироватку, яка отримана гіперімунізацією коней вбитими, а пізніше живими бактеріями (ефективна при бубонній формі чуми).

ФРАНСІСЕЛИ ТУЛЯРЕМІЇ

Збудник туляремії – *Francisella tularensis* належить до родини *Brucellaceae,* роду *Francisella*. До роду *Francisella* належать два види *Francisella novicida* (водяний штам, виділений з озера в США) і *Francisella tularensis*. Туляремія вперше описана японськими вченими (1837 р.). В 1925 р. Охара відкрив нову бактерію, яку назвав коком Охари-Хагі.
Збудник туляремії виділений у 1911 р. американськими вченими Г.Мак-Коєм і М.Чепіном в районі озера Туляре штату Каліфорнія як збудник чумоподібної лихоманки земляних білок і вивчений Е.Френсісом у 1921 р. Френсіс довів ідентичність туляремії і хвороби Охари, звідки й пішла назва збудника.

МОРФОЛОГІЯ

Збудник туляремії *Francisella tularensis* – дрібні кокоподібні і паличкоподібні клітини, розміром 0,3-0,5 мкм, грамнегативні, нерухомі, спор не утворюють. Властивий поліморфізм – кокоподібні до ниткоподібних форм. У мазках-відбитках з органів тварин, зафарбованих за Романовським, бактерії мають ніжно-фіолетовий колір, утворюють ніжну капсулу. Зустрічаються культури, які проходять через бактеріальні фільтри. Клітинна стінка має гладенькі контури.

КУЛЬТИВУВАННЯ

Франсісели туляремії – строгі аероби. На простих поживних середовищах не культивуються. Добрим середовищем для культивування є згорнуте яйцево-жовткове середовище, pH середовища 6,7-7,4. Посіви витримують 2-14 діб у термостаті при 37оС.

На яйцево-жовтковому середовищі	дрібні 1-4 мм, круглі, випуклі, блискучі, молочно-білого кольору колонії з голубим відливом, які нагадують крапельки роси у S-формі; при суцільному рості утворюється тонкий “шагреневий” наліт
На глюкозоцистиновому середовищі Френсіса	колонії бактерій туляремії вологі, мутні, молочно-білого кольору
МПА з цистеїном, кров’ю (стимулятори росту) Ємельянової;	колонії виростають круглі з гладенькою поверхнею, молочного кольору, вологі, слизової консистенції, оточені

на агарових м'ясних і рибних середовищах; **на середовищі з тканинами мозку, селезінки, печінки, екстрактами серця, пивними дріжджами, рибним борошном;**	характерним зеленим вінчиком; при тривалому культивуванні в лабораторних умовах S-форма переходить в авірулентну R-форму; Часто до середовищ додають поліміксин В або пеніцилін для пригнічення росту інших мікроорганізмів
Мак-Коя	дрібні (1-1,5 мм в діаметрі), блискучі, випуклі, з рівним краєм, нагадують шагреневу шкіру.
синтетичне рідке середовище, що містить амінокислоти, пантетонат кальцію, іони магнію, глюкозу, солі хлориду натрію, сульфату магнію, тіамін; у жовтковому мішку 12-денного курячого ембріона	

ФЕРМЕНТАТИВНІ ВЛАСТИВОСТІ

Ферментативні властивості виражені слабо, не стабільні.. Ферментують до кислоти глюкозу, мальтозу, інколи левульозу, манозу, фруктозу, не завжди – декстрин і гліцерин. Розщеплюють білки до сірководню, не утворюють індол. Редукують деякі фарби – тіонін, метиленовий синій, малахітовий зелений. Оксидазо- і каталазонегативні.

КЛАСИФІКАЦІЯ

Внутрішньовидовою таксономією туляремійного мікроба є виділення трьох географічних рас, які розрізняються за біохімічними і патогенними властивостями:

голарктична раса або підвид (Європа, Азія, Північна Америка);
неоарктична (американська);
середньоазіатська (в тугайних вогнищах річок Іллі, Чу, Амудар'ї).

ТОКСИНОУТВОРЕННЯ ЗБУДНИКІВ ТУЛЯРЕМІЇ і ФЕРМЕНТИ

ендотоксин	термостабільний
Vi-антигеном	надає вірулентності
ферменти патогенності	каталаза, глутаміназа, нейрамінідаза, аспарагіназа, дез- і трансаміназа, цитрулінереїдаза, фібринолізин та фактори дифузії

АНТИГЕННА СТРУКТУРА ЗБУДНИКІВ ТУЛЯРЕМІЇ

О-антиген	тіла мікробної клітини
Vi-антиген	вірулентність та імуногенність

РЕЗИСТЕНТНІСТЬ

Збудник стійкий до дії факторів навколишнього середовища, добре переносить низькі температури. В гної зберігається до 30 діб; в харкотинні – до 10 діб; на білизні – тижнями, оскільки білок і слиз захищають його від висихання; в заморожених трупах, блохах – до одного року; в трупах гризунів при 0^{o}С – до 6 місяців. На продуктах (зерно, хліб, овочі) чумні мікроби зберігаються тижнями, в молоці до 3 місяців, у воді, грунті, на одежі – до 5 місяців. Пряме сонячне проміння викликає їх загибель через дві-три години. Чутливий до дії дезінфікуючих речовин: 5% розчин лізолу – через 2-10 хв. При нагріванні до 50^{o} С мікроби гинуть через 30 хв, при кип'ятінні – упродовж 1 хв. У бактерій чуми виявлено штами, резистентні одночасно до кількох антибіотиків.

ПАТОГЕНЕЗ

Туляремія – гостра природновогнищева зоонозна інфекція септичного характеру з розвитком специфічного лімфаденіту і ураженням різних органів: очей, легень, травного каналу та внутрішніх органів.

ДЖЕРЕЛО ІНФЕКЦІЇ

численні види гризунів, комахоїдних, хижаків.

Основними видами, які забезпечують існування збудника в природі, є звичайні полівки, водяні щурі, домові миші, ондатри, зайці, хом'яки, від яких заражаються синантропні мишеподібні гризуни. Резервуаром є також багато видів кліщів (особливо іксодових), комарі, сліпці.

МЕХАНІЗМ ПЕРЕДАЧІ ІНФЕКЦІЇ

контактний, фекально-оральний, аспіраційний, трансмісивний

ШЛЯХ ПЕРЕДАЧІ ІНФЕКЦІЇ

при контакті з хворими тваринами або їх трупами (при вилові гризунів, зняття із них шкірок), аліментарний – через воду і харчові продукти, – повітряно-пороховим шляхом, при укусі членистоногих і комах

За локалізацією вогнища інфекції виділяють чотири клінічні форми туляремії:

- бубонну (виразково-бубонну, око-бубонну),
- легеневу,
- генералізовану,
- шлунково-кишкову (абдомінальну).

В неускладнених випадках захворювання завершується зворотним метаморфозом уражених лімфатичних вузлів і виздоровленням хворого. Хвороба починається гостро: підвищується температура до 38- 39оС і триває до 2-3 тижнів, хворого лихоманить, спостерігається блювота, біль голови, запаморочення, болі в м'язах, ломить кості. У важких випадках відмічено блювоту, відсутність апетиту. Порушується сон. Характерна ейфорія, рідко зустрічається загальмованість. Лице і кон'юнктиви гіперемовані, кон'юнктивіт, точкові крововиливи на слизовій оболонці порожнини рота, язик обкладений сірим нальотом, лімфаденопатія, печінка і селезінка збільшені. Клінічна форма захворювання визначається шляхом передачі збудника.

ІМУНІТЕТ

Імунітет після перенесеного захворювання стійкий і тривалий, пожиттєвий, за характером – клітинний і гуморальний. В організмі знаходять антитіла (аглютиніни; преципітини, антитіла, які зв'язують комплемент). Дослідники Хотенвер, Ольсуф'єв і Майський вважають, що несприятливість при туляремії спочатку носить характер нестерильного, а пізніше стерильного імунітету. Організм хворого впродовж інфекції і довгий час після видоровлення перебуває в стані алергії, яка виявляється при введенні тулярину.

МЕТОДИ ЗАБОРУ МАТЕРІАЛУ

вміст бубона	забирають шприцом (якщо матеріал забрати не вдається, вводять у бубон 0,1 $см^3$ стерильного ізотонічного розчину хлориду натрію і відсмоктують шприцом);
виділення слизової очей	забирають стерильним тампоном
випорожнення і харкотиння	забирають у широкогорлу стерильну банку
кров	беруть 2-3 $см^3$ стерильним шприцом і поміщають у стерильну пробірку
гризунів і їх виділення	у стерильну банку
членистоногих	у стерильну банку
воду, харчові продукти	у стерильну банку

МЕТОДИ МІКРОБІОЛОГІЧНОЇ ДІАГНОСТИКИ ТУЛЯРЕМІЇ

Мета мікробіологічного дослідження: виявлення збудника туляремії та його ідентифікація.

Матеріал на дослідження	Основні методи дослідження	Алергени
вміст бубона	алергічний, серологічний - РА, ККРА, РНГА, РЗК на холоді; біологічний, люмінесцентно-мікроскопічний, бактеріологічний (не знайшов широкого застосування, оскільки виділити збудник на	алерген - тулярин
виділення слизової очей		
випорожнення		
харкотиння		
кров		
гризунів і їх		

виділення	поживних середовищах не вдалося); **експрес-методи** - метод люмінесцентної мікроскопії, ІФА	
членистоногих		
воду, харчові продукти		

ПРОФІЛАКТИКА

Профілактика полягає у здійсненні загальних протиепідемічних заходів у вогнищах (боротьба з гризунами, переносниками), забезпеченні санітарного стану джерел води, складів харчування, санітаро-освітній роботі серед населення та імунізації людей за епідемічними показами.

СПЕЦИФІЧНА ПРОФІЛАКТИКА

Специфічна профілактика проводиться сухою живою туляремійною вакциною, яка вперше отримана Н.А.Гайським та Б.Я.Ельбертом, а також інактивованою, виготовленою з протективного антигена. Застосовують нашкірно одноразово. Тривалість імунітету 5-6 років. Вакцинують сільськогосподарських робітників (полівників), у зоні природних вогнищ. Завдяки комплексним заходам захворюваність на туляремію знизилася до поодиноких випадків.

ЛІКУВАННЯ

Призначають антибіотики (гентаміцин, стрептоміцин, левоміцетин, тетрациклін, хлортетрациклін, хлорамфенікол), проводять патогенетичну терапію (вводять 5-10% розчин глюкози і аскорбінової кислоти), оксигенотерапію, закапують сульфацил натрію (при очній формі), призначають полоскання розчином фурациліну 1:5000 (при ангінозно-бубонній формі, накладають пов'язку з тетрацикліновою маззю при порушенні цілісності бубона, проводять десенсибілізуючу терапію антигістамінними препаратами. При важких формах використовують вакцину з убитих бактерій туляремії.

Питання для самоконтролю

1. При культивуванні збудника чуми на чашках з ростом культури, засіяних "газоном" з'явилися ділянки відсутності росту округлої форми діаметром 1-1,5 мм. Чим це зумовлено ?
A. Неякісним поживним середовищем
B. Недостатньою кількістю посівного матеріалу
C. Наявністю бактеріофагу в культурі
D. Стороннім забрудненням культури
E. "Старінням" культури

2. Вірогідність бактеріологічного дослідження при діагностиці чуми підвищується при застосуванні реакції імунофлуоресценції. Опишіть отриману при цьому мікроскопічну картину:

A. Дрібні овоподібні палички з яскраво-зеленим світінням
B. Дрібні кокоподібні бактерії рожевого кольору
C. Великі палички з обрубленими кінцями фіолетового кольору
D. Дрібні палички із заокругленими кінцями рожевого кольору
E. Злегка зігнуті червоні палички, розташовані під кутом

3. Матеріалом для лабораторного дослідження при бубонній формі чуми є:
A. Пунктат з бубона, кров
B. Фекалії, блювотні маси
C. Спинно-мозкова рідина, кров
D. Харкотиння, кров
E. Виділення з виразки, сеча

4. Якщо при чумі досліджуваний матеріал забруднений другорядною мікрофлорою, то переважно використовують:
A. Бактеріологічний метод
B. Серологічну діагностику
C. Алергійний метод
D. Біологічний метод
E. ПЛР

5. У хворого Х. з високою температурою збільшеними шийними лімфовузлами, геморагічним висипом на шкірі, запідозрено чуму. Який збудник викликає це захворювання ?
A. Yersinia pestis
B. Francisella pestis
C. Yersinia enterocolitica
D. Yersinia jejuni
E. Brucella suis

6. При обстеженні хворого Д. була виявлена бубонна форма туляремії. Який збудник викликає дане захворювання ?
A. Yersinia Enterocolitica
B. Francisella tularensis
C. Yersinia tularensis
D. Yersinia pestis
E. Francisella pestis

7. У хворого Н. із пунктата бубона виділили збудника туляремії. Які морфологічні властивості має цей мікрорганізм ?
A. Диплобактерії
B. Кокобактерії
C. Грамнегативний
D. Утворює спори

E. Не утворює капсули

8. Для Francisella tularens характерні всі культуральні властивості, КРІМ:
A. Росте на простих поживних середовищах
B. Росте на середовищі Мак-Коя і Чепіна
C. Облігатні аероби
D. Не виростають ізольовані колонії після висіву матеріалу на середовище
E. Росте на середовищах з кров'ю і цистином

9. Вірулентність Francisella tularens зумовлена всіма названими факторами, КРІМ:
A. О-антигеном
B. Vi-антигеном
C. Утворенням ендотоксину
D. Утворенням білкового токсину
E. Нейрамінідазою

10. У хворого Н. із пунктата бубона виділили збудника туляремії. Цей мікрорганізм має всі названі властивості, КРІМ:
A. Пригнічує фагоцитоз
B. Викликає алергійну реакцію
C. Утворює ендотоксин
D. Утворює спори
E. Утворює капсули

БРУЦЕЛИ

Бруцели виявив у 1886 р. Д.Брюс в селезінці солдата, який помер від мальтійської лихоманки. Бруцельоз викликається трьома основними видами роду *Brucella – B.melitensis, біовари 1-3* (виділена від хворого, збудник козяче-овечого бруцельозу), *B.abortus bovis (паличка Банга) біовари 1-6 і 9* (виділили при аборті корови Б. Банг і Б.Стрібольт у 1897 р.), *B. abortus suis біовари 1-5* (виділена при інфекційному аборті свиней Дж.Траум у 1914 р.).

Описані ще основні види бруцел: *B.neotomae* - циркулює серед щурів, *B.ovis* – циркулює серед овець і баранів, *B.canis* – серед собак, *B.rangiferis* – циркулює серед північних оленів.

МОРФОЛОГІЯ

Бруцели кулястої, овоїдної і паличкоподібної форми, розташовуються безладно, інколи парами, нерухомі, не утворюють спор. За деяких умов набувають різних форм і розмірів, можуть утворювати ніжні капсули при культивуванні на середовищі Дорсе; на середовищах, які містять 10% імунної сироватки барана або коня; а також при вирощуванні в курячих ембріонах. Капсульні культури можна отримати і при дії специфічного бактеріофага.

Грамнегативні, за Романовським-Гімзи фарбуються в фіолетовий колір, за Козловським у яскраво-червоний.

КУЛЬТИВУВАННЯ

Бруцели – строгі аероби. Вид, виділений від корів, вимагає мікроаерофільних умов культивування: спочатку розмноження відбувається в атмосфері, яка містить 5-10% CO_2, а пізніше у звичайних умовах. Культивування матеріалу від хворого триває упродовж 3-10 діб, інколи до 30 діб, культивують при pH середовища 6,6-7,4. Оптимальна температура росту 37^{o}C. Добре ростуть у присутності тіаміну, ніацину, біотину, пантотенату кальцію (фактори росту).

печінковому агарі Хеддльсона	колонії бруцел круглі, гладенькі, як крапельки роси, випуклі з білувато-перламутровим полиском, прозорі S-форми. В процесі дисоціації з'являються шорсткі мутні R-форми; на скошеному агарі колонії сірувато-білого напівпрозорого нальоту
печінковому бульйоні з глюкозою і гліцерином	рівномірне помутніння зі слизовим осадом на дні
середовищі D з рибного і дріжджового гідролізату, сироватково-глюкозному агарі, на кров'яному агарі, на агарі із картопляного настою з 5% сироватки, в жовтку 10-12-денних курячих зародків	

ФЕРМЕНТАТИВНІ ВЛАСТИВОСТІ

Желатину не розріджують, молока не згортають, ферментують глюкозу і арабінозу до кислоти, гідролізують білки з утворенням аміаку і сірководню, амінокислоти, сечовину й аспарагін, відновлюють нітрати в нітрити (за винятком *B.ovis*). Каталазо- і оксидазододатні (за винятком *B.ovis і B.neotomae*), цитрат не утилізують, індол не утворюють, реакції з метиловим червоним і Фогес-Проскауера від'ємні.

Всередині видів бруцел розрізняють біовари: вид *B.melitensis* поділяють на три біовари, вид *B.abortus* – на дев'ять і вид *B.suis* – на п'ять біоварів. Диференціація бруцел заснована на біохімічних властивостях, властивостях росту на середовищі з фуксином і тіоніном, фаголізисом Т6, аглютинацією моноспецифічними сироватками. Четвертий біовар *B.suis,* оскільки його носіями є не свині, а північні олені, та за іншими особливостями доцільно виділяти як самостійний вид *Brucella rangiferis.* До п'ятого біовару відносять культури, виділені при аборті корови, вівці, вони мають стійку R-форму бруцел.

У звичайному робочому розведенні фаг лізує лише *B.abortus*. Однак у дозі, яка дорівнює десяти робочій, фаг лізує штами *B.suis i B.neotomae.*

ТОКСИНОУТВОРЕННЯ

Не виробляють екзотоксину, в результаті розкладу бактерій утворюється ендотоксин, що має специфічні алергічні властивості і може використовуватися при здійсненні шкірних алергічних проб. Бруцели продукують ферменти патогенності: гіалуронідазу, уреазу, каталазу, пероксидазу, ліпазу, фосфатазу.

АНТИГЕННА СТРУКТУРА

О-соматичні	видоспецифічні А, М, R-антигени. У бруцел дрібної рогатої худоби переважає антиген М, у великої рогатої худоби – антиген А.
термолабільний поверхневий L-антиген	який подібний до Vi-антигену сальмонел.

РЕЗИСТЕНТНІСТЬ

Бруцели довго зберігаються при низькій температурі. У грунті, сечі, випорожненнях тварин, у гної, сіні, висівках виживають до 4,5 місяця, у кризі, в снігу, маслі і бринзі – до 4 місяців, у воді – до 90 діб, в молоці при температурі холодильника – 10-16 діб, у кислому молоці – до 30 діб, у сирі – до 1 року, у вовні овець – 3-4 місяці, в пилу – 30 діб, у м'ясі – 20 діб.

Від дії температури 60^{o}С бруцели гинуть упродовж 30 хв, при 80^{o}С – через 5 хв, від кип'ятіння – за декілька секунд. Дуже чутливі до дезинфікуючих засобів – фенолу (3% розчин), креоліну, формаліну, хлорного вапна (25% активного хлору), хлораміну, лізолу, гинуть через 5 хв. Найкращі результати дає застосування 1% розчину соляної кислоти в поєднанні з 8% розчином натрію хлориду. Бруцели відносять до ІІ групи патогеності.

ПАТОГЕНЕЗ

Бруцельоз – гостра інфекційно-алергічна або хронічна рецидивуюча, зоонозна інфекція, з фекально-оральним механізмом передачі збудника, яка супроводжується лихоманкою, ураженням ретикулоендотеліальної системи, опорно-рухового апарату, судинної, нервової та інших систем. Для людини найбільш патогенною є *B.melitensis* – збудник бруцельозу кіз та овець.

ДЖЕРЕЛО ІНФЕКЦІЇ

сільськогосподарські тварини, дрібна і велика рогата худоба. У вогнищі бруцельозу коров'ячого виду з 20 інфікованих тварин захворіє одна.

МЕХАНІЗМ ПЕРЕДАЧІ ІНФЕКЦІЇ

фекально-оральний, контактний, аерогенний

ШЛЯХ ПЕРЕДАЧІ ІНФЕКЦІЇ

прямий контакт, аліментарний, повітряно-крапельним шляхом через шерсть, гній, підстилки, землю.

Інкубаційний період при зараженні бруцелами козяче-овечого виду – 1-6 тижнів, коров'ячого – декілька місяців. Збудник проникає в клітини мононуклеарних фагоцитів, лімфатичні вузли та уражує їх, розмножується в клітинах лімфоїдно-макрофагальної системи. До 20 доби починається процес формування гранульом. Із зруйнованих макрофагів бруцели потрапляють у кров (стан бактеріємії), розносяться по цілому організму, у внутрішні органи (селезінку, кістковий мозок), викликаючи первинну генералізацію інфекції та утворюючи рецидиви генералізації інфекції (періостит, артрит, орхіт). В уражених органах виявляють вогнища некрозу, оточені інфільтратами. Бруцели можуть проникнути в молочні залози і з'явитися в грудному молоці. Бактеріємія і генералізація сильно алергізують організм.

Розрізняють п'ять клінічних форм бруцельозу:

1) первинно-латентну;
2) гостро септичну;
3) первинно-хронічну метастатичну;
4) вторинно-хронічну метастатичну;
5) вторинно-латентну.

Первинно-латентна форма перебігає безсимптомно. Але при ослабленні може трансформуватися в гостросептичну або первинно-хронічну метастатичну. Гостросептична форма: лихоманка, підйом температури до 39-40^{o}С, триває 3-7 діб і більше, ознаки інфекційно-алергічного міокардиту; можливі ангіна, фарингіт, сухий бронхіт. Характерні біль у м'язах, кістках, суглобах. Перебігає як гостра і хронічно рецидивуюча інфекція з різною клінічною картиною. На висоті лихоманки спостерігається збудження, безсоння, морозить, різко виражена пітливість (рання ознака), м'язова слабкість, адинамія, біль у кінцівках.

Через 6 місяців хвороба переходить у первинно-хронічну або вторинно-хронічну метастатичну активну форму з періодичними вогнищевими ураженнями різних органів і систем (ураження нервів, суглобів, кісток, легень, очей, печінки, селезінки). Повторні лихоманкові напади змінюються безлихоманковими періодами упродовж 1-1,5 місяців. Можуть виникати артрити, неврити, плексити, радикуліти, орхіти, епідедиміти, мастити, ендометрити. Для бруцельозу типовий сакроілеїт, який має велике діагностичне значення, оскільки рідко буває іншої етіології. Інколи відбувається ураження очей (ірити, хоріоретиніти, кератити, атрофія зорового нерва). При аерогенному зараженні виникають пневмонії.

Стан тривалої ремісії патологічного процесу (місяці, роки) визначають як хронічний неактивний бруцельоз, летальність становить 2%. За важкістю процесу розрізняють також атипові і легкі форми бруцельозу, які дають лише невелике підвищення температури. Хвороба може тривати від кількох місяців

до кількох років і закінчуватися самовилікуванням (П.Ф.Здродовський). З організму хворого бруцели виділяються з сечею, а у жінок – з молоком.

ІМУНІТЕТ

Імунітет після захворювання має відносний характер. У крові хворих виявляють аглютиніни, преципітини і комплементзв'язуючі антитіла, імунітет проти всіх видів бруцел. В основі лежить активність макрофагів і Т-лімфоцитів (клітинний імунітет); за даними П.А.Вершилової, велику роль відіграють бар'єрні функції лімфатичних вузлів, фагоцитоз, відбувається перебудова організму – підвищена чутливість організму до бруцел і їх токсинів.

МЕТОДИ МІКРОБІОЛОГІЧНОЇ ДІАГНОСТИКИ БРУЦЕЛЬОЗУ

Матеріал на дослідження	**Основні методи дослідження**	**Середовища**
кров **пунктат кісткового мозку** **спинномозкова і синовіальна рідини** **випорожнення** **жовч** **сеча хворих людей** **грудне молоко** **секрет кон'юнктиви**	бактеріологічне дослідження, серологічна діагностика - реакції аглютинації Райта і Хеддлсона, *прискорена діагностика* - реакція аглютинації, латекс-аглютинації, коаглютинації, преципітації, непряма реакція гемолізу бенгальського рожевого з кислим антигеном, реакція Кумбса, РНГА, реакцію агрегат-гемаглютинації (РАГА), РЗК на холоді – РТЗК, ОФР, РІФ, ІФМ, метод ДНК/ДНК гібридизації; алергійна проба Бюрне;	50 $см^3$ печінкового або асцитичного бульйону (рН 7,1-7,2) або в МПБ з додаванням 1% глюкози, 2% розчину гліцерину і антифагової сироватки; печінковий і м'ясо-пептонний агар і бульйон, середовище "Д", "Альбімі"-агар і картопляний агар (рН 6,8-7,2).
секційний матеріал		
молоко і молочні продукти		

МЕТОДИ ЗАБОРУ МАТЕРІАЛУ

кров	на гемо культуру - з вени
пунктат кісткового мозку грудини	на мієлокультуру бруцел - отримують шляхом пункції грудини шприцом з короткою і дещо затупленою голкою, місце пункції знеболюється

	хлоретилом
випорожнення	виділення копрокультури вдається рідко. Готують суспензію, фільтрують через паперовий фільтр, додають 1-2% бруцельозної аглютинуючої сироватки, витримують 2 год в термостаті при 37°С, центрифугують і осад засівають на середовища
жовч	для виділення білікультури перед посівом центрифугують 1-2 год при 3000 об/хв і засівають осад
сеча хворих людей	для виділення уринокультури до асептично отриманої катетером сечі додають бруцельозну аглютинуючу сироватку з розрахунку 1-2% для концентрації бруцел. Сечу центрифугують, а осад 0,5 $см^3$ засівають у чашки Петрі з печінковим агаром, до якого для затримки росту банальної мікрофлори додають генціановий фіолетовий у розведенні 1:200 000 і антифагову сироватку.
грудне молоко	для виділення лактокультури бруцел молоко центрифугують і 0,1-0,2 $см^3$ вершків засівають у чашки Петрі з печінковим агаром, який містить генціанвіолет
спинномозкова і синовіальна рідини, секрет кон'юнктиви, секційний матеріал, молоко і молочні продукти. **Культури бруцел ростуть через 5-10 діб, а інколи через 30 діб при 37°С після посіву.**	

На щільному середовищі виростають дрібні ізольовані колонії S-форми. Виділяють чисту культуру і визначають вид бруцел. З чистою культурою ставлять реакцію аглютинації з бруцельозною імунною сироваткою; ставлять пробу на лізис культури полівалентним бруцельозним фагом.

При диференціації видів бруцел враховують відношення культури до CO_2, властивість виробляти сірководень і чутливість до бактеріостатичної дії анілінових барвників (основного фуксину і тіоніну), аглютинацію моноспецифічними (монорецепторними) сироватками і чутливість до фага "Тб" у його робочому розведенні.

B.suis редукує лише тіонін і росте на ньому і не росте на фуксині; культура *B.abortus* редукує лише фуксин і росте на фуксині і не росте на тіоніні; *B.melitensis* росте в присутності обох барвників, оскільки здатна редукувати і фуксин, і тіонін. Однак є методи, які дозволяють диференціювати окремі типи бруцел за їх властивістю редукувати фуксин і тіонін.

Характеристика S- і R-форм колоній бруцел

Ознаки	S-форма	R-форма
Ріст на агарі	Колонії випуклі, з рівним краєм, гомогенні або ніжно-зернисті, вологі	Колонії більш грубі, сухі, з нерівним краєм, центр колонії темний
Ріст на бульйоні	Рівномірне помутніння середовища	Середовище прозоре з пластівцевим або в'язким осадом на дні
Завісина у фізіологічному розчині	Гомогенна, стабільна	Зерниста, випадає в осад
Аглютинація трипафлавіном	Від'ємна	Додатна
Аглютинабельність специфічною сироваткою	Добра	Слаба і від'ємна
Антигенність	Висока	Низька
Відношення до анілінових барвників	Типове	Частіше атипове
Утворення сірководню	Типове	Непостійне
Фагоцитарна активність нейтрофілів	Від'ємна або незначна	Добре виражена
Вірулентність для лабораторних тварин	Висока	Слаба або відсутня

Серологічна діагностика ставиться на основі реакції аглютинації Райта і Хеддлсона. В обох реакціях застосовується єдиний кольоровий бруцельозний діагностикум.

Реакція Хеддлсона – це прискорений метод діагностики бруцельозу, зручний для масових польових обстежень населення. Реакція Хеддлсона оцінюється в плюсах: ++++ аглютинація у всіх дозах сироватки оцінюється як різко позитивна.

Реакція Хеддлсона дає додатний результат з першого тижня захворювання, але, будучи якісним методом, не дозволяє визначити аглютинаційний титр сироваток, які досліджуються.

Основні властивості видів і біоварів бруцел

Вид	Біовар	Потреба в CO_2	Продукція H_2S	Ріст на середовищах з фарбами					Аглютинація моноспецифічними сироватками		Чутливість до фага "Тб" в розведенні	Основний господар
				тіонін			основний фуксин					
				а	б	в	б	в	А	М		
B.melitensis	1	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-	Вівці кози
	2	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	
	3	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	
B.abortus	1	+(-)	+	-	-	-	+	+	+	-	+	Велика рогата худоба
	2	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	
	3	+(-)	+	+	+	+	+	+	+	-	+	
	4	+(-)	+	-	-	-	+	+	-	+	+	
	5	-	-	-	+	+	+	+	- +	+ -	+	
	6	-	+(-)	-	+	+	+	+	+	+	+	
	7	-	-(+)	-	+	+	+	+	-	+	+	
	8	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+	
	9	-(+)	+	-	+	+	+	+			+	
B.suis	1	-	+ +	+	+	+	-	-	+	-	-	Свині
	2	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-	Свині, зайці
	3	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	–″–
	4	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	Північні олені

Реакція Райта ставиться з другого тижня захворювання (10- 12-ї доби) з сироватками, які додатно реагують у реакції Хеддлсона. Сироватку крові хворого розводять у відношенні 1:25 до 1:1600, діагностикум – це формалізований антиген, який перед реакцією розводять 1:10 ізотонічним розчином натрію хлориду так, щоб в 1 $см^3$ його містився 1 млрд бруцел.

Алергійна проба Бюрне. Ставиться для виявлення стану алергії з 15-20 дня захворювання і пізніше з фільтратом 3-4-тижневої бульйоної культури бруцел (бруцелін) внутрішньошкірно 0,1 $см^3$ в середню третину передпліччя.

При позитивному результаті на місці введення алергена через добу виникає почервоніння і набряк розміром 1х1 см – проба слабо додатна, 3х3 см – додатна, 6х6 см – різко додатна.

ПРОФІЛАКТИКА

Профілактика забезпечується здійсненням разом з ветеринарними організаціями комплексу спеціальних і загальних заходів: обстеження в тваринництві, на вигонах худоби, на м'ясних і молочних комбінатах; знешкодження сировини і продуктів тваринництва: кип'ятіння і пастеризація молока і молочних продуктів, витримування готової бринзи не менше 2 місяців, твердого сиру – 3 місяці. Повинен проводитися профілактичний огляд певних контингентів населення: тваринники; постійні і тимчасові працівники, що переробляють тваринницьку сировину і продукти; медичний, ветеринарний, зоотехнічний персонал, який працює з живими культурами бруцел, зараженим матеріалом, хворими тваринами та ін. Зниженню захворюваності сприяє елементарне дотримання правил особистої гігієни і режиму обробки сільськогосподарської продукції.

СПЕЦИФІЧНА ПРОФІЛАКТИКА

Імунізація населення здійснюється живою бруцельозною вакциною ЖБВ (ліофілізована культура вакцинного штаму *B.abortus* 19-ВА) нашкірно або підшкірно одноразово за три тижні до початку роботи, пов'язаної з ризиком зараження. Набутий імунітет зберігається 5-6 місяців. Ревакцинацію проводять нашкірно через 8-12 місяців. Запропонована хімічна бруцельозна вакцина (ХБВ), виготовлена з антигенів клітинної стінки бруцел. Вона менш алергенна. Вбиту лікувальну вакцину і ХБВ можна використовувати для лікування хронічного бруцельозу. При позитивній пробі Бюрне вакцинацію не проводять.

ЛІКУВАННЯ

Хворим на бруцельоз призначають напівсинтетичні тетрацикліни, стрептоміцин, левоміцетин, еритроміцин, у важких випадках рифампіцин. Для запобігання рецидивам рекомендується застосовувати протибруцельозний гамма-глобулін. При хронічних формах – вакцинотерапію, введення бруцеліну.

БАЦИЛИ СИБІРСЬКОЇ ВИРАЗКИ

Сибірська виразка викликається збудником *Bacillus anthracis,* родини *Bacillaceae,* рід *Bacillus.* Належить до групи грамдодатних аеробних спороутворюючих бацил, широко розповсюджених у природі.

Вперше бацили сибірської виразки виявлені у крові тварин німецьким вченим А.Палендером в 1849 р. В 1850 р. К.Давен спостерігав їх у Франції, але значення цих бацил встановив професор Ф.Брауель в 1854 р. Р.Кох (1876) своїми дослідами з сибірською виразкою довів бактеріальну природу паличок А.Палендера і К.Давена, встановив їх здатність до спороутворення, отримав

чисту культуру і провів зараження лабораторних тварин. У 1881 р. Л.Пастер запропонував живу вакцину для імунопрофілактики хвороби. Л.С.Ценковський незалежно винайшов вітчизняну живу вакцину. В 1902 р. Асколі розробив діагностичну реакцію преципітації.

МОРФОЛОГІЯ

Бацили сибірки – великі товсті нерухомі палички з заокругленими кінцями, грам додатні. Розташовуються в клінічному матеріалі парами або короткими ланцюжками. Зустрічається у двох формах – бацилярній (вегетативній) і споровій. Спори овальної форми, розташовуються центрально, не перевищують поперечних розмірів клітини, утворюються поза організмом людини. Утворюють капсули в організмі людини і при культивуванні на поживних середовищах, що містять кров, сироватку (середовие ДКІ), яєчний білок або тканину мозку. У капсулі є специфічні протеїни. Сибірковоподібні сапрофіти безкапсульні (*B.megaterium, B.cereus var. mycoides и B.subtilis*).

КУЛЬТИВУВАННЯ

Збудник сибірки – факультативний аероб, оптимальна температура росту 37^{o}C, pH 7,2-7,6, культивують на звичайних поживних середовищах, які містять амінокислоти.

на МПА	утворює великі сухі колонії сіро-білого кольору з волокнистими краями у вигляді пасем волосся з нерівними краями, великі шорсткуваті, матові, з торочковою периферією, діаметром 2-3 мм, R-форми, мають волокнисту будову, (грива лева, голова медузи).
на МПА з пеніциліном	розташовані у вигляді намиста (“перлове намисто”)
на МПБ	дні у вигляді шматка вати, а бульйон залишається прозорим
на КА	не викликають гемолізу
на сироватково-кров’яних середовищах Томова	утворюють гладкі глянцеві колонії, слизової консистенції (S- і SM-форма).
на середовищі ДКІ (розчин Хенкса і бичача сироватка)	спостерігається сильне капсулоутворення
на середовищі Буза	гладкі, слизові, оточені жовто-зеленим ореолом колонії
на згорнутій кінській сироватці	бацили сибірки ростуть у вигляді гладеньких прозорих S-колоній, які тягнуться за петлею

Їх можна культивувати на сирій або вареній картоплі, настою соломи, екстрактах злаків і бобових.

ФЕРМЕНТАТИВНІ ВЛАСТИВОСТІ

На желатині ростуть у вигляді перевернутої ялинки, желатина помалу розріджується на окремі шари, а через три-чотири доби розріджується у вигляді панчохи. Сапрофіти ростуть за ходом укола і одночасно розріджують білок. Молоко згортають, пептонізують і розріджують. Повільно розріджують згорнуту сироватку. На лакмусовій сироватці бацили сибірки викликають почервоніння середовища, а сапрофіти – посиніння. Бацили сибірки утворюють аміак, сірководень (не завжди), індол не утворюють, відновлюють нітрати в нітрити, ферментують з утворенням кислоти глюкозу, фруктозу, сахарозу, мальтозу, трегалозу, левульозу, декстрин, не мають гемолітичних властивостей. Гідролізують крохмаль, утворюють ацетилметилкарбінол. Дуже повільно коагулюють рідке жовткове середовище (5-7 діб), нерідко ізоляти позбавлені такої властивості, а сапрофіти розкладають її за 6- 10 год. На відміну від сапрофітів, не мають фосфатази.

ТОКСИНОУТВОРЕННЯ БАЦИЛ СИБІРКИ ТА ФЕРМЕНТИ ПАТОГЕННОСТІ

екзотоксин	термолабільний протеїновий комплекс, складається з трьох компонентів або факторів: НФ – едематозного (запального, або набрякового), ЗА – захисного протективного антигена, який не має токсичності і є імуногенним, і ЛФ – латального фактора; токсин акумулюється в тканинах і діє на ЦНС.
ферменти	діастазу, дегідразу, ліпазу, амілазу, пероксидазу, каталазу, лецитиназу.

АНТИГЕННА СТРУКТУРА

К-антиген	містить капсульний (протеїновий) антиген з’єднаний з молекулами D-глутамінової кислоти; протеїновий антиген (один серовар) зумовлює антифагоцитарну активність
О-антиген	Соматичний, полісахаридний антиген (складається з D-галактози і N-ацетилглюкозаміну), термостабільний
протективний антиген	термолабільний антиген, який є атоксичним, але має імунізуючу властивість

РЕЗИСТЕНТНІСТЬ

Завдяки спороутворенню бацили сибірки дуже стійкі в навколишньому середовищі: у воді зберігаються до 10 років, у грунті – до 30 років. За сприятливих умов (у каштанових і чорноземних грунтах) у теплу пору року ендоспори можуть переходити у вегетативні форми і з настанням осені знову перетворюватись у спори. Спори стійкі, витримують кип'ятіння до 5-10 хв і пряме сонячне проміння – 100 годин. У висушеному стані спори можуть зберігатися до 20 років. До дезинфікуючих речовин дуже стійкі: в 15% хлорній воді – до 6 годин, 4% HCl – 15 діб, 5% розчині сулеми – 15 діб. Від стерилізації в автоклаві при 130^{o}C гинуть через 40 хв, при дії 1% розчину формаліну і 10% розчину їдкого натру руйнуються через дві години. При дослідженні гниючих трупів тварин можна досить часто виявити порожні капсули (тіні) мікроорганізмів, позбавлені цитоплазми. Для знешкодження матеріалу використовують сухе хлорне вапно, хлорно-вапняне молоко, активовані розчини хлораміну, гарячі розчини їдкого натру. Вегетативні форми малостійкі: при 55^{o}C вони гинуть через 40 хв, при 60^{o}C – через 15 хв, при кип'ятінні – миттєво. Звичайні дезрозчини гублять їх упродовж кількох хвилин. Збудник сибірської виразки відносять до II групи патогенності.

ПАТОГЕНЕЗ

Сибірська виразка – гостра сапронозна інфекція, яка проявляється утворенням шкірного карбункула чи виникненням важкої геморагічної пневмонії, діареї або сепсису. Розповсюджена в Азії, Африці, Південній Америці, Австралії, в Казахстані, Середній Азії, Північному Кавказі, в країнах із розвинутим тваринництвом. Спорадичні випадки зареєстровано в Європі, Росії, Україні, США.

ДЖЕРЕЛО ІНФЕКЦІЇ

велика і дрібна хвора рогата худоба, їх продукти, коні, верблюди, свині, а також предмети і вироби з інфікованої сировини (кожушки, хутряні рукавиці, коміри, шапки, пензлі для гоління та інше), інфікований грунт. Є випадки захворювання серед зайців, кішок і собак. Виділення хворих тварин – сеча, кал, кров є епідеміологічно небезпечними. Упродовж 7 діб труп хворої тварини є заразним.

МЕХАНІЗМ ПЕРЕДАЧІ ІНФЕКЦІЇ

контактний, фекально-оральний, аспіраційний, трансмісивний

ШЛЯХ ПЕРЕДАЧІ ІНФЕКЦІЇ

при контакті з хворими тваринами, їх трупами або з контамінованим збудником грунтом

Факторами передачі є інфіковані продукти тваринництва, сировина, предмети догляду за тваринами та інше;

Інкубаційний період від декількох годин до 8 діб, в середньому – 2-3 доби. Розрізняють професійні і непрофесійні групи захворювання.

Клінічні форми сибірки:

1). Шкірна форма – уражується пошкоджена шкіра відкритих частин тіла (обличчя, шия, кисті рук, передпліччя) і слизові оболонки. Виникає при догляді за хворими тваринами, розробці м'яса, маніпуляціях з сировиною тваринного походження, при порушенні режиму роботи в лабораторіях.

Маленька червона плямка - мідно-червону папулу (вузлик) - везикулу 2-3 мм серозного характеру - піхурець наповнюється кров'яною рідиною - утворюється чорний струп - може сформуватись пустула і виразка - утворюється сибірковивиразковий карбункул.

Лімфатичні вузли збільшуються, температура підвищується до 39-40^{o} С, лихоманка триває 5-7 діб, спостерігається серцева слабість. Відторгнення струпа закінчується до 4-го тижня. При зруйнуванні лімфовузлів бацили з лімфи проникають у кров. Зростає бактеріємія і токсемія. Гематогенно збудник десемінує у всі органи і тканини та може перейти в септицемію. Може розвинутись інфекційно-токсичний шок

2) При септичній формі може розвинутись легенева і кишкова форми.

3) Легенева форма розвивається у людей, що обробляють забруднені ганчірки – "хвороба ганчірочників".

4) Кишкова форма – виникає при вживанні погано звареного м'яса або молока хворих тварин. В слизовій оболонці стінки кишківника спостерігаються крововиливи з некрозом, виділяються бацили з випорожненнями.

ІМУНІТЕТ

Імунітет заснований на фагоцитарній реакції. Імунітет стійкий. В крові хворих зустрічаються аглютиніни, преципітини, комплементзв'язуючі антитіла. При сибірці імунітет антиінфекційний і залежить від наявності протективних антитіл, що виробляються організмом у відповідь на комплекс екзотоксину. У сироватці крові осіб, які перехворіли на сибірку, виявляють речовини, здатні руйнувати капсульну субстанцію сибіркових бацил, нейтралізувати агресини і токсини (летальний фактор).

Умови роботи з сибірковивиразковим матеріалом. При проведенні досліджень на сибірську виразку необхідно суворо дотримуватись правил Інструкції про протиепідемічний режим роботи з матеріалом, який заражений або підозрілий на зараження збудниками інфекційних захворювань I–II групи. Інфікований матеріал до повного його знешкодження не повинен виноситися з ізольованого приміщення. Досліджуваний патматеріал і виділені культури збудника повинні знешкоджуватися протягом 2 год автоклавуванням при 126^{o}С. Заражені тварини і всі відходи від них автоклавують або спалюють. Інструментарій і шприци кип'ятять після роботи в 1% розчині бікарбонату натрію не менше однієї години. Скляний посуд автоклавують або занурюють в

4% активований розчин хлораміну на 3 год. Гумові рукавиці кладуть на 2 год в 1% розчин хлораміну. Поверхню столів та інші предмети протирають розчинами хлораміну. Халати, ватно-марлеві маски і хустини автоклавують; гумові фартухи, нарукавники, гумові чоботи протирають розчином хлораміну.

МЕТОДИ МІКРОБІОЛОГІЧНОЇ ДІАГНОСТИКИ СИБІРКИ

Матеріал на дослідження	**Основні методи дослідження**	**Середовища**
харкотиння	мікроскопічний метод, бактеріологічний метод, біологічний метод, серологічна діагностика - латекс-аглютинації і РПГА з протективним сибіркововиразковим антигеном, дифузію в гелі, РЗК і ІФА; термокільцепреципітації за Асколі; алергічний метод - проба з антраксином	на МПА, МПБ, КА, бульйон і агар Хоттінгера чи збагачені рідкі середовища, які містять розчин Хенкса і бичачу або кінську сироватку (середовище ДКІ),
сеча		
кал		
вміст сибіркововиразкового карбункула, везикул, струп;		
крові з вени		
від трупів лише кров		
гній із карбункула		
шкіряно-хутрова сировина		

МЕТОДИ ЗАБОРУ МАТЕРІАЛУ ПРИ СИБІРЦІ

харкотиння	в стерильну баночку
сеча	в стерильну баночку
кал	в стерильну баночку
вміст сибіркововиразкового карбункула, везикул, струп;	перед взяттям очищають шкіру довкола ураженого місця і поверхню карбункула спиртом і забирають шприцом або тампоном; для пересилання – можна набрати вміст карбункула в пастерівську піпетку і кінець піпетки запаяти; або опустити в карбункул стерильну нитку, підсушити і перенести в стерильну пробірку
крові з вени	при сепсисі – 1,0 $см^3$ крові з вени (бажано в період лихоманки)
від трупів лише кров	відбувається розсіювання збудника
гній із карбункула	можна взяти також адсорбентом (цукор, крейда), зануривши його в гній пінцетом, і перенести у

	стерильну пробірку.
відбір проб шерсті	із різних місць не менше 5 зразків масою 2 г кожен, а також пирох
шкіряно-хутрова сировина	шматочки розміром 3 х 3 см з периферичних незагнилих і незапліснявілих ділянок шкіри

Банки повинні бути закупорені і опломбовані !

Висушені мазки кладуть у чашки Петрі, які обгортають щільним папером. На упаковці надписують “Мазок не фіксований!”.

Посуд з патматеріалом поміщають у вологонепроникну тару, закривають корками, які заливають парафіном і обв’язують подвійним парафіновим або пергаментним папером. Матеріали щільно вкладають у металевий або дерев’яний ящик, який перев’язують шпагатом, пломбують або опломбовують, надписують “Верх, обережно” і скеровують у лабораторію з супровідною особою.

На скеруванні до патматеріалу від людини вказують прізвище, ім’я, по-батькові хворого (померлого), місце і час взяття патматеріалу, його найменування і попередній діагноз.

В супровідному документі проб навколишнього середовища і сировини тваринного походження вказують причину проведення дослідження, який матеріал і в якій кількості скеровують, місце і дату взяття матеріалу; для проб шерсті і кормів вказують походження, об’єм партії, вид упаковки і кількість одиниць упаковки. При скеруванні в лабораторію декількох проб до супровідного документа додають опис, де вказують номери проб і місце відбору кожної проби.

ДІАГНОСТИКА

Культури, які виросли на диференціально-діагностичному середовищі, обробляють парами аміаку: в кришку чашки Петрі вносять один-два мілілітри 25% водного розчину аміаку кришкою вниз і витримують 1 хв при 20^{o}С. Під дією пари аміаку відбувається зміна кольору колоній на рожевий тих мікроорганізмів, які мають фосфатазну активність. Для дослідження відбирають не менше десяти шорсткуватих безколірних колоній, оскільки бацили сибірки не мають фосфатазної активності і, отже, не змінюють кольору колоній. Даний тест застосовується для диференціації бацил.

З колоній готують мазки і пересівають в МПБ і на МПА для подальшої ідентифікації. Замість МПБ можна провести пересів у систему для виконання диск-преципітації. Зі свіжого патматеріалу можна проводити посів пастерівською піпеткою в систему для диск-преципітації (в МПБ над шаром агару). Не вносять велику кількість крові або великі шматочки наповнених кров’ю органів, оскільки важко виявити специфічний диск преципітації внаслідок забарвлення агару. Результати враховують за загальноприйнятою методикою реакції преципітації. Посів проводять у рідке поживне середовище

системи, не торкаючись гелю, з кожної колонії окремо; або посів суспензії, яка виготовлена з п'яти-десяти колоній, витримують 16-20 год у термостаті при 37°С та залишають при кімнатній температурі на 10-15 хв. Оглядають в прохідному світлі на чорному фоні: збудник сибірської виразки утворює в середній частині агару тоненьку білу лінію (диск) преципітації, яка зберігається упродовж чотирьох діб. Для контролю проводять посіви протисибірковоразкової вакцини.

Наявність характерного росту на агарі і бульйоні, виявлення в культурах нерухомих грампозитивних паличок, капсулоутворення на сироваткових середовищах і в організмі тварин дозволяє отримати упродовж першої доби дослідження попередню позитивну відповідь, а остаточну – при ідентифікації виділеної культури.

Ідентифікують виділену культуру за характером росту, морфологією та біохімічними властивостями (проводять посів на МПА з кров'ю, в лакмусову сироватку, вуглеводи, у стовпчик желатини – ріст у вигляді перевернутої ялинки внаслідок розрідження), рухливістю, ***тестом "перлового намиста";*** досліджують культури на ***лізис фагом ("ВА-9" і "Саратов");*** Сапрофіти-бацили не патогенні для тварин, не лізуються сибірковоразковим фагом і не дають тесту "перлового намиста".

Зараження лабораторних тварин патматеріалом є обов'язковим і проводиться в день надходження матеріалу одночасно з посівами на поживні середовища. Досліджуваний матеріал суспензують у фізіологічному розчині і вводять 0,2-0,5 $см^3$ двом білим мишам підшкірно біля хвоста або 0,5-1,0 $см^3$ двом морським свинкам внутрішньочеревно.

Коли з матеріалу виділити збудника неможливо (наприклад, з розкладеного трупа, шкіри, шерсті), пробують визначити в ньому наявність сибірковоразкового антигена в реакції ***термокільцепреципітації за Асколі.***

Серологічна діагностика проводиться в тих випадках, коли не вдається виявити збудника в матеріалі. Для виявлення антитіл у сироватці крові хворого використовують реакції латекс-аглютинації і РПГА з протективним сибірковоразковим антигеном, дифузію в гелі, РЗК і ІФА.

Алергічний метод. Застосовується для діагностики захворювання, визначення реактивності після перенесеного захворювання і після вакцинації внутрішньошкірною пробою з антраксином введенням 0,1 $см^3$ препарату в долоневу поверхню передпліччя. Антраксин – це білково-полісахаридо-нуклеїновий комплекс, отриманий гідролізом вегетативних форм сибірковоразкових бацил. Проба проводиться з перших днів захворювання. Облік результатів враховується через 24-48 год. При позитивному результаті на місці введення алергену виникає інфільтрат і гіперемія діаметром близько 20 мм.

ПРОФІЛАКТИКА

Профілактика поділяється на ветеринарні і медико-санітарні заходи. Ветеринарна служба виявляє, проводить облік пунктів на сибірку, планову імунізацію тварин, контролює оздоровлення територій і водоймищ, стан тваринних кладовищ, пасовищ, контролює дотримання ветеринарно-санітарних правил при заготівлі, зберіганні, транспортуванні і обробці сировини тваринного походження, слідкує за своєчасною діагностикою сибірки у тварин, їх ізоляцією і лікуванням, обстежує вогнища, знешкоджує трупи тварин, проводить дезинфекцію у вогнищі та ветеринарно-санітарну освітню роботу серед населення.

Комплекс медико-санітарних протисибіркових заходів включає контроль за проведенням загальносанітарних профілактичних заходів у несприятливих по сибірці пунктах, а також при заготівлі, зберіганні і транспортуванні та переробці сировини тваринного походження; вакцинопрофілактику осіб (за показами), своєчасну діагностику захворювання людей, обов'язкову госпіталізацію і лікування хворих, епідеміологічне обстеження вогнищ, заключну дезинфекцію в приміщенні, де перебував хворий, екстрену профілактику серед осіб, які контактували з джерелом збудника інфекції або з інфікованими продуктами і предметами, проведення санітарно-освітної роботи серед населення. Проводиться планова вакцинопрофілактика людей.

СПЕЦИФІЧНА ПРОФІЛАКТИКА

Застосування живої безкапсульної вакцини СТІ (завісина авірулентних живих спор вакцинних штамів), нашкірним або підшкірним методом. Тривалість імунітету – понад рік. Вакцинують осіб, які працюють на підприємствах, де обробляють тваринну сировину, на м'ясокомбінатах, у колгоспах і радгоспах, де трапляються захворювання на сибірку. Вакцина отримана Н.Н.Гінсбургом зі співавторами в 1942 р.

Особам, що мали контакт з матеріалом, інфікованим бацилами сибірки, щодня протягом 3-5 діб вводять внутрішньом'язово 20-25 мл протисибіркового імуноглобуліну в поєднанні з пеніциліном.

В Англії застосовують хімічну сибіркову вакцину, що складається з протективного антигена (фільтрату безкапсульних непротеолітичних сибіркових штамів, вирощених на синтетичних або напівсинтетичних середовищах), у США для імунізації людей використовують анатоксин (токсоїд).

ЛІКУВАННЯ

Комплексна терапія хворих на сибірку спрямована як проти токсину, так і проти бацил, і полягає у своєчасному внутрішньом'язовому введенні специфічного протисибіркового імуноглобуліну та антибіотиків (пеніциліну, левоміцетину, еритроміцину, гентаміцину, напівсинтетичних тетрациклінів, хлортетрацикліну, цефалоспоринів).

Питання для самоконтролю

1. Які бруцели патогенні для людини і здатні викликати бруцельоз ?
A. Brucella abortus
B. Brucella melitensis
C. Brucella suis
D. Brucella canis
E. Всі перераховані

2. Від тварин виділено дрібні грамнегативні кокобактерії, які виявились вибагливими до середовища і перші ознаки росту з'явилися на печінковому бульйоні лише за 2-3 тижні. Виберіть із перерахованих ці бактерії.
A. Збудник туляремії
B. Збудник чуми
C. Збудник лептоспірозу
D. Збудник сальмонельозу
E. Збудник бруцельозу

3. Для діагностики бруцельозу використовують серологічний метод. Виберіть із наведених реакцію, яка найчастіше вживається з цією метою.
A. Реакція Відаля
B. Реакція Райта
C. Реакція оберненої непрямої гемаглютинації
D. Реакція преципітації
E. Реакція імунофлюоресценції

4. Лікар запідозрив у хворого чабана бруцельоз. Для підтвердження діагнозу він запропонував використати наступні дослідження:
A. Серологічні (реакція Райта і Хеддельсона)
B. Виділення збудника з крові
C. Виділення збудника з сечі
D. Виділення збудника з випорожнень
E. Виділення збудника з спинномозкової рідини

5. При багатьох інфекційних захворюваннях вживається алергійний метод діагностики. Наприклад, проба Бюрне використовується для діагностики:
A. Ку-лихоманки
B. Туляремії
C. Туберкульозу
D. Сибірки
E. Бруцельозу

6. Збудником сибіркової виразки є:
A. B.anthracis

B. B.anthracoides
C. B. subtilis
D. B. megaterium
E. B. cereus

7. За морфологією збудник сибірки є:
A. Стрептокок
B. Стрептобацила
C. Стрептобактерія
D. Диплобацила
E. Монобактерія

8. Для збудника сибірки характерні всі біологічні властивості, КРІМ:
A. У стовпчику желатини ріст у вигляді ялинки з вершиною донизу
B. На МПБ ріст у вигляді жмутка вати
C. На МПА з пеніциліном утворення перлинного намиста
D. Край колонії у вигляді лев'ячої гриви
E. На поверхні середовища ріст у вигляді шагреневої шкіри

9. Усі речовини зумовлюють токсичні властивості збудника сибіркової виразки, КРІМ:
A. Набряковий фактор
B. Протективний Аг
C. Летальний фактор
D. α-токсин
E. Речовина капсули
10. Усі твердження, що характеризують властивості капсул Bacillus anthracis вірні, КРІМ:
A. Містять полімери D-глутамінової кислоти
B. За хімічною будовою унікальні
C. Антифагоцитарний фактор вірулентності
D. Найбільш імуногенні Аг для вакцинації
E. Забезпечують вірулентність

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА КЛОСТРИДІЙ

Анаеробна ранова інфекція викликається одним чи асоціацією двох-трьох видів токсигенних спороутворюючих анаеробних бактерій роду *Clostridium*, які розщеплюють вуглеводи (глікоген) з газоутворенням (*C.perfringens, C.novyi, C.septicum*) або здатністю розщеплювати тканини (*C.histolyticum*).

Розвиток збудників у рані потенціюють близькі їм за морфологією і культуральними властивостями токсигенні анаеробні сапрофітні клостридії правцю, ранової анаеробної інфекції, стафілококи, стрептококи, ешерихії,

протей та інші гнійні бактерії-аероби, які знижують окисно-відновний потенціал і викликають некроз ураженої тканини.

ЗБУДНИК ПРАВЦЯ

Збудник правця *Clostridium tetani* виявив у вмісті рани в 1883р. Н.Д.Монастирський та у 1884 р. А.Ніколайєр, в 1889 р. вчений С.Кітазато виділив збудника в чистій культурі і отримав токсин разом з Берінгом. Рамон розробив метод одержання токсину. *Cl.tetani* належить до родини *Bacillaceae*, роду *Clostridium*.

МОРФОЛОГІЯ

Довгі, перитрихіальні, прямі палички з заокругленими кінцями, поліморфні. В молодих культурах інколи утворюють довгі нитки, грамдодатні. Розташовуються поодиноко або ланцюжком. Великі круглі спори лежать термінально, розмір спори перевищує впоперек бактерії, тому збудник має вигляд барабанної палички. На 2-3 добу починається спороутворення, на 4-6 добу в рідкому середовищі вегетативні клітини руйнуються, і в середовищі залишаються самі спори. Капсул не утворюють. В старих культурах можуть бути грамвід'ємними і нерухомими.

КУЛЬТИВУВАННЯ

Клостридії правця – облігатні анаероби, ростуть на цукрових поживних середовищах при 37-38^{o}С і pH 6,8-7,4. Для росту необхідні аргінін, гістидин, тирозин, валін, ізолейцин і триптофан. Спеціальними середовищами для культивування є середовище Вейнберга, Вілліса-Хобса, Кітта-Тароцці та ін. Після кип'ятіння середовища заливають вазеліновою олією. Посіви культивують в анаеростаті.

На агарі	через 48 год дрібні прозорі колонії з неправильним хвилеподібним краєм, які з часом набирають склоподібного відблиску (спочатку з'являється сіточка і злиття колоній з відростками)
В стовпчику агару	спостерігається ріст у вигляді ялинки, колонії подібні на пушинки зі щільним центром (S-форма), пензлика, або сочевиці (R-форма)
На поверхні скошеного агару	ростуть у вигляді тонкого нальоту чи плівки

На цукровому кров'яному агарі	на 2-4 день культивування ростуть у вигляді ніжних прозорих або сіруватих, колонії розміром 4-6 мм, з компактним центром з нерівними краями (R-форма),

	поверхня зерниста, плоскі, нерідко у вигляді павучків чи переплетених ниток
На КА	утворюють зону гемолізу
Середовище з мозком і ВСА	почорніння середовища
Кітта-Тароцці	середовище мутніє внаслідок розщеплення білків із незначним утворенням газу і своєрідного запаху спаленої органічної речовини

ФЕРМЕНТАТИВНІ ВЛАСТИВОСТІ

Утворюють желатиназу і ренініподібний фермент, який спричиняє потемніння зон навколо колоній *Cl.tetani* на молочному агарі. При посіві *Cl.tetani* у желатині з'являється біла ніжна лінія, від якої відходять тонкі відростки, як гілки дерева, і з 7-10 доби починається розрідження з виділенням міхурців газу.

Повільно (до 4-7 доби) згортають і пептонизують молоко, розщеплюють білки і пептони до амінокислот, які розкладаються до вугільної кислоти, водню, аміаку, летючих кислот та індолу. Вуглеводів не ферментують (деякі штами ферментують глюкозу), відновлюють нітрати в нітріти.

АНТИГЕННА СТРУКТУРА

О-антиген	є груповим, поділ на серогрупи
Н-антиген	мають типову специфічність, розрізняють 10 сероварів, які позначені (I-X). серовари 1, 3, 6, 7 мають виражену специфічність

ФЕРМЕНТИ ПАТОГЕННОСТІ. Утворюють фібринолізин.

РЕЗИСТЕНТНІСТЬ

Вегетативні форми збудника правця гинуть при 60-70^{o}С через 30 хв, при кип'ятіні через 5 хв і досить швидко знешкоджуються дезінфікуючими речовинами. Спори клостридій правця більш стійкі. Добре зберігаються в грунті, на різних предметах, у висушеному стані декілька десятків років. Тому грунт, забруднений випорожненнями тварин, людини і птахів, є резервуаром *Cl.tetani* і постійним потенційним джерелом зараження людей і тварин правцем. Спори витримують кип'ятіння упродовж 30-90 хв, а деяких штамів – 1-3 год; автоклавування при 120^{o}С переносять до 40 хв., 5% розчин фенолу викликає їх загибель через 8-10 год, 1% розчин формаліну через 6 год, 1% розчин сулеми, формаліну знищують їх через 12-14 год; дію прямого сонячного світла витримують 3-5 діб. Нечутливі до низьких температур.

ТОКСИНОУТВОРЕННЯ

Екзотоксин: 1) тетаноспазмін (нейротоксин)	діє на нервові клітини, в результаті чого розвивається спазматичне скорочення поперечносмугастих м'язів складається з легкого – L ланцюга і і важкого – Н ланцюга
2) тетанолізин (тетаногемолізин)	розчиняє еритроцити, пригнічує фагоцитоз, сприяє розповсюдженню збудника в організмі і утворенню токсинів. Має гемолітичні, кардіотоксичні і летальні властивості.
Токсин швидко інактивується при нагріванні, в лужному середовищі, під дією сонячних променів. Не всмоктується через слизову оболонку кишківника, а тому безпечний при пероральному зараженні. Належить до II групи патогенності. Смертельна доза для людини становить менше 2 нг/кг маси тіла людини.	

Екзотоксин правцевої палички нейтралізується антитоксичною сироваткою будь-якого серовару.

ПАТОГЕНЕЗ ПРАВЦЮ

Правець – це гостра токсична ранова інфекція шкірних покривів з контакним механізмом передачі збудника, яка перебігає з ураженням рухових центрів центральної нервової системи і супроводжується скороченням м'язів у вигляді корчів.

ДЖЕРЕЛО ІНФЕКЦІЇ

Резервуаром захворювання є грунт (особливо угноєний).

МЕХАНІЗМ ПЕРЕДАЧІ ІНФЕКЦІЇ

травматичний

ШЛЯХ ПЕРЕДАЧІ ІНФЕКЦІЇ

парентеральний, проникнення збудника через ушкоджену шкіру і слизові оболонки, через пупковий канатик. **Фактор передачі** – забруднений медичний інструментарій, колючі і ріжучі предмети.

Вхідні ворота інфекції – різні рани: вогнепальні, колоті, різані, опіки, обмороження, травмовані пологові шляхи, операційні рани при інфікуванні їх руками, інструментами або матеріалом для перев'язки, при ін'єкціях.

Інкубаційний період 4-14 діб, інколи 3 місяці. Клінічні прояви: легка форма (локальний правець), мозкові ураження черепних нервів (часто VII серовар), генералізований правець.

Для інфікування достатньо навіть невеликої дерев'яної скалки, що проникає в підшкірну клітковину – криптогенний правець.

У людини ознакою правця є корчі жувальних (тризм) і мімічних м'язів (з'являється "сардонічна посмішка"), далі потиличної мускулатури, а також

грудей, м’язів живота, спини; тіло людини набуває вигляду дуги – опістотонус (від грецьк. *opisthios* – задній, *tonos* – напруга), верхніх і нижніх кінцівок – нисхідний правець (*tetanus descendens*).

У хворого підвищена рефлекторна збудливість від навколишніх подразників (шум, рух повітря). Температура висока, сильні м’язові болі, пітливість, тахікардія, затруднене ковтання, дихання, сечовиділення, дефекація, свідомість не втрачається. Виздоровлення настає через два тижні або два місяці. До смерті призводить асфіксія або параліч серця і порушення функцій органів кровообігу, травної системи та ін. Летальність становить 35-70%.

При операції і після аборту клостридії правця можуть швидко розмножитися до появи симптомів хвороби. Летальність до 90%.

Першим симптомом при правці у новонароджених є відмова від грудей у зв’язку зі скороченням лицевих м’язів, на обличчі “сардонічна посмішка” – вигляд страждання (*risus sardonicus*) і типова “поза жаби” – закинута назад голова, немовля лежить на спині, кінцівки зігнуті і підтягнуті до тулуба (*tetanus neonatarum*).

У лабораторних тварин після інкубаційного періоду (в мишей 24-36 год, а в морських свинок – 48 год) при підшкірному зараженні в задню кінцівку спостерігаються корчі мускулатури однойменної половини тулуба, а пізніше протилежної, на місці введення заразного матеріалу нога витягнута, волочиться по землі, хвіст зігнутий і ригідний, хребет скривлений, з рухом токсину вгору по стовбуру спинного мозку по типу висхідного правцю (*tetanus ascendens*) корчі поширюються на решту м’язів, тваринка гине.

ІМУНІТЕТ

Природний імунітет до правця відсутній. Післяінфекційний імунітет антитоксичний, стійкий. Деякі автори вважають, що він не формується. Штучний активний імунітет з успіхом досягається анатоксином, пасивний – антитоксичною сироваткою або гомологічним (людським) протиправцевим імуноглобуліном. Необхідно пам’ятати, що час вирішує все, оскільки після ендоцитозу токсин недоступний для антитіл.

МЕТОДИ МІКРОБІОЛОГІЧНОЇ ДІАГНОСТИКИ ПРАВЦЯ

Мета дослідження: виділення, ідентифікація збудника та виявлення токсину в досліджуваному матеріалі. Лабораторна діагностика правця проводиться при стертому перебігу хвороби, оскільки клініка правця типова, а також для підтвердження діагнозу після операцій, абортів, пологів у домашніх умовах без медичної допомоги.

Матеріал на дослідження	Основні методи дослідження	Середовища
матеріал для перев'язування **препарати для парентерального введення** **грунт, порох** **шматочки м'язів і шкіри** **осколки снарядів, одягу** **виділення і тканини з піхви та матки, з пупка** **матеріал рани, запальних вогнищ, старих рубців, кров (10 см^3), шматочки печінки, селезінки і легенів (30 г)** **інколи слиз із носа, бронхів, глотки** **наліт із мигдаликів**	*Мікроскопічне* дослідження – орієнтовне (барабанна паличка), *бактеріологічне* дослідження - виділення чистої культури правця за методом П.Файлдса, *біологічний метод* – на чотирьох білих мишах; *серодіагностика* - для виявлення токсину правця можна використати РПГА з антитільним еритроцитарним діагностикумом	середовище Кітта-Тароцці, кров'яний агар і жовтковий агар (анаеробно) і витримують у термостаті 3-4 доби; з бульйоном Мартена, Вейнберга, які прогріті перед посівом 15 хв і залиті вазеліновою олією; в трубках за Віньялем-Вейоном, у стовпчик глюкозного агару

ПІДГОТОВКА МАТЕРІАЛУ

Досліджуваний матеріал подрібнюють стерильними ножицями і кладуть у ступку зі стерильним кварцовим піском, додають фізрозчин і добре розтирають. Емульсію, яку отримали, ділять на дві частини. Одну використовують для посіву, другу – для біопроби.

Проводять посів на середовище Кітта-Тароцці, кров'яний агар і жовтковий агар (анаеробно) і витримують у термостаті 3-4 доби. Посів можна проводити у подвійну кількість пробірок – з бульйоном Мартена, Вейнберга, які прогріті перед посівом 15 хв і залиті вазеліновою олією; один ряд необхідно 20 хв прогріти при 80^{o}С. Через 2, 4, 6 і 10 діб готують мазки за Грамом і мікроскопують. З типових колоній із середовища Кітта-Тароцці проводять пересів на кров'яний агар у чашках, жовтковий агар (анаеробно), і трубках за Віньялем-Вейоном, у стовпчик глюкозного агару (з прогрітої бульйонної культури). Для посіву агар розтоплюють, охолоджують до 45^{o}С, запаяну пастерівську піпетку або бакпетлю змочують у посівній рідині і для отримання ізольованих колоній послідовно переносять в дві-три пробірки розтопленого агару, швидко опускають у холодну воду, щоб затримати розповсюдження рухливих клостридій. Через одну-дві доби культивування паличка правця

виростає у вигляді щільних сочевицеподібних колоній, колоній-пушинок або клубочків вати.

На поверхні кров'яного агару клостридії правця ростуть у вигляді ніжних прозорих колоній, які подібні на крапельки роси. Вони швидко розповзаються і утворюють ніжну плівку, як павутинка, яку видно лише під мікроскопом. Корисно використати *нейтралізацію гемолізину за допомогою антитоксичної сироватки*: перед посівом половину поверхні агару в чашці змочують сироваткою, підсушують і проводять посів по усій чашці. Порівнюючи ріст на обох половинках, виявляють специфічне пригнічення гемолізу на тій частині чашки, де був нанесений антитоксин (без консерванта).

Отримані колонії з усіх середовищ пересівають на середовище Кітта-Тароцці – для виділення чистої культури, вивчають її культуральні і біохімічні властивості (на H_2S(±), казеїн (-), молоко (±), індол (±), мальтозу (-), нітрати (-), уреазу (-), рухливість (+), печінковий агар (+) з неоміцином) та визначають чутливість до антибіотиків.

У тих випадках, коли при первинному посіві виявлено мікроорганізми, подібні за морфологією на збудник правця, вихідну 3-4-добову культуру в середовищі нагромадження прогрівають 1,5 год при 60^{o}C і декілька крапель засівають у конденсаційну воду згорнутої кінської сироватки; вирощують у строго анаеробних умовах при 37^{o}C (*виділення чистої культури правця за методом П.Файлдса*). Через 24 год в анаеробних умовах з'являється тонкий наліт по всій поверхні середовища в результаті великої рухливості клостридій. Верхню частину культури знову засівають у конденсаційну воду другої згорнутої кінської сироватки, і посіви повторяють доти, поки культура повністю "самовиділиться" з супутньої їй нерухливої або малорухливої мікрофлори. Через чотири-п'ять діб чистою культурою, добутою із рідкого живильного середовища, заражають лабораторних тварин для ідентифікації збудника в реакції нейтралізації екзотоксину. З чистою культурою ставлять реакцію прямої і непрямої імунофлюоресценції (Ат), зустрічний імуноелектрофорез.

*Біологічний метод***.** Матеріал розрізають стерильними ножицями на дрібні шматочки, розтирають у стерильній ступці з подвійним об'ємом фізіологічного розчину та стерильним кварцовим склом до утворення однорідної маси. Залишають при кімнатній температурі на одну годину для екстрагування токсину. Напівпрозорий надосадовий шар гомогенату фільтрують через ватно-марлевий (паперовий) фільтр. Фільтрат ділять на дві частини. До однієї частини додають противоправцевої сироватки: на 1 см^3 екстракту – 0,5 см^3 сироватки, що містить 200 АО/см^3 антитоксину. Витримують при кімнатній температурі 40 хв для нейтралізації токсину антитоксином. Реакцію нейтралізації ставлять на чотирьох білих мишах: двом мишам вводять внутрішньом'язово у верхню третину стегна досліджуваний екстракт в об'ємі 0,5 см^3, двом іншим – суміш екстракту з антитоксином по 0,75-1,5 см^3. Спостерігають 4-5 діб. Інкубаційний період становить 2-4 доби.

При наявності в матеріалі бацил правця чи токсину ознаки захворювання виявляються на першу-третю добу. Клінічна картина експериментального правця така: піднята шерсть, напружені м'язи і хвіст, який стирчить трубою; лапка, в яку був введений матеріал, витягнута, паралізована, набрякла, волочиться по землі; параліч м'язів спини, скривлений хребет. Тваринки гинуть, скорчивши передні і витягнувши задні лапки. В мишей, які отримали токсин з протиправцевою сироваткою, дані симптоми відсутні.

Для виявлення токсину правця можна використати РПГА з антитільним еритроцитарним діагностикумом.

ПРОФІЛАКТИКА

Профілактика полягає у запобіганні травмам на виробництві і в побуті.

СПЕЦИФІЧНА ПРОФІЛАКТИКА

Активну імунізацію проводять вагітним жінкам правцевим анатоксином, щоб забезпечити пасивний імунітет новонароджених. Для специфічної профілактики правця у дітей використовують коклюшно-дифтерійно-правцеву вакцину, асоційований дифтерійно-правцевий анатоксин, хімічну сорбовану тифозно-паратифозно-правцеву вакцину.

Щеплення проводять усім дітям з трьох місяців життя, сільським жителям певних районів (за епідемічними показами), будівельникам, військовослужбовцям, лісозаготівникам, робітникам водопровідних і очисних споруд, підприємств для переробки торфу, працівникам залізничного транспорту та ін. Проводять ревакцинацію.

Відтворення активного антитоксичного імунітету у матерів і пасивного імунітету в новонароджених у більшості країн Європи запобігло правцю новонароджених.

ЛІКУВАННЯ

Для лікування вводять антитоксичну протиправцеву сироватку (50000-100 000 МО) внутрішньом'язово. Отримують її гіперімунізацією коней правцевим анатоксином і токсином. Отримано імунохімічно чистий правцевий антитоксин, який дає кращий ефект, ніж антитоксична сироватка.

Більш ефективним є застосування імуноглобуліну з крові людей, імунізованих проти правця. Застосовують антибіотики (пеніцилін, цефалоспорин).

Щоб запобігти розвитку правця, при травмах проводять хірургічну обробку ран, вводять 0,5 $см^3$ правцевого анатоксину і 3000-10000 МО антитоксичної протиправцевої сироватки або імуноглобуліну з крові людини; в разі важкої травми протиправцеву сироватку доцільно призначати і щепленим особам. Повну дозу сироватки вводять після внутрішньошкірної проби на чутливість організму до кінського білка.

При повторній легкій травмі (не пізніше 14 доби) друге введення протиправцевої сироватки після першої профілактичної дози не рекомендується, оскільки є небезпека розвитку сироваткової хвороби або анафілактичного шоку.

Особи, які пройшли повний курс імунізації проти правця будь-яким препаратом, що містить правцевий анатоксин, при травмах підлягають екстреній ревакцинації анатоксином без одночасного введення антитоксичної сироватки або гомологічного імуноглобуліну.

Дуже важливим заходом вважають застосування полісистемної комплексної терапії, спрямованої на відновлення порушених функцій організму. Хворих госпіталізують в окремі палати реанімаційного відділення, де забезпечується режим, який виключає зовнішні подразники (шум, світло), призначають препарати, що зменшують напади корчів або повністю запобігають їм (нейролептики, транквілізатори, хлоралгідрат, курареподібні препарати), а також засоби для підтримання функцій органів кровообігу, здійснюють оксигенотерапію та інші необхідні заходи. В результаті такої терапії летальність у дорослих знизилася до 18%, а в новонароджених – більш ніж у 2 рази.

РАНОВА АНАЕРОБНА ІНФЕКЦІЯ (ГАЗОВА ГАНГРЕНА)

До збудників анаеробної інфекції належить *C.perfringens, C.novyi, C.septicum, C.histolyticum, C.difficile, Clostridium sordellii, Clostridium chavoei, Clostridium falax, Clostridium bifermentans.*

До клостридій, що відіграють роль у патогенезі захворювання лише в поєднанні з патогенними мікроорганізмами, належать *C.aerofoetidum, C.tertium, C.sporogenes*. Перших 4 патогенних види можуть спричиняти анаеробну інфекцію кожен зокрема, але звичайно захворювання виникає при певному поєднанні кількох співчленів паразитоцинозу. Менш патогенні і непатогенні види клостридій самі по собі не спричиняють захворювання, але руйнують тканини, знижують окисно-відновний потенціал і тим самим створюють сприятливі анаеробні умови для розвитку патогенних видів.

Збудники ранової анаеробної інфекції (газової гангрени) прийнято за ступенем патогенності ділити на три групи: перша група включає найбільш патогенні види – *C.novyi, C.perfringens, C.septicum*; друга менш патогенні види – *C.histolitycum, C.bifermentans, C.sporogenes, C.fallax*; третя група включає малопатогенні клостридії – *C.tertium, C.butiricum, C.sordellii* і інші.

Clostridium perfringens

Збудника відкрили в 1892 р. М.Уелч і Г.Неттал, а здатність викликати раневу анаеробну інфекцію встановлено О.Ліденталем. Мікроорганізм входить до складу нормальної мікрофлори кишківника людей і тварин. Поза організмом

зберігається роками у вигляді спор. Майже постійно є в грунті. Під час Першої світової війни його виявляли в 70-80% усіх випадків анаеробної інфекції, а під час Другої світової війни – у 91-100%.

МОРФОЛОГІЯ

C.perfringens – товсті, великі, поліморфні, короткі з обрізаними краями (класичні) або заокругленими кінцями палички, розміщуються поодиноко або парами, нерухомі. В організмі людини і тварин, а також при культивуванні на сироватковому агарі, утворюють капсулу, нерухомі, грамдодатні. В старих культурах можуть бути грамвід'ємні. Спори овальні, розміщуються центрально, а також субтермінально (*C.perfringens* типу А), перевищують за розмірами впоперек сам мікроорганізм. *In vitro* на вуглеводних безбілкових середовищах можуть утворювати кокобацилярні форми, а на білкових безвуглеводних середовищах – нитки з загостреними кінцями.

КУЛЬТИВУВАННЯ

Анаероби, ростуть при 37^{o}C, pH 7,2-7,4. Виявлено ріст у присутності невеликої кількості кисню.

На агарі	колонії круглі, соковиті, з рівним (S) або зазубреним краєм (R), 1-2 мм в діаметрі. R-колонії неправильної форми, горбкуваті, з нерівним шорсткуватим краєм. Спочатку колонії прозорі, як краплі роси, а пізніше мутні, сіро-білі.
В глибині агару	розташовуються у вигляді клубочків вати (R-форма) або "трирогих аеропланів", у вигляді дисків або сочевичок, сочевицеподібні (S-форма), зрідка – волокнисті. У деяких штамів видно слизові М-колонії
На кров'яному агарі з глюкозою – Цейслера	колонії діаметром 2-5 мм, круглі, з рівними краями, з підвищеним центром, сірувато-зелені, із зоною гемолізу. Довкола колоній може бути повний гемоліз за рахунок дії гемолізинів, та на відстані – неповний гемоліз за рахунок дії лецитинази.

На жовтковому агарі	колонії, оточені зоною перламутрового преципітату з опалесценцією (фосфорилхолін), який утворюється з лецитину курячого жовтка під дією лецитинази
На Кітта-Тароцці	рівномірне помутніння з виділенням газу
На МПБ	рівномірне помутніння, потім на дно осідають пластівці, а бульйон залишається прозорим

Характерна ознака колоній *C.perfringens* типу А властивість міняти сіро-білий колір на зелено-оливковий після короткочасного перебування в аеробних умовах.

ФЕРМЕНТАТИВНІ ВЛАСТИВОСТІ

Ферментують до кислоти з газоутворенням – лактозу, глюкозу, ксилозу, мальтозу, сахарозу, левульозу, рафінозу, манозу, галактозу, крохмаль, глікоген, інозит, гліцерин розкладають не всі штами, не ферментують маніт, дульцит, не розкладають казеїн. Рідко ферментують саліцин та інулін. Згортають лакмусове молоко, виникає згусток цеглястого кольору, казеїн розривається, виділяються міхурці газу, які виштовхують корок із пробірки, і відділяється прозора сироватка. Розріджують желатину впродовж 2-7 діб, розчиняють колаген, відновлюють нітрати в нітріти, індолу не утворюють.

ТОКСИНОУТВОРЕННЯ

C.perfringens утворює 14 ідентифікованих токсинів (ферментів) і ентеротоксин.

альфа (α)-екзотоксин (фосфоліпаза С)	гідролізує фосфоліпіди, які входять до складу мембран клітин і викликають дермо некротичну, гемолітичну і летальну дію
α-токсин - цитотоксин (лецитиназа С)	що має дермонекротичну, гемолітичну і летальну дію
йота (ι)-токсин	токсини мають летальні властивост
бета (β)-токсин (некротоксин)	викликає некроз тканин і летальну дію на морських свинок альбіносів (типи В і С)

епсилон (ε)-токсин (нейротоксин)	діє на нейрони
δ-токсин	має гемолітичну активність до еритроцитів барана, летальну дію на лабораторних тварин (типи В і С)
тета θ-токсин (перфрінголізин)	має гемолітичну (руйнує еритроцити барана і коня), дермонекротичну і летальну дію (найбільше тип С)
ε- і ι-токсини	мають летальну і дермонекротичну дію

протоксини	виявляють у фільтратах культур, активуються трипсином (ε-токсин виробляють типи В і D, ι-токсин – штами типу Е)
каппа κ-токсин (колагеназа і желатиназа)	активність їх підсилює цистеїн у присутності Fe^{2+}, має летальну і некротичну дію (типи А, С, Е і деякі штами типу D)
λ-токсин (протеїназа)	розщеплює колаген і желатину, у формі протоксина, активується трипсином, має

	некротичні властивості

γ- і η-токсини	мають летальну дію на лабораторних тварин, їх біохімічна природа не вивчена
μ- і ν-токсини (гіалуронідаза і дезоксирибонуклеаза)	порушують реакції білкового синтезу
ентеротоксин	термолабільний протеїн, утворюють *C.perfringens* типу А і С, викликають харчові токсикоінфекції; має летальну дію, обумовлює еритематозний шкірний висип у тварин

C.perfringens утворює 14 ідентифікованих токсинів (ферментів) і ентеротоксин. У гіалуронідази (мі (μ)-токсин) і ДНК-ази (ні (ν)-токсини) токсичність не доведена. Клостридії утворюють β-токсин, каппа (χ)-токсин (колагеназа), η-, δ-, ε-, тета (θ)-токсин (або перфрінголізин, чутливий до кисню гемолізин, подібний на О-стрептолізин стрептококка; ι-токсини мають летальні властивості, але їх біохімічна активність вивчена недостатньо). Лише α-, κ-, λ-токсини – ферменти з вираженою токсичною дією. Діють на біологічні мембрани, уражують ферментативні процеси, які каталізують гідролітичне розщеплення і порушення клітинної проникливості з набряком, що супроводжується зниженням окисно-відновного потенціалу в клітинах, активацією ендогенних протеаз, приводить до аутолізу тканин, що характерно для газової гангрени.

Тип А виробляє α-токсин – цитотоксин (лецитиназа С), що має дермонекротичну, гемолітичну і летальну дію; β-токсин викликає некроз тканин і летальну дію на морських свинок альбіносів (типи В і С); δ-токсин має гемолітичну активність до еритроцитів барана, летальну дію на лабораторних тварин (типи В і С); θ-токсин має гемолітичну (руйнує еритроцити барана і коня), дермонекротичну і летальну дію (найбільше тип С); ε- і ι-токсини мають летальну і дермонекротичну дію; протоксини, які виявляють у фільтратах культур, активуються трипсином (ε-токсин виробляють типи В і D, ι-токсин – штами типу Е); κ-токсин (колагеназа і желатиназа), активність їх підсилює цистеїн у присутності Fe^{2+}, має летальну і некротичну дію (типи А, С, Е і деякі штами типу D); λ-токсин (протеїназа) розщеплює колаген і желатину, у формі протоксина, активується трипсином, має некротичні властивості; γ- і η-токсини мають летальну дію на лабораторних тварин, їх біохімічна природа не вивчена; μ- і ν-токсини (гіалуронідаза і дезоксирибонуклеаза), порушують реакції білкового синтезу.

Ентеротоксин – термолабільний протеїн, який виробляється в товстому кишківнику. Утворюють *C.perfringens* типу А і С, викликають харчові

токсикоінфекції. Має летальну дію, обумовлює еритематозний шкірний висип у лабораторних тварин.

ФЕРМЕНТИ ПАТОГЕННОСТІ

лецитиназа, гіалуронідаза, желатиназа, коллагеназа, протеїназ, плазмін, нейрамінідаза, дезоксирибонуклеаза

АНТИГЕННА СТРУКТУРА КЛОСТРИДІЙ

Виявлено шість сероварів: A, B, C, D, E, F, які відрізняються між собою серологічно і специфічністю своїх токсинів. Серовар А живе в кишках людини і є збудником анаеробної інфекції, коли проникає парентеральним шляхом; серовар D спричиняє інфекційну ентеротоксемію у людей і тварин; серовар Е – некротичний ентерит у людей.

РЕЗИСТЕНТНІСТЬ

Спори дуже стійкі до факторів навколишнього середовища. Спори сероварів А і С витримують кип'ятіння впродовж 1-6 год. Гинуть при кип'ятінні лише через 30 хв спори сероварів В і D. Вегетативні форми *C.perfringens* не дуже стійкі. На них згубно діють дезінфікуючі розчини у звичайних концентраціях.

Clostridium novyi

Збудника виділив Ф.Нові в 1894 р. з молока. Етіологічну роль *Clostridium novyi (Clostridium oedematiens muny A)* довели в 1891 р. М.Вейнберг і К.Сеган. Вперше ранова шпитальна гангрена була описана Паре в 1562 р., через три століття в 1839 р. Вельпо опублікував свої спостереження над подібним захворюванням – "травматична емфізема". Н.І.Пирогов дав повний опис клінічної картини захворювання під час спостережень Севастопольської і Кавказької компанії (1864).

МОРФОЛОГІЯ

Велика товста поліморфна паличка з заокругленими кінцями або злегка зігнута. Часто розташовується короткими ланцюжками з 2-5 клітин або нитками, має до 25 джгутиків (перитрих). Серотип С нерухомий. У навколишньому середовищі утворює овальні або круглі спори, розташовані субтермінально або інколи центрально. Капсул не утворює. Грампозитивна. При старінні погано фарбуються аніліновими барвниками, зустрічаються грамвід'ємні культури.

КУЛЬТИВУВАННЯ

Культивування в строго анаеробних умовах. Температура 37^{o}С, pH 7,4-7,8. В середовищі Кітта-Тароцці ростуть у вигляді осаду з просвітлінням середовища та нагромадженням газу, викликають зсув pH в кислу сторону. На глюкозокров'яному агарі утворюють сірі шорсткуваті колонії з піднятим центром і зазубреним краєм із зоною гемолізу (типи А, В і С). Бактерії типу D

гемолізу не викликають. В агарі стовпчиком молоді колонії мають вигляд ніжної хмарки або сніжинок неправильної форми з більш грубим компактним центром, часто забарвлені в жовтий або коричневий колір. Старі колонії по периферії утворюють нитки, які сплітаються між собою і є більш світлі. На м'ясо-пептонному бульйоні з 0,25% глюкози або 3% декстрину при 37°С у перші 20 год спостерігається пишний ріст і поступове утворення пухкого осаду. На м'ясних і казеїнових середовищах спостерігають спороутворення на 2-6 добу. На кров'яному агарі з бензидином колонії типів А і В швидко чорніють на повітрі (за рахунок утворення H_2O_2). На щільних середовищах в анаеростаті через 48 год утворюють круглі, соковиті сірі напівпрозорі колонії, інколи з зернистою поверхнею і нерівними краями.

ФЕРМЕНТАТИВНІ ВЛАСТИВОСТІ

Розріджують желатину, згортають молоко, не утворюють сірководню і уреази. Бактерії типів А, В і С ферментують з утворенням газу глюкозу, фруктозу, мальтозу і крохмаль, не ферментують лактозу, а тип D – лише глюкозу; гліцерин розкладають всі мікроорганізми (крім деяких штамів типу В). Розріджують желатину, згортають молоко (помалу), але не розкладають згорнутий яєчний білок (за винятком декількох штамів); бактерії типу D утворюють індол і сірководень.

АНТИГЕННА СТРУКТУРА

C.novyi має чотири серовари: A, B, C, D, із них лише серовар А є збудником анаеробної інфекції у людини.

РЕЗИСТЕНТНІСТЬ

C.novyi виносять кип'ятіння упродовж 1-2 год, гинуть від прямого сонячного проміння через добу, а в навколишньому середовищі зберігаються до 20-25 років. У кістках тварин зберігаються до 10 років. Вегетативні форми *C.novyi* малостійкі. Звичайні концентрації дезинфікуючих речовин гублять їх через 15-20 хв.

ТОКСИНОУТВОРЕННЯ

C.novyi виділяє 8 складних екзотоксинів: *α-токсин* термолабільний – викликає набряк тканин, має летальну і некротичну дію, *γ-токсин* має лецитиназну, некротичну і гемолітичну активність, *δ-токсин* є гемолізином, O_2-лабільний, *ε- токсини* має ліпазну активність (тип А); *β-токсин* має некротичну, гемолітичну, летальну і лецитиназну активність (тип В і D); *α-*, *β-*, *ξ-токсин*, гемолізин, O_2 стабільний (тип В); *η-токсин* (тропоміозидазу, має і тип D) і *θ-токсин* (викликає помутніння лецитовітеліна, має і тип D); активний гемолізин, що має властивості фосфоліпази (тип С).

У бактерій типу А є гліцеринкіназа, α-амілаза і α-глюкозидаза, тобто може розкладати полісахариди шляхом гідролізу і фосфорилювання. Ферменти патогенності: фосфоліпаза, гіалуронідаза.

ПАТОГЕННІСТЬ ДЛЯ ТВАРИН

Збудник патогенний для ссавців, голубів, кроликів, мишей, викликаючи у них безбарвний або рожевого кольору желеподібний набряк без міхурців газу при підшкірному введенні культури. На розтині набрякла тканина безбарвна, помітні незначні зміни м'язів.

Clostridium septicum

Септичний вібріон відкритий Л.Пастером (сепсис викликаий *Vibrio septique* в 1861 р.) і Ж.Жубером у 1877 р. з трупа корови. У 1881 р. Р.Кох довів, що цей мікроорганізм спричиняє злоякісний набряк. У грунті трапляється у 80% досліджуваних проб.

МОРФОЛОГІЯ

Поліморфні тоненькі палички або нитки (в тканинах). Спори овальні, розташовуються центрально або субтермінально, перитрихи. На МПБ утворюють довгі нитки. В організмі тварин не утворюють капсули, грамдодатні. В культурах клітини можуть бути яйце-, веретеноподібні і утворювати ланцюжки. Старі культуи можуть фарбуватися грамвід'ємно.

КУЛЬТИВУВАННЯ

Строгі анаероби. Виявлено, що вони залишаються життєздатними при доступі кисню протягом 10 год. Ростуть при 37^{o}С при pH 7,4-7,6. Добре культивуються на м'ясних і казеїнових середовищах з додаванням 0,5% глюкози. На середовищі Кітта-Тароцці *Clostridium septicum* утворює значний ріст (помутніння), з газо- або без газоутворення, через 2 доби утворюється осад. На поверхні МПА колонії діаметром до 4 мм напівпрозорі, опалесцентні, краї зубчасті, з короткими відростками, мають тенденцію до повзучого росту. На глюкозо-кров'яному агарі Цейслера утворює суцільний ніжний наліт у вигляді переплетених ниток на фоні гемолізу. В стовпчику 1% МПА колонії мають вигляд клубків вовни, глибинні колонії в агарі ніжні з нерізко вираженим ущільненим центром і переплетеними відростками, сочевицеподібні колонії (S-форма). На 2% агарі колонії мають вигляд дисків. У бульйоні утворюють рівномірне помутніння з випаданням пухкого білого слизового осаду. Пізніше бульйон просвітлюється.

ФЕРМЕНТАТИВНІ ВЛАСТВОСТІ

Ферментують до кислоти і газу глюкозу, лактозу, мальтозу, левульозу, галактозу, не розкладають маніт і гліцерин, сахарозу (всі штами), згортають молоко (повільно), не гідролізують казеїн, розріджують желатину, переводять нітрати в нітрити, утворюють сірководень, аміак, не утворюють індолу, розчиняють колаген. Продукують ферменти патогенності: фібрінолізин, колагеназу.

ТОКСИНОУТВОРЕННЯ

Збудник злоякісного набряку виробляє 4 екзотоксини: α-токсин, має летальну, некротизуючу і гемолітичну активність; β-токсин, має властивості ДНК-ази; γ-токсин (гіалуронідаза); δ-токсин, має властивості O_2-лабільного гемолізину.

ФЕРМЕНТИ ПАТОГЕННОСТІ

Виділяє гемотоксин, гіалуронідазу, нейрамінідазу, колагеназу. Гемолітичні властивості проявляються щодо еритроцитів людини, коней, барана, кроля і морської свинки.

АНТИЕННА СТРУКТУРА

Виявлено О-, Н-антигени. За Н- антигенами встановлено 6 сероварів.

РЕЗИСТЕНТНІСТЬ

Clostridium septicum менш стійкі до факторів навколишнього середовища порівняно зі спорами інших клостридій – збудників анаеробної ранової інфекції. При кип'ятінні гинуть упродовж кількох хвилин.

ПАТОГЕННІСТЬ ДЛЯ ТВАРИН

Із свійських тварин сприйнятливі коні, вівці, свині, велика рогата худоба. Заражені морські свинки гинуть через 18-48 год. Чутливі кролики і білі миші. На місці ін'єкції утворюється темно-червоний кров'яно-серозний набряк з міхурцями газу, м'язи мають темно-червоний колір, в підшкірній клітковині також міхурці газу, шерсть тваринки стирчить. При подразненні можуть розвиватися конвульсії. При розтині і виготовленні мазків-відбитків зі зрізів печінки тварин можна виявити зігнуті нитки у вигляді клубків мікробів, що складаються з *Clostridium septicum.*

Clostridium histolyticum

Збудник *Clostridium histolyticum* виділений у 1916 р. М.В.Вейнбергом і К.Сегеном. Його значення в патології людини невелике. Зустрічається у грунті, стічних водах, інколи в кишківнику людини.

МОРФОЛОГІЯ

Грампозитивні прямі рухомі палички, утворюють овальні спори, розташовані субтермінально з 3-шаровою оболонкою, які не деформують клітину, перитрихи. Капсул не утворюють. У старих культурах можуть бути грамвід'ємними. В мазках розташовуються попарно або ланцюжком.

КУЛЬТИВУВАННЯ

Облігатні анаероби. Виявлено ріст у присутності невеликої кількості кисню. Ростуть у м'ясних і казеїнових середовищах, викликають протеоліз шматочків м'яса і печінки на дні середовища Кітта-Тароцці. В агарі стовпчиком ростуть у вигляді клубка вати зі щільним центром з нитками, які відходять від

центру. На МПА прозорі, гладенькі, як росинки, колонії. В бульйоні – рівномірне помутніння з осадом на дні, без газоутворення. На кров'яному агарі Цейслера утворюються прозорі, як крапельки роси, випуклі, маленькі, блискучі, круглі колонії з рівними краями, з невеликою вузькою зоною гемолізу або без гемолізу. При тривалому культивуванні колонії виростають у вигляді "голови медузи".

ФЕРМЕНТАТИВНІ ВЛАСТВОСТІ

Цукролітичні властивості не виражені. Розчиняють шматочки печінки, яєчний білок, згорнуту сироватку, колаген, швидко пептонизують молоко до повного розчинення казеїну, розріджують желатину. Культури не мають запаху гниття.

ТОКСИНОУТВОРЕННЯ

Clostridium histolyticum виділяє 5 токсинів, які серологічно ідентифікують. α-токсин має летальну і некротичну дію при прямому ушкодженні тканин; β-токсин (колагеназа) розщеплює азокол і желатину; γ-токсин (протеїназа), активуючий відновниками, не руйнує нативний колаген, але розщеплює азокол, желатину і казеїн; δ-токсин (еластаза) аналогічно; ε-токсин, проявляє O_2-залежну гемолітичну активність (лабільний до кисню, в антигенному відношенні близький до стрептолізину О). Утворюють діалізабельний токсин, який розплавляє тканини зараженого організму. При внутрішньовенному введенні тваринам екзотоксин убиває їх протягом 20 хв, спричиняючи лізис β-клітини підшлункової залози, в результаті чого швидко настає смерть.

ФЕРМЕНТИ ПАТОГЕННОСТІ

Виробляють колагеназу, желатиназу, протеїнази, які руйнують желатину, казеїн, еластин.

ПАТОГЕННІСТЬ ДЛЯ ТВАРИН

При зараженні тварин відбувається протеоліз м'яких тканин з оголенням кісток і відпаданням кінцівок. Екзотоксин має летальні властивості.

Clostridium sordellii

C.sordellii виділена Сорделі від хворого газовою гангреною в Буеносі-Айресі в 1922 р.

МОРФОЛОГІЯ

Пряма грамдодатна товста паличка, перитрих. Інколи утворює ланцюжки з 3-4 клітин. Капсул не утворює. Спори овальні, розташовуються субтермінально або центрально.

КУЛЬТИВУВАННЯ

C.sordellii – факультативні анаероби. На щільних поживних середовищах через 24-48 год при 37°С утворюють випуклі, сіро-білі колонії з нерівними краями. В глибині агару утворюють колонії форми сочевиць. На агарі з еритроцитами коня утворюють вузьку зону гемолізу. На шоколадному агарі – вузьку зону просвітлення (за рахунок протеолізу). На агарі з курячим жовтком, молоком і лактозою формують зону опалесценції довкола колоній. На рідких м'ясних середовищах утворюють інтенсивний ріст, часто з утворенням слизу.

ФЕРМЕНТАТИВНІ ВЛАСТВОСТІ

Ферментує багато вуглеводів (глюкозу, левульозу, мальтозу, фруктозу до кислоти і газу), але не ферментує лактозу і сахарозу, проявляє виражені протеолітичні властивості: швидко розріджує желатину, повільно згортає молоко. Утворює індол, сірководень.

ТОКСИНОУТВОРЕННЯ

Вірулентні штами виробляють високолетальний некротизуючий токсин, який нагадує α-токсин *Clostridium novyi;* утворює лецитиназу С, подібну до лецитинази *Clostridium perfringens* типу А, хоча має меншу активність; виробляє гемолізин типу θ-токсину *C.perfringens* типу А і δ-токсин *C.novyi i C.septicum.*

ФЕРМЕНТИ ПАТОГЕННОСТІ

лецитиназа, гіалуронідаза, гемолізин, фібринолізин, уреаза.

РЕЗИСТЕНТНІСТЬ

Вегетативні форми не стійкі. Спори стійкі, довго зберігаються в грунті.

ПАТОГЕННІСТЬ ДЛЯ ТВАРИН

В експериментальних тварин *C.sordellii* викликає захворювання, подібне на газову гангрену.

Clostridium chavoei

Clostridium chavoei – збудник "шумного карбункула" великої рогатої худоби. Деякі автори розглядають його як підвид *C.septicum: C.septicum* тип А і *C.chavoei* тип В, хоча кожен з мікроорганізмів повністю нейтралізує лише гомологічна сироватка.

При диференціальній діагностиці враховують повну відсутність перехесної нейтралізації токсинів, слабку терморезистентність в *C.septicum* і високу в *C.chavoei*, властивість *C.septicum* аглютинувати еритроцити барана і лізувати еритроцити курей.

КУЛЬТИВУВАННЯ

На середовищі Цейслера утворюють колонії, які нагадують листя винограду, ніжно-фіолетового кольору. На кров'яному агарі утворюють α-гемоліз, на середовищі Кітта-Тароцці – значний ріст, спори утворюються через 24 год, колонії не мають неприємного запаху.

ФЕРМЕНТАТИВНІ ВЛАСТИВОСТІ

Молоко згортають за 3-6 діб; казеїн і згорнуту сироватку не розріджують, желатину не гідролізують.

Clostridium falax

Clostridium falax вперше виділені з грунту тропічних районів Африки Прево.

МОРФОЛОГІЯ. Пряма паличка з заокругленими кінцями.

КУЛЬТИВУВАННЯ. *Clostridium falax* – строгі анаероби. На поверхні агару через 24-48 год утворюють дрібні плоскі прозорі колонії з нерівними краями; на КА – вузьку смужку гемолізу.

ФЕРМЕНТАТИВНІ ВЛАСТИВОСТІ.. Ферментують вуглеводи; помірної протеолітичної активності, згортають молоко з утворенням кислоти, не утворюють сірководню, індолу і не відновлюють нітрати.

ТОКСИНОУТВОРЕННЯ. Виділяють летальний токсин, серологічно ще не ідентифікований.

Clostridium bifermentans

Clostridium bifermentans за морфологією і біохімічними властивостями подібні на *Clostridium sordellii.* Диференціальна діагностика заснована на серологічній ідентифікації аглютиногенів спор.

Утворюють лецитиназу С. Інколи викликають газову гангрену в людини. Разом з *Clostridium novyi, Clostridium septicum, Clostridium histolyticum, Clostridium perfringens* типу А, які виробляють α-токсин, належать до так званих гістотоксичних клостридій.

МОРФОЛОГІЯ. Нерухомі палички, грамдодатні. В мазках розташовуються ланцюжками. Утворюють цетральні або субтермінальні спори.

КУЛЬТИВУВАННЯ. На агарі Цейслера утворюють ніжний ріст, який нагадує ріст *C.novi*. На КА – α-гемоліз, проявляють лецитиназну активність. На середовищі Кітта-Тароцці не утворюють газу, через 24 год культивування з'являється осад, запах гнильний.

ФЕРМЕНТАТИВНІ ВЛАСТИВОСТІ. Розріджують згорнуту сироватку, гідролізують желатин, ферментують глюкозу, левульозу, мальтозу.

Clostridium difficile

Clostridium difficile відкриті Холлом і О'Тулом у 1935 р. як представники нормальної мікрофлори кишківника, пізніше виділений з вогнепальних поранень при газовій гангрені, з різних абсцесів плевральної рідини при неспецифічних уретритах. Їх виявляють у здорових людей (3%). Після тривалої пероральної антибіотикотерапії (особливо лінкоміцину, кліндаміцину, ампіциліну і цефалоспоринів) і цитостатиків, виникає глибокий дисбаланс мікрофлори і розвивається колонізація кишківника *C.difficile.* У кишках людини, інфікованої *C.difficile,* розмножуються резистентні штами, що продукують некротизуючий екзотоксин. Він спричиняє псевдомембранозний ентероколіт із тяжким перебігом. Носії *C.difficile* особливо розповсюджені у новонароджених, поширюються також через інфіковані руки. Псевдомембранозний ентероколіт – це шпитальна інфекція, яка поширена більше ніж сальмонельоз.

Антибіотиковий ентероколіт характеризується водянистими діареями, кольками в животі, підвищенням температури тіла до 39^{o} і вище; виявляють лейкоцити в калі і лейкоцитоз.

Псевдомембранозний ентероколіт характеризується утворенням і виділенням з калом фібрину і слизу. Для його діагностики виділяють збудники з випорожнень і виявляють токсин за його цитотоксичною активністю на лініях культур клітин і проведенням реакції нейтралізації за допомогою специфічних антитоксичних сироваток.

МОФОЛОГІЯ. Грамдодатні палички, рухливі, перитрихи, спори овальної форми, розташовані субтермінально. Капсул не утворюють.

КУЛЬТИВУВАННЯ. На живильних середовищах ростуть при температурі 30-37^{o}C (діапазон росту 25-45^{o}C). Колонії на щільних середовищах круглі, діаметром 3-5 мм, з рівними краями, злегка випуклі, сіро-білого кольору, з матовою поверхнею. На бульйоні *C.difficile* утворює помірний ріст із ферментацією або без ферментації глюкози, на дні зернистий осад. На кров'яному агарі більшість штамів не утворює гемолізу.

ФЕРМЕНТАТИВНІ ВЛАСТИВОСТІ. Молоко не згортає.

ТОКСИНОУТВОРЕННЯ. *C.difficile* утворюють токсичний комплекс: токсин А (ентеротоксин) має діареєгенну і летальну дію, стимулює гуанілатциклазу; токсин В (цитотоксин) має летальну дію, порушує функції мембран, втрачаючи K^{+} і фібронектин, інгібує синтез білка, спричиняє геморагії у сліпій кишці. Виявлення токсинів у фекаліях рекомендовано для підтвердження клінічного діагнозу. Це простіше, ніж виділення й ідентифікація культури *C.difficile.*

Clostridium sporogenes

Clostridium sporogenes відкрита в 1908 р. І.І.Мечніковим.

МОРФОЛОГІЯ. Пряма паличка, грамдодатна. Перитрих, капсул не утворює, спори овальні, розташовані субтермінально.

КУЛЬТИВУВАННЯ. Ріст на рідкому середовищі з глюкозою супроводжуються помутнінням і енергійним газоутворенням. На щільних середовищах утворюють колонії 2-6 мм як "голова медузи", напівпрозорі, з матовою поверхнею. Оптимальна температура культивування 30-40^{o}С.

ФЕРМЕНТАТИВНІ ВЛАСТИВОСТІ. *Clostridium sporogenes* мають сильно виражені протеолітичні властивості, викликають у ранах протеоліз мертвих тканин із запахом гнилі. Палички не утворюють токсинів, які беруть участь у патогенезі анаеробної ранової інфекції. При змішаних анаеробних ініфекціях збільшують вірулентність *Clostridium perfringens і Clostridium septicum.* При попаданні життєздатних спор у м'язи здатні викликати гнійні процеси.

ПАТОГЕНЕЗ ГАЗОВОЇ ГАНГРЕНИ

Анаеробна ранова інфекція – це полімікробне захворювання, яке викликається клостридіями в асоціації з аеробними бактеріями (стафілококами, стрептококами та іншими), супроводжується важкою інтоксикацією, можливим набряком і омертвінням уражених м'язової і сполучної тканин (гангрена).

ДЖЕРЕЛО ІНФЕКЦІЇ

Природним резервуаром анаеробної інфекції є кишківник людини і тварин. У людини вміст *C.perfringens* в кишківнику становить 10^3-10^5 бактерій на 1 г фекалій.

МЕХАНІЗМ ПЕРЕДАЧІ ІНФЕКЦІЇ

Фекально-оральний, контактний

ШЛЯХ ПЕРЕДАЧІ ІНФЕКЦІЇ

аліментарний, через грунт, інфіковані предмети (білизна, одяг)

Вхідні ворота – ранова поверхня, через яку в глибину разом з грунтом проникають спори клостридій.

Форми хвороби в людини:

1) анаеробна інфекція м'яких тканин кінцівок і тулуба;

2) анаеробна інфекція мозку;

3) анаеробна інфекція після пологів або після аборту;

4) анаеробна інфекція органів черевної порожнини і очеревини;

5) анаеробна інфекція органів грудної порожнини;

6) анаеробний остеомієліт.

Всі вони мають єдиний патогенез. Перебігають без вираженого запалення.

Може виникнути інфекція лише при певних умовах: великі рани з осколками металу і землею, великі глибокі рани зі сліпими кишенями, роздрібненням м'яких тканин, уламками кісток, утворенням у глибині кров'яних згустків, при зниженому вмісті кисню. Спори, які потрапили в рану, починають проростати і переходять у вегетативні форми, які розмножуються в глибині ураженої тканини і проникають у здорову тканину, виділяють екзотоксини і ферменти, уражують тканини і некротизують їх. Некротизована тканина не постачається кров'ю, таким чином відсутні антибактеріальні фактори і запалення. Разом з анаеробіозом створюється ідеальне середовище для розмноження і реалізації хворобливого потенціалу анаеробних сапрофітів. Не маючи достатньої агресивності для інвазії живої тканини, вони відіграють головну роль у гангренозних ураженнях. Ранова інфекція переходить у загальне токсинемічне захворювання.

Перша фаза інфекційного процесу характеризується утворенням набряку, друга – гангреною м'язової і сполучної тканин, розповсюдженням некрозу і розпадом тканин з утворенням газів (гнильний запах). У вогнищі некрозу повністю відсутні фагоцити. Екзотоксини зумовлюють явище інтоксикації, мають потенціюючу дію. В результаті звуження судин під дією токсинів, набряку і газоутворення шкіра стає блідою, блискучою, а потім бронзовою, температура її в уражених тканинах знижується. Глибоких змін зазнають підшкірна жирова клітковина, м'язова і сполучна тканини, розвиваються дегенеративні зміни внутрішніх органів. Під дією токсинів відбувається паренхіматозне переродження внутрішніх органів, гемоліз, порушується гемодинаміка. Це токсичне захворювання, де бактеріальний фактор відіграє другорядну роль. Велике значення у розвитку захворювання має стан реактивності макроорганізму (супровідні захворювання, травми). Інколи анаеробна інфекція виникає як ускладнення хірургічних операцій, позалікарняних абортів, коли збудників заносять у рани нестерильними інструментами.

Токсикоінфекції (сероварів А) або інтоксикації, пов'язані з уживанням харчових продуктів (бринза, молоко, свіжий сир, ковбаса, риба та ін.), які сильно інфіковані клостридіями анаеробної інфекції, характеризуються коротким інкубаційним періодом (2-6 год), проносом, блюванням, болем голови, нормальною або підвищеною температурою тіла, слабкістю діяльності серця, корчами литкових м'язів, лихоманкою. Можуть розвинутися плеврит, холецистит, гангренозний апендицит, сепсис. Більш важко перебігає некротичний ентерит (штами серовару С), внаслідок дії β-токсину. Характерний пронос із домішками крові, причиною якого є ураження слизової оболонки бета-токсином (він утворюється при розмноженні клостридій в тонкому кишківнику). Хворі попадають на операційний стіл з діагнозом "кишкова непрохідність", смертність до 35%. Захворювання реєструють рідко. При анаеробній інфекції розрізняють три основні клінічні форми: емфізематозна форма, набряково-токсична форма, змішана форма.

ІМУНІТЕТ

Несприятливість до інфекції пов'язана з наявністю антитоксинів до збудників ранової інфекції. При достатній кількості антитоксину (проти *C.perfringens*) лецитиназна активність цього збудника анаеробної інфекції цілком зникає. Реакція між токсином і антитоксином залежить від лецитину, який є субстратом для токсину. Додавання антитоксину через деякий проміжок часу після взаємодії токсину з лецитином не приводить до нейтралізації лецитинази і лише сповільнює реакцію. Певну роль відіграє й антибактеріальний фактор, оскільки в патогенезі анаеробної інфекції має значення і стан бактеріємії. Перенесене захворювання не залишає стійкого імунітету.

МЕТОДИ МІКРОБІОЛОГІЧНОЇ ДІАГНОСТИКИ РАНОВОЇ АНАЕРОБНОЇ ІНФЕКЦІЇ

Матеріал на дослідження	**Основні методи дослідження**	**Середовища**
шматочки ураженої і некротизованої тканини	*Мікроскопічний метод, експрес-діагностика* ІФМ, газову хроматографію (ГХ), *бактеріологічний метод, методи прискореної діагностики* посів нативного матеріалу на середовище ВСА і лакмусове молоко, *біопроби на мишах методом нейтралізації відповідними сироватками*	Кітта-Тароцці, кров'яний агар і жовтковий агар (анаеробно), з бульйоном Мартена, Вейнберга, в трубках за Віньялем-Вейоном, у стовпчик глюкозного агару,сер Вілліса-Хобса, середовище для контролю стерильності (СКС)
шматочки м'язів		
рідина з набряку		
кров з вени		
матеріал для перев'язок і шовний матеріал (хірургічний шовк, кетгут)		
трупний матеріал		
одяг, грунт		
блювотні маси, промивні води шлунка, кал, кров, залишки їжі (при отруєннях)		

ЛАБОРАТОРНА ІАГНОСТИКА

Матеріал для дослідження. Об'єктами дослідження анаеробної інфекції є, шматочки м'язів (2-3 г забирають пінцетом), рідина з набряку (набирають шприцом на межі здорової і ураженої тканини), кров з вени (беруть 5-10 $см^3$ і засівають біля ліжка хворого у відношенні 1:10), матеріал для перев'язок і шовний матеріал (хірургічний шовк, кетгут). Трупний матеріал (частинки шкіри і патологічно змінені м'язи, вміст рани, шматочки печінки,

селезінки, кров із серця) беруть після смерті до проникнення в тканини трупа анаеробної мікрофлори з травного каналу. Необхідно пам'ятати, що клостридії входять до складу нормальної мікрофлори кишківника, і його вміст може досягати 10^3 мікробних клітин або 10 спор в 1 г фекалій здорової людини. При потребі на дослідження беруть одяг, грунт. При харчових токсикоінфекціях досліджують блювотні маси, промивні води шлунка, кал, кров, залишки їжі. Банки або пробірки поміщають у металевий футляр, обгортають їх ватою (лігніном) і пересилають у лабораторію протягом години.

Мікроскопічний метод. Готують мазки-відбитки з патматеріалу для мікроскопії за Грамом і Бурі-Гінса. При реєстрації результатів мікроскопії в протоколі відмічають всі форми мікроорганізмів.

Основою для підозри є велика кількість грампозитивних товстих або поліморфних паличок разом з коками. В препараті за Бурі-Гінсом виявляються капсули.

Експрес-діагностика. Готують мазок-відбиток з досліджуваного матеріалу, обробляють імунофлюоресцентною видоспецифічною сироваткою і вивчають під люмінесцентним мікроскопом для орієнтовної відповіді (клітини висвічують жовто-зелений вінчик); проводять газову хроматографію (ГХ), яка дозволяє видати орієнтовну додатну відповідь вже через 1,5-2 год після надходження матеріалу в лабораторію. Діагностика клостридіальної інфекції за допомогою методу ГХ заснована на виявленні в досліджуваному матеріалі летючих жирних кислот (ЛЖК), які є специфічними продуктами метаболізму анаеробів (пропіонової, масляної, ізокапронової та ін.). Вивчення спектру ЛЖК дозволяє визначити рід клостридій.

Бактеріологічний метод. Патологічний матеріал готують для посіву. Стерильними ножицями розрізають на шматочки і додають невелику кількість кварцового піску і фізрозчину, розтирають у ступці некротизовані ділянки шкіри, змінену тканину м'язів, кусочки печінки, селезінки до утворення 10% гомогенату. Розділяють його на дві частини, одну частину гомогенату прогрівають 20-30 хв на водяному нагрівачі при 80°С для знищення вегетативної мікрофлори. Паралельно проводять дослідження прогрітого і непрогрітого гомогенату. Рідину з набряку і кров центрифугують при 3000 об/хв протягом 30 хв і засівають осад.

Гомогенат засівають петлею на щільні середовища: кров'яний агар Цейсслера (для виявлення гемолізу); в глибину високого стовпчика вісмут-сульфіт агар, який містить глюкозу, сульфіт натрію і хлорне залізо; на середовище бензидіновий агар (колонії *C.novyi* в аеробних умовах чорніють); середовище Вілліса-Хобса, середовище для контролю стерильності (СКС).

Через 3 год культивування при 42°С на середовищі вісмут-сульфіт агарі в результаті відновлення сульфату натрію до Na_2S і утворення сульфіту заліза відбувається почорніння стовпчика залізосульфітного середовища; спостерігається газоутворення внаслідок зброджения глюкози до газу (розриви агару). Паралельно засівають 1 $см^3$ гомогенату під шар вазелінової олії у п'ять

пробірок з середовищем Кітта-Тароцці. Перед посівом на середовище Кітта-Тароцці проводиться регенерація чотирьох пробірок (кип'ятінням) упродовж 20 хв з наступним швидким охолодженням, одну пробірку залишають без прогрівання.

Методи прискореної діагностики включають: посів нативного матеріалу на середовище вісмут-сульфіт агар і лакмусове молоко (через 2-4 год культивування при 42°С в середовищі утворюється цегляcто-червоний з міхурцями газу згусток казеїну і прозора сироватка).

Прискорений метод: у знежирене молоко під олією, яке містить 0,5% глюкози, засівають 1 $см^3$ гомогенату; через 6 год культивування при 37°С відбувається повне згортання молока з утворення згустків казеїну, які плавають у просвітленій сироватці і обплітають стінки пробірок аж до корка; сироватку центрифугують і вводять 1 $см^3$ внутрішньочеревно білим мишам і проводять реакцію нейтралізації з сироваткою проти *C.perfringens* типу А; паралельно визначають токсин у сироватці, обробленій трипсином (протеолітична активація токсину).

Доцільно засівати матеріал у стовпчик м'ясо-пептонного агару і цукрового агару, що набраний в пастерівські піпетки, які легко підпилюються і надломлюються в місці виникнення колоній. Посіви інкубують добу в анаеростаті на щільних поживних середовищах, кожних дві доби розглядають ріст; посіви в рідких поживних середовищах вирощують у звичайних умовах в термостаті протягом 15 діб і оглядають їх кожен день.

На кров'яному агарі Цейслера *C.perfringens* виростають у вигляді шорсткуватих великих плоских колоній з зоною повного гемолізу та мають тенденцію до повзучого росту; *C. tetani, C.septicum* можуть рости у вигляді суцільного ніжного нальоту, який складається з пучків і ниток, що переплітаються.

На жовтковому агарі колонії *C.perfringens* оточені білим преципітатом з опалесценцією, який з'являється під дією α-токсину (лецитинази С). Зони преципітації можна пригнітити – нанести на половину чашки специфічну антисироватку одночасно з посівом тест-культури.

Підозрілі колонії мікроскопують. При виявленні грампозитивних грубих чи поліморфних паличок матеріал із декількох колоній відсівають на середовище Кітта-Тароцці для нагромадження чистої культури.

З пробірок із посівами первинного матеріалу, в якому спостерігається помутніння середовища та утворення міхурців газу, готують мазки для мікроскопії. При виявленні в них грубих чи поліморфних грампозитивних паличок проводять висів на щільні середовища (кров'яний агар, середовища вісмут-сульфіт агар або середовище Вілліса-Хобса) для одержання росту ізольованих колоній і виділення чистих культур.

Чисту культуру мікробів-анаеробів з рідких поживних середовищ досліджують бактеріоскопічно: готують мазки за методом Грама для виявлення

товстих або поліморфних паличок, серед яких можуть зустрічатися спорові форми з центральним і субтермінальним розташуванням спори; ставлять пробу на каталазу, готують препарат "висяча крапля" для виявлення рухливості мікроорганізмів. Якщо культура чиста, її перевіряють на аеротолерантність: сіють на сектор кров'яного агару і культивують 24-48 год при 37°С в аеробних умовах. Облігатні анаероби не ростуть в аеробних умовах.

Оцінюють біохімічні властивості виділеної культури, проводять облік на середовищі Гісса (глюкоза, лактоза, маніт, сахароза, мальтоза, гліцерин, саліцин), середовищі Роберта, в лакмусовому молоці, желатині, згорнутій сироватці, вивчають лецитиназну активність на жовтковому агарі.

Визначають токсигенність виділених бактерій методом *люмінесцентної мікроскопії*: колонію емульгують на предметному склі в краплі акридинового оранжевого, покривають покривним склом і вивчають під імерсійною системою люмінесцентного мікроскопа. Наявність зелених паличок вказує на токсигенність, червоні або зелені з червоними фрагментами палички свідчать про слабу токсигенність бактерій або її відсутність. Вид виділеного мікроба-анаероба визначають за допомогою ***біопроби*** *на мишах методом нейтралізації токсинів специфічними протигангренозними сироватками.* Для дослідження беруть центрифугат 24 год культури, що виросла на середовищі Кітта-Тароцці, яка змішана з антитоксичними сироватками: *C.perfringens* типу А, *C.novi* типу А і В, *C.septicum, C.histolyticum і C.sordellii*. Із сироваток готують розведення з такого розрахунку, щоб в 0,6 см^3 містилося по 50 МО антитоксину *C.perfringens* типу А; *C.novi* типів А і В і по 100 МО антитоксинів *C.septicum, C.histolyticum і C.sordellii.*

Розведені сироватки в об'ємі 0,6 см^3 змішують з 0,9 см^3 центрифугату культури мікробів-анаеробів (досліджуваний токсин). Виготовлену таким чином суміш витримують 40 хв при 20°С в темному місці для нейтралізації токсину і вводять двом мишам по 0,5 см^3 внутрішньовенно. Результати біологічної проби починають враховувати через 3 доби за дією гомологічної антитоксичної сироватки, що нейтралізує токсин. Дія її визначається за виживанням однієї пари піддослідних тварин при загибелі контрольних мишей, які отримали токсин без антитоксичної протигангренозної сироватки, а також за захворюванням і загибеллю всіх решти піддослідних тварин внаслідок невідповідності досліджуваного токсину протигангренозній антитоксичній сироватці.

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

До прискорених методів діагностики належить виявлення у фільтратах лецитинази і нейтралізація її типоспецифічними сироватками.

Матеріал після ценрифугування розводять фізрозчином 1:2, 1:4…, додають активатор (0,005 М $CaCl_2$) і 1 см^3 кожного розведення змішують з 0,1 см^3 типоспецифічної сироватки. Суміш культивують 40 хв при 20°С, додають

0,2 $см^3$ лецитовітеліну і знову поміщають в термостат при 37°С на 2 год. Контроль – суміш без сироватки. В контролі фільтрат лецитиназопозитивного мікроорганізму – *C.perfringens* дає опалесценцію і помутніння, в пробірках із сироваткою таких змін не спостерігається.

Для *прискореної діагностики* газової анаеробної інфекції О.А.Комковою запропонований метод посіву в стовпчик напіврідкого агару з антитоксичною сироваткою. В такому середовищі з гомологічною антитоксичною сироваткою клостридії замість дифузного помутніння утворюють ізольовані колонії, а в мазках-препаратах мають вигляд стрептобацил.

Лабораторна діагностика харчових токсикоінфекцій проводиться так само, лише досліджуваний матеріал десятикратно розводять пептонною водою до 10^{-10} і переносять по 1 $см^3$ відповідних розведень в розтоплений і охолоджений до 45° С ВСА, Кітта-Тароцці, китопечінково-дріжджовий гідролізат. Після культивування підраховують колонії чорного кольору, відбирають пробу до 10-30 колоній (20-30 на чашках) і перераховують на 1 $см^3$, враховуючи розведення і посівну дозу. Діагноз підтверджується при виявленні продукту, який викликав захворювання, 10^6 і більше клітин аеробів в 1 г, наявності клостридій типів А і С, при виробленні екзотоксинів і виділенні з крові хворого штамів клостридій будь-якого типу.

ПРОФІЛАКТИКА

Своєчасна і хірургічна допомога пораненим: первинна обробка ран, введення антитоксичної сироватки, яка містить антитіла проти токсинів клостридій. З профілактичною метою вводять по 10 000 МО антитоксичних сироваток проти збудників *C.perfringens, C.novyi, C. septicum*. З лікувальною метою вводять ті ж сироватки по 50 тисяч МО. Методи специфічної активної профілактики, зокрема анатоксини, широко не використовуються.

ЛІКУВАННЯ

Лікування лише антитоксичною сироваткою в значно більших дозах не дає потрібного ефекту, тоді як комплексне застосування антитоксичної сироватки й антибіотиків (пеніцилін, канаміцин і сульфаніламіди, які пригнічують супутню мікрофлору), інгібіторів протеолітичних ферментів та гіпербаричної оксигенації в барокамерах значно знижує летальність. Після ідентифікації збудника вводять сироватку проти токсинів даного мікроорганізму.

Лікування антибіотиками допомагає мало, оскільки вони не досягають мети, відсутній потік крові. Найбільш надійна хірургічна обробка ран, спрямована на ліквідацію анаеробіозу (видалення “мертвих” тканин і дренаж ран).

Питання для самоконтролю

1. Потерпілому в автомобільній катастрофі хворому С. 45 років після хірургічної допомоги, ввели 3000 МО протиправцевої антитоксичної

сировотки. Яка може бути тривалість антитоксичного імунітету у даного пацієнта?
A. 7 днів
B. 2 тиждні
C. 3-4 тиждні
D. 2 місяці
E. 6 місяців

2. Хворий С. був госпіталізований в інфекційне відділення з діазнозом "правець". Два місяці тому він попав в автомобільну катастрофу і після хірургічної обробки ран йому ввели типравцеву антитоксичну сироватку.

Після того в нього не було ніяких травм. На основі яких основних клінічних симптомів лікар міг поставити діагноз "правець"?
A. Гнійні виділення з рани
B. Тризм мімічної мускулатури,’’сардонічна посмішка’’
C. Парез правої нижньої кінцівки
D. Висока температура, марення
E. Двоїння в очах, охриплість голосу

3. Механізатор В. отримав травму. Він не був вакцинований проти правця. Які дії лікаря повинні бути для попередження розвитку в даного хворого правця ?
A. Ввести АКДП
B. Ввести антиправцеву сироватку
C. Ввести тетанотоксин
D. Ввести правцевий анатоксин
E. Ввести правцевий анатоксин і антиправцеву сироватку

4. У хворого Д. із виділень рани був зроблений мазок, у якому було виявлено багато грампозитивних великих паличок, деякі з них нагадували "барабанні палички". Тиждень тому він поранив ногу іржавим цвяхом, до лікаря не звертався. Які на Вашу думку необхідно провести дослідження для встановлення діагнозу ?
A. Серологічні
B. РІФ
C. Бактеріологічні
D. Біологічні
E. Алергічні проби

5. Білій мишці в задню праву лапку ввели виділення із рани хворого Д., якому попередньо поставили діагноз "правець". Які характерні симптоми повинні розвинутись у білої мишки в разі наявності у виділеннях збудника правця ?
A. Ригідність хвоста, парез правої задньої лапки
B. Судоми правої передньої лапки
C. Парез задньої лівої лапки

D. Поза ’’тюленя’’
E. Опістотонус

6. Після стерилізації шовний матеріал посіяли на контроль стерильності. На які поживні середовища необхідно посіяти для виявлення спор правця?
A. Кров’яний агар
B. Жовтково-сольовий агар
C. Середовище Плоскирева
D. Середовище Кітт-Тароцці
E. М’ясо-пептонний бульйон

ЗБУДНИК БОТУЛІЗМУ

Захворювання було описано М.Клейненгоре (Німеччина) в 1792 р. В результаті вживання кров’яної ковбаси тоді захворіло 13 чоловік. Після цього в 1802 р. було заборонено вживати кров’яну ковбасу (лат. botulus – ковбаса).

У 1818 р. Зенгбуш в Росії вперше описав клініко-епідеміологічну картину ботулізму. В 1804 р. німецький хімік Лібіх висловив гіпотезу про ковбасну отруту, яка є особливим ферментом. В 70-80-х роках була запропонована птоамінова теорія, завдяки якій ботулізм став результатом отруєння птоамінами, що утворюються шляхом розкладання різних харчових продуктів при певних температурних умовах. В Америці ботулізм був пов’язаний із споживанням овочевих консервів, у Росії – червоної риби та грибів домашнього консервування. В 1896 р. збудник ботулізму був відкритий у Голландії ван Ерменгемом із шинки і органів людей, які загинули при отруєнні. Відкриття було підтверджене С.В.Констансовим, який виділив C.botulinum з червоної риби.

МОРФОЛОГІЯ

Великі поліморфні паличкі з заокругленими кінцями. Інколи з’єднується по дві, утворюють короткі нитки, розташовуються безладно, слабо рухливі перитрихи. В старих культурах можуть утворювати довгі нитки. Великі овальні спори розташовуються субтермінально. Вегетативна частина клітини має вигляд тенісної ракетки. Спори в культурах з’являються через 24-48 год культивування. Капсул не утворють. Забарвлюються аніліновими барвниками, грампозитивні. Старі культури (4-5 діб) фарбуються грамвід’ємно. При несприятливих умовах утворюють ендоспори, які розташовані термінально і субтермінально.

КУЛЬТИВУВАННЯ C.botulinum

Ріст проходить строго в анаеробних умовах, оптимальна температура 37^{o}C. Культивується на звичайних середовищах (pH 7,3-7,6). Не розмножуються в продуктах із кислою реакцією і при концентрації хлориду натрію вище 10%.

на МПА	колонії спочатку дрібні, прозорі, а через 48 год стають великими сірими
у м'ясній або мозковій кашці	культури мають гострий запах згірклого масла (не постійно), кашка при цьому темніє
на агарі печінковому	утворюють поліморфні колонії-зірки
на Цейслера	утворюють неправильної лінзоподібної форми, дрібні, сірі або жовті, мутні колонії з гладкою або шорсткуватою поверхнею з відростками або тонкими ниткоподібними відгалуженнями з зоною гемолізу
в агаровому стовпчику	розвиваються у вигляді клубків вати (S-форма) або більш компактних дрібних утворень у вигляді сочевиці (R-форма).
на Кітта-Тароцці	великий ріст, помутніння середовища і виділення газу, рідина просвітлюється і утворюється компактний осад

ФЕРМЕНТАТИВНІ ВЛАСТИВОСТІ

Всі типи Clostridium botulinum утворюють сірководень. Бактерії типів A, B, E і F ферментують глюкозу, левульозу, фруктозу, сахарозу і мальтозу до кислоти і газу; типів C і D – глюкозу і мальтозу; тип G інертний до вуглеводів.

Розкладають гліцерин, пептонизують молоко з утворенням газу. На желатині утворюють круглі прозорі сірі колонії, оточені невеликими зонами розрідження; надалі колонії стають каламутними, бурими, з'являються відростки у вигляді шипів. Клостридії ботулізму (серовари A і B) мають лецитиназну властивість, розщеплюють у рідкому середовищі шматочки тканин, перетворюючи їх на пісок; яєчний білок, розріджують желатину, утворюють сірководень, аміак, леткі аміни, кетони, алкоголі, оцтову, масляну і молочну кислоти. В сероварів C і D протеолітичні властивості виражені значно менше, а у E і F – відсутні.

За біохімічними властивостями виділяють чотири групи Clostridium botulinum:

I група – бактерії з вираженими протеолітичними властивостями, гідролізують желатину і ескулін, ферментують глюкозу і мальтозу, проявляють ліпазну активність на яєчному агарі;

II група – бактерії мають цукролітичну активність, але не мають протеолітичної;

III група – бактерії проявляють ліпазну активність і гідролізують желатину;

IV група – бактерії гідролізують желатину, але, на відміну від інших збудників ботулізму, не проявляють цукролітичних властивостей і ліпазної активності. Що стало основою для виділення їх в окремий вид – Clostridium argentiense.

Диференціальні ознаки протеолітичних і непротеолітичних штамів C. botulinum

Тест	Протеолітичні штами A, B, C, D, F	Непротеолітичні штами B, C, D, E, F	Серовар G
Гідроліз казеїну	+	-	+
Утворення H_2S	+	-	+
Гідроліз желатини	+	+ (-)	+
Гемоліз еритроцитів	+	+	-
Вироблення токсину	+	+	+
Гідроліз сечовини	-	-	-

ТОКСИНОУТВОРЕННЯ C. botulinum

екзотоксин: екзоботулотоксин	Термолабільний, складаються з молекули нейротоксину, асоційованої з молекулою нетоксичного білка, який не має гемаглютинуючих властивостей
12S-токсин	складаються з молекули нейротоксину, асоційованої з молекулою нетоксичного білка, який не має гемаглютинуючих властивостей
16S- токсин (L-токсини)	структури, які складаються з М-комплексу і нетоксигенного білка, який відрізняється від білка М-комплексу і має гемаглютинуючі властивості
19S-токсин (LL-токсини)	більш великі структури, які включають нейротоксин і нетоксичний білок із властивостями гемаглютиніни

Один міліграм нейротоксину містить до 100 млн смертельних доз для білої миші. У людини смерть настає після прийому не більше 0, 001 мг нейротоксину.

Клостридії ботулізму типу А виробляють токсичні комплекси трьох варіантів: M, L і LL, типів B, C і D – у вигляді L- і M-токсинів, а типів E і F – лише у вигляді M-токсинів. Роль нетоксичних білків у складі токсичних комплексів полягає в тому, що вони стабілізують токсин і захищають його від руйнівної дії протеолітичних ферментів і соляної кислоти при пероральному зараженні. Залежно від типу збудника, який ідентифікують за антигенною структурою токсину, M_r може бути від 60 до 150 кД. Він представлений Zn^{2+}-залежними ендопептидами, при протеолізі розкладається на два зв'язаних дисульфідним зв'язком фрагменти (L- і H-ланцюги). Механізм біологічної активності проходить через зв'язування H-ланцюга з мембраною, проникнення токсину в клітину, формування пор у міхурцях (кожну пору формує чотири молекули токсину), що приводить до блокування злиття синаптичних міхурців із мембраною. Токсини всіх типів мають гемолізуючу дію. Отрутна дія наступає після інкубаційного періоду через декілька годин. Всі типи Clostridium botulinum утворюють желатиназу, лецитиназу.

АНТИГЕННА СТРУКТУРА C. botulinum

O-антиген	соматичний типоспецифічний спільний для всіх сероварів
H-антиген	групоспецифічний; встановлено вісім сероварів збудника ботулізму: A, B, C ($C_{1(\alpha)}^{+}$, $C_{2(\beta)}^{+}$), D, E, F, G.

Токсини C, D і E закодовані в помірних фагах, решта – в хромосомі. У нашій країні зустрічаються серовари A, B, E. Кожен серовар характеризується специфічною імуногенністю, нейтралізується лише відповідною антисироваткою. Серовари C, D, F рідко спричинюють захворювання людини. Не проявляють токсигенних властивостей. Оптимальна температура для токсиноутворення для бактерій типів A, B, C і D 35°C, для бактерій типів E і F 28-30°C.

РЕЗИСТЕНТНІСТЬ

Спори стійкі до фізичних і хімічних факторів навколишнього середовища, витримують кип'ятіння до 6 год. У 5% розчині фенолу спори зберігаються близько доби, у культурах – до року; 20% розчин формаліну вбиває їх через 24 год; етиловий спирт – через 2 місяці; 10% HCl вбиває лише через 1 год.

При температурі 115°C гинуть за 5-40 хв, при 120°C – за 20- 30 хв. У великих шматках м'яса, у великій масі харчових продуктів можуть залишатися життєздатними і після стерилізації парою; при температурі 120°C гинуть через 15 хв. Пригнічує проростання спор кисле (pH 4,5) середовище (відповідає 2% розчину оцту в маринадах) і 10% концентрація хлориду натрію (при солінні риби).

Ботулінічний екзотоксин руйнується при кип'ятінні впродовж 10-15 хв, при 58°C руйнується через 3 год, при 80°C – через 30 хв, стійкий до дії сонячного проміння, високих концентрацій натрію хлориду, до заморожування (-253°C); упродовж 6-8 місяців зберігається у воді, в консервах. Найбільш стійкі

токсини типу С, менш стійкі токсини типів D і E, а токсини типів А і В займають проміжне місце. Усі серовари ботулінічного токсину у воді знешкоджуються під дією хлору, йоду і калію перманганату, особливо ефективне перехлорування води.

ПАТОГЕНЕЗ БОТУЛІЗМУ

Ботулізм – гостра харчова токсикоінфекція, яка розвивається в результаті вживання продуктів, які містять токсини збудника і самі мікробні клітини, перебігає з ураженням центральної і вегетативної нервової системи; характеризується парезами і паралічами гладкої мускулатури, парезами кишківника, розладами зору, ковтання, сечовиділення.

ДЖЕРЕЛО ІНФЕКЦІЇ

Єдиний резервуар інфекції – грунт і тварини

Джерелом отруєння є серовари А і В

МЕХАНІЗМ ПЕРЕДАЧІ ІНФЕКЦІЇ

Фекально-оральний - через харчові продукти: ковбаса, риба, м’ясо, овочі, консерви домашнього виготовлення (овочеві, з грибів, риби, м’яса)

ШЛЯХ ПЕРЕДАЧІ ІНФЕКЦІЇ аліментарний

Для людини патогенними є бактерії типів А, В, Е і F, а C.botulinum типів С і D викликають захворювання тварин і птахів. Дуже рідко від хворих тварин виділяють бактерії типів А і В. Інкубаційний період від 2 до 24 год (інколи до 10 діб). Токсини адсорбуються на клітинах слизової оболонки кишківника.

КЛІНІЧНІ ПРОЯВИ

Клінічно це проявляється в розладах зору, травного каналу і нервово-паралітичних явищах: порушення акомодації, розширення зіниць, в очах з’являється сітка, косить, двоїться, опускаються повіки, інколи наступає сліпота, парез мускулатури язика (афонія), важко ковтати, сухість у роті, відбувається ураження опорно-рухового нерва, блювота, біль у животі, біль голови, температура тіла знижена, глухота, втрачається голос, загальмована мова, м’язова слабкість, свідомість не втрачена. Циркуляція токсину в крові приводить до зменшення надходження крові до правого передсердя. Смерть наступає від паралічу серця і дихання. Летальність становить 50-60%.

Відбувається зв’язування Н-ланцюга з мембраною, поглинання токсину і формування пор у синаптичних міхурцях (кожну пору формують чотири молекули токсину), що приводить до блокування злиття синаптичних міхурців із мембраною. Мішень для дії – інтегральні синаптичні білки: токсини серотипів В, D і F розщеплюють синаптобревін, А і Е – SNAP-25, С – синтаксин, D і F – целюбревін. Друга субодиниця проникає в нервову клітину шляхом ендоцитозу. Механізм дії отрути полягає в інгібуванні Са-залежного вивільнення ацетилхоліну, блокаді функціональної активності нейрона.

Відбувається вибіркове ураження α-моторних нейронів передніх рогів спинного мозку, що обумовлює характерні паралічі м'язів.

Отрута всмоктується крізь слизову оболонку травного каналу в кров і уражує центри довгастого мозку та гангліозні клітини спинного мозку. Клінічно це проявляється в розладах зору, травного каналу і нервово-паралітичних явищах: порушення акомодації, розширення зіниць, в очах з'являється сітка, косить, двоїться, опускаються повіки, інколи наступає сліпота, парез мускулатури язика (афонія), важко ковтати, сухість у роті, відбувається ураження опорно-рухового нерва, блювота, біль у животі, біль голови, температура тіла знижена, глухота, втрачається голос, загальмована мова, м'язова слабкість, свідомість не втрачена. Циркуляція токсину в крові приводить до зменшення надходження крові до правого передсердя. Смерть наступає від паралічу серця і дихання. Летальність становить 50-60%.

Раніше ботулізм вважали харчовим отруєнням від екзотоксину, але тепер існує думка, що при ботулізмі в організм людини проникають живі мікроби ботулізму. Тому патологічний стан розглядають як класичну харчову токсикоінфекцію – ботулізм.

Описано випадки ботулізму, що виникає в результаті проникнення спор у ранову поверхню – рановий ботулізм, де вони перетворюються у вегетативні форми, розмножуються і продукують екзотоксин. Тепер доведено, що клостридії виявляються в різних внутрішніх органах людей, які загинули від ботулізму.

Для ботулізму новонароджених (у дітей від 3-20 діб та до 6 місяців) характерна генералізована гіпотонія і аміотрофія, розвивається при заковтуванні спор, з розвитком вегетативних форм. Затверджена як самостійна нозологічна форма в 1976 р. Захворювання перебігає легко і не діагностується. Клінічна ознака – закреп (твердий стілець), в'ялість, затруднене ковтання і смоктання, змінений плач, м'язова слабкість. Допускають, що ботулінічна інтоксикація є причиною деяких випадків раптової смерті новонароджених ("смерть у колисці"). При ботулізмі новонароджених розвивається інфекційний процес: токсин утворюється при вегетації спор, які потрапили в товстий кишківник. Це може бути зв'язано з особливостями кишкової мікрофлори у дітей, яка не чинить опору клостридіям ботулізму. В США кожного року реєструють близько 70 випадків. Не визначено класифікацію ботулізму у дітей, старших одного року, і дорослих, не зв'язаного з вказаними факторами ризику (їжа, рана).

ІМУНІТЕТ

У людини висока чутливість до екзотоксину ботулізму. Перенесене захворювання не залишає стійкого антитоксичного імунітету. У пацієнтів в сироватці визначають антитіла до токсину і мікробних клітин, що свідчить про комплексний характер імунної відповіді, яка спрямована на зв'язування

токсину й елімінацію збудника. Тому ботулізм розглядають не лише як інтоксикацію, але і як токсикоінфекцію.

МЕТОДИ МІКРОБІОЛОГІЧНОЇ ДІАГНОСТИКИ БОТУЛІЗМУ

Аналіз ведеться у двох напрямках: отримання культури мікробів і виявлення токсину.

Матеріал на дослідження	**Основні методи дослідження**	**Середовища**
блювотні маси	*біологічна проба* за допомогою реакції нейтралізації (РН), *бактеріологічне дослідження, експрес-методів лабораторної діагностики* - РПГА з еритроцитами, навантаженими моновалентними антитоксичними протиботулінічними сироватками типів А, В, С, Е. ІФА та реакцію зворотної непрямої гемаглютинації	Кітта-Тароцці, у стовпчик глюкозного агару
промивні води		
шлунку (100-200 см^3)		
сеча		
випорожнення (50-60 г)		
кров (10-12 см^3)		
виділення рани		
трупний матеріал		
підозрілі харчові продукти (200-300 г)		

ЛАБОРАТОРНА ДІАГНОСТИКА. *Біологічна проба*. Визначення ботулотоксину і його серовару за допомогою реакції нейтралізації (РН).

Підготовка матеріалу. Вміст шлунка, зразки трупного матеріалу емульгують у ступці з рівною кількістю фізрозчину, випорожнення розтирають з подвійною кількістю фізрозчину і залишають при кімнатній температурі на 2 год; фільтрують через ватно-марлевий фільтр або центрифугують при 3000 об/хв протягом 15-20 хв. В крові визначають токсин, у випорожненнях – збудник, у решті матеріалу – токсин і збудник ботулізму.

Банки з консервами витримують у термостаті 10-12 діб, стерильно відбирають 50-100 г, розтирають і центрифугують; в надосадовій рідині визначають токсин, в осаді – збудник. М’ясо і рибу обробляють спиртом і забирають із внутрішніх частин (біля хребта і внутрішніх органів). Дві третіх об’єму розтертої проби застосовують для виявлення токсинів, одну третю – для виділення мікроорганізму.

Методика реакції. Попередньо реакцію ставлять із сумішшю антиботулінічних діагностичних сироваток типу А, В, С, Е. Якщо є сироватки D і F, їх також беруть у дослід.

Надосадову рідину, фільтрат або центрифугат у дозі 0,5-1 см^3 вводять двом білим мишам підшкірно або внутрішньочеревно (кров) у дозі 0,5-1 см^3.

Другій парі вводять 0,8-1 $см^3$ матеріалу і 0,2 $см^3$ суміші діагностичних моновалентних антиботулінічних сироваток типу А, В, С, Е. Перед введенням суміш витримують при кімнатній температурі 30 хв. Контрольним тваринкам вводять матеріал, але без токсину (прогрітий 30 хв на водяному нагрівачі при 100°С і розведений наполовину фізрозчином). Якщо піддослідні тваринки гинуть (через 3-4 доби), а контрольні виживають, проводять визначення серовару токсину. За тваринками спостерігають до 10 діб.

Фільтрат, центрифугат або кров розливають по 1 $см^3$ в п'ять пробірок; в перші чотири пробірки додають по 1 $см^3$ антиботулінічної сироватки типів А, В, С, Е відповідно, в останню – 1 $см^3$ нормальної сироватки. Пробірки інкубують у термостаті 30 хв, і по 1 $см^3$ суміші з кожної пробірки вводять білим мишам. Кожну пару мишей помічають відповідно номеру пробірки, з якої було взято рідину.

Для досліду беруть 5 серій мишей по 2 миші в кожній. Першій серії мишей вводять по 1 $см^3$ досліджуваного матеріалу, який змішаний з 200 АО антитоксичної протиботулінічної сироватки типу А; другій серії вводять матеріал з антитоксичною сироваткою типу В; третій серії – типу С; четвертій серії – типу Е; п'ята серія – контрольна, яка отримала матеріал без антитоксичної сироватки. Токсини кожного серовару нейтралізуються тільки гомологічними сироватками. Виживуть лише ті миші, які отримали гомологічну сироватку, що відповідає типу виявленого токсину (реакція нейтралізації токсину). Спостерігають за тваринами чотири доби. Якщо загинуть всі миші, тоді РН необхідно повторити, попередньо розбавивши біоматеріал в 5, 10, 20 і навіть 100 разів.

У мишей ботулізм проявляється загальною слабкістю, парезом кінцівок, западанням м'язів живота, появою "осиної талії". У морських свинок спостерігається різке розслаблення мускулатури, виявляється симптом "спини": покладені на спину, вони не можуть перевернутися у своє звичайне положення. При розтині трупів тваринок виявляють гіперемію внутрішніх органів, вогнища пневмонії в легенях, переповнення шлунка, сечового і жовчного міхура. При відповіді обов'язково вказують серовар токсину ботулізму.

Метод визначення токсину ботулізму в питній воді заснований на адсорбції з води токсину тальком із наступним введенням суспензії мишам.

Бактеріологічне дослідження. Перед посівом досліджуваний матеріал попередньо розтирають у фарфоровій ступці.

В чотири флакони з середовищем Кітта-Тароцці висівають 10-12 $см^3$ матеріалу. Два флакони прогрівають: один – для знешкодження неспорової банальної мікрофлори на водяному нагрівачі при 80°С упродовж 20 хв, другий – при 60°С 15 хв (для селекції Cl.botulinum типу Е). Посіви витримують у термостаті при 35°С протягом 48 год для культивування клостридій типу А, В, С та при 28°С для нагромадження культур клостридій типу Е і F. Для активації

токсину Е з протоксину до поживного середовища додають трипсин до кінцевої концентрації 0,1%.

Через добу-дві в середовищі нагромадження спостерігається помутніння і газоутворення. З бульйонної культури виготовляють мазки за методом Грама для виявлення "тенісної ракетки". Одночасно проводять пересів на цукровий кров'яний агар. Колонії збудника ботулізму виділити важко, оскільки збудник перебуває у тісних асоціаціях з іншими видами аеробних бактерій. Тільки багаторазові пересіви із середовищ Кітта-Тароцці на кров'яний глюкозний агар і навпаки дозволяє виділити колонії збудника: неправильної форми, з гладкою або шорсткою поверхнею, оточені зоною гемолізу. В глибині кров'яного глюкозного агару колонії мають вигляд пушинок або сочевиць.

Для ідентифікації чисту культуру висівають на середовища "строкатого" ряду Гіса, в желатину, сироватку, яйцевий білок. Антигенні властивості вивчають за допомогою реакції аглютинації з типовими сироватками. Одночасно з вивченням ферментативних властивостей виявляють токсин ботулізму у фільтраті бульйонної культури і визначають його серовар.

До *експрес-методів лабораторної діагностики* належить виявлення ботулотоксину в сироватці крові хворого: ставлять РПГА з еритроцитами, навантаженими моновалентними антитоксичними протиботулінічними сироватками типів А, В, С, Е. Як контроль беруть нормальну сироватку крові. Визначають фагоцитарний показник: токсин ботулізму пригнічує фагоцитарну активність лейкоцитів, а специфічні сироватки нейтралізують токсин. Застосовують також ІФА та реакцію зворотної непрямої гемаглютинації.

Виявлення ботулотоксину в харчових продуктах і визначення токсигенності Cl. botulinum проводять у реакції нейтралізації токсину на білих мишах. Це має велике значення для вчасної специфічної терапії. Важливу роль у діагностиці ботулізму відіграють епідеміологічні дані і клінічні прояви (паралітичний синдром).

ПРОФІЛАКТИКА

Для запобігання ботулізму необхідно дотримуватися технології обробки продуктів на підприємствах харчової промисловості, особливо виготовлення консервів із м'яса, риби, овочів, а також копчення і соління риби, виготовлення ковбасних виробів. Не використовувати консерви зі здутими бляшанками, зберігати у холодному місці. Рибу необхідно солити в міцному сольовому розчині – 10%.

Для вакцинопрофілактики ботулізму застосовують ботулінічний поліанатоксин, який входить до складу комплексної вакцини для профілактики анаеробних інфекцій.

Для створення антитоксичного імунітету проти ботулізму отримані анатоксини, але вони широко не використовуються.

ЛІКУВАННЯ

Хворим на ботулізм промивають шлунок розчином калію перманганату. Внутрішньом'язово (внутрішньовенно або в спинномозковий канал) дробно вводять полівалентну кінську сироватку чотирьох сероварів збудника (типів А, В, С, Е), а також після встановлення серовару вводять одну міжнародну лікувальну дозу моновалентні сироватки А, С і Е (по 10 000 МО) і серовару В (5 000 МО); якщо стан хворого не поліпшився, повторні ін'єкції сироватки через 5-10 год у тих самих дозах.

Усім іншим особам, які вживали їжу, що стала причиною захворювання хоча б однієї людини, призначають сироватку з профілактичною метою – по 1 000 або 2 000 МО кожного серовару. Для вироблення активного імунітету поряд із сироваткою вводять ботулінічний анатоксин по 0,5 $см^3$ кожного серовару 3-разово з інтервалом у 3-5 діб.

Призначають пеніцилін, препарати тетрацикліну, які змінюють дифузні і дисперсні властивості екзотоксинів.

Для патогенетичного лікування застосовують дезінтоксикаційні засоби, препарати кристалоїдів (трисоль, дисоль) і колоїдів (гемодез та ін.), оксигенотерапію та штучну вентиляцію легень.

НЕКЛОСТРИДІАЛЬНІ АНАЕРОБИ

Часто гнійно-запальні захворювання в людини викликають анаероби родів Bacteroides (B.fragilis), Prevotella (P.melaninogenica), Porphyromonas (P.asaccharolyticus, P.niger) і Peptostreptococcus (P.anaerobius).

Бактероїди об'єднуються в рід Bacteroides родину Bacteroidaceae, яка нараховує 13 родів і більше 40 видів, більшість представників яких виділяється з організму людини. Деякі з них здатні викликати патологічні процеси – більшість видів Bacteroides (особливо B.fragilis і B.thetaiotaomicron), Porphyromonas, Prevotella і Fusobacterium.

Класифікація бактероїдів заснована на відмінностях коротколанцюгових жирних кислот (оцтова, сукцинова, n-бутирова, молочна), які утворюються з білків і вуглеводів, властивості утворювати пігмент і структурних особливостях пептидоглікану. Рід Bacteroides прийнято ділити на три основні групи: fragilis, melaninogenicus-oralis, asaccharalytica. Недавно рід Bacteroides запропоновано роз'єднати на три самостійних родових таксони: Bacteroides (власне бактероїди), Porphyromonas, Prevotella.

Бактероїди людини:

Група fragilis

Bacteroides fragilis***	B.thetaiotaomicron*
B.vulgatus	B.eggerthii

B.distasonis	B.uniformis
B.merdae	B.stercoris
B.caccae	B.splanchnicua
B.ovatus	

Група melaninogenicus-oralis

B.melaninogenicus	B.oris*
B.loescheii	B.duccae
B.denticola	B.zoogleoformans
B.intermedius**	B.buccalis
B.corporis	B.veroralis
B.levii	B.heparinolyticus
B.macacae	B.oulorum
B.oralis	B.bivius*
	B.disiens*

Група asaccharalytica

B.asaccharalyticus**	B.putredinis
B.gingivalis**	B.praeacutus
B.endodontalis*	B.pneumosintes
B.urealyticus*	B.coagulans
B.gracilis*	B.nodosus

<u>Примітка:</u> * ступінь патогенності для людини.

МОРФОЛОГІЯ

Бактероїди – це поліморфні, неоднакові за розміром палички, часто розташовуються по одному, парами або короткими ланцюжками, грамнегативні. B.fragilis і B.melaninogenicus не мають джгутиків, не утворюють спор; серед інших видів є рухомі бактероїди з перитрихіально розташованими джгутиками. Деякі штами B.fragilis мають капсульний полісахаридний шар, можуть виділяти супероксид дисмутазу, яка захищає їх від поза- і внутрішньоклітинних мікробоцидних факторів фагоцитозу. Як і всі грамнегативні бактерії, бактероїди мають зовнішню мембрану. B.fragilis містять вакуолі і нерідко нерівномірно забарвлюються за Грамом.

КУЛЬТИВУВАННЯ

Бактероїди – хемоорганотрофи, облігатні анаероби, ростуть лише при pH поживного середовища 7,0. Багато видів на окислених середовищах не ростуть. Для створення умов росту в середовище вносять відновлюючі

речовини (глюкозу, цистеїн. Бактероїди краще ростуть на поживних середовищах, що містять кров. Ріст деяких видів бактероїдів, як, наприклад, B.fragilis, стимулюється 20% жовчю. Стійкість бактероїдів до жовчі використовують для диференціації їх від інших мікроорганізмів, які в середовищах із жовчю не ростуть. Культивуються бактероїди в пептонному бульйоні з додаванням дріжджового екстракту і глюкози для визначення кислих продуктів бродіння (летючі і нелетючі органічні кислоти – пропіонова, оцтова, бутилова, янтарна, молочна та ін.). Для розмноження, окрім безкисневих умов, необхідна присутність 10% CO_2 і віт К. Посіви інкубують при 37^o С pH 7,6-7,8 не менше п'яти-семи діб у випадку, коли раніше ріст не спостерігається.

на КА	**B. fragilis** утворює невеликі випуклі блискучі 1-4 мм в діаметрі непігментовані, сіро-білі, прозорі або мутні S-колонії без гемолізу, **B. melaninogenicus** утворює невеликі гладенькі або шорсткуваті 0,5-2 мм пігментовані колонії чорного або темно-коричневого кольору, які флюоресціюють під дією ультрафіолетового випромінювання. Культура неприємного гнильного запаху. Пігмент у центрі колонії – це комплекс гематина з бактеріальним протеїном. Окремі штами мають гемолітичну активність **B.ovatus** утворює слизові колонії. **B.thetaiotaomicron** - колонії білого кольору **B.urealyticus і B.gracilis** утворюють дрібні напівпрозорі колонії, у деяких із них колонії мають сплюснуті поверхні, викликають зелене забарвлення і корозію середовища. Для росту вимагають фумаратів і форміатів. **B. asaccharalyticus** спостерігаються зелено-чорні колонії

на щільних середовищах з жовчю	Колонії бактерій групи **Bacteroides fragilis** оточені осадом жовчних солей
на ЦБ	дають помутніння й осад

Всі види бактероїдів умовно можна розділити на три групи (за Prevot, 1966):

перша – нерухомі, інколи утворюють капсули (Bacteroides fragilis, Bacteroides melaninogenicus та інші види);

друга – нерухомі, які утворюють капсулу, ростуть на середовищах з нативною сироваткою або асцитичною рідиною;

третя – рухомі, не утворюють капсул, утворюють газ або не утворюють газу при ферментації.

ФЕРМЕНТАТИВНІ ВЛАСТИВОСТІ

Бактероїди ферментують багато вуглеводів (за винятком Bacteroides asaccharalyticus). Визначення кінцевих продуктів бродіння при рості на бульйоні з пептону, дріжджовим екстрактом і глюкозою є одним із диференціальних ознак при ідентифікації виділених культур. Продукти метаболізму включають сукцинат, ацетат, лактат, пропіонат, що використовується в газорідинній хроматографії при виявленні даних мікроорганізмів у патологічному матеріалі.

Види бактероїдів, які не зброджують вуглеводів, зброджують пептон з утворенням різних кислот, що також характерно для кожного виду.

B.fragilis ферментує глюкозу, мальтозу, лактозу, не ферментує маніт, каталазододатний. Bacteroides fragilis желатини не розріджує, індолу і сірководню не утворює. B.urealyticus уреазододатна, B.gracilis – уреазовід'ємна. B.melaninogenicus слабо ферментує глюкозу, лактозу, галактозу, крохмаль, не ферментує маніт. B.melaninogenicus диференціюють з іншими видами бактерій за відновленням нітратів у нітрити, утворенням індолу, розрідженням желатини та ферментацією вуглеводів. B. fragilis виробляє каталазу, супероксиддисмутазу.

АНТИГЕННА СТРУКТУРА

Щодо антигенної структури бактероїди неоднорідні: Bacteroides fragilis налічує 21 серовар, а B.melaninogenicus – 4 сероваріанти.

ТОКСИНОУТВОРЕННЯ

Всі бактероїди містять ендотоксин. Потенційними факторами вірулентності бактероїдів є ліпополісахарид клітинної стінки і білки зовнішньої мембрани. Ліпополісахарид (ЛПС) клітинної стінки вивчений у B.fragilis. За хімічним складом він відрізняється від ЛПС інших грамнегативних бактерій відсутністю КДО і гептоз у полісахаридній частині та мірістинової кислоти в ліпідній частині. ЛПС B.fragilis не має властивостей ендотоксину. Токсин B.fragilis – **фрагілізин** належить до цинквмісних металопротеїназ (мецинцинів). Він порушує структурно-функціональні контакти між епітеліоцитами кишківника, так званий "парацелюлярний бар'єр", викликаючи їх ексфоліацію і гіперсекрецію рідини.

Одним із факторів вірулентності B.fragilis, є здатність утворювати капсулу. В експерименті на лабораторних тваринках (щурі Вістар) встановлено, що велике значення у виникненні абсцесів, які викликають B.fragilis, має наявність капсульного шару клітини.

B.fragilis утворюють нейрамінідазу більш інтенсивного рівня, ніж інші види бактероїдів, фібрінолізин, дезоксирибонуклеазу, гіалуронідазу.

ПАТОГЕНЕЗ БАКТЕРОЇДНИХ ІНФЕКЦІЙ

Бактероїди виявляються в ротовій порожнині, а також у нижніх відділах кишкового тракту здорових людей. Викликають гнійно-запальні процеси, як моноінфекції, так і змішані інфекції (як з неспороутворюючими анаеробними бактеріями, запальні процеси ротової порожнини, дихальних шляхів, сечостатевої системи, а також апендицит, перитоніт, ендокардит, ректальні абсцеси, сепсис, ранову інфекцію. В клінічному матеріалі найчастіше виявляється B.fragilis, підвид fragilis.

B.melaninogenicus має три підвиди – melaninogenicus, intermedius, asaccharalyticus. Всі три підвиди виділяються з клінічного матеріалу.

ІМУНІТЕТ

При септицемії, запальних процесах жіночих статевих органів і при рановій інфекції, викликаній B.fragilis, у хворих з'являються антитіла в титрах, які перевищують титри здорових людей. Після перенесеної септицемії титр антитіл зберігається і знижується протягом кількох місяців.

МЕТОДИ МІКРОБІОЛОГІЧНОЇ ДІАГНОСТИКИ ІНФЕКЦІЙ, СПРИЧИНЕНИХ БАКТЕРОЇДАМИ

Принципи одержання і транспортування матеріалу – не допускати контакту матеріалу з повітрям. При великій кількості гною (5-7см^3) його транспортують у стерильній пробірці, закритій гумовим корком, або в шприці. При невеликій кількості матеріалу – забирають шприцом з добре притертим поршнем до повного його заповнення і витіснення повітря, шприц одягають на голку, яка вставлена через гумову пробку у пробірку з сумішшю інертних газів (N_2 + H_2) або стерильним ватним тампоном і засівають у транспортне середовище. У деяких лабораторіях застосовують пробірки і флакони, заповнені безкисневою газовою сумішшю.

Термін транспортування матеріалу не повинен перевищувати однієї години.

Матеріал на дослідження	**Основні методи дослідження**	**Середовища**
кров	*Мікроскопічний* – орієнтовний, бактеріологічний, прискорена біохімічна ідентифікація, імуно-люмінесцентна мікроскопія, газова хроматографія.	поживні середовища, що містять кров; збагачене середовище для контролю стерильності, напіврідке тіогліколеве середовище; комплексні середовища (агар з екстрактом мозку), а також середовища з антибіотиками, жовчю, налідіксовою кислотою,
гній із абсцесів		
шматочки ураженої тканини з глибини рани		
пунктати з вогнищ запалення (абсцесів, флегмон, порожнини суглобів)		

випорожнення	*Серодіагностика* – РА,РНГА, преципітації, преципітації в гелі	анаеробний кров'яний агар з жовчю і канаміцином

Властивість B.fragilis синтезувати супероксид дисмутазу дозволяє бактеріям вижити при нетривалому контакті з повітрям.

Виділену чисту культуру бактероїдів ідентифікують за комплексом біохімічних властивостей (визначення каталази, ліпази, редукції нітратів у нітрити, гідроліз ескуліну; бактероїди мають помірні протеолітичні властивості, не утворюють лецитиназу, не лізують еритроцити, не гідролізують гіпурат, непостійно утворюють індол). Визначають чутливість до хлорамфеніколу (левоміцетину); багато штамів, що не характерно для грамнегативних бактерій, чутливі до пеніциліну (але багато штамів B.fragilis резистентні, оскільки виробляють β-лактамазу), карбеніциліну, метронідазолу.

Ключові ознаки Bacteroides fragilis – здатність рости у присутності 20% вмісту жовчних солей, резистентність до канаміцину (100 мкг), ванкоміцину (5 мкг) і колістину (10 мкг).

Ключові ознаки B.urealyticus, B.gracilis – відсутність росту в присутності 20% вмісту жовчних солей, резистентність до канаміцину (100 мкг), колістину (10 мкг), але чутливість до ванкоміцину (5 мкг).

Імуно-люмінесцента мікроскопія дозволяє отримати попередню відповідь через 1,5-2 год після надходження матеріалу в лабораторію.

Метод газової хроматографії заснований на виявленні летючих жирних кислот (пропіонової, валеріанової, капронової та ін.), які є специфічними продуктами метаболізму анаеробів.

ЛІКУВАННЯ БАКТЕРОЇДНИХ ІНФЕКЦІЙ

Бактероїди резистентні до пеніциліну, кліндаміцину, цефалоспорину першого і другого поколінь (особливо B.distasonis і B.thetaiotaomicron). Препарати вибору – левоміцетин, метронідазол, іміпенем і хлорамфенікол. Велике значення має хірургічна обробка ран з видаленням усіх уражених тканин.

ПАТОГЕНЕЗ ІНФЕКЦІЙ, СПРИЧИНЕНИХ БАКТЕРОЇДАМИ

Бактероїди широко розповсюджені в природі. Бактероїди викликають гнійно-запальні процеси, як моноінфекції, так і змішані інфекції (як з неспороутворюючими анаеробними бактеріями – Bacteroides, Veilonella, Peptococcus, Peptostreptococcus, так і з аеробними бактеріями – Pseudomonas aeruginosa, Proteus vulgaris, E.coli, коками).

Бактероїди виявляються в ротовій порожнині, а також у нижніх відділах кишкового тракту здорових людей (B.fragilis складає 99% всієї мікрофлори

товстого кишківника), у жіночих статевих органах (в піхві – B.bivius і B.disiens). Багато з них при відповідних умовах здатні викликати запальні процеси ротової порожнини, дихальних шляхів, сечостатевої системи, а також апендицит, перитоніт, ендокардит, ректальні абсцеси, сепсис, ранову інфекцію. Факторами, які сприяють розвитку інфекції, є травма, спазми і звуження судин, некроз, супутні інфекції, хірургічні втручання, лейкози, злоякісні новоутворення, діабет, атеросклероз, алкоголізм, застосування антибіотиків, імунодепресантів, кортикостероїдів, рентгенівське і гамма-опромінення. Найчастіше збудником запального процесу є B.fragilis, B.melaninogenicus. Причому B.fragilis, частіше ніж інші грамнегативні неспорові анаеробні бактерії, викликає запальні процеси. Цей вид бактероїдів має декілька підвидів. В клінічному матеріалі найчастіше виявляється B.fragilis, підвид fragilis. B.melaninogenicus має три підвиди – melaninogenicus, intermedius, asaccharalyticus. Всі три підвиди виділяються з клінічного матеріалу.

B.fragilis виділений із вмісту нижніх відділів товстого кишківника. Виявляють також при виразках шкіри, абсцесах, апендициті, перитоніті, інфекційному ендокардиті, циститі. Недавно виникла ще одна проблема. Серед B.fragilis виявлено ентеротоксигенні штами, які викликають діарею в людини, особливо у дітей. Токсин B.fragilis – фрагілізин належить до цинквмісних металопротеїназ (мецинцинів). Він порушує структурно-функціональні контакти між епітеліоцитами кишківника, так званий “парацелюлярний бар’єр”, викликаючи їх ексфоліацію і гіперсекрецію рідини.

B.melaninogenicus виділяють із сечі і випорожнень. Виявляють при інфекціях ротової порожнини, м’яких тканин, дихальних шляхів, сечостатевих органів і кишок. Патогенність цієї палички проявляється в асоціації з іншими видами мікроорганізмів.

Особливостями перебігу захворювань при мікст-інфекції є швидкість розвитку процесу, некротизація тканин, низький окисно-відновний потенціал, порушення кровопостачання, ознаки вираженої інтоксикації, важкість діагностики і лікування. Патогенні властивості різних мікроорганізмів взаємно підсилюються.

ІМУНІТЕТ

При септицемії, запальних процесах жіночих статевих органів і при рановій інфекції, викликаній B.fragilis, у хворих з’являються антитіла в титрах, які перевищують титри здорових людей. Після перенесеної септицемії титр антитіл зберігається і знижується протягом кількох місяців.

МІКРОБІОЛОГІЧНА ДІАГНОСТИКА

Матеріал на дослідження	**Основні методи дослідження**	**Середовища**
кров	*Мікроскопічний* – орієнтовний,	поживні середовища, що містять кров; збагачене
гній із абсцесів		

шматочки ураженої тканини з глибини рани	бактеріологічний, прискорена біохімічна ідентифікація, імуно-люмінесцентна мікроскопія, газова хроматографія. *Серодіагностика* – РА,РНГА, преципітації, преципітації в гелі	середовище для контролю стерильності, напіврідке тіогліколеве середовище; комплексні середовища (агар з екстрактом мозку), а також середовища з антибіотиками, жовчю, налідіксовою кислотою, анаеробний кров'яний агар з жовчю і канаміцином
пунктати з вогнищ запалення (абсцесів, флегмон, порожнини суглобів)		
випорожнення		

Принципи одержання і транспортування матеріалу – не допускати контакту матеріалу з повітрям. При великій кількості гною (5-7см^3) його транспортують у стерильній пробірці, закритій гумовим корком, або в шприці. При невеликій кількості матеріалу – забирають шприцом з добре притертим поршнем до повного його заповнення і витіснення повітря, шприц одягають на голку, яка вставлена через гумову пробку у пробірку з сумішшю інертних газів (N_2 + H_2) або стерильним ватним тампоном і засівають у транспортне середовище. У деяких лабораторіях застосовують пробірки і флакони, заповнені безкисневою газовою сумішшю. Кров у кількості 5-10 см^3 забирають із вени стерильним шприцом і засівають у флакони з середовищем біля ліжка хворого так, щоб відношення крові і поживного середовища було не менше 1:10-1:20. Термін транспортування матеріалу не повинен перевищувати однієї години.

При дослідженні мазків їх транспортують у спеціальних контейнерах без доступу кисню. Властивість B.fragilis синтезувати супероксид дисмутазу дозволяє бактеріям вижити при нетривалому контакті з повітрям. З нативного матеріалу проводять мікроскопію, фарбують за Грамом.

Бактероїди, превотели, порфіромонади і фузобактерії – грамвід'ємні палички; вейлонели – грамвід'ємні коки; лактобактерії, біфідобактерії, арахнії, еубактерії, актиноміцети і пропіонібактерії – грампозитивні плеоморфні палички, а пептококи і пептострептококи – грампозитивні коки, які не відрізняються за морфологією від стафіло- і стрептококів.

Первинний посів проводять на свіжовиготовлені поживні середовища, що містять кров; збагачене середовище для контролю стерильності (СКС), напіврідке тіогліколеве середовище (містить дріжджовий екстракт, триптон, цистеїн, хлорид натрію, тіогліколеву кислоту, метиленовий синій і 0,75% агар); комплексні середовища (агар з екстрактом мозку), а також середовища з антибіотиками, жовчю, налідіксовою кислотою. Для B.fragilis вносити в поживне середовище гемін і вітамін К не є обов'язково, хоча вони прискорюють ріст (анаеробний кров'яний агар з жовчю і канаміцином). Посіви

вирощують в анаеробних умовах з вмістом 10% CO_2 в атмосфері в анаеростатах при 37°С 48-72 години.

При посіві крові (при сепсисі) та зі спинномозкової рідини (при менінгіті) бактероїди виростають у чистій культурі; при посіві гною, мокротиння відмічається ріст бактероїдів в асоціації з іншими бактеріями. Облігатні анаероби ростуть у глибині СКС, але не ростуть на секторах кров'яного агару в аеробних умовах. З колоній готують мазки і фарбують за Грамом. Для виділення чистої культури анаеробів проводять посів ізольованих колоній на чашки з кров'яним агаром і культивують в анаеростаті три-чотири доби.

Виділену чисту культуру бактероїдів ідентифікують за комплексом біохімічних властивостей (визначення каталази, ліпази, редукції нітратів у нітрити, гідроліз ескуліну; бактероїди мають помірні протеолітичні властивості, не утворюють лецитиназу, не лізують еритроцити, не гідролізують гіпурат, непостійно утворюють індол). Визначають чутливість до хлорамфеніколу (левоміцетину); багато штамів, що не характерно для грамнегативних бактерій, чутливі до пеніциліну (але багато штамів B.fragilis резистентні, оскільки виробляють β-лактамазу), карбеніциліну, метронідазолу.

Ключові ознаки Bacteroides fragilis – здатність рости у присутності 20% вмісту жовчних солей, резистентність до канаміцину (100 мкг), ванкоміцину (5 мкг) і колістину (10 мкг).

Ключові ознаки B.urealyticus, B.gracilis – відсутність росту в присутності 20% вмісту жовчних солей, резистентність до канаміцину (100 мкг), колістину (10 мкг), але чутливість до ванкоміцину (5 мкг).

Для прискореної біохімічної ідентифікації використовують метод мікрокультур у полістиролових планшетах з рідкими диференціально-діагностичними середовищами. Принцип методу полягає в посіві великих концентрацій чистої культури анаеробів у заглибинки планшету, що містять субстрати в об'ємі 0,1 $см^3$. Через п'ять-шість годин отримуємо результат.

Методи прискореної і експрес-діагностики інфекцій, викликаних неспороутворюючими анаеробами, включають мікроскопію мазків із нативного матеріалу і дослідження в УФ-променях, імуно-люмінесцентну мікроскопію, газову хроматографію. При мікроскопії мазків із патматеріалу бактероїди мають вигляд коротких поліморфних грамвід'ємних паличок з біполярно забарвленими кінцями.

Для фузобактерій характерний поліморфізм – довгі і тонкі грамвід'ємні палички, однак клітини одного виду можуть бути коками, паличками або ниткоподібними формами з бульбоподібними потовщеннями. При виявленні в мазку F.nucleatum спостерігаються тонкі гострі веретеноподібні палички ("стрілка компаса"), які часто розташовуються скупченнями у вигляді сітки. Порівнюють результати з бактеріологічним методом.

Деякі мікроорганізми при опроміненні їх ультрафіолетовими променями дають характерну аутофлюоресценцію. Дослідження проводять у темній кімнаті. При виявленні Prevotella melaninogenica і Porphyromonas asaccharolytica нативний матеріал і колонії на кров'яному агарі світяться червоним кольором, а Fusobacterium nucleatum дають зелену флюоресценцію.

Імуно-люмінесцента мікроскопія дозволяє отримати попередню відповідь через 1,5-2 год після надходження матеріалу в лабораторію.

Метод газової хроматографії заснований на виявленні летючих жирних кислот (пропіонової, валеріанової, капронової та ін.), які є специфічними продуктами метаболізму анаеробів. За допомогою цього методу встановлюється наявність неспроутворюючих анаеробів у нативному матеріалі.

При роботі в польових умовах застосовують пробірковий метод індикації облігатних анаеробів: посів досліджуваного матеріалу в пробірки з селективними поживними середовищами, які виготовлені на основі збагаченого поживного середовища для контролю стерильності (ЗСКС): ЗСКС з гентаміцином, ЗСКС з канаміцином і жовчю, ЗСКС з гентаміцином і метронідазолом. Культивують 24-48 год у термостаті при 37^{o}С. Враховують ріст у верхньому, нижньому шарі або по всьому стовпчику. При рості готують із колоній мазки і висівають на чашку з кров'яним агаром, яку культивують в аеробних умовах 18-24 год (ріст відсутній). Роблять висновок про наявність облігатних анаеробів. Ріст у нижній частині пробірки з жовчю і канаміцином свідчить про виявлення анаеробів групи Bacteroides fragilis.

Застосовують сучасні діагностичні системи для виявлення та ідентифікації бактероїдів. Вивчають генетичні маркери інфекції на основі полімеразної ланцюгової реакції.

Серодіагностика – виконання реакції аглютинації, РНГА, преципітації, преципітації в гелі. Антитіла з'являються в титрах, які перевищують титри здорових людей.

ЛІКУВАННЯ

Бактероїди резистентні до пеніциліну, кліндаміцину, цефалоспорину першого і другого поколінь (особливо B.distasonis і B.thetaiotaomicron). Препарати вибору – левоміцетин, метронідазол, іміпенем і хлорамфенікол. Велике значення має хірургічна обробка ран з видаленням усіх уражених тканин.

Питання для самоконтролю

1. Хворого Т. доставлено в інфекційне відділення з діагнозом "ботулізм"? На основі яких клінічних симптомів поставлено цей діагноз ?
A. Пожовтіння склер очей
B. Охриплість голосу, двоїння в очах
C. Головна біль, висока температура

D. Діарея з наявністю крові і слизу в випорожненнях
E. Різкі болі в правій здухвинній області живота

2. Чоловік 56 років доставлений до лікарні із порушеннями координації очних м‘язів, ускладненнями ковтання, розладом мовлення. Ці симптоми з‘явилися через 24 години після вживання хворим овочевих консервів домашнього виготовлення. Який препарат треба терміново ввести хворому?
A. Полівалентна протиботулінічна сироватка
B. Ботулінічний анатоксин типів A,B,E
C. Специфічна сироватка для реакції нейтралізації
D. Антигістамінні препарати
E. Нормальний імуноглобулін людини

3. Які з наступних бактерій можуть викликати харчове отруєння інфекційного типу ?
A. Salmonella enteritidis
B. Staphylococcus aureus
C. Clostridium botulinum
D. Clostridium perfringens
E. Всі перераховані

4. У хворого з ознаками харчової токсикоінфекції лікар запідозрив ботулізм. З анамнезу хвороби стало відомо, що отруєння відбулося при святкуванні ювілею, де вживались грибні та рибні консерви. Який біологічний препарат необхідно використати для екстреної профілактики ботулізму ?
A. Протиботуліністична сироватка
B. Протиботуліністичний тетраанатоксин
C. Протиботуліністичний три анатоксин
D. Еубіотики
E. Гама-глобуліни

5. У бактеріологічну лабораторію поступив матеріал від хворого з підозрою на ботулізм. Які середовища слід застосувати для виділення збудника ?
A. Середовище Ендо
B. 1 % лужна пептонна вода
C. Середовище Кітта-Тароцці
D. Середовище Сотона
E. Середовище Левенштейна-Йєнсена

6. У магазині забраковано партію консервів зеленого горошку з "бомбажем". Як дослідити консерви на наявність в них збудника ботулізму ?
A. Бактеріологічним методом
B. ІФА

C. РІФ
D. РГГА
E. РЗК

7. При специфічній терапії ботулізму використовують:
A. Антитоксичні протиботулінові сироватки
B. Ботулінові анатоксини
C. Вакцину АКДП
D. Октаанотоксин
E. Антибіотики (тетрациклін, левоміцитин)

8. Послідовність тетанічного скорочення м'язів у людини при tetanus descendens:
A. М'язи спини, кінцівок, обличчя, шиї
B. М'язи обличчя, шиї, спини, кінцівок
C. М'язи кінцівок, шиї, спини, обличчя
D. М'язи шиї, кінцівок, обличчя, спини
E. М'язи кінцівок, обличчя, спини

ЗБУДНИКИ БАКТЕРІЙНИХ ПОВІТРЯНО-КРАПЛИННИХ ІНФЕКЦІЙ

БОРДЕТЕЛИ КОКЛЮШУ І ПАРАКОКЛЮШУ

Bordetella налічує три види бактерій, патогенних для людини: *Bordetella pertussis* (від лат. *pertussis* кашель) – збудник коклюшу, *B.parapertussis* – збудник паракоклюшу і *B.bronchiseptica* – збудник бронхосептикозу. Паличка коклюшу вперше була виявлена в 1900 р. в мазках із харкотиння хворої дитини, а пізніше в 1906 р. в чистій культурі виділена вченими Ж. Борде і О. Жангу. *B. parapertussis* була виділена і вивчена в 1937 р. Г. Ельдерінгом і П. Кендриком. Незалежно від них *B. parapertussis* вивчена в 1937 р. У. Бредфордом і Б. Славіним. *B.bronchiseptica* була виділена в 1911 р. в собак Н.Феррі, а в людини – в 1926 р. Брауном. В 1984 р. була виділена від птахів *Bordetella avium.*

МОРФОЛОГІЯ

Палички коклюшу мають форму кокобактерій, овоїдні, дрібні, нерухомі, з заокругленими кінцями, грамвід'ємні, більш інтенсивно зафарбовуються по полюсах. На ультратонких зрізах добре видно мікрокапсулу, яка перешкоджає фагоцитозу. Фарбують толуїдиновим синім, який виявляє біполярні метахроматичні гранули (клітинні ліпоїди), в ділянці нуклеоїду – вакуолі. Спор і джгутиків не утворюють, а утворюють пілі. Паракоклюшна паличка дещо більша 0,6х2 мкм, розташована попаро або поодиноко. *B.bronchiseptica* перитрих.

КУЛЬТИВУВАННЯ

Бактерії коклюшу – гемофільні бактерії, не ростуть на простих поживних середовищах. Хемоорганотрофи. Ростуть на середовищах, багатих амінокислотами (пролін, цистеїн, метіонін, глутамінова і нікотинова кислота), як фактор росту, а також з кров'ю, вугіллям або іонообмінними смолами, крохмалем, альбуміном (для нейтралізації жирних кислот, колоїдного середовища, які вони утворюють). Джерелами амінокислот служать гідролізати казеїну або квасолі. Культивуються при 37°С в аеробних умовах і pH 6,8-7,4. Прискореному росту сприяє підвищена (5-7%) концентрація CO_2, тобто вони відзначаються капнофільністю. За розміром колонії коклюшних бактерій 1-2 мм, паракоклюшних 2-4 мм, бронхосептичних 2-4 мм.

На картопляно-гліцериновому-кров'яному агарі Борде-Жангу	через 3-4 доби утворюють дрібні, опуклі, гладенькі, прозорі, блискучі, куполоподібні з перламутровим, металевим відтінком колонії, діаметром 1 мм, нагадують краплинки ртуті або перлинки, оточені невеликою дифузною зоною гемолізу. Бувають свіжовиділені S-форми (фаза I), при старінні R-форми (фаза IV) через проміжні фази II і III.
У 20% кров'яному бульйоні	утворюють незначну каламуть і плівку з нитками донизу, а через 10-14 діб невеликий осад, середовище залишається прозорим
на МПА і МПБ	паракоклюшні бактерії і *B.bronchiseptica*, а також фази II, III і IV коклюшних бактерій при культивуванні на рідкому середовищі утворюють дифузне помутніння і щільний осад на дні; клітини можуть бути дещо більші і поліморфні, інколи утворюють нитки. В R-формі і проміжних формах бактерії мають виражений поліморфізм.
На синтетичному казеїно-вугільному агарі (КВА) з додаванням пеніциліну (для пригнічення супутньої мікрофлори)	коклюшні бактерії - колонії дрібні, діаметром 1 мм, випуклі, гладенькі, блискучі, сіро-кремового кольору і в'язкої консистенції. При огляді в світловому бінокулярному мікроскопі колонії висвічують світловий конус (діагностична ознака). Паракоклюшні бактерії викликають дифузне забарвлення КВА в буро-коричневий колір і потемніння середовищ з кров'ю.

Для первинного виділення бактерій з клінічного матеріалу необхідно до 30-50% крові в середовищі Борде-Жангу. Посіви необхідно культивувати при достатній вологості.

Коклюшні бактерії культивують на поживних середовищах 48-72 год, паракоклюшні – 24-48 год. Колонії паракоклюшних бактеріїй такі самі, але більші за розмірами (3-4 мм), виявляють їх на 2-3 добу, а колонії *B.bronchiseptica* – на 1-2 добу культивування.

ФЕРМЕНТАТИВНІ ВЛАСТИВОСТІ

Бордетели не ферментують цукрів (інколи утворюють незначну кількість кислоти з глюкози і лактози), не утворюють індолу, не відновлюють нітратів у нітрити (як виняток *B.bronchiseptica)*, не розщеплюють білків. Бордетели коклюшу залужнюють лакмусове молоко на 12-14 добу, бордетели паракоклюшу – на 2-4 добу. Окислюють і метаболізують аланін, аспарагін, глутамінову кислоту, пролін і серин. Каталазододатні. Желатин не розріджують.

ТОКСИНОУТВОРЕННЯ БОРДЕТЕЛ

термолабільний екзотоксин	утворюють коклюшні бактерії – володіє антифагоцитарною активністю і стимулює лімфоцитоз, вироблення інсуліну і гальмує гіперглікемію, викликану адреналіном, за рахунок активації β-клітин острівців Лангерганса; токсин діє на систему цАМФ (циклічний аденозинмонофосфат)
специфічний цитотоксин	викликає місцеві ушкодження миготливого епітелію, він небілкової природи, основу його структури становлять продукти синтезу і трансформації муреїну
гемаглютинін	проявляє цитотоксичний ефект
ендотоксин	викликає лихоманку, має сенсибілізуючу і загальнотоксичну дію
термолабільний дермонекротоксин	він же протективний антиген

Вірулентність коклюшної палички контролюють дві групи генів: зниження температури тіла нижче 35^{o}С. Несприятливі фактори можуть створити умови для виживання і росту авірулентних штамів. Вірулентні штами *B.pertussis* I фази містять фактори, які визначають патогенез і клініку коклюшу: гістамінсенсибілізуючий фактор (ГСФ), лімфоцитозстимулюючий фактор (ЛСФ), термолабільний токсин цитоплазми (ТЛТ), фактор, який активує острівці (АОФ). Від авірулентних клітин IV фази вірулентні бактерії I фази відрізняє наявність термолабільного і коклюшного токсинів, аденілатциклази і мікроворсинок.

Мікроворсинки (пілі, фімбрії) *B.pertussis* представлені аглютиногенами I фази, які забезпечують адгезію до миготливого епітелію дихальних шляхів. З ворсинками пов’язана гемаглютинуюча активність (філаментний гемаглютинін – обумовлює адгезію і аглютинацію еритроцитів). Ворсинки мають багато антигенних типів, деякі викликають утворення протективних антитіл.

ФЕРМЕНТИ ПАТОГЕННОСТІ КОКЛЮШНИХ БАКТЕРІЙ

гіалуронідаза, плазмокоагулаза, лецитиназа, філаментозний гемаглютинін.

Паракоклюшні бактерії виробляють ферменти патогенності: уреазу і тирозиназу (утворюють пігмент, який забарвлює середовище в коричневий колір), каталазу, нейрамінідазу, фібринолізин.

АНТИГЕННА СТРУКТУРА БОРДЕТЕЛ

Бактерії роду бордетел містять загальний видоспецифічний термостабільний соматичний О-антиген і 14 термолабільних капсульних К-антигени, різні специфічні аглютиногени. У бордетел виявлено 14 антигенних компонентів – аглютиногенів або факторів.

Фактор 7 – родовий, спільний для всіх видів бордетел;
видові: фактор 1 – властивий *B.pertussis*,
фактор 14 – *B.parapertussis*,
фактор 12 – *B.bronchiseptica*;
інші трапляються в різних комбінаціях,
розрізняють 6 сероварів збудника.

РЕЗИСТЕНТНІСТЬ

Бордетели коклюшу малостійкі в навколишньому середовищі. Гинуть від дії прямого сонячного проміння упродовж 1-2 год, при 56^{o}С – через 20-30 хв; 3% розчин фенолу або лізолу вбиває її швидко. До холоду менш чутливі, низькі температури не переносять. У висохлому харкотинні бактерії залишаються живими упродовж декількох годин.

Гемофільні бордетели дуже чутливі до ненасичених жирних кислот, сульфідів і перекису, які нагромаджуються в процесі росту бактерій і токсично діють на них. Тому кров, іонообмінні смоли і активоване вугілля застосовують як сорбенти метаболітів.

ПАТОГЕНЕЗ КОКЛЮШУ

Коклюш і паракоклюш – гострі дитячі інфекційні хвороби верхніх дихальних шляхів, які проявляються нападами конвульсивного кашлю. Спостерігають переважно у дітей дошкільного віку. Клінічно подібні, але викликаються різними видами *Bordetella: B.pertussis, B.parapertussis і B.bronchiseptica.*

ДЖЕРЕЛО ІНФЕКЦІЇ

є хворі і бактеріоносії.

При коклюшеподібному захворюванні, що викликане B.bronchiseptica, джерелом інфекції можуть бути домашні і дикі тварини

МЕХАНІЗМ ПЕРЕДАЧІ ІНФЕКЦІЇ

аерогенний

ШЛЯХ ПЕРЕДАЧІ ІНФЕКЦІЇ

повітряно-краплинний шлях

Захворювання поширено восени і зимою. Сприйнятливі всі люди, а особливо діти у віці від одного до десяти років.

Інкубаційний період триває 2-14 діб. Бактерії коклюшу проникають в організм через верхні дихальні шляхи, локалізуються, завдяки адгезивним факторам, на війчастому епітелії слизової оболонки верхніх дихальних шляхів та в легенях. Розмножуються в клітинах епітелію і бронхогенним шляхом

розповсюджуються в нижні відділи (бронхіоли, альвеоли). Спочатку хвороби з'являється недомагання, невисока температура, невеликий кашель, нежить. Екзотоксини, що виділяються паличкою коклюшу, спричиняють катаральне запалення слизової оболонки трахеї і бронхів, розвивається набряк слизової оболонки, при цьому гине частина епітеліальних клітин. У кров бактерії не проникають.

В основі патогенезу коклюшу лежить дія екзотоксинів коклюшних паличок на нервові волокна блукаючого нерва, по якому збудження передається в дихальний центр довгастого мозку, створюючи стійке вогнище збудження. У виникненні спазматичних нападів кашлю має значення сенсибілізація організму до токсинів *B.pertussis*. Напади кашлю нагадують крик півня. При цьому виділяється харкотиння. Таких нападів може бути 5-50 на добу. Вони виникають під впливом як специфічних (екзотоксини коклюшних бактерій), так і неспецифічних (звук, ін'єкції, огляд і т.п.) подразників. Хвороба триває близько двох місяців. При виникнені сильніших центрів збудження домінантне вогнище згасає, напади припиняються. Захворювання нерідко дає ускладнення (ларингіт, бронхіт, бронхопневмонію). Подібну картину можуть давати паракоклюшні бактерії.

Захворювання поділяють на три періоди:

1. **Катаральний період** триває близько двох тижнів: підвищується температура, з'являються біль голови, сухий кашель, нежить; найбільш важко діагностувати, оскільки подібний на гостре респіраторне захворювання.
2. **Конвульсивний (пароксизмальний) період** характеризується сильними нападами кашлю при нормальній температурі тіла, ціанозом, блювотою, корчами, зупинкою дихання. Триває 4 - 6 тижнів. Нападів на добу може бути до тридцяти.
3. **Період виздоровлення (згасання)** – менше нападів, рідше, легше і зовсім немає. Відбувається відторгнення некротизованих ділянок слизової оболонки верхніх дихальних шляхів у вигляді "зліпок" з трехеї і бронхів. Триває 2-4 тижні.

ІМУНІТЕТ

Після перенесеної інфекції виробляється стійкий тривалий гуморальний імунітет. При захворюванні та імунізації в сироватці людини і тварин утворюються антитоксини, аглютиніни, преципітини, комплементзв'язуючі, опсонізуючі, бактерицидні і протективні антитіла. Перехресного імунітету *B.pertussis, B.parapertussis і B.bronchiseptica* не спостерігається.

МЕТОДИ МІКРОБІОЛОГІЧНОЇ ДІАГНОСТИКИ КОКЛЮШУ

Матеріал на дослідження	Основні методи дослідження	Середовища
слиз із верхніх дихальних шляхів	***Експрес-діагностика*** включає ІФМ (обробка мазків з клінічного	З діагностичною метою рекомендовано використати дві
із задньої стінки		

глотки **виділення слизової оболонки носоглотки** **харкотиння хворих** **кров**	матеріалу та з колоній імунною фюоресціюючою протикоклюшною і паракоклюшною сироватками); оглядають не менше 50 полів зору мікроскопа. Клітини бордетел оточені світлим люмінесцентним віночком. ***Бактеріологічний*** *метод* ***Серологічний*** метод ставиться з другого тижня захворювання – РНГА, РА (діагностичний титр 1:80), РЗК, реакцію нейтралізації антигена з коклюшним еритроцитарним антитільним діагностикумом; ***метод шкірних проб*** з введенням 10 ОД/0,1 см^3 аглютиногена.	чашки з середовищем КВА, а за епідемічними показами – одну чашку на Борде-Жангу, молочно-кров'яний агар, для пригнічення росту сторонньої мікрофлори додають на 1 см^3 середовища по 0,25-0,5 ОД пеніциліну

Забір матеріалу проводиться **двома тампонами**, зігнутими під тупим кутом 120^o до стерилізації – одним сухим, іншим зволоженим КВА, сумішшю Кузнецова, алгінатом кальцію або в 0,9% розчині хлориду натрію: задньоглотковим і носоглотковим тампонами. У маленьких дітей краще забирати матеріал через ніс заглотковим тампоном та методом кашлевих пластинок. При необхідності медсестра може фіксувати голову дитини руками.

Не торкаючись кореня язика, мигдаликів і слизової щоки, тампон вводять за м'яке піднебіння, використовуючи шпатель для язика, кінчиком тампона випуклою частиною проводять два-три рази справа наліво по задній стінці глотки. Обережно над шпателем виймають тампон з порожнини рота.

За допомогою **методу кашлевих пластинок**, відкриту чашку Петрі з середовищем, зрошену пеніциліном, підносять на відстані 10 см від рота дитини під час нападу кашлю (2 чашки). На поживне середовище не повинні потрапити слина, блювотні маси, харкотиння.

При відсутності кашлю матеріал засівають відразу ж сухим тампоном на дві чашки. Необхідно пам'ятати, що вата гальмує ріст *Bordetella pertussis*. Матеріал забирають натще або через дві-три години після їди і доставляють зволожений тампон в лабораторію не пізніше, ніж через 2 год при температурі

4-37°С у спеціальному ящику, біксі з захисною прокладкою. При транспортуванні оберігають від охолодження; загортають у папір, вату, а в холодну погоду кладуть грілку, наповнену гарячою водою, в сумку або ящик, в якому перевозять чашки. Якщо транспортування повинно тривати більше двох годин, застосовують транспортні середовища.

В **скеруванні** обов'язково вказують: назву закладу; прізвище, ім'я, по-батькові і вік, домашню адресу хворого; причину обстеження; дату захворювання; дату і час взяття матеріалу; число обстежень; назву матеріалу і метод взяття; підпис особи, яка забрала матеріал.

Для **диференціації коклюшних і паракоклюшних паличок** проводять висів виділеної чистої культури: на скошений МПА з додаванням 0,1% тирозину (для визначення тирозинази); проводять постановку проби Закса (на уреазу) або в бульйон Хотінгера з сечовиною, посів на середовище Сімонса для виявлення утилізації цитрату бронхосептичними бактеріями і рухливість на напіврідкому 0,5% агарі.

Кінцева додатна відповідь видається на п'яту-шосту добу і формулюється: "Виявлені коклюшні (паракоклюшні, бронхосептичні) бактерії". Негативна відповідь видається на п'яту добу: "Коклюшні (паракоклюшні, бронхосептичні) мікроби не виявлені".

ПРОФІЛАКТИКА

Профілактика полягає в ранньому виявленні й ізоляції дітей, хворих на коклюш. Поточну дезінфекцію хімічними засобами з огляду на незначну стійкість збудника не застосовують. Контактним дітям з профілактичною метою вводять гамма-глобулін.

СПЕЦИФІЧНА ПРОФІЛАКТИКА

Специфічна профілактика полягає в імунізації дітей адсорбованою коклюшно-дифтерійно-правцевою вакциною (АКДП). Вакцину вводять з трьох місяців за розробленою схемою. Випускається вбита коклюшна вакцина, яка застосовується в дитячих колективах за епідемічними показами. Вона складається зі вбитих бактерій I фази, коклюшного токсину, аглютиногенів і антигенів капсули. Завдяки проведенню масової вакцинації дітей, захворювання коклюшем значно знизилось. При контакті з хворими дітьми у віці до одного року та неімунізованим вводять нормальний людський імуноглобулін.

Розроблені і вивчаються ефективніші препарати, виготовлені з компонентів оболонок бактеріальних клітин (стінки і цитоплазматичної мембрани). Досліджують препарати, які містять коклюшний анатоксин, філаментний гемаглютинін, пертактин (мембранний протеїн з молекулярною масою 69 кД) і антиген мікроворсинок. Доведено, що їх можна застосовувати як для первинної імунізації, так і для ревакцинації.

ЛІКУВАННЯ

Призначають протикоклюшний імуноглобулін (на ранніх стадіях хвороби), антибіотики (еритроміцин, левоміцетин, тетрациклін, гентаміцин,

часто ампіцилін, які ефективні в катаральному періоді), вітаміни. Рекомендують антигістамінні препарати. Необхідно часто провітрювати приміщення, здійснювати прогулянки на свіжому повітрі (аеротерапія). При легких формах достатньо перебувати на повітрі. Хворого ізолюють на 25-30 діб з моменту захворювання. Карантин на 14 діб встановлюють для дітей до семи років, які були в контакті з хворими, якщо вони не хворіли коклюшем. У вогнищі проводять профілактичні заходи (провітрювання, знезараження посуду, хусточок для носа та ін.).

Питання для самоконтролю

1. Які морфотинкторіальні властивості бордетел коклюшу і паракоклюшу?
2. Які культуральні властивості бордетел?
3. Які ферментативні властивості бордетел?
4. Яка антигенна структура бактерій роду бордетел?
5. Хто є джерелом інфекції коклюшу і паракоклюшу?
6. Який механізм і шлях передачі коклюшу?
7. Який імунітет після перенесеної інфекції?
8. Який матеріал і як беруть на дослідження при коклюші?
9. Що входить в експрес-діагностику коклюшу і паракоклюшу?
10. Які основні методи дослідження?
11. Які реакції входять в серодіагностику? З якою метою її ставлять?
12. Які препарати використовують для специфічної профілактики та лікування коклюшу і паракоклюшу?

Тестові завдання

1. При посіві слизу з носоглотки трирічної дитини на середовищі КВА через 48 годин виросли дрібні блискучі сірі колонії. При мікроскопії колонії виявлено грамвід'ємні палички. Яку хворобу можна запідозрити ?

A. Коклюш
B. Дифтерію
C. Туберкульоз
D. Скарлатину
E. Ангіну

2. Для профілактики кашлюку, дифтерії і правцю дітям вводять вакцину АКДП. Як називається така вакцина, до складу якої входять вбиті мікробні клітини одного збудника і анатоксини інших ?

A. Асоційована
B. Генно-інженерна
C. Хімічна
D. Аутовакцина

E. Антиідіотипічна

3. Чим необхідно забрати виділення слизової оболонки носоглотки при коклюші ?
A. Шприцом
B. За допомогою стерильного ватного тампона
C. Катетером
D. Ректальною петлею
E. Голкою

4. У дитячому садочку захворіло декілька дітей, яким був встановлений діагноз “кашлюк”. В який із клінічних періодів кашлюк найбільш заразний ?
A. Інкубаційний період
B. Пароксизмальний період
C. Катаральний період
D. Регенеративний період
E. Період виздоровлення

5. Проведено дослідження сироватки пацієнта на наявність антитіл до певного антигена. Які дії лаборанта підтверджують діагноз при серодіагностиці ?
A. Виконання реакції аглютинації
B. Дослідження парних сироваток
C. Мікроскопія мазка
D. Дослідження лише на початку хвороби
E. Дослідження через тиждень

6. Які культуральні властивості характерні для збудника коклюшу?
A. Ріст у вигляді перевернутої ялинки на МПА
B. Колонії блискучі, сіро-кремового кольору, які нагадують крапельки роси на КВА
C. Колонії червоні з металевим полиском на Ендо
D. Безколірні колонії на МПА
E. Колонії як сметана, білого кольору на середовищі Фінн 2

7. У дитячу поліклініку звернулася мати із хворою дитиною, у якої спостерігався “гавкаючий” кашель. Інфекціоніст поставив діагноз “кашлюк”. Який матеріал для дослідження потрібно забрати у дитини, щоб виділити збудник і підтвердити діагноз ?
A. Кров хворого
B. Мазок з задньої стінки глотки
C. Гній
D. Сироватка хворого
E. Блювотні маси

8. У бактеріологічну лабораторію направлена хвора дитина з характерними нападами спазматичного кашлю. Для уточнення діагнозу у неї для дослідження взяли слиз із задньої стінки, який посіяли на середовище КВА (казеїнововугільний агар). Через 72год культивування при температурі 37 ºС виросли дрібні, блискучі сіруватого кольору колонії, які нагадували крапельки ртуті при дослідженні під стереоскопічним мікроскопом. Який збудник викликав це захворювання ?
A. Haemophilus influenzae
B. Staphylococcus aureus
C. Neisseria meningitidis
D. Bordetella pertussis
E. Mycobacteria tuberculosus

9. Які культуральні властивості характерні для збудника коклюшу ?
A. Ріст у вигляді перевернутої ялинки на МПА
B. Колонії блискучі, сіро-кремового кольору, які нагадують крапельки роси на КВА
C. Колонії червоні з металевим полиском на Ендо
D. Безколірні колонії на МПА
E. Колонії як сметана, білого кольору на середовищі Фінн 2

10. Які з перелічених видів мікробів є збудниками повітряно-краплинних інфекцій ?
A. Паличка коклюшу
B. Кишкова паличка
C. Паличка туберкульозу
D. Паличка дифтерії
E. Паличка черевного тифу

КОРІНЕБАКТЕРІЇ ДИФТЕРІЇ

Збудником дифтерії є *Corynebacterium diphtheriae*. Належить до роду *Corynebacterium,* який налічує близько 20 видів. Назва пішла від латинських слів *coryna* – булава і *diphthera* – плівка, шкірка. Захворювання відоме ще з I ст. до нашої ери, коли сірійський лікар і історіограф Аретей Кападокійський охарактеризував його як “злоякісні виразки на мигдаликах, які викликають асфіксію”. В Іспанії дифтерію називали “гаротильйо”, тобто маленька гарота (пристрій для задушення злочинців). Класичні праці Бретонно (1826) і Труссо (1846) визначили дифтерію як інфекційне захворювання, і виділили його в окрему нозологічну форму.

Вперше паличка дифтерії описана Е.Клебсом (1883), у чистій культурі виділена Ф.Лефлером (1884). Токсин виготовлено Е.Ру і А.Йєрсеном (1888). Антитоксичну сироватку отримано Е.Берінгом, С.Кітазато, Я.Ю.Бардахом (1890) і Е.Ру (1894). Дифтерійний анатоксин отримано Г.Рамоном (1923). В 1892 р. Е.Берінгом було отримано антитоксичну сироватку, з 1894 р.

використовується для лікування дифтерії. В 1923 р. Г.Рамон розробив метод одержання дифтерійного анатоксину.

До роду *Corynebacterium,* крім збудника дифтерії, відносять інші види (*C.pseudodiphthericum (hoffmanii), C.xerosis, C.ulcerans* та інші), які здатні при певних умовах викликати гнійно-запальні захворювання. Біотопом для них є зів, кон'юнктива, шкіра. Розповсюдженим видом є псевдодифтерійна паличка, яку виявляють у зіві в 70% людей.

МОРФОЛОГІЯ

Палички дифтерії прямі з заокругленими кінцями або зігнуті тоненькі. Поліморфні: можна побачити карликові, кокоподібні, товсті з колбоподібним потовщенням на кінцях, гігантські, клиноподібні, сегментоподібні, ниткоподібні, розгалужені, можуть утворювати фільтрівні і L-форми. Грампозитивні, не завжди рівномірно зафарбовуються.

В старих культурах нерідко знебарвлюються і стають грамвід'ємними. На кінцях виявляють включення – зернами волютину Бабеша-Ернста, метахроматичні гранули (поліметафосфати). Палички розташовані у вигляді римських цифр V, X або розведених під прямим кутом пальців. Це пов'язано з особливістю їх розмноження (мікрокапсула розривається останньою). Не утворюють спор, капсул і джгутиків.

У коринебактерій дифтерії виявлено фімбрії або подібні до них утвори, що надають мікроорганізмам адгезивної активності.

На ультратонких зрізах клітинна стінка має два шари: внутрішній осміофільний і зовнішній, що утворює мікрокапсулу. В клітинній стінці є специфічні ліпіди – ефіри коринеміколевої і коринеміколенової кислот, диміколат трегалози, фосфатиди манози і інозиту. Цитоплазма гранулярна, містить ліпіди і крохмаль. При старінні цитоплазма коринебактерій дифтерії набуває "зброподібної" (смугастої) форми, що нерівномірно забарвлюється.

КУЛЬТИВУВАННЯ КОРІНЕБАКТЕРІЙ

Збудники дифтерії – факультативні анаероби. До поживних середовищ дуже вимогливі: не здатні утилізувати азот із амонійних сполук і вимагають майже всіх амінокислот, глутамінової і нікотинової кислот, солей магнію, кальцію, цинку, міді, заліза, марганцю (як факторів росту); для культивування необхідні вуглеводи. Ростуть при 37°С і pH середовища 7,6-7,8. Добре культивуються на середовищах, що містять білок, кров, концентрації телуриту калію (пригнічує ріст грамвід'ємних бактерій), а також на цукровому бульйоні.

на середовищі Ру і середовищі Леффлера	коринебактерії дифтерії утворюють упродовж 16-18 год "шагреневу шкіру", колонії між собою не зливаються, круглі, випуклі, в центрі припідняті, діаметром 1 мм, поверхня гладка, зерниста, сіро-білі або кремого кольору, по периферії колонії більш прозорі (контамінуюча мікрофлора не встигає вирости)
на бульйоні	ростуть у вигляді рівномірного помутніння або утворють осад, а бульйон прозорий
телурово-	бактерії дифтерії відновлюють телурит калію до

кров'яний агар Клауберга (КТА)	металевого телуру, який відкладається в мікробних клітинах та надає колоніям темно-сірого або чорного кольору; **біовару *gravis*** сіро-чорні або чорні з припіднятим центром колонії, як квітка маргаритки R-фоми, розеткоподібні, плоскі, шорсткі колонії з радіальною окресленістю; гемолізу не викликають; **біовар *mitis*** S-колонії, гладкі, випуклі, дрібні, блискучі напівпрозорі колонії чорного або темно-сірого кольору з рівним краєм, діаметром 1-2 мм, м'які, легко знімаються, спричиняють гемоліз;

Бактерії дифтерії резистентні до високих концентрацій телуриту калію або натрію, які пригнічують ріст контамінуючої мікрофлори. Тепер застосовують модифікації даного середовища – телурит-шоколадний агар Маклеода. На середовищі Бучіна бактерії дифтерії відновлюють індикатор – середовище набуває фіолетового кольору, колонії сині; в дифтероїдів колонії безколірні; в псевдодифтерійних паличок – колонії голубі через 24-48 год.

За культуральними та біохімічними властивостями коринебактерії дифтерії поділяються на біовари *gravis, mitis і intermedius* (Ендерсон, Мак-Леод, 1931).

ФЕРМЕНТАТИВНІ ВЛАСТИВОСТІ КОРИНЕБАКТЕРІЙ

Біовар *gravis* ферментує глюкозу, інколи сахарозу, крохмаль, глікоген, мальтозу. Біовар *mitis і intermedius* ферментують глюкозу, крохмаль і мальтозу.

Всі біовари ферментують глюкозу, мальтозу, галактозу, декстрин з утворенням кислоти без газу. Не ферментують лактозу, сахарозу (за винятком деяких токсигенних штамів) і маніт. Не згортають молоко, не розкладають сечовину, не виділяють індол, не мають уреази, слабко утворюють сірководень, відновлюють нітрати в нітрити, телурит калію до металу, розщеплюють цистеїн.

Непостійно розріджують крохмаль і глікоген (крім біовару гравіс), гліцерин. Лізують еритроцити морської свинки і кролика (дещо слабше). Коринебактерії лізуються вірулентними фагами. Вони специфічні для окремих видів. Створена колекція коринефагів, що дозволяє встановити фаговари досліджуваних культур. Коринебактерії дифтерії продукують бактеріоцини (коринецини), що надають їм деяких селективних переваг.

ТОКСИНОУТВОРЕННЯ

Коринебактерії дифтерії виробляють сильні екзотоксини (гістотоксин, дермонекротизин, гемолізин). Вперше екзотоксин отримали Ру і Йєрсен в 1888 р. Екзотоксин вибірково уражує серцевий м'яз, наднирники, периферичну нервову систему.

Токсигенність коринебактерій пов'язана з лізогенністю, характеризуються вираженою дегідрогеназною і нейрамінідазною активністю.

У коринебактерій дифтерії виявлено гліколіпіди, що містять коринеміколову і коринеміколенову кислоти, які мають властивості корд-фактора.

ФЕРМЕНТИ ПАТОГЕННОСТІ

цистиназ, розщеплюють цистин з утворенням аміаку (проба Пізу), каталаза, нейрамінідаза, сукцинатдегідрогеназа, ДНК-аза, гіалуронідаза і протеаза.

АНТИГЕННА СТРУКТУРА

Доведено, що в коринебактерій дифтерії виявлено видоспецифічні термолабільні поверхневі білкові антигени (К-антигени) і десятки групоспецифічних термостабільних соматичних полісахаридних О-антигенів. За К-антигеном нараховують біля 58 серологічних варіанти: до біовар *gravis* входить 14, *mitis* – 40, а *intermedius* – 4 серовари.

За допомогою реакції аглютинації у збудника дифтерії виявлено 11 сероварів, з них 7 основних (1-7) і 4 додаткових, серовари (8-11) рідко зустрічаються. Шість сероварів (1, 2, 3, 4, 5, 7) відносяться до серовару *gravis*, а п’ять (6, 8, 9, 10, 11) до серовару *mitis* (9-11 до токсигенного, 6 і 8 – до нетоксигенного).

Серед них розрізняють 15 фаговарів, за допомогою яких виявляють джерела інфекції при ідентифікації виділених культур.

РЕЗИСТЕНТНІСТЬ

Порівняно стійкі до впливу факторів навколишнього середовища. Добре переносять висушування – в пилюці, а також слині, слизі можуть зберігатися до 5 місяців. У вологій атмосфері при кімнатній температурі можуть зберігатися до 7 місяців. На іграшках – до 2 тижнів. На згорнутій сироватці залишаються життєздатними близько року, при кімнатній температурі – до 2 місяців. Довго зберігаються у плівках хворих на дифтерію. Витримують температуру 98^{o}С протягом 1 год, у трупах зберігають морфологію до 15 діб, в пилюці – до 5 тижнів, у воді і молоці – до 6-20 діб, при розсіяному світлі залишаються життєздатними до 8 год.

Від дії температури 60^{o}С і 1% розчину фенолу збудник дифтерії гине протягом 10 хв, 5% розчин карболової кислоти губить їх упродовж 1 хв, 3% розчин лізолу викликає смерть через 10 хв, етанол – за 1 хв, 1% розчин перекису водню – за 2-3 хв, 2-3% розчин хлораміну – за 5 хв, при кип’ятінні гинуть через 2-3 хв. Чутливі до пеніциліну, тетрацикліну і еритроміцину.

ПАТОГЕНЕЗ ДИФТЕРІЇ

Дифтерія – гостра інфекційна хвороба дихальних шляхів, яка спричиняється токсигенними коринебактеріями, супроводжується важкою інтоксикацією, утворенням у зіві і гортані дифтерійної плівки, різким набряком гортані, затрудненим диханням і асфіксією.

ДЖЕРЕЛО ІНФЕКЦІЇ

хворі на дифтерію, здорові бактеріоносії і реконвалесценти

МЕХАНІЗМ ПЕРЕДАЧІ ІНФЕКЦІЇ

аерогенний

ШЛЯХ ПЕРЕДАЧІ ІНФЕКЦІЇ

повітряно-крапельний шлях, інколи з частинками пороху, аліментарний (через молоко), контактно-побутовий.

Вхідні ворота – слизові оболонки зіву, носа, дихальних шляхів, очей, стетавих органів, шкіри і ранової поверхні.

Захворювання розвивається в осіб, які не мають антитоксичного імунітету. Найбільш сприйнятливі діти у віці від 1 до 9 років, хоча тепер дифтерія "подорослішала". Найбільша захворюваність восени і взимку. Інкубаційний період 2-10 діб.

На місці проникнення збудника (особливо мигдаликів і м'якого піднебіння, носоглотки, носа) відбувається розмноження. Деструкція епітелію, яка розповсюджується на судини субепітеліальної тканини, веде до масивної ексудації плазми і виходу формених елементів крові. Фібриноген плазми крові при контакті з тромбопластином некротизованого епітелію перетворюється у фібрин, який утворює на слизовій оболонці сіро-білі фібринозні плівки, які щільно зрощені з підслизовою основою тканини, збільшені лімфатичні вузли. Такий тип запалення називається "дифтеричним".

При заборі плівки викликають на місці проникнення кровотечу. Виробляється екзотоксин, який спочатку уражує епітеліальні клітини, а пізніше проникає в кров (токсинемія) і уражує кровоносні судини, викликає загальну інтоксикацію, некроз, крупозне запалення слизових оболонок або шкіри. Збудник із зіву, носоглотки може далі вражувати гортань. Відбувається набряк оболонки гортані і голосових зв'язок, корчі мускулатури звужують дихальні шляхи (синдром дифтерійного крупа), а також уражуються трахея і бронхи. У дорослих дифтерія може перебігати як лакунарна ангіна. Біовар *gravis* викликає тяжкі форми дифтерії, біовар *mitis* більш легкі і спорадичні випадки хвороби, а біовар *intermedius* займає проміжне місце між ними. При дифтерії статевих органів і шкіри з'являються серозно-сукровичні виділення, незначне утворення плівок, при токсичних формах – набряк підшкірної клітковини.

Велике значення має адгезія (адсорбція на рецепторах клітин), колонізація, інвазія; токсичний гліколіпід (руйнує тканини) клітинної стінки (6-6′-диефір трегалози, який містить коринеміколову кислоту ($C_{32}H_{64}O_3$) і коринеміколова кислота ($C_{32}H_{62}O_3$) в еквімолярних відношеннях (трегалозо-6,6′-дикоринеміколат); екзотоксин. Провідну роль у патогенезі дифтерії відіграє гістотоксин, який блокує синтез білків у клітинах організму хворих, інактивує фермент трансферазу, відповідальну за утворення поліпептидного ланцюга. Завдяки дифузному фактору гіалуронідази, коринебактерії дифтерії мають властивість проникати в органи і тканини хворих людей, у кров. До факторів інвазивності належать нейрамінідаза, некротичний фактор, фібринолін, плазмін. Бактеріємія буває в осіб з порушеним імунологічним станом. Корд-фактор (диміколат трегалози) збудника дифтерії порушує фосфорилювання і процеси дихання клітин макроорганізму.

За локалізацією процесу розрізняють такі клінічні форми: локалізована, розповсюджена, токсична, гіпертоксична, дифтерійний круп.

Найчастіше – дифтерія зіву, носа. Рідко – дифтерія дихальних шляхів, шкіри, очей, вух, ран, статевих органів (у дівчаток).

В клінічній картині розрізняють такі періоди: період маніфестних проявів фібринозного процесу і ранніх токсичних ускладнень (перші 5-10 діб), період пізніх токсичних ускладнень (10-12 доба і до 6 тижнів), період реконвалесценції (2-3 місяці після зникнення проявів).

Клініка: захворювання характеризується підйомом температури, болем у горлі при ковтанні. Токсином уражується м'яз серця (міокард), нервові клітини, паренхіматозні органи, кров'яний тиск знижений внаслідок ураження надниркників і нирок. Ознаки отруєння токсином – адинамія, в'ялість, втрата апетиту, блювота, шкіра бліда. Смерть може наступити від гострої недостачі серцевої діяльності (токсичний міокардит), від асфіксії (звуження гортані), недостачі гіпофізарно-наднирникової системи і паралічу дихальних м'язів. На тваринах було доведено вплив на розвиток захворювання патогенних стафілококів і стрептококів, які виробляють токсини та інвазивні фактори, що значно ускладнює перебіг інфекції.

ІМУНІТЕТ

Імунітет нестійкий, після перенесеної інфекції спостерігали повторні захворювання, антитоксичний і антибактеріальний. В крові нагромаджується антитоксин. Особи, в яких у крові 1/30 АО на 1 $см^3$, несприйнятливі до дифтерії. Антимікробні антитіла (опсоніни, преципітини, комплементзв'язуючі) також мають значення у формуванні імунітету.

МЕТОДИ МІКРОБІОЛОГІЧНОЇ ДІАГНОСТИКИ ДИФТЕРІЇ

Бактеріологічне дослідження проводять з метою виділення чистої культури збудника і його ідентифікації, диференціацію від сапрофітів: псевдодифтерійної палички.

Матеріал на дослідження	**Основні методи дослідження**	**Середовища**
виділення зіву **виділення носа** **сіро-білий наліт із вогнища запалення** **інколи вульви, очей, шкіри**	бактеріоскопічне та бактеріологічне дослідження; виявляти дифтерійний екзотоксин можна в ***ІФА за допомогою моноклональних антитіл із набору "Дифтерія-монозим".*** ***Серологічне дослідження*** (допоміжне) – РА, РНГА, використовують ***імуноферментний аналіз (ІФА)*** - визначають IgG; визначають гена дифтерійного токсину за допомогою ***полімеразної ланцюговорї реакції (ПЛР). Біологічна проба*** на морській свинці шляхом внутрішньошкірного або підшкірного	КА, КТА у термостат при 37°С на 24 год

	зараження	

Забирають стерильним ватним тампоном, натще або не раніше, ніж через 2 год після вживання їжі, обертальними рухами з мигдаликів, дужок піднебіння, язичка і задньої стінки глотки, за допомогою шпателя, не торкаючись тампоном язика, слизової оболонки щоки та зубів. При наявності плівок матеріал слід брати на межі здорових і уражених тканин, трохи натискуючи на них тампоном. Від носіїв беруть виділення носоглотки. Взяття матеріалу проводять за допомогою двох тампонів, змочених кількома краплями ізотонічного розчину. Для бактеріоскопічного дослідження беруть ще одну окрему пробірку. Для забору матеріалу з носа використовують один тампон, який вводять по черзі в один (спочатку зі здорового боку), а пізніше в другий носовий хід, не торкаючись крил носа ззовні, попередньо ніс очищують від слизу сухим тампоном. У випадку використання транспортного середовища матеріал забирають сухим тампоном, на дерев'яній основі або на дротику з нержавіючого металу, опускають у пробірку з середовищем і слідкують, щоб не намок корок тампона.

При прямій ларингоскопії матеріал (слиз, плівки) забирають безпосередньо з гортані. При оперативному втручанні відбирають слиз з інтубаційної трубки, а також плівки, подрібнені при операції.

Уражені ділянки шкіри попередньо витирають, "промакаючи" стерильною марлевою серветкою або тампоном, змоченим стерильним ізотонічним розчином хлориду натрію, обережно піднімають або відгортають струпи і кірки й після цього сухим тампоном забирають матеріал.

При лікуванні антибактеріальними препаратами матеріал слід брати не раніше, ніж через 3 дні після закінчення лікування, щоб виключити їх бактеріостатичну дію на збудника дифтерії.

При постмортальних дослідженнях матеріал відбирають з мигдаликів, гортані та порожнини носа.

Тампон необхідно доставити в лабораторію упродовж 3 год. При транспортуванні на далекі відстані можна використовувати тампони, попередньо змочені 5% розчином гліцерину. В осінньо-зимову пору матеріал пересилають у сумках з грілками.

Пробірки з матеріалом чітко надписують, скріплюють разом зі скеруванням (ф. 204-у), де вказують прізвище, ім'я, по батькові особи, від якої забрано матеріал, домашню адресу хворого, походження взятого матеріалу, назву закладу, що скеровує матеріал, мету обстеження (діагностична, за епідпоказами, профілактична), дату і час, коли був взятий матеріал, прізвище лікаря і номер телефону, за яким можна сповістити про попередній результат дослідження. При надходженні матеріалу перевіряється відповідність маркування на пробірці із записом у скеруванні. У реєстраційному журналі слід вказати дату, час і правильність надходження матеріалу. При виникненні підозри на захворювання у реєстраційному журналі фіксується, коли (дата, час) і кому (прізвище, посада) подано повідомлення. Оперативна інформація по телефону повинна супроводжуватися письмовою випискою на офіційному

бланку. На тампонах і середовищах повинна бути вказана дата стерилізації (виготовлення).

При наявності характерних морфотинкторіальних, культуральних властивостей, токсигенності, позитивної проби Пізу – можна видати попередню відповідь про наявність коринебактерій дифтерії (48 год). Остаточну відповідь про виділення коринебактерій дифтерії видають на 4-5 добу дослідження після проведення обліку біохімічних властивостей збудника дифтерії або – про виділення нетоксигенних коринебактерій дифтерії.

Слід пам'ятати, що лабораторні дослідження є підтвердженням клінічного діагнозу дифтерії. Тому, коли є переконливі дані, лікування призначають негайно, не чекаючи результатів лабораторного дослідження.

ПРОФІЛАКТИКА

полягає в ранній діагностиці інфекції, негайній госпіталізації хворих, повноцінній дезінфекції приміщення і предметів, виявлення носіїв (санація еритроміцином). В епідемічному вогнищі, де було виявлено випадки дифтерії, впродовж 7 діб ведуть медичний нагляд. У зарубіжних країнах особам, які контактували з хворими, вводять 1 000 МО дифтерійного імуноглобуліну.

СПЕЦИФІЧНА ПРОФІЛАКТИКА

здійснюють активною імунізацією: адсорбованим дифтерійним анатоксином (АД-анатоксин, Рамон, 1923), який входить до складу адсорбованого дифтерійно-правцевого анатоксину (АДП-анатоксин), адсорбованої коклюшно-дифтерійно-правцевої вакцини (АКДП-вакцина). Особам, які раніше імунізовані, але не мають достатнього антитоксичного імунітету, при контакті з хворими вводять дифтерійний анатоксин (АД). Ревакцинацію проводять за допомогою АДП не лише дітям, але й дорослим кожні 10 років.

Випускаються також препарати АКДП-М, АДП-М, АД-М, які містять менші дози антигена і використовуються для імунізації людей, які мають алергію. Однак дані препарати менш імуногенні.

Для профілактики дифтерії запропонована вакцина, яка виготовлена з глікопептидів клітинної стінки нетоксигенних штамів коринебактерій дифтерії "Кодивак". Вона має імунокоректуючий ефект – модулює активність Т-лімфоцитів.

ЛІКУВАННЯ

Вперше в 1891 р. П.Ерліх вперше ввів антитоксичну сироватку дитині в берлінській клініці, яка трохи не загинула від дифтерії. З того часу даний експеримент забезпечив впровадження методу пасивної імунізації в лікувані дифтерії. Після встановлення клінічного діагнозу хворим на дифтерію вводять внутрішньом'язово або внутрішньовенно протидифтерійну антитоксичну кінську сироватку (10 000-20 000 МО при формах середньої важкості і 30 000-50 000 МО при важких формах захворювання), антибіотики (пеніцилін, тетрациклін, хінолони, еритроміцин) і сульфаніламідні препарати. Антибіотики змінюють дисперсійні і дифузні властивості екзотоксинів коринебактерій дифтерії, стафілококів і стрептококів, і тим самим знижують їх токсичну дію. При введенні необхідно пам'ятати про розвиток анафілактичних реакцій.

При необхідності проводять дезінтоксикаційну терапію і призначають кардіотропні препарати. При асфіксії відновлюють прохідність повітряних шляхів (інтубація трахеї, трахеотомія).

Для підвищення імунобіологічного стану організму – вироблення власного антитоксину – рекомендується вводити дифтерійний анатоксин. Для лікування носіїв призначають антибіотики. Добрі результати дає застосування еритроміцину в поєднанні з аскорбіновою кислотою (вітаміном С).

Питання для самоконтролю

1. Які особливості морфології коринебактерій дифтерії?
2. Чому на середовищі КТА коринебактерії дифтерії утворюють чорні колонії?
3. Які особливості антигенної структури ?
4. Де локалізується збудник дифтерії ?
5. Який імунітет після перенесеного захворювання ?
6. Що служить матеріалом для дослідження ?
7. Які методи взяття матеріалу ?
8. Перелічіть основні методи дослідження ?
9. Які середовища застосовуються для первинного посіву матеріалу ?
10. Які середовища застосовуються для ідентифікації чистої культури ?
11. Які тести застосовуються для ідентифікації дифтерійних бактерій та їх диференціація від дифтероїдів та псевдодифтерійних бактерій ?
12. Яким методом можна виявити джерело інфекції?
13. Яка реакція лежить в основі визначення токсигенності коринебактерій дифтерії?
14. Якою реакцією визначають ген дифтерійного токсину?
15. На основі яких властивостей видають відповідь лікарю?

Тестові завдання

1. Хворому на дифтерію необхідно терміново ввести антитоксичну сироватку. Як запобігти виникненню анафілактичного шоку, якщо алергічна проба на сироватку позитивна ?

A. Сироватку треба вводити лише після десенсибілізації по Безредко
B. Сироватку вводити не можна взагалі
C. Сироватку треба вводити лише довенно
D. Сироватку треба вводити лише дом’язово
E. Сироватку слід вводити лише разом з дифтерійним анатоксином

2. Для лікування інфекційних захворювань використовують антитоксичну сироватку. Вказати захворювання, основним методом лікування якого є використання антитоксину:

A. Дифтерія

B. Ешерихіоз
C. Нокардіоз
D. Лістеріоз
E. Еризипелоїд

3. Проведено дослідження сироватки пацієнта на наявність антитіл до певного антигена. Які дії лаборанта підтверджують діагноз при серодіагностиці ?
A. Виконання реакції аглютинації
B. Дослідження парних сироваток
C. Мікроскопія мазка
D. Дослідження лише на початку хвороби
E. Дослідження через тиждень

4. У мазках із зіву хворого з підозрою на дифтерію виявлені тонкі палички жовтого кольору з зернами синього кольору на кінцях (фарбування за Нейссером), палички блакитного кольору із синіми зернами на кінцях (фарбування за Леффлером), що розташовуються під кутом одна до одної. На підставі такої мікроскопічної картини можна говорити про:
A. Присутність патогенних коринебактерій
B. Присутність непатогенних коринебактерій
C. Відсутність патогенних коринебактерий
D. Присутність C. xerosis
E. Присутність C. pseudodiphthericum

5. У хворої дитини з підозрою на дифтерію виділено коринебактерію дифтерії. Яке дослідження необхідно провести, щоб переконатися, що цей мікроб є збудником дифтерії в дитини ?
A. Провести реакцію аглютинації
B. Провести фарбування за методом Бурі-Гінса
C. Виконати посів на кров'яний агар
D. Заразити кролика
E. Перевірити токсигенність мікроба

6. Які з перелічених морфологічних властивостей характерні для корінебактерій дифтерії ?
A. Палички з потовщеннями на кінцях, розташовані у вигляді римської цифри 5,10
B. Дрібні палички, грамвід'ємні
C. Грубі палички з біполярним забарвленням
D. Палички, які мають фімбрії, грам+
E. Коки, які утворюють ланцюжки

7. Які з перелічених видів мікробів є збудниками повітряно-краплинних інфекцій ?
A. Паличка коклюшу

B. Кишкова паличка
C. Паличка туберкульозу
D. Паличка дифтерії
E. Паличка черевного тифу

8. Які з поживних середовищ застосовуються для первинного посіву матеріалу при дифтерії ?
A. Казеїно-вугільний агар
B. Згорнута бичача чи кінська сироватка
C. Середовище КТА
D. Середовище Бучіна
E. МПА

9. При обстеженні персоналу школи з носового слизу співробітниці М. виділені мікроорганізми, які утворюють на кров'яно-телуритовому агарі чорні, блискучі колонії, S-форми, дають позитивну пробу на цистиназу і токсигенність. Вкажіть носієм яких мікроорганізмів є співробітниця ?
A. Мікобактерій туберкульозу
B. Менінгококів
C. Корінебактерій дифтерії
D. Бордетел коклюшу
E. Клостридій ботулізму

10. Від дитини з підозрою на дифтерію виготовлено мазки із зіву і зафарбовано за методом Нейсера. При мікроскопії виявлені жовті палички з темно-синіми потовщеннями на кінцях. Який структурний елемент мікробної клітини визначається у мікроорганізмів ?
A. Плазміди
B. Зерна волютину
C. Капсули
D. Спори
E. Джгутики

11. Які з перелічених культуральних властивостей характерні для корінебактерій дифтерії ?
A. На кров'яно-телуритовому агарі колонії випуклі, сірого кольору
B. На КВА колонії у вигляді крапельок ртуті
C. На Ендо колонії малиново-червоного кольору
D. На ВСА колонії безбарвні
E. На Бучіна колонії голубого кольору

12. Виберіть інгридієнти необхідні для постановки реакції імунофлюоресценсії ?
A. Мазки-відбитки слизової оболонки носоглотки

B. Мазки-відбитки трупного матеріалу
C. Фізрозчин
D. Типоспецифічні мічені флюорохромати сироватки
E. Еритроцити барана
F. Курячі еритроцити

МІКОБАКТЕРІЇ ТУБЕРКУЛЬОЗУ

До роду *Mycobacterium* родини *Mycobacteriaceae* належать бактерії (більше 40 видів), що характеризуються здатністю до розгалуження, кислото, спирто- і лугостійкі (збудники туберкульозу *Mycobacterium tuberculosis* і лепри *M.leprae*). Мікобактерії туберкульозу людини відкрив у 1882 р. Р.Кох, який розробив питання патогенезу й імунітету.

Рід *Mycobacterium* за патогенними властивостями поділяють на дві групи: патогенні і умовнопатогенні, сапрофіти. До патогенних і потенційно патогенних відносять 24 види (які ростуть повільно – *M.tuberculosis, M.africanum, M.asiaticum, M.avium, M.bovis, M.farcinogenes, M.intracellulare, M.kansasii, M.malmoense, M.marinum, M.microti, M.haemophilium, M.scrofulaceum, M.senegalense, M.szulgai, M.ulcerans, M.xenopi*; які ростуть швидко – *M.chelonii, M.fortium, M.porcinum, M.vaccae, M.paratuberculosis*). До збудників туберкульозу і мікобактеріозів відносять нефотохромогенні, які повільно ростуть (за винятком *M.kansasii*), мікобактерії: *M.tuberculosis, M.africanum, M.avium, M.bovis, M.kansasii, M.microti, M.ulcerans, M.xenopi.*

Туберкульоз викликають: людський – *Mycobacterium tuberculosis,* бичачий – *Mycobacterium bovis.* А також існує африканський вид – *M.africanum,* туберкульоз птахів – *Mycobacterium avium,* мишей – *Mycobacterium murium.* Захворювання холоднокровних викликають атипові мікобактерії (за Раньйоном поділяють на 4 групи).

Умовно-патогенні мікобактерії ділять на такі групи (класифікація за Раньйоном): **фотохромогенні**, що утворюють цитриново-жовтий пігмент на світлі; **скотохромогенні**, що утворюють помаранчево-жовтий пігмент у темряві; **нефотохромогенні**, що не утворюють пігменту незалежно від світла; а також виділяють окрему групу бактерій, що швидко ростуть.

Атипові мікобактерії поділяють за відношенням до поживних середовищ, швидкістю росту, за властивістю утворювати пігмент, за каталазною і оксидазною активністю.

МОРФОЛОГІЯ

Мікобактерії туберкульозу – тонкі, часто зігнуті або прямі, короткі або довгі палички. Іноді з незначним потовщенням на кінцях, нерухомі, грамдодатні, не утворюють спор і капсул. Мають мікрокапсулу, яка відділена від клітинної стінки осмієфобною зоною. Цитоплазма молодих культур гомогенна, старих – зерниста.

Мікобактерії туберкульозу дуже поліморфні: паличкоподібні; зернисті; ниткоподібні і форми, які галузяться; кокоподібні; фільтрівні та L-форми. Описано невидимі форми, абацилярні G (дрібні утворення. Серед

туберкульозних мікобактерій є зернисті кислотоподатливі форми з гранулами метафосфату, які забарвлюються за Грамом у фіолетовий колір – **зерна Муха**, і кислотостійкі фрагменти мікобактерій туберкульозу – **осколки Шпленгера.**

Завдяки великому вмісту ліпідів у клітинній стінці мікобактерії погано сприймають анілінові барвники. Діагностичним є метод Ціля-Нільсена, у якому червоні туберкульозні мікобактерії виділяються на синьому фоні; за методом Муха-Вайсса зафарбовуються у фіолетовий колір (йодофільність).

КУЛЬТИВУВАННЯ МІКОБАКТЕРІЙ

Аероби, оптимальна температура росту 37°С, реакція середовища нейтральна (pH 7,0-7,2). Можуть рости і в факультативно анаеробних умовах. Ріст їх стимулює 5-10% CO_2 і додавання до середовища 0,5% гліцерину. Розмножуються шляхом поділу за 14-18 год. Особливістю збудників туберкульозу є їх повільний ріст (через два-три тижні): *M.tuberculosis*, *M.africanum* (проміжний вид) та *M.bovis*. Ростуть на елективних середовищах: згорнутій сироватці крові, гліцериновому агарі, гліцериновій картоплі, гліцериновому бульйоні та яйцевих середовищах – Петрова, Петраньяні і Гельбера, Фінн-II, Дерсе, Левенштейна-Йєнсена, Виноградова, Огава, агарових середовищах Міддбрука. Їх можна культивувати на синтетичному середовищі Сотона, що містить аспарагін, гліцерин, цитрат заліза, фосфат калію, середовищах Дюбо, Проскауера-Гека, Шули, Школьнікова та ін. Мікобактерії туберкульозу потребують відповідної концентрації вітамінів (біотин, нікотинова кислота, рибофлавін та інші), білкового субстрату, гліцерину (за винятком *M.bovis*), твіну-80, вуглецю, хлору, сірки, фосфору, азоту, іонів магнію, калію, натрію, заліза.

на гліцериновому агарі	ріст сухий у вигляді луски риби, наліт біло-жовтого кольору, зморшкуватий, колонії з припіднятим центром, крихкі, нагадують цвітну капусту, далі ріст переходить у бородавки кремового кольору, мають приємний аромат, погано змиваються водою і знімаються з середовища, а при проколюванні потріскують
на гліцериновому бульйоні	утворюють суху жовту плівку (R-форма), яка піднімається на край пробірки, з часом потовщується, стає зморшкуватою, крихкою (інколи падає на дно), бульйон прозорий
на картоплі	ріст у вигляді бородавок сірого кольору
в середовищах, які містять детергент (твін-80)	утворюють рівномірний ріст у товщі середовища
на яєчному середовищі Фінн-II, Левенштейна-Йєнсена, Петрова	колонії мікобактерій туберкульозу можуть бути більш вологими; під впливом антибактеріальних препаратів колонії мікобактерій туберкульозу дисоціюють із типових R-форм в атипові вологі гладенькі S-форми

на середовищах з жовчю	утворюють сірий масляний наліт, який складається з подовжених розгалужених паличок.

M.bovis – мікроаерофіли, ростуть повільніше, дають малий ріст, не потребують гліцерину, як мікобактерії людського типу, піруватзалежні. На щільних середовищах утворюють дрібні кулькоподібні, сіро-білі колонії (S-форми). Оптимальна температура росту туберкульозних мікобактерій птахів 42-43^{o}C.

Для прискореної попередньої диференціації враховують три ознаки: швидкість і умови росту (температура), пігментоутворення і властивість синтезувати нікотинову кислоту (ніацин). За швидкістю росту рід *Mycobacterium* поділяють на три групи: які швидко ростуть – великі колонії, з'являються до 7 доби (18 видів); які повільно ростуть – великі колонії, з'являються через 7 діб (20 видів); мікобактерії, які вимагають спеціальних умов культивування і не ростуть на штучних поживних середовищах (*M.leprae і M.lepraemurium*). Диференціація видів проводиться на основі біохімічних властивостей.

ФЕРМЕНТАТИВНІ ВЛАСТИВОСТІ

У мікобактерій туберкульозу виявлено протеолітичні ферменти, які розщеплюють білок у лужному і кислому середовищах; ферментують алкоголь, гліцерин, численні вуглеводи, лецитин, фосфатиди, сечовину, мають редукуючу властивість, розщеплюють оливкову, касторову олію. Каталазо- і оксидазоактивні. Каталаза термолабільна, інактивується при 68^{o}C упродовж 30 хв. Арилсульфатазадодатні. Мікобактерії туберкульозу синтезують нікотинову кислоту (ніацин), що і використовується для диференціації їх від інших мікобактерій (ніациновий тест – проба Конно).

ТОКСИНОУТВОРЕННЯ

Утворюють **ендотоксин** – білкову речовину (вперше виділена Р.Кохом у 1890 р., названа туберкуліном). Вірулентні штами містять особливий ліпоїд **корд-фактор**, який обумовлює зближення бактеріальних клітин в мікроколонії у вигляді кіс. Вірулентність пов'язана з наявністю жирних кислот і ліпідів. Жирні кислоти мікобактерій викликають токсичну дію на клітини тканин. Фтіоїдна кислота: фосфатидна фракція має властивість викликати специфічну тканинну реакцію з утворенням епітелоїдних клітин, жирова фракція – з утворенням туберкулоїдної тканини. Воскова фракція, яка містить міколову кислоту, викликає реакції з утворенням чисельних гігантських клітин. Збудник переживає в цитоплазмі макрофагів. Сульфатиди знижують активність фагоцитів і підсилюють токсичну дію корд-фактора, який уражує мембрани мітохондрій і порушує функцію дихання.

ХІМІЧНА СТРУКТУРА

Мікобактерії туберкульозу складаються з *туберкулополісахаридів*, які надають їм властивостей антигенів або гаптенів; *туберкулопротеїнів*, що беруть участь в імунних процесах та алергічних реакціях; *туберкулоліпідів і восків.* Виявлено три фракції ліпідів: *фосфатидна*, яка розчинна в ефірі;

жирова, яка розчинна в ефірі і ацетоні; *воскова*, яка розчинна в ефірі і хлороформі. За розчинністю органічних речовин воски поділяють на 4 фракції (A, B, C, D), містять ефіри, кислотостійкі жирні кислоти: міколову, туберкулостеаринову, фтіоїдну, пальмітинову та ін.

АНТИГЕННА СТРУКТУРА

Антигенні компоненти мікобактерій туберкульозу – це білкові, полісахаридні, ліпідні компоненти клітин. Туберкуліновий протеїн (туберкулін) має виражені алергенні властивості.

РЕЗИСТЕНТНІСТЬ

Більш стійкі**,** ніж інші неспороутворюючі бактерії, до кислот, лугів і спирту, що пов'язано з особливостями хімічного складу клітин. Добре витримують висушування, пряме сонячне проміння вбиває їх через 45-50 хв, розсіяне – через 8-10 діб. При нагріванні до 60^{o}С гинуть через 15 хв, а при 70^{o}С – 3 хв. В харкотинні при кип'ятінні гинуть через 5-7 хв. У висохлому харкотинні зберігають життєздатність упродовж декількох тижнів. Резистентні до дії лізоциму. На предметах біля хворого виживають більше 3 місяців, у воді – більше року, в грунті – до 6 місяців. Предмети, що містять мікобактерії туберкульозу, опускають на дві-три години в 3% розчин хлораміну. Тривалий час зберігаються в молочних продуктах.

Для знешкодження патматеріалу (сеча, харкотиння) застосовують хлорне вапно. Хлорновапняне молоко використовують у вигляді 10-20% завісини хлорного вапна у воді, освітлений розчин хлорного вапна у вигляді 1% та 3% розчину. Хлорамін використовують в 3% та 5% розчинах. При додаванні 5% розчину фенолу в однаковому об'ємі до харкотиння мікобактерії гинуть через 6 год, 0,05% розчин бензилхлорфенолу вбиває їх через 15 хв, сулема (1:1000) губить їх через добу.

ПАТОГЕНЕЗ ТУБЕРКУЛЬОЗУ

Туберкульоз – хронічне інфекційне захворювання людини і тварин, при якому уражуються різні органи і системи (легені, лімфатичні вузли, шлунок, кишківник, кістковий апарат, шкіра, очі, нирки і сечовидільні шляхи, статеві органи, центральна нервова система, з утворенням специфічних гранульом-горбиків (від лат. tuberculum – горбик). Звідси і пішла назва туберкульоз.

Туберкульоз викликає три види патогенних мікобактерій: Mycobacterium tuberculosis – людський вид (92%), Mycobacterium bovis – бичачий вид (5%), Mycobacterium africanum викликає туберкульоз людей у країнах тропічної Африки (3%).

ДЖЕРЕЛО ІНФЕКЦІЇ

хвора людина

МЕХАНІЗМ ПЕРЕДАЧІ ІНФЕКЦІЇ

аерогенний

ШЛЯХ ПЕРЕДАЧІ ІНФЕКЦІЇ

повітряно-краплинний

Інкубаційний період при туберкульозі – від кількох тижнів до декількох років. Виділяють первинний, дисемінований і вторинний туберкульоз.

В альвеолах і бронхіальних залозах туберкульозні палички викликають утворення первинного ефекту – бронхопневмотичного фокуса (в легенях це пневмонічне вогнище під плеврою), з якого вони по лімфатичних судинах проникають у регіанарний лімфатичний вузол і викликають специфічне запалення. При зараженні в організмі розвиваються характерні патологоанатомічні утворення – **горбики**. Формуванню гранульом сприяє утворення великої кількості молочної кислоти, низьке значення pH і висока концентрація CO_2.

Характерний ексудативний і продуктивний типи ураження. При ***ексудативному*** типі ураження спостерігається гостра запальна реакція, розвиток набряку, нагромадження поліморфноядерних лейкоцитів і моноцитів навколо мікобактерій, ділянки некрозу. ***Продуктивний*** тип ураження характеризується утворенням гранульом, тобто скупчень великих багатоядерних гігантських клітин Пирогова-Лангганса, які містять мікобактерії туберкульозу, а також фібробластів епітеліальних клітин лімфоцитів і моноцитів. У результаті по периферії гранульоми розвивається фіброзна тканина, а центральна зона зазнає казеозного некрозу, де розміщуються палички Коха. Таке вогнище ураження називають туберкульозним горбиком. Утворення горбиків – це прояв фагоцитарної реакції організму на фосфатиди, які містяться в мікобактеріях туберкульозу. При лікуванні некротичні маси горбика ущільнюються, довкола формується сполучнотканинна капсула, зморщується, просочується солями кальцію і наступає її петрифікація (окаменіння), вогнище Гона. Мікобактерії трансформуються в L-форми і не виділяються з організму. Всередині туберкульозні мікобактерії довго зберігаються життєздатними і можуть загострювати процес при ослабленні організму. В основі специфічного запалення при туберкульозі лежить реакція гіперчутливості IV типу, яка перешкоджає розповсюдженню мікробів по організму.

Інколи горбик може прориватися в просвіт бронха, після чого утворюється порожнина (каверна), яка заповнюється фібринозною тканиною (відкритий процес, мікобактерії виділяються з харкотинням). Вторинний туберкульоз (*ендогенна інфекція*) спричиняється мікобактеріями, що збереглися у первинному вогнищі, характеризується утворенням хронічних вогнищ ураження у вигляді туберкульозних горбків казеозного некрозу і фіброзу. Серед осіб, що зазнали *екзогенної суперінфекції*, захворюваність на вторинний туберкульоз зростає у 3-5 разів. Захворювання зростає при ослабленні імунітету організму, стресах, при неповноцінному харчуванні, важкій праці, поганих санітарних умовах, при імунодефіцитах та інших ендогенних факторах, а також в осіб похилого і старечого віку. Можлива генералізація туберкульозного процесу з ураженням сечостатевих органів, кісток, суглобів, мозкових оболонок, шкіри, очей.

Часто характерним є “період латентного мікробізму” – стан, при якому мікобактерії не викликають запальних реакцій і вільно дисемінують по

організму бронхо-, лімфо- і гематогенно (закритий процес). У більшості випадків первинні вогнища заживають з повною деградацією вмісту, його фіброзом паренхіми і кальцифікацією.

Близько 80% людей інфіковані мікобактеріями туберкульозу, але не всі хворіють на туберкульоз. Це залежить від опірності організму та сприятливих умов. Первинне вогнище або збільшені бронхолегеневі лімфатичні вузли можна виявити рентгенологічно. Клінічні прояви туберкульозу різні, і це пов'язано з місцем ураження, вірулентністю мікроорганізму і стійкістю макроорганізму. В людей часто буває легенева форма туберкульозу, але туберкульоз може уражувати різні тканини (кісткову, нирки, суглоби, очі і т.д.). Туберкульоз перебігає як хронічне захворювання, але у випадку проникнення з первинного вогнища в кров великої кількості туберкульозних мікобактерій може приймати гостру, десимінована міліарну (просовидну) форму. Може уражуватися мозок і його оболонки.

Симптоми захворювання туберкульозу легень – лихоманка, похудіння, нічне потіння, втомлюваність, втрачений апетит, невеликий підйом температури ввечері, кашель, часто з кровохарканням. При рентгеноскопії легень виявляють затемнення різного ступеня: вогнищеві або дифузні. Клінічна класифікація виділяє *три основні форми*: первинна туберкульозна інтоксикація у дітей і підлітків, туберкульоз органів дихання, туберкульоз інших органів і систем. У нещеплених осіб первинний туберкульоз має досить тяжкий перебіг.

Захворювання, які викликають більше 40 видів з роду *Mycobacterium,* отримали назву мікобактеріозів.

Розрізняють три типи мікобактеріозів:

1) генералізовані інфекції з патологоанатомічними змінами, що нагадують туберкульозні, але гістологічно відрізняються від них;

2) локалізовані інфекції, які характеризуються наявністю макро- і мікроскопічних уражень;

3) інфекції, які перебігають без розвитку видимих уражень (їх виявляють у лімфатичних вузлах внутрішньоклітинно або позаклітинно). Захворювання туберкульозом і його розповсюдження залежить від соціально-побутових умов життя, оскільки вроджена стійкість та імунітет, набутий до туберкульозу, визначають дані умови.

Поряд з типовими патогенними видами мікобактерій туберкульозу (*M.tuberculosis, M.bovis*) виділені і вивчені ***умовно-патогенні атипові мікобактерії.***

M.kansasii	спричиняють хронічний мікобактеріоз легень, шийні лімфаденіти (скрофули), ураження суглобів, нирок, мозкових оболонок, шкіри
M.intracellulare	ураження лімфатичних вузлів, нирок, суглобів, мозкових оболонок і шкіри
M.simiae	ураження легень
M.avium	ураження легень, нирок, шкіри, кістково-суглобової системи
M.szulgui	ураження легень, лімфатичних вузлів, шкіри, бурсіти

	ліктьового суглобу
M. xenopi	ураження дихальних шляхів у пацієнтів з імунодефіцитами, сечостатевих органів і шкіри, шпитальні інфекції
M.ulcerans і M.marinum	хронічне ураження шкіри верхніх і нижніх кінцівок
M.scrofullaceum	ураження лімфатичних вузлів у дітей, рідше ураження легень
M.haemophilum	викликає гнійні лімфаденіти
Сапрофіти: *M.fortuitum і M.friedmanii*	викликають абсцеси у наркоманів при ін'єкціях, контамінують різні об'єкти
M.malmoense	викликає хронічні легеневі ураження, шийні лімфаденіти у дітей

ІМУНІТЕТ

Людина має вроджену несприйнятливість до туберкульозу. Оскільки туберкульозні мікобактерії довго залишаються життєздатними в горбиках, то це приводить до "нестерильного інфекційного" імунітету, наявності в організмі L-форм мікобактерій та "імунологічної пам'яті".

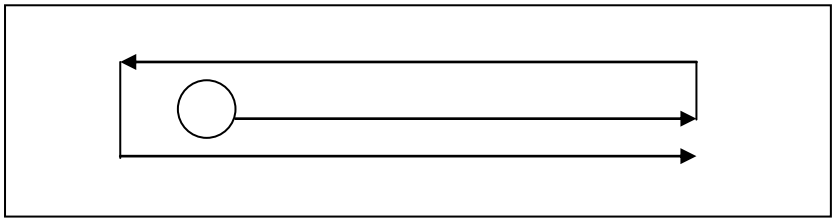

Схема бактеріоскопії

МЕТОДИ МІКРОБІОЛОГІЧНОЇ ДІАГНОСТИКИ ТУБЕРКУЛЬОЗУ

Матеріал на дослідження	**Основні методи дослідження**	**Середовища**
харкотиння **гній** **сеча** **спинномозкова рідина** **кров** **випорожнення** **пунктат лімфатичних**	Мікроскопічне (метод Ціля-Нільсена); ***люмінесцентна мікроскопія*** з аурамін-родаміном у розведенні 1:1000, ***фазово-контрастна мікроскопія; експрес-діагностика*** - РІФ і ПЛР; метод Мурогаші-Йошіда - живі мікобактерії зелені, а мертві – червоні; ***бактеріологічний метод***, метод мікрокультур	середовища Левенштейна-Йєнсена і Фінн-II, Петраньяні - підрахунок колоній

вузлів	Прайса, проба Конно (синтез ніацину); ***біологічний метод, алергічний метод*** (проба Манту); ***серологічний метод*** – РНГА, РЗК, реакцію преципітації, ІФМ, РІА, імуноблотинг, агрегат-гемаглютинації	
промивні води шлунка і бронхів		
ексудат із порожнин		
молочні продукти		

ЗАБІР МАТЕРІАЛУ

проводиться під наглядом середнього медичного працівника

харкотиння	**аерозольний інгалятор** типу АІ-1 або дати відхаркуючи (15% розчин хлориду натрію в 1% розчині бікарбонату натрію).
промивні води шлунка	за допомогою товстого зонда, даючи випити перед тим 100-150 $см^3$ розчину бікарбонату натрію для нейтралізації кислої реакції шлункового вмісту.
сечу	забирають стерильним катетером, або беруть середню порцію ранішньої сечі
промивні води бронхів	отримують при ларингоскопії
ексудати, асцитична рідина, пунктати, СМР	асептично за допомогою шприца
шматочки тканини	беруть стерильно під час операції

Міжнародний союз у боротьбі з туберкульозом дотримується такої схеми кількісної оцінки: > 50/100 в полі зору – відповідає значному, 10 – 50/100 в полі зору – помірному і 50/300 в полі зору – незначному бактеріовиділенню.

Якщо бактеріоскопічно мікобактерії виявити не вдається, необхідно заражати морських свинок.

Якщо в матеріалі міститься невелика кількість мікобактерій (не менше 100 000 в 1 $см^3$ харкотиння) і у звичайних мазках їх виявити неможливо, застосовують ***методи збагачення:*** *гомогенізації і флотації.*

Застосовують також ***метод мікрокультур Прайса***, який дає змогу отримати культуру мікобактерій туберкульозу в короткий термін (***прискорений метод діагностики туберкульозу***). На скляні пластинки розміром 70х12 мм, простерилізовані в сушильній шафі, готують із досліджуваного матеріалу декілька препаратів-мазків, як для мікроскопії. Після підсихання мазків беруть стерильним пінцетом і занурюють на 5 хв у стерильний 6% розчин сірчаної кислоти. Препарати промивають стерильним фізіологічним розчином і занурюють в середовище Прайса. До середовища Прайса додають розчин пеніциліну з розрахунку 10 ОД антибіотика на мілілітр середовища.

Поміщають у термостат при 37°С на 7-10 діб. Після культивування для виявлення мікобактерій туберкульозу мазки відмивають від крові: занурюють обережно в склянку з водою. Скельця висушують, мазок-мікроколонію фіксують над вогнем і забарвлюють за методом Ціля-Нільсена: мікобактерії туберкульозу мають вигляд кіс, джгутів або масивних нагромаджень у мікрокультурі. Авірулентні сапрофітні і атипові мікобактерії в мазках товстіші, інколи менш інтенсивно забарвлені і, як правило, не утворюють сплетіння кіс.

Одним із прискорених методів діагностики є ***метод Е.А.Школьнікова:*** метод глибинного посіву на кров'яну сироватку. Патматеріал обробляють 8-12% розчином сірчаної кислоти і центрифугують. Осад двічі промивають стерильною дистильованою водою і петлею засівають у 3 пробірки з 5 $см^3$ спеціального середовища (цитратна кров людини, кролика або барана, перед посівом розведена дистильованою водою 1:2, 1:3). Посів проводять у глибину кров'яного середовища. Пробірки парафінують і ставлять у термостат при 37°С на 7-10 або 15-20 діб. Після культивування вміст пробірки центрифугують, а осад промивають дистильованою водою. Кожну пробірку досліджують окремо за часом. З осаду готують мазки за Цілем-Нільсоном і розглядають під мікроскопом.

Диференціацію мікобактерій проводять за біологічними і біохімічними ознаками: за швидкістю росту, утворенням пігменту, відсутністю росту на простих поживних середовищах і при температурі 20-25°С, за каталазною активністю, пероксидазною активністю, термостабільністю каталази, за редукцією нітратів, первинною стійкістю до препаратів – стрептоміцину, ізоніазиду, ПАСК.

З біохімічних властивостей визначають властивість досліджуваної культури **синтезувати нікотинову кислоту**. Тест заснований на властивості мікобактерій людського типу синтезувати ніацин у значно більшій кількості, ніж мікобактерії бичачого типу і нетуберкульозні мікобактерії. Ніацинова ***проба Конно:*** до культури мікобактерій у рідкому поживному середовищі додають 1 $см^3$ розчину KCN і 1 $см^3$ 5% розчину хлораміну. При наявності ніацину через декілька хвилин з'являється яскраво-жовте забарвлення. Для нейтралізації KCN після врахування результатів реакції у пробірці додають 3-5 $см^3$ 10% розчину гідрокарбонату натрію. Цей тест дозволяє відрізнити мікобактерії туберкульозу, які синтезують нікотинову кислоту, від паличок *M.bovis*, які синтезують її в малій кількості.

Для внутрішньовидової диференціації *M.tuberculosis* розроблена система класифікації, яка заснована на ***фаготипуванні*** штамів за допомогою набору з десяти мікобактеріофагів: 4 основних і 6 допоміжних.

Алергічний метод. Ставиться внутрішньошкірна проба Манту з туберкуліном: вводять 0,1 $см^3$ розведеного 1:1000 туберкуліну в передпліччя паралельно поверхні шкіри. Облік проводиться через 24-48-72 год. Враховується діаметр інфільтрату (5 мм і більше) і гіперемія на місці введення туберкуліну, проба вважається додатною. Негативна реакція Манту у хворих туберкульозом вказує на відсутність імунітету. Позитивна реакція Манту у хворих дітей може бути діагностичним тестом туберкульозного процесу.

Реакція Манту ставиться дітям з 12-місячного віку один раз на рік і 5-7 років та до 30 років. Облік реєструється в книзі обліку туберкулінових проб.

Серологічний метод. Для серодіагностики використовується РНГА Мілдбрука-Дюбо. Як антиген використовують сенсибілізовані еритроцити (оброблені таніном еритроцити барана або людини О-групи). Їх змішують з екстрактом туберкульозних мікобактерій або очищеним туберкуліном (0,5 $см^3$ осаду еритроцитів і 10 $см^3$ екстракту), витримують 2 год при 37°С і відмивають центрифугуванням для звільнення від надлишку антигена. Для проведення досліду сироватку хворого виснажують завісою еритроцитів, які не оброблені антигеном, для запобігання неспецифічній реакції. Сироватку хворого розводять, починаючи з 1:2, 1:4, 1:8 і більше. Діагностичний титр сироватки 1:8 реєструється в 70-90% хворих туберкульозом людей.

Для виявлення антитіл можна застосовувати реакцію аглютинації. Сироватку крові хворого розводять ізотонічним розчином хлориду натрію від 1:40 до 1:640. Як антиген застосовують некислотостійкі культури мікобактерій туберкульозу, які отримані під дією пеніциліну і серологічно подібні з *M.tuberculosis*. Реакція високочутлива.

РЗК при хронічній легеневій формі туберкульозу позитивна у 80%, при туберкульозі шкіри – у 20-25% і в здорових людей – у 5-10% випадків. Із серологічних реакцій для діагностики туберкульозу застосовують також реакцію преципітації, методи імуноферментного аналізу, радіоімунний метод, імуноблотинг, реакцію агрегат-гемаглютинації (для виявлення ЦІК).

Додаткові лабораторні методи включають оцінку імунного статусу пацієнта, що має прогностичне значення, оскільки у хворих з дефектами Т-лімфоцитів прогноз гірший.

ПРОФІЛАКТИКА

Забезпечується ранньою діагностикою, своєчасним виявленням хворих, диспансеризацією населення, знезаражуванням молока і м’яса хворих тварин, поліпшенням умов праці і побуту населення, підвищенням його матеріального і культурного рівня.

СПЕЦИФІЧНА ПРОФІЛАКТИКА

Для активної імунізації дітей на 3-7 день після народження вводять внутрішньошкірно у зовнішню поверхню лівого плеча вакцину БЦЖ (Bacille Calmette Guerin). Вакцина отримана французькими вченими Кальметом і Гереном, які 13 років вирощували збудника бичачого типу (штам Лейт-Нокар-Альфор) на гліцерино-картопляному середовищі з додавання жовчі. Культура втратила свою вірулентність і стала нешкідливою для тварин навіть у великих дозах. При цьому вона приживається в організмі і створює нестерильний імунітет проти туберкульозу.

Ослабленим дітям можна вводити БЦЖ–М зі зменшеною вдвоє дозою і кількістю живих мікробних особин. Ревакцинація проводиться в 6-7, 11-12, 16-17, 22-23, 27-30 років особам, які мають від’ємну внутрішньошкірну пробу Манту (5 ТО /0,1 $см^3$). Перед введенням необхідно ознайомитися з етикеткою, переконатися в цілісності ампули, інструкцією використання

вакцини, терміном використання, звернути увагу на умови зберігання (в холодильнику).

ЛІКУВАННЯ

Застосовують протитуберкульозні хіміотерапевтичні препарати першого ряду (стрептоміцин, рифампіцин, ізоніазид, етамбутол, піразинамід – комбінують два препарати) та альтернативні препарати (канаміцин, циклосерин, парааміносаліцилова кислота – ПАСК, етіонамід, віоміцин, капреоміцин і тіоацетазон). При наявності супутньої мікрофлори і множинної лікарської стійкості мікобактерій застосовують фторхінолони (максаквін) і альдозон (похідні ізоніазиду). При застосуванні цих препаратів необхідно здійснювати медичний контроль, особливо у вагітних жінок і дітей. Лікування тривале (не менше року). У комплекс лікувальних заходів входять: раціональне харчування, вітаміно- й аеротерапія, лікувальна фізкультура, курортне лікування. В окремих випадках доцільне хірургічне втручання.

МІКОБАКТЕРІЇ ЛЕПРИ

Збудник лепри (від грецького *lepra* – проказа) відкритий норвезьким лікарем Г.Гансеном (1873) і Найссером (1874). Викликається лепра *Mycobacterium leprae.*

МОРФОЛОГІЯ

Мікобактерії лепри – прямі або злегка зігнуті палички, кінці загострені або потовщені, нерухомі, спор і капсул не утворюють, джгутиків не мають, облігатні внутрішньоклітинні паразити. В уражених тканинах розташовуються всередині клітин, утворюючи щільні кулькоподібні скупчення – лепрозні кульки до 200 мкм - пачки папіросів, оточені напівпрозорою незабарвленою масою. Кислото- і спиртостійкі, зафарбовуються за методом Ціля-Нільсена в червоний колір, грамдодатні. У клітинній стінці міститься міколова і лепрозинова оксикислота ($C_{88}H_{174}O_6$), вільні жирні кислоти, віск (лепрозин), алкоголі, полісахариди. Мікобактерії поліморфні: в лепрозних вузликах можуть зустрічатися зернисті, кокоподібні, булавоподібні, ниткоподібні, розгалужені форми.

КУЛЬТИВУВАННЯ

Mycobacterium leprae не культивують на поживних середовищах. В 1960 р. була створена експериментальна модель із зараженням білих мишей в подушечки лапок, а в 1971 р. Сторрс провів зараження броненосців-армадилів, у яких розвинувся специфічний генералізований процес і нагромадження мікобактерій лепри в уражених тканинах (печінці, селезінці, лімфатичних вузлах). В теперішній час встановлено природний шлях інфікування броненосців (зареєстровано в Техасі і Луізіані) і мавп мангобеїв *(Cerocebus).* Збудника культивують в організмі мишей і щурів.

ФЕРМЕНТАТИВНІ ВЛАСТИВОСТІ. У мікобактерій, що виділені з тканин хворого, виявлено цитохромоксидазу, лужну фосфатазу і фенолоксидазу.

ТОКСИНОУТВОРЕННЯ. Утворюють ендотоксин і алергени.

АНТИГЕННА СТРУКТУРА. З екстракту лепроми виділені два антигени: термостабільний полісахаридний (груповий для мікобактерій) і термолабільний білковий, високоспецифічний для лепрозних паличок.

РЕЗИСТЕНТНІСТЬ. Властивості збудника, його реакція на вплив факторів навколишнього середовища вивчені недостаньо. Поза організмом збудник лепри швидко втрачає свою життєздатність, але довго може зберігатися в трупах людей.

ПАТОГЕНЕЗ ЛЕПРИ

Лепра (або хвороба Гансена) або **проказа** – хронічне генералізоване інфекційне захворювання, яке характеризується ураженням шкіри, слизових оболонок, периферичної нервової системи і внутрішніх органів та утворенням на шкірі вузликів (лепроматозна форма) або плямок зі зміненою чутливістю і пігментацією (туберкулоїдна форма).

ДЖЕРЕЛО ІНФЕКЦІЇ

хвора людина

МЕХАНІЗМ ПЕРЕДАЧІ ІНФЕКЦІЇ

аерогенний

ШЛЯХ ПЕРЕДАЧІ ІНФЕКЦІЇ

через ушкоджену шкіру, предмети і повітряно-крапельним шляхом

Інкубаційний період 3-6 років і навіть до 20-35 років

Досвід країн Норвегії та Ісландії показує, що хворого не обов'язково поміщати в лепрозорій, – досить його лише ізолювати і дотримуватись елементарних санітарно-гігієнічних норм. У розповсюдженні інфекції вирішальну роль відіграють соціально-економічні фактори. Особливо висока захворюваність у країнах Третього світу. Інколи хвороба набуває епідемічного характеру з тяжким перебігом (Науру – Нова Каледонія).

Клінічні ознаки: лихоманка, слабкість, втрата апетиту, біль у кістках. Інколи хвороба перебігає латентно.

Клінічно виділяють п'ять форм лепри:

1) полярна туберкулоїдна;
2) погранична туберкулоїдна;
3) недиференційована;
4) погранична лепроматозна;
5) полярна лепроматозна.

Локалізуються на обличчі (дуги над бровами, лоб, крила носа, підборіддя, щоки) і дистальних відділах кінцівок у вигляді суцільних інфільтратів, які мають червоно-буре забарвлення. У хворих спостерігається випадання брів і вій, а вузли й інфільтрати надають обличчю своєрідного виразу, відомого як "обличчя лева". Характерні ураження очей – лімбіти, кератосклерити, іридоцикліти й увеїти, які ослаблюють зір і викликають сліпоту. Лімфатичні вузли, особливо стегнові, пахові і ліктьові, часто збільшені і містять велику кількість збудника. Спостерігають також лепроматозні періостити й остити, які

викликають остеопорози і остеомаляції. Інколи відзначають гепатоспленомегалію. Анестезії гранульом не спостерігають, вони можуть зберігатися багато років, розсмоктуватися або рубцюватися. На слизовій носа мікобактерії виявляють у великій кількості.

ІМУНІТЕТ

Відбувається зміна імунокомпетентних клітин Т-системи імунітету: знижується число і активність Т-лімфоцитів і як наслідок втрачається властивість реагувати на антигени мікобактерій лепри. **Реакція Міцуди** на введення в шкіру **лепроміну** у хворих лепроматозною формою від'ємна внаслідок глибокого пригнічення клітинного імунітету. У хворих туберкулоїдною формою лепри – додатна. Ця проба використовується як прогноз, який характеризує ефект лікування. Гуморальний імунітет не порушується. В крові хворих виявляються антитіла у високих титрах до мікобактерій лепри. При лепроматозній формі хвороби фагоцитоз носить незавершений характер, не спостерігається бласттрансформації лімфоцитів і пригнічення міграції макрофагів.

ДІАГНОСТИКА ЛЕПРИ

бактеріоскопія	слизової оболонки носа і шкірних вузликів, бактеріоскопія харкотиння, крові, лімфатичних вузлів
функціональні проби	пробу з гістаміном (1:10 000), морфіном (1%), діоніном (2%) на шкірі
проба Мінора	шкіру змазують 2-5% спиртовим розчином йоду і після підсихання посипають тонким шаром крохмалю, пізніше викликають у хворого сильне виділення поту; в уражених ділянках шкіри немає виділення поту, а тому не виникає синього забарвлення від сполучення йоду з крохмалем.
біологічна проба	внутрішньовенне зараження армадил (броненосців)
алергічна проба	алерген Міцуди – лепромін: вводять внутрішньошкірно 0,1 $см^3$. Через 24-48 год на місці введення з'являється еритема і невелика папула (рання реакція), а до кінця місяця – вузлик діаметром 1-2 см з некрозом у центрі (пізня реакція).
серодіагностика	РЗК, РНГА

ПРОФІЛАКТИКА

Зводиться до підвищення рівня життя населення. Комплекс заходів проводять протилепрозні заклади. Хворих лепрою лікують в лепрозоріях до клінічного виздоровлення, а пізніше амбулаторно. Члени сім'ї також перебувають на диспансерному обліку. Індивідуальна профілактика – це дотримання правил особистої гігієни.

СПЕЦИФІЧНА ПРОФІЛАКТИКА

Після тривалих досліджень вдалося отримати вакцину проти лепри.

ЛІКУВАННЯ

Лікування проводять сульфоновими препаратами, які вперше застосовані Фейджетом в 1943 р., і антибіотиками (діафенілсульфон, солюсульфон, дапсон, діуцифон; рифампіцин, протіонамід, клофазимін, лампрен, етіонамід та ін.). Застосовують і десенсибілізуючі засоби, препарати для лікування туберкульозу, а також біостимулятори. Розробляються методи імунотерапії.

Питання для самоконтролю

1. Перелічіть основні види мікобактерій, які викликають туберкульоз у людини.
2. Які особливості мікробіологічної характеристики збудника туберкульозу?
3. Які токсини утворюють мікобактерії? Антигенна структура.
4. Джерело, механізм і шлях зараження туберкульозу.
5. Який імунітет до туберкульозу?
6. Як беруть матеріал для дослідження ? Способи забору. Підготовка для посіву.
7. Які основні методи дослідження? Мета алергічної проби Манту.
8. Як середовища для первинного посіву та ідентифікації?
9. Назвіть тести для ідентифікації кислотостійких і некислотостійких мікобактерій.
10. В чому суть серодіагностики туберкульозу?
11. З якою метою і як визначають чутливість мікобактерій туберкульозу до антибактеріальних препаратів?

Тестові завдання

1. Для створення активного імунітету в людини використовуються численні вакцинні препарати. Який препарат представлено живими атенуйованими бактеріями ?

A. Вакцина АКДП
B. Вакцина БЦЖ
C. Вакцина Солка
D. Вакцина ТАБТе
E. Вакцина проти гепатиту A

2. Які препарати застосовуються для лікування туберкульозу ?

A. Стрептоміцин
B. Рифампіцин
C. ПАСК
D. Фтівазид
E. Ізоніазид

3. У хворого після комплексного обстеження діагностовано лепру. Яка шкірно-алергічна реакція має вирішальне значення у встановленні діагнозу ?

A. Діка
B. Молоні
C. Міцуди
D. Кумбса
E. Шика

4. Який механізм передачі інфекції при туберкульозі легень ?
A. Аерогенний
B. Трансмісивний
C. Контактний
D. Фекально-оральний
E. Вертикальний

5. Які з перелічених середовищ застосовують для культивування туберкульозних мікобактерій ?
A. Фінн 2
B. Левенштейна-Йєнсена
C. Сотона
D. Ендо
E. Плоскірєва

6. В школі-інтернаті медсестрі необхідно провести постановку проби Манту. Вкажіть, який алерген використовується для постановки проби Манту?

A. Бруцелін
B. Тулярин
C. Туберкулін
D. Токсоплазмін
E. Антраксин

7. При мікроскопії мазка з харкотиння забарвленого за методом Ціля-Нільсена виявлено тонкі, злегка зігнуті, поліморфні, червоні палички. Вкажіть, який збудник виявлено в мазку ?
A. Коринебактерії дифтерії
B. Бордетели коклюшу
C. Стрептококи
D. Пневмококи
E. Мікобактерії туберкульозу

8. Проведенно дослідження харкотиння від пацієнта Р. та виявлено збудника туберкульозу. Який лабораторний тест є ключовим для диференціації Mycobacterium tuberculosis від інших мікобактерій ?
A. Ферментація еритрола
B. Гідроліз міколової кислоти
C. Утворення пігмента на світлі

D. Утворення ніацину
E. Фарбування за Ціль-Нільсоном

9. При мікроскопії мазків-препаратів, виготовлених з культур із середовища Прайса та забарвлених за методом Ціля-Нільсена, виявлено мікроорганізми червоного кольору у вигляді "кіс" або "джгутів". Для яких мікроорганізмів характерна така мікроскопічна картина ?
A. Збудників дифтерії
B. Збудників чуми
C. Збудників туберкульозу
D. Збудників коклюшу
E. Збудників туляремії

10. Туберкулінова внутрішньошкірна проба Манту є специфічним діагностичним тестом. Результати алергійної проби оцінюють через 72 год. Коли його оцінюють як позитивний ?
A. При діаметрі папули 5 і більше мм
B. При діаметрі гіперемії 5-10 мм
C. При діаметрі папули 3-7 мм
D. При діаметрі гіперемії 7-15 мм

11. Яку вакцину застосовуєть для специфічної профілактики туберкульозу ?
A. АКДП
B. БЦЖ
C. Вакцина СТІ
D. Вакцина проти поліомієліту
E. Протичумна вакцина

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ПАТОГЕННИХ СПІРОХЕТ

Патогенні спірохети належать до родини *Spirochetaceae,* порядку *Spirochaetales*. Родина складається з 5 родів. Збудники захворювання людини належать до 3 родів:

1) *Treponema* (збудник сифілісу – *T.pallidum*, збудник фрамбезії – *T.pallidum subsp. tenue*, збудник пінти – *T.carateum*);

2) *Borrelia* (збудник епідемічного поворотного тифу – *B.recurrentis*, збудники кліщового поворотного тифу – *B.persica, B.hispanisa* та ін.)

3) роду *Leptospira* родини *Leptospiraceae* (збудник лептоспірозу – *L.interrogans*).

Дослідження ДНК-гомології дозволили систематизувати *T.pertenue* і *T.bejei,* які раніше вважали окремими видами як підвиди *T.pallidum.* Відповідно виділяють *T.pallidum* підвид *pallidum, T.pallidum* підвид *pertenue і T.pallidum* підвид *endemicum.*

Патогенні спірохети – тонкі, довгі, кручені, рухомі мікроорганізми, які відрізняються один від одного за розмірами, глибиною спіралі, амплітудою і кількістю вигинів. Спірохети розрізняють також за реакцією на зафарбування. За методом Романовського-Гімзе добре забарвлюються борелії – в синьо-фіолетовий колір – і дуже слабо трепонеми – в блідо-рожевий колір. В живому стані патогенність спірохети можна виявити при мікроскопії досліджуваного матеріалу в темному полі зору. Рухомі, мають 4 види руху: поступальний, згинальний, обертовий і маятникоподібний.

Захворювання, які викликають спірохети, називаються спірохетозами. Вони мають певні спільні ознаки в патогенезі, клініці та епідеміології захворювань. Так, для спірохетозів характерний циклічний перебіг захворювань, особливо при поворотному тифі, який перебігає з повторними нападами лихоманки. Сифіліс також проходить у вигляді послідовних стадій. Наявність рецидивів спостерігається і при лептоспірозі. При всіх спірохетозах збудник виявляється в крові і тканинах. Поворотний тиф є типовою кров'яною інфекцією, передача якої можлива лише через кровососів (воші, кліщі). При сифілісі спірохети розмножуються в основному в тканинах, а на деяких стадіях перебувають у крові. При лептоспірозі спірохети також виявляють у крові і тканинах.

До родини *Spirochetaceae і Leptospiraceae* входять сапрофіти і патогенні види бактерій. До сапрофітів належать роди *Spirochaeta і Cristispira*, що є великими клітинами розміром 200-500 мкм із загостреними або тупими кінцями, деякі з них мають крипти (хвилясті гребені). Патогенні спірохети живуть на мертвих субстратах, у забруднених водоймах, у кишківнику холоднокровних тварин, у природних умовах живуть і непатогенні лептоспіри.

ТРЕПОНЕМА СИФІЛІСУ

Збудник *Treponema pallidum* (від лат. *trepo* – повертати, *nemo* – нитка) відкритий в 1905 р. Ф.Шаудіном і Е.Гоффманом. Стара назва збудника – бліда спірохета зумовлена тим, що мікроорганізм погано забарвлюється аніліновими барвниками внаслідок низького вмісту нуклеопротеїдів.

МОРФОЛОГІЯ ТРЕПОНЕМ

T.pallidum – тонкі клітини спіралеподібної форми з 12-14 завитками, кінці загострені або заокруглені. При електронній мікроскопії виявлено тришарову зовнішню мембрану, під якою розташовані базальні тіла, фібрили діаметром 17 нм. Вони утворюють осьову нитку, яка закручена навколо протоплазматичного циліндра спірохети. У цитоплазмі бактерій є рибосоми, вакуоля нуклеоїду і мезосоми. На обох кінцях розташовані блефаропласти, від яких відходять по 3 периплазматичних джгутики. В організмі тварин виникає капсулоподібний чохол мукополісахаридної природи. Розмножуються поперечним поділом. Грамвід'ємні. Хоча є дані, що за Грамом вона не виявляється. Спор і капсул не утворюють. За методом Романовського-Гімзи

забарвлюються у блідо-рожевий колір. У темному полі зору мікроскопа в живому стані трепонеми мають вигляд білої спіралі. Їх можна також виявити в препаратах за методом Бурі. При фарбуванні сріблення за Морозовим трепонеми коричневі або майже чорні.

Під впливом факторів навколишнього середовища і лікарських засобів трепонеми згортаються в клубки, утворюючи цисти, покриті муциноподібною непроникною оболонкою і L-форми. Цисти можуть зберігатися в латентному стані і за сприятливих умов перетворюються в зерна, а потім у типові спіралеподібні трепонеми. Цистоутворення – одна із форм захисту трепонем, яка дає їм змогу протистояти дії лікарських засобів.

Висловлено припущення про існування життєвого циклу у *T.pallidum*, в якої крім спіралевидної форми, є зерниста стадія і стадія цистоподібних сферичних тілець. Зернисті форми даних мікроорганізмів можуть проходити через бактеріальні фільтри.

КУЛЬТИВУВАННЯ ТРЕПОНЕМ

Бліда трепонема не росте на звичайних поживних середовищах. Культивується при 35^{o}С в строго анаеробних умовах у середовищах – МПБ і печінковому бульйоні, які складаються з кролячої або кінської сироватки або сироватки людини з додаванням шматочка мозкової або ниркової тканини під шаром вазелінової олії упродовж 5-12 діб. Використовують бульйон з бичачого серця з тіогліколятом Na. Ростуть на середовищах з 11 амінокислот, з вітамінами, солями, сироватковим альбуміном. Ростуть на середовищі Аристовського, Гельтцера, на штучних середовищах – культуральні культури. Їх можна вирощувати в курячому ембріоні на хоріоналантоїсній оболонці (тканинні культури).

Колонії дрібні. На середовищі 199 з печінковим бульйоном і кролячою сироваткою можна отримати ріст через 7-9 діб.

Тривале культивування на штучних середовищах приводить до втрати вірулентності і антигенних властивостей трепонем, тому використовують пасажі на кролях в тканині яєчок, при цьому зберігаються вірулентні властивості трепонем у лабораторних умовах.

ФЕРМЕНТАТИВНІ ВЛАСТИВОСТІ ТРЕПОНЕМ

Відновлюють нітрат срібла в металеве срібло, яке відкладається на поверхні мікроба і робить його видимим у тканинах при сріблені. Штам VIII може зброджувати вуглеводи: глюкозу, галактозу, сахарозу, мальтозу і маніт до кислоти, а штам IX розкладає лише глюкозу. “Казанські штами” I, IV, штам Райтера, ставропольські штами VI, VII, VIII і X утворюють індол і сірководень. Деякі розріджують желатину.

Культуральні штами збудника сифілісу різняться між собою такими ознаками: зміною pH середовища, ступенем анаеробіозу, утворенням індолу, сірководню, ставленням до вуглеводів. Деякі штами спричиняють гемоліз еритроцитів людини, барана, коня, морської свинки. Каталазо-, уреазо- і оксидазовід’ємні. Реакція Фогеса-Проскауера від’ємна, не відновлюють нітрати.

ТОКСИНОУТВОРЕННЯ ТРЕПОНЕМ

Виділяють ендотоксин. Факторами патогенності є ліпопротеїни, які беруть участь у розвитку імунологічних процесів.

АНТИГЕННА СТРУКТУРА ТРЕПОНЕМ

полісахаридний антигенний комплекс	антигени полісахаридної природи малоімуногенні
ліпідний антигенний комплекс	з'являється в результаті зруйнування клітин тканин – в основному ліпідів мітохондріальних мембран; володіють властивостями авто антигенів; антитіла з'являються на 5-6 тиждень після зараження; становлять близько 30% сухої ваги клітини
протеїновий антигенний комплекс	мають в своєму складі фракцію, загальну для патогенних трепонем і сапрофітних трепонем, проти яких синтезуються групові антитіла; антигени високоімуногенні, антитіла проти них з'являються в організмі в кінці інкубаційного періоду або в перший тиждень після появи твердого шанкру

ПАТОГЕНЕЗ СИФІЛІСУ

Сифіліс – хронічне венеричне інфекційне захворювання, при якому уражується шкіра, слизові оболонки, внутрішні органи і центральна нервова система.

ДЖЕРЕЛО ІНФЕКЦІЇ

хвора людина

МЕХАНІЗМ ПЕРЕДАЧІ ІНФЕКЦІЇ

прямий контакт (статевий), вертикальний

per rectum (гомосексуальний контакт) і *per os* (феллаціо)

ШЛЯХ ПЕРЕДАЧІ ІНФЕКЦІЇ

прямий контакт, від хворої матері до дитини через плаценту (трансплацентарний шлях); рідко при користуванні загальним посудом, рушником та іншими предметами

Вхідні ворота – ушкоджена шкіра, слизові оболонки сечостатевих органів і рідше ротової порожнини.

Інкубаційний період 3-4 тижні, інколи до 6 місяців. Проникають швидко і доходять до лімфатичних вузлів, а звідти – в кров і розносяться по всьому організму.

Слово "сифіліс" вперше з'явилося в поемі видатного італійського вченого, лікаря, філософа і поета з Верони Джіроламо Фракасторо "Сифіліс",

або “французька хвороба”, яка видана у Венеції в 1530 р. За ім’ям героя поеми пастуха Сіфіла, якого боги покарали хворобою статевих органів (*Sys* – свиня, *philos* – любячий), хворобі присвоєно назву “сифіліс”.

Сифіліс класифікують на:

1. Первинний сифіліс
2. Вторинний сифіліс
3. Третинний сифіліс
4. Четвертинний період – сифіліс нервової системи (прогресивний параліч, сухотка спинного мозку).

Ознакою **первинного сифілісу** є утворення виразки, первинної сифіломи – твердого шанкру (від фр. *chancre* – виразка). Трепонему легко виявити в тканиному соці, лімфатичних вузлах. При цьому збільшуються і стають твердими регіонарні лімфатичні вузли – розвивається сифілітичний лімфаденіт. Збудник розмножується в лімфі, яка містить у 200 разів менше кисню, ніж артеріальна, і в 100 разів менше, ніж венозна кров. Виразка виліковується і утворюється рубець. Триває 6-7 тижнів. До кінця первинного періоду кількість трепонем досягає максимуму, і вони через грудну лімфатичну протоку масами проникають в підключичну вену, викликають септицемію. У деяких хворих септицемія супроводжується лихоманкою, болем голови, ломить у кістках, суглобах. Первинний сифіліс поділяють на серонегативний, серопозитивний, прихований і вроджений. У деяких випадках проявів первинного сифілісу може і не бути, і через 10-11 тижнів після зараження розвиваються вторинні сифіліди. Це буває при проникненні трепонем у кров при гемотрансфузії, в результаті порізу або уколу. Такий сифіліс називають безголовним.

За рахунок приєднання кокової та іншої мікрофлори виникають важкі ускладнення – гангренізація твердого шанкру, утворення брудно-сірого або чорного струпа, підвищення температури, лихоманка, біль голови, загальна слабкість (гангренозний твердий шанкр).

При **вторинному сифілісі** збудник проникає в кров, виникає генералізація інфекції. Утворюється висипка по шкірі і слизових оболонках – сифіліди: розеоли, папули, везикули, пустули, рупії, а також уражується печінка, нирки, кісткова і нервова системи. Збудник міститься в елементах висипу, хворий небезпечний для оточуючих. Вторинні сифіліди характеризуються інфільтратом рожево-червоного кольору, який складається з лімфоцитів, плазматичних клітин і гістіоцитів.

Появі сифілід сприяють екзогенні фактори, які травмують шкіру (сонцеопік, татуювання, банки) або слизової оболонки (каріозні зуби, куріння). Найчастіше це шкіра статевих органів і кандиломи біля анального отвору. Вторинний період характеризується чергуванням активних клінічних проявів (свіжий і рецидивний сифіліс) з періодами прихованого (латентного) сифілісу. Триває від декількох місяців до декількох років.

При **третинному сифілісі** в шкірі утворюються горбики, папули; в підшкірній клітковині, внутрішніх органах утворюються гранульоми, гуми або гумозні інфільтрати – некроз у центрі інфільтрату, який складається з лімфоцитів, епітеліальних, плазматичних і гігантських клітин, які здатні до розпаду. Гума – це щільної консистенції вузлик, величиною з грецький горіх, підвищений над рівнем шкіри, неболючий, не спаяний з тканинами. Можуть виникати в різних тканинах, підшкірній клітковині, кістках, внутрішніх органах – печінці, мозку – і викликати порушення живлення тканин. При цьому відбуваються зміни у внутрішніх органах, кістковій, серцево-судинній, периферичній і центральній нервовій системі. Для третинного сифілісу характерно чергування клінічних рецидивів (активний третинний сифіліс) з ремісіями (латентний третинний сифіліс). Цей період триває кілька років. Зустрічається при нелікованому сифілісі.

Парасифілітичний (четвертинний) період характеризується ураженням спинного мозку (спинна сухотка) і головного мозку (прогресивний параліч), внаслідок локалізації трепонем у мозковій тканині. Відбуваються глибокі органічні і функціональні зміни центральної нервової системи.

Є ще прихований, вісцеральний сифіліс. **Згідно з сучасною класифікацією прихований сифіліс** поділяють на ранній, пізній і неуточнений (“невідомий”). Ранній прихований сифіліс припадає на первинний період і початок вторинного (з тривалістю інфекції до 2 років), пізній – до кінця вторинного періоду і до третинного.

У випадках, коли імунні реакції (алергічна) пригнічені, може розвинутися так званий злоякісний сифіліс. При цьому первинний період триває 3-4 тижні, регіонарний лімфаденіт відсутній, реакція Васермана від’ємна.

Вроджений сифіліс розвивається в результаті зараження плоду від хворої матері до кінця третього – початку четвертого місяця вагітності. Вагітність закінчується пізнім викиднем, мертвонародженням, передчасними пологами, народженням дитини з активними проявами сифілісу, народженням хворої прихованим сифілісом і народженням здорової дитини (в 10-15% випадків). Найбільш небезпечний сифіліс матері у другому періоді вагітності. Вроджений сифіліс буває ранній і пізній. До раннього вродженого сифілісу відносять сифіліс плоду, сифіліс грудного віку і сифіліс раннього дитячого віку.

ІМУНІТЕТ

Імунітет при сифілісі інфекційний нестерильний і характеризується клітинними захисними реакціями, що зумовлюють утворення гранульом і фіксацією трепонем. У формуванні інфекційного імунітету беруть участь як спіралеподібні трепонеми, так і цисти. В результаті перенесеної хвороби виробляються неспецифічні антитіла Ig M, Ig A і специфічні протитрепонемні Ig G, які викликають іммобілізацію і загибель живих трепонем, а також антитіла Ig E (реагіни), які в присутності кардіоліпідного антигена зв’язують комплемент. При імунній відповіді організму утворюються цисти, які локалізуються в стінці кровоносних судин, і захворювання переходить у стадію

ремісії. Зниження імунітету супроводжується поверненням збудника у вегетативну стадію, його розмноженням, внаслідок чого виникають рецидиви хвороби.

При сифілісі спостерігаються явища “суперінфекції”, коли нове зараження нашаровується на існуюче захворювання, але при цьому відсутня первинна форма реакції – твердий шанкр. При сифілісі розвивається реакція гіперчутливості сповільненого типу. Після вилікування в організмі довго зберігаються сенсибілізовані лімфоцити.

Для сифілісу характерний стан інфекційної алергії, яка виявляється внутрішньошкірною пробою – введенням люетину, виготовленого з вбитих культур блідої трепонеми або з уражених тканин.

МЕТОДИ МІКРОБІОЛОГІЧНОЇ ДІАГНОСТИКИ СИФІЛІСУ

Матеріал на дослідження	**Основні методи дослідження**	**Серологічні реакції**
тканинна лімфа з твердого шанкру	**Бактеріоскопічне дослідження** (за Романовським-Гімзи, Бурі, сріблення за Морозовим або Фонтану і Трибондо, Левадіті) **імпрегнація сріблом; серологічна діагностика**	Реакція мікропреципітації (МРП), Васермана, Кана, Закса-Вітебського, РЗК, реакція імунного прилипання (РІП), реакція іммобілізації блідих трепонем (РІТ); РПГА. Експрес- діагностика **ІФА, РІФ** та її модифікації; *тест на реагіни плазми,* **ПЛР.**
виділення з сифілід, папул, везикул		
пунктат ліфматичних вузлів		
кров		
спинномозкова рідина		
матеріал із вогнищ уражень на шкірі		

Матеріал на дослідження забирають в гумових рукавицях !

Бліді трепонеми погано фарбуються аніліновими барвниками, але відновлюють нітрат срібла в металічне срібло, яке відкладається на поверхні трепонем і робить їх видимими при мікроскопії. На цьому феномені засновано виявлення блідих трепонем у тканинах.

У препаратах необхідно **диференціювати трепонему сифілісу з непатогенними представниками цього роду,** які зустрічаються на статевих органах: сапрофіти (*T.refringens, T.phagedenis*) і в порожнині рота (*T.macrodentium, T.denticola, T.orale*), вони значно товстіші і різняться за характером руху та кількістю завитків. *T.refringens* – має більш товсте тіло з великими завитками, нерухома. *T.macrodentium* відрізняється характером свого

руху. Обидві інтенсивно зафарбовані у голубий колір. *T.denticola* колонізує ротову порожнину, її завитки коротші і спрямовані під гострим кутом. За методом Романовського-Гімзи непатогенні види зафарбовуються в фіолетовий або синій колір.

Схема виконання основного досліду реакції Васермана

Інгредієнти	Номер пробірки			
	1	2	3	4
Сироватка хворого, інактивована і розведена 1:5	0,5	0,5	0,5	0,5
Антиген №1	0,5	-	-	-
Антиген №2	-	0,5	-	-
Антиген №3	-	-	0,5	-
Комплемент (робоча доза)	0,5	0,5	0,5	0,5
Ізотонічний розчин NaCl	-	-	-	0,5

Термостат при температурі 37°С упродовж 45 хв.

Гемолітична система сенсибілізована	1,0	1,0	1,0	1,0

Термостат при температурі 37°С упродовж 1 год.

Результат:	Реєстрація досліду після гемолізу у всіх контролях			
з сироваткою хворого сифілісом	-Г	-Г	-Г	+Г
з нормальною сироваткою	+Г	+Г	+Г	+Г

Примітка: - Г гемолізу немає; +Г гемоліз; + додатний результат; - від'ємний результат.

Схема реакції Васермана зі спинномозковою рідиною

№ пробірки	Спинно-мозкова ріди на нерозведена, *см³*	Антиген робоча доза, *см³*	Комплемент розведений по титру, *см³*	Ізотонічний розчин хлориду натрію *см³*	Інкубування	Гемолітична суміш, *см³*	Інкубування
1	0,1	0,5	0,5	0,4	Термостат 1 год	1	Термостат 1 год
2	0,25	0,5	0,5	0,25	–″–	1	–″–
3	0,5	0,5	0,5	-	–″–	1	–″–
4	0,5	-	0,5	0,5	–″–	1	–″–

Схема виконання реакції Кана

Інгредієнти, *см*^{3}	Номер пробірки					
	1	2	3	4	5	6
	Дослід			Контроль антигена		
Антиген	0,05	0,025	0,0125	0,05	0,025	0,0125
Досліджувана сироватка	0,15	0,15	0,15	-	-	-
Ізотонічний розчин NaCl	-	-	-	0,15	0,15	0,15
Струшують 3 хв						
Ізотонічний розчин NaCl	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Струшують 1 хв						
Результати при позитивній реакції	+++	+++	+++	-	-	-

Примітка: +++ поява приципітату і випадання лопатей; - відсутність лопатей.

Схема виконання реакції Закса-Вітебського

Інгредієнти, *см*^{3}	Номер пробірки		
	1 (дослід)	2 (контроль антигена)	3 (контроль сироватки)
Досліджувана сироватка	0,2	-	0,2
Антиген	0,1	0,1	-
Спирт 96^o, розведений 1:2	-	-	0,1
Ізотонічний розчин NaCl	-	0,2	-
Струшують 1 хв, залишають при кімнатній температурі на 30 хв.			
Ізотонічний розчин NaCl	1,0	1,0	1,0
Врахування результатів	+++	-	-

Завдяки генній інженерії з'явилася можливість клонування трепонемних генів і отримання на їх основі рекомбінантних білків. Це відкрило можливості для вивчення імунних реакцій проти дискретних антигенів трепонем сифілісу. Великі надії на пряме виявлення в інфікованих тканинах трепонемних генів за допомогою ***полімеразної ланцюгової реакції.***

ПРОФІЛАКТИКА СИФІЛІСУ

полягає у своєчасній діагностиці сифілісу – серологічне дослідження донорів, вагітних, хворих, осіб із груп ризику (наркомани, проститутки, гомосексуалісти), – повноцінному лікуванні, санітарно-освітній роботі серед населення – уникати випадкових статевих стосунків, вести здоровий спосіб життя.

ТЕРАПІЯ

Застосовують пеніцилін, біцилін, біохінол, цефалоспорини, інколи еритроміцин, препарати вісмуту і йоду, які забезпечують вилікування у 95%

хворих. У стадії прогресивного паралічу призначають пірогенал у комбінації з пеніциліном і біохінолом.

Дітям, народженим від матерів, хворих на сифіліс, або які не закінчили лікування, призначають профілактичну терапію. Лікують хворих за існуючими інструкціями ефективними макролідами, тетрациклінами і цефалоспоринами.

Питання для самоконтролю

1. Мікробіологічна характеристика збудника сифілісу.
2. Патогенез захворювання.
3. Основний матеріал і методи мікробіологічної діагностики сифілісу.
4. Відмінність реакції Васермана від РЗК. Які осадові реакції ставляться одночасно з реакцією Васермана ?
5. Що являє собою реакція імобілізації трепонем ?
6. В чому суть реакції непрямої імунофлюоресценсії ?

Тестові завдання

1. До якої з перечислених родин відноситься трепонема палідум?
A. Spirochetaceae
B. Leptospiraceae
C. Neisseriaceae
D. Micrococcaceae
E. Enterobacteriaceae

2. В шкірно венеричний диспансер звернувся пацієнт з ознаками ураження пеніса. Лікар запідозрив хронічну інфекцію, при якій уражується шкіра, слизові оболонки, внутрішні органи, центральна нервова система. Для якої інфекції характерні такі симпоми хвороби ?
A. Хвороба Лайма
B. Сифіліс
C. Лептоспіроз
D. Криптококкоз
E. Лейшманіоз

3. Необхідно провести обстеження пацієнта К. на сифіліс та виконати реакцію Васермана. Які інгридієнти необхідно підготувати лаборанту для виконання даної реакції ?
A. Інактивовану сироватку крові
B. Антиген №1, 2, 3 розведений до титру
C. Комплемент в робочій дозі
D. Гемолітичну систему сенсибілізовану
E. Фізіологічний розчин

4. Виберіть інгридієнти необхідні для постановки

реакції імунофлюоресценсії ?
A. Мазки-відбитки слизової оболонки носоглотки
B. Мазки-відбитки трупного матеріалу
C. Фізрозчин
D. Типоспецифічні мічені флюорохромати сироватки
E. Еритроцити барана
F. Курячі еритроцити

5. Які умови культивування трепонеми сифілісу ?
A. Температура 35^{o} С, анаеробні умови
B. Температура 60^{o} С, аеробні умови
C. Культивування у середовищі, що містить ниркову або мозкову тканину
D. На середовищі – СА, ЖСА
E. На харіоналантоїсній оболонці курячого зародку
F. В сироватці крові кролів з додаванням шматочків мозкової тканини під шаром вазелінової олії

6. Проставити в якій послідовності ми додаємо антиген при постановці реакції Кана ?
A. 0,025
B. 0,05
C. 0,0125

7. Чим реакція Закса-Вітебського відрізняється від реакції Кана ?
A. Швидше утворюється осад
B. Застосовується більш концентрований антиген
C. Швидше утворюється преципітат
D. Додано інактивовану сироватку
E. Нічим не відрізняється

8. З групи ознак вибрати ознаки характерні для трепонеми сифілісу ?
A. Тонкі клітини спіралеподібної форми з 12-14 завитками
B. Клітини S-форми з розгалуженими кінцями
C. Кінці загострені або округлі
D. Мають чотири види руху
E. Нерухомі
F. За Романовського-Гімзе фарбуються у блідо-рожевий колір
G. За Романовського-Гімзе фарбуються у фіолетовий колір
H. Утворюють цисти

9. Які серологічні реакції використовуються для серодіагностики сифілісу ?
A. Кана
B. Васермана
C. Аглютинації

D. Закса-Вітебського
E. Реакція імобілізації трепонем
F. РІФ

10. Які препарати застосовуються для лікування сифілісу ?
A. Пеніцилін
B. Препарати вісмуту і йоду
C. Ністатін
D. Пірогенал
E. Біохінол

БОРЕЛІЇ ПОВОРОТНОГО ТИФУ

Епідемічний (вошивий) поворотний тиф викликає *Borellia recurrentis,* а ендемічний (кліщовий) – *B.persica, B.latyschewii, B.duttoni, B.caucasica.* Збудники поворотного тифу – борелії – відрізняються від трепонем наявністю великих пологих нерівномірних завиток, кількість яких становить від 3 до 10.

ЗБУДНИК ЕПІДЕМІЧНОГО ПОВОРОТНОГО ТИФУ

Збудник епідемічного поворотного тифу – *Borellia recurrentis* відкритий О.Обермайєром у 1868 р. Захворювання відоме давно під назвою "рецидивуюча п'ятиденна лихоманка", воно описано ірландським лікарем Рютті в 1739 р.

МОРФОЛОГІЯ БОРЕЛІЙ

Borellia recurrentis спіралевидна вигнута нитка з середнім. Число нерівномірних завиток 3-8, кінці борелій загострені, рух змієподібний, згинальний, штопороподібний і поступальний. Борелії легше, ніж інші спірохети, зафарбовуються різними фарбами: за Романоським-Гімзи в синьо-фіолетивий колір, грамнегативні. В зафарбованих мазках втрачають форму правильної спіралі. Мікроструктура їх така сама, як і в лептоспір. Вона складається з осьової нитки, цитоплазматичного циліндра і рухового фібрилярного апарата – тонкі фібрили (7-30) формують осьову нитку, що обгортає тіло борелій. Цитоплазма дрібногранулярна, у старих культурах є вакуолі. Нуклеоїд розташований ексцентрично. У старих культурах борелій утворюються цистоподібні форми у вигляді згорнутого цитоплазматичного циліндра. За хімічним складом містять лецитин, холестерол і деякі інші неідентифіковані ліпіди. В клітинній стінці борелій міститься мурамінова кислота і L-орнітин. Спор і капсул не утворюють. Розмножуються поперечним поділом.

КУЛЬТИВУВАННЯ БОРЕЛІЙ

Збудник вирощують на штучних поживних середовищах в анаеробних умовах і pH 7,2-7,4 упродовж 4-7 діб. Культивують в середовищах Арістовського-Гельтцера, які складаються зі шматочків головного мозку і кінської сироватки, шматочків згорнутого білка курячого яйця, або в середовищі Кліглера-Робертсона; а також у жовтку курячого ембріона при

37°С. Борелії, які ростуть *in vitro*, мікроаерофіли. В рідких середовищах при рості борелій видимого росту немає. Культури бактерій зберігають свої вірулентні властивості упродовж кількох років.

ФЕРМЕНТАТИВНІ ВЛАСТИВОСТІ БОРЕЛІЙ

Ферментативні властивості не вивчені. Відомо, що глюкоза засвоюється гліколітичним шляхом з утворенням молочної кислоти. Факторами росту є довголанцюгові жирні кислоти. Лізолецитин гідролізується фосфоліпазою В на альфа-гліцерофосфорилхолін та одну жирну кислоту. Альфа-гліцерофосфорилхолін розщеплюється на холін і альфа-гліцерофосфат під дією специфічної діастерази. Кисла фосфатаза розщеплює альфа-гліцерофосфат під дією специфічної діастази до гліцерину і неорганічного фосфату.

Захворювання	Вид збудника	Переносник	Розповсюдження
Епідемічний поворотний тиф	***B.recurrentis***	***Pediculus vestimenti,* рідше *P.capitis***	**Практично відсутній**
Кліщові бореліози	***B.persica***	***Alectorobius papillipes* (*Ornithodorus papillipes*)**	**Центральна, Середня Азія і Середземне море**
	B.caucasica	***A.verrucosus* і *A.alactagilis***	**Кавказ, Закавказзя і Україна**
	B.hermsii	***A.hermsii***	**Захід США і Канада**
	B.parkeri	***A.parkeri***	**Захід США**
	B.turicatae	***A.turicatae***	**Захід США і Мексика**
	B.hispanica	***A.erraticus***	**Північна Африка Середземне море**
	B.duttonii	***A.moubata***	**Центральна і Південна Африка**
	B.venezuelensis	***A.rubis***	**Центральна і північ Південної Америки**
	B.mazzottii	***A.talaje***	**Мексика і Гватемала**
	B.latyschewii	***A.tartakovskyi***	**Середня Азія і Казахстан**
Хвороба Лайма	***B.burgdorferi***	***Ixodes ricinus, I.persulcatus***	**Північна Америка і Євроазія**

ТОКСИНОУТВОРЕННЯ. Борелії виробляють ендотоксин.

АНТИГЕННА СТРУКТУРА. Поверхневі антигени борелій варіабельні. В ідентифікації борелій серологічні реакції не застосовуються.

ПАТОГЕНЕЗ ЕПІДЕМІЧНОГО ПОВОРОТНОГО ТИФУ

Поворотні тифи – гострі, кров'яні трансмісивні інфекції, які викликають борелії і характеризуються загальною інтоксикацією, повторними нападами лихоманок – гарячок, які чергуються з безтемпературними періодами (днями) – немовби видоровленням, різним ступенем ураження печінки і селезінки, інколи жовтяницею, менінгітом, ураженням інших органів.

ДЖЕРЕЛО ІНФЕКЦІЇ

хвора людина

МЕХАНІЗМ ПЕРЕДАЧІ ІНФЕКЦІЇ

трансмісивний

переносник – одежна воша і рідше головна, яка стає заразною через 6-9 діб після смоктання заразної крові хворого, ще рідше – клоп постільний

ШЛЯХ ПЕРЕДАЧІ ІНФЕКЦІЇ

через укус членистоногих

Інкубаційний період в середньому становить 7 діб.

Характерна **особливість хвороби** – наявність тривалих міжепідемічних інтервалів (до 25-45 років).

Заразність крові хворого була доведена в 1874 р. П.Н.Мінхом в Одесі, в дослідах самозараження. Він вперше висловив думку, що переносником європейського поворотного і висипного тифу є кровосисні комахи. У 1874 р. Г.Н.Гамалея, а в 1881 р. І.І.Мечніков дослідами на собі довели, що кров хворих людей є заразна. Роль вошей у передачі спірохети Обермейєра доведена дослідженнями Мейкі (1907), Сержана і Фолі (1908). Дані були підтверджені експериментально в 1912-1919 р. Ш.Ніколем, Є.Консєєвим і Блезо.

Спірохети зберігаються в організмі вошей 28 діб. Розмноження відбувається в гемолімфі воші, куди вони проникають з її кишківника. Зараження можливе при роздавленні воші або розриві її частин. Втирання в шкіру при розчісуванні крапельок гемолімфи приводить до проникнення спірохет у кров людини. Можливе зараження також при попаданні гемолімфи на слизові оболонки носа, очей і навіть шкіру, які не мають видимих пошкоджень. В слинних залозах вошей спірохет не буває, тому під час кусання зараження поворотним тифом не виникає. Трансоваріальної передачі борелій у вошей немає. В заражених вошах спірохети зберігаються упродовж цілого життя. Поворотний тиф зустрічається лише там, де населення живе в складних антисанітарних умовах. Спалахи поворотного тифу пов'язані з війнами і стихійними лихами. Епідемічний поворотний тиф найчастіше виникає в зимову пору року і на початку весни.

Інкубаційний період в середньому становить 7 діб. Потрапивши в організм, борелії проникають в клітини лімфоїдно-макрофагальної системи, розмножуються у цитоплазмі фагоцитів і надходять у великій кількості в кров. Ендотоксин, що утворюється при розпаді, зумовлює ураження центральної

нервової і кровоносної системи, розвиток токсикозу, гарячки, функціональних порушень, дистрофії органів і тканин, діє на клітини ендотелію судин, сприяє розвитку геморагічних інфарктів і некрозів у селезінці і печінці.

Клінічні ознаки епідемічного поворотного тифу: через 7-8 діб починається сильний біль голови, міалгії, нудота, блювота, лихоманка, збільшення селезінки і печінки, біль у м'язах ніг, серцево-судинні розлади, температура піднімається 40°С. Гарячка продовжується до 6-7 діб, після чого температура спадає до нормальної. Період між нападами (апіреексії або ремісії) триває до 10-14 діб, після чого поступово настає другий напад. Кожна така атака закінчується підвищенням титру антитіл (спірохетолізинів). Більша частина борелій руйнується під впливом антитіл, під дією лізинів і фагоцитів. Борелії взаємодіють з антитілами і утворюють агрегати, які навантажуються тромбоцитами (феномен тромбоцитобарії). Це викликає закупорку капілярів внутрішніх органів, внаслідок чого порушується кровообіг в органах. Борелії втрачають рухливість.

Клінічна класифікація виділяє стерті, легкі, середньої важкості і важкі форми. Основні ускладнення – це пневмонії, отити, іридоцикліти, ураження кісток і хрящів, в ослаблених пацієнтів або маленьких дітей може розвинутись тифоїдний або септичний варіант перебігу хвороби.

Борелії, що містяться в глибоких тканинах і в центральній нервовій системі, внаслідок варіабельності генів набувають стійкості до нового середовища свого життя, змінюються антигени борелій. Оскільки антитіла виробляються проти одного антигена, з'являються нові антигенні варіанти борелій, які викликають рецидив хвороби. Захворювання триває в 2-3 напади, тривалість яких зменшується, а період між нападами, навпаки, збільшується. Дуже рідко спостерігають висип у вигляді папул чи висип, що нагадує кір. Діагностичне значення має жовтяниця шкірних покривів, яка найбільше виражена під кінець нападу. Виздоровлення настає тоді, коли в крові з'являється спектр антитіл, який лізує всі антигенні варіанти борелій.

ІМУНІТЕТ

гуморальний, нестійкий, нетривалий, характеризується наявністю антитіл (аглютинінів, спірохетолізинів, тромбоцитобаринів, які спричиняють феномен навантаження Рікенберга-Брусіна).

МЕТОДИ МІКРОБІОЛОГІЧНОЇ ДІАГНОСТИКИ ПОВОРОТНОГО ТИФУ

В період між нападами при поворотному тифі спірохети в крові звичайним методом не виявляються. Але їх можна виявити ***методом збагачення Бернгофа:*** у хворого за добу до нападу беруть 8-10 $см^3$ крові, з якої одержують сироватку, центрифугують при 3000 об/хв 45-60 хв. З осаду готують препарати "роздавленої" краплі, які досліджують у темному полі зору, і густі мазки за методом Романовського-Гімзи.

Для диференціації епідемічного і ендемічного поворотного тифу використовують ***біологічний метод:*** морській свинці вводять 3- 5мл крові хворого; при епідемічному поворотному тифі тваринка не хворіє.

Матеріал на дослідження	Основні методи дослідження
кров	**бактеріоскопічний метод -** виявлення збудника в крові (мазки "товстої" краплі периферичної крові та тонкі мазки крові зафарбовують за методом Романовського-Гімзи, фуксином Ціл, в темному полі зору; ***методом збагачення Бернгофа;*** **серологічні методи -** реакцію іммобілізації борелій сироваткою хворого за Н.Г.Габричевським-Г.А.Левінталем і реакцію навантаження борелій тромбоцитами за Рікенбергом-А.М.Брусіним. **біологічний метод на морській свинці,** яка не хворіє при епідемічному поворотному тифі

ПРОФІЛАКТИКА

Підвищення матеріального і культурного рівня життя населення. Здійснення протиепідемічних заходів, своєчасна діагностика захворювання, боротьба з педикульозом, госпіталізація хворих, дезинсекція речей хворого і його житла, санітарна обробка осіб, які контактували з хворим, медичний нагляд за вогнищами обумовили ліквідацію епідемічного поворотного тифу в нашій країні.

ЛІКУВАННЯ

Лікування полягає у призначенні антибіотиків: пеніциліну, еритроміцину, левоміцетину, напівсинтетичних препаратів тетрацикліну.

ЗБУДНИК ЕНДЕМІЧНОГО ПОВОРОТНОГО ТИФУ

Лихоманки, які передавалися через укуси кліщів, відомі ще з праць Дюпре (1807-1809); Лівінгстон описав їх в Анголі (1857); Кук, Рос, Мілн і Набарро виявили спірохети в крові хворих в Уганді (1904-1905); Е.П.Джунковський довів етіологічну роль борелій у розвитку кліщового поворотного тифу (1912).

Borrelia duttoni – збудник ендемічного поворотного тифу виявлений в крові хворих у 1904 р. Р.Россом. Сьогодні описані декілька збудників кліщового тифу – *B.persica, B.latyschewii, B.caucasica, B.crocidurae, B.hermsii, B.hispanica, B.mazzottii*, *B.parkeri, B.turicatae, B.venezuelensis* та ін.

МОРФОЛОГІЯ *B.duttoni*

B.duttoni морфологічно однакова зі спірохетою Обермейєра, але відрізняється від неї властивістю вражати різні види хребетних, пристосована

до декількох переносників і відрізняється за патогенністю для експериментальних тварин.

КУЛЬТИВУВАННЯ *B.duttoni*

Борелії культивують на складних поживних середовищах, які містять сироватку, асцит, тканинні екстракти, а також у жовтку курячих ембріонів. Культивують у середовищі Гельтцера (сироватка крові коня, фізрозчин зі шматочками зсілого білка курячого яйця).

ФЕРМЕНТАТИВНІ ВЛАСТИВОСТІ. Мало вивчені.

АНТИГЕННА СТРУКТУРА. Розрізняють декілька підвидів збудника кліщового поворотного тифу.

ПАТОГЕНЕЗ ЕНДЕМІЧНОГО ПОВОРОТНОГО ТИФУ

Ендемічний поворотний тиф (кліщовий поворотний тиф, аргасовий кліщовий бореліоз) – зоонозне захворювання, яке за патогенезом і клінічною картиною подібне на епідемічний поворотний тиф. Кліщовий поворотний тиф є ендемічним, природновогнищевим захворюванням. Вогнища кліщового спірохетозу є в Середній Азії, Закавказзі, на Північному Кавказі, в Казахстані, Узбекистані, Таджикистані, Херсонській області.

ДЖЕРЕЛО ІНФЕКЦІЇ

це гризуни, хижаки, летючі миші, домашні гризуни

аргасові кліщі-переносники

МЕХАНІЗМ ПЕРЕДАЧІ ІНФЕКЦІЇ

трансмісивний

ШЛЯХ ПЕРЕДАЧІ ІНФЕКЦІЇ

через укус кліщів

Інкубаційний період 5-14 діб.

Кліщі залишаються заразними на все життя (до 13 і більше років) і можуть передавати збудника через яйце і яйцепроводи протягом поколінь трансоваріально. Кліщі паразитують на гризунах, які стають джерелом інфекції, а також на летючих мишах, домашніх гризунах (миші, хом’яки, піщанки), свинях і псах. Зараження кліща відбувається за допомогою поглинання інфікованої крові хворої тварини. Одні види кліщів передають спірохети при укусі людини, інші під час смоктання крові.

В природних умовах людина заражається при укусі кліща, в слині якого містяться борелії, при спанні біля нори заражених гризунів.

На місці укусу кліща утворюється папула (первинний ефект) – це головна відмінність клініки кліщового поворотного тифу. Спочатку з’являється рожева пляма, пізніше вузлик з геморагічним краєм, папула.

Клінічні симптоми ендемічного поворотного тифу: захворювання починається гостро – лихоманка, біль голови, тремор кінцівок. Інколи відмічаються невиражені симптоми ентероколіту. Температура досягає 40^{o}.

Перший напад триває 1-5 діб. Захворювання перебігає з наступними нападами гарячки одну-дві доби або декілька годин, які чергуються з періодами нормальної температури від 3 діб до 2 тижнів і більше. Число нападів значно більше (8-10), ніж при епідемічному поворотному тифі, але тривалість їх менша. Збудники можна виявити в крові як під час лихоманки, так і при нормальній температурі. Хворий немовби розбитий, відчуває міалгії в різних групах м'язів, серцеві тони приглушені, спостерігаються симптоми дифузного бронхіту, печінка збільшена і хвороблива, часто буває блювота. Інколи як ускладнення розвивається ураження очей – іридоцикліт, помутніння скловидного тіла.

Спалахи кліщового поворотного тифу спостерігаються влітку, на відміну від епідемічного поворотного тифу, максимум захворюваності при якому буває взимку і навесні.

ІМУНІТЕТ

Імунітет нестійкий, можливі повторні захворювання через одну-дві доби. Місцеве населення звичайно переносить захворювання в ранньому дитинстві, про що свідчить виявлення антитіл у сироватці крові місцевих жителів, що зумовлює стійкий імунітет. Хворіють в основному приїжджі. Захворювання кліщовим поворотним тифом не дає імунітету до європейського поворотного тифу і навпаки.

ЛАБОРАТОРНА ДІАГНОСТИКА

Основним методом діагностики при ендемічному поворотному тифі є виявлення борелій у "товстій" краплі крові. На відміну від епідемічного поворотного тифу, число їх в крові менше, але їх виявлення є можливим як під час нападу, так і в період між ними. Для диференціальної діагностики суттєвою ознакою є наявність у них двох, а в спірохети Обермейєра одного, контурів при огляді в темному полі зору мікроскопа.

Відсутність борелій у препараті не дозволяє зняти діагноз при характерній клінічній картині: необхідно провести повторні дослідження.

При експериментальному ***зараженні морських свинок*** (введення 0,5 $см^3$ крові підшкірно або 1-2 краплини у кон'юнктиву ока) захворювання настає через 5-7 діб; у крові знаходять велику кількість борелій. При внутрішньочеревному зараженні білих мишей борелії виявляють у крові через 48 год.

ПРОФІЛАКТИКА

Здійснення заходів для знищення кліщів і гризунів, ранній діагностиці захворювання, госпіталізаціїї хворих і дотримування особистої профілактики – захист людей від нападу кліщів, захисний одяг.

ЛІКУВАННЯ

Хворим призначають ампіцилін, левоміцетин, напівсинтетичні препарати тетрацикліну, новарсенол, пеніцилін.

ЗБУДНИК ХВОРОБИ ЛАЙМА

Borrelia burgdorferi – збудник із групи іксодових кліщових бореліозів. Хвороба Лайма дістала назву від назви містечка Лайм, що на північному сході США (штат Коннектикут) в 1977 р., де вперше були зареєстровані випадки цієї недуги – розвиток ювенільного артриту дітей. Мігруюча еритема і шкірні ураження були основою для підозри на передачу через укус членистоногих. Пізніше була доведена здатність *B.garinii і B.afzelii* викликати аналогічні ураження, які зареєстровані в країнах Старого Світу з помірним кліматом. Захворювання ще носить назву лаймобореліоз. Основні переносники – кліщі *Ixodes ricinus і I.persulcatus.*

Спірохетозну природу хвороби встановив у 1981 р. У.Бургдорфер. На його честь в 1984 р. Р.Джонсон зі співавторами назвали збудника хвороби Лайма *Borrelia burgdorferi.* Збудник хвороби Лайма належить до порядку *Spirochaetalis* родини *Spirochaetacae*. В теперішній час відомо більше 20 видів борелій, які передаються іксодовими і аргасовими кліщами, а також вошами, які викликають захворювання у тварин і людини.

Між штамами, особливо між американським і європейським, є різниця в ступені гомології ДНК і клітинних білків, що дозволило виділити в складі групи три патогенних для людини види борелій. Цю групу збудників відзначають великий ареал і широке коло уражених господарів (птахи, гризуни, собаки, коні, інші домашні і дикі тварини).

Борелії, які передаються аргасовими кліщами, класифікують за видами переносників. Наприклад, переносник *Ornithodoros moubata*, збудник – *Borrelia duttoni.* Серед борелій, які викликають хворобу Лайма, на основі аналізу їх ДНК виділено три самостійних види: *B.burgdorferi* (збудник інфекції в Північній Америці)*, B.garinii і B.afzelii* (збудники інфекції на Євроазіатському континенті).

МОРФОЛОГІЯ *Borrelia burgdorferi*

B.burgdorferi – велика за розміром борелія, кручена ліво- і правоперевертаюча спіраль, грамвід'ємна. Добре фарбується аніліновими барвниками. За допомогою електронної мікроскопії виявлено пінисту еластичну оболонку і цитоплазматичну мембрану, між якими лежать 15-20 паралельних фібрил, які обплітають тіло клітини. Немає мітохондрій і ундулюючої мембрани. За будовою борелія така сама, як інші види борелій. Інколи містить особливий тип лінійної плазміди, яка не виявляється в інших прокаріот. Лінійна плазміда кодує синтез білків зовнішньої мембрани, з якими пов'язані її патогенні властивості.

КУЛЬТИВУВАННЯ *Borrelia burgdorferi*

Борелії – строгі анаероби, дуже вимогливі до умов культивування. В результаті досліджень вдалося виготовити середовище для їх культивування – BSK-1. Збудник добре зберігається на даному середовищі в холодильнику (до – 90^{o}C) декілька років, не втрачаючи при цьому своїх властивостей. Це дало змогу створити банки штамів.

АНТИГЕННА СТРУКТУРА *Borrelia burgdorferi*

Білки, які перебувають на зовнішній оболонці, визначають вид збудника, а білки джгутикової фракції є ведучими елементами в механізмі антитілогенезу. Мікроби мають білкові антигени фібрилярного апарата (*p41*) і цитоплазматичного циліндра (*p93*). Антитіла до них з'являються на ранніх етапах хвороби, але не мають захисних властивостей. Багато антигенних детермінант зовнішньої оболонки подібні до борелій інших видів. Це обумовлено, очевидно, тим, що до 59% ДНК у *Borrelia burgdorferi* гомологічна іншим видам борелій.

Антигенна структура нестабільна. Протективна активність є в антигенах поверхневого шару зовнішньої мембрани, які складаються з білків оболонки, позначені як *OSP* (абревіатура від англ. *outer surface protein*) A, B, C, D, E, зв'язаних з ліпідами. *OSP-A* є видоспецифічним антигеном. Є дані, що антигенні білки *OspA і OspB* можуть значно змінюватись, обумовлюючи тривалу (впродовж багатьох років) персистенцію збудників хвороби Лайма в організмі людини.

Виділено низку серогруп за характером взаємодії ізолятів з різними моноклональними антитілами, складу антигенних білкових фракцій і результатах плазмідного аналізу. За попередніми даними є три підвиди і дві серогрупи.

Фактори патогенності: ліпопротеїди зовнішньої мембрани клітинної стінки забезпечують властивість борелій прикріплюватися і проникати в клітини господаря, а також індукувати імунопатологічний процес в організмі людини і викликати запальну реакцію.

ПАТОГЕНЕЗ ХВОРОБИ ЛАЙМА

Хвороба Лайма (або хронічна мігруюча еритема, кліщовий іксодовий бореліоз) – це хронічна рецидивуюча трансмісивна природно-вогнищева інфекція, яка уражує центральну нервову, серцево-судинну і суглобову системи, а також шкіру.

ДЖЕРЕЛО ІНФЕКЦІЇ

дрібні гризуни (лісові миші), олені, лосі

МЕХАНІЗМ ПЕРЕДАЧІ ІНФЕКЦІЇ

трансмісивний

ШЛЯХ ПЕРЕДАЧІ ІНФЕКЦІЇ

через укус іксодових кліщів

Інкубаційний період – 7 діб (може тривати до 32 діб).

Випадки захворювання зареєстровані у 35 штатах США, Європі, Азії і Австралії. Людина заражається восени-влітку в лісі після укусу кліща *Ixodes dammini* зі слиною або через інших іксодових кліщів. У кліщів збудник передається трансоваріально. Від людини до людини захворювання не передається.

Борелія локалізується в місці проникнення або в крові. Доведено, що вірулентні штами порівняно резистентні до фагоцитозу периферичної крові, тоді як авірулентні бактерії знищуються. Борелії адсорбуються на клітинах,

взаємодіючи з мембранними гліколіпідами, найбільш активно – з галактоцереброзидами поверхні нейроглії. Розвивається синдром блукаючої еритеми у вигляді овальної або круглої папули розміром від 3-5 до 15-20 см блідо-рожевого або яскраво-червоного кольору, центр якої блідіший, ніж периферія.

Клінічні симптоми хвороби Лайма: недомагання, лихоманка, втомлюваність, біль голови, ригидність м'язів шиї.

Далі проникають по лімфатичній і кровоносній системі в різні органи і тканини, а також через гематоенцефалічний бар'єр, в результаті чого їх можна виділити зі спинномозкової рідини.

В стадії дисемінування уражується серцево-судинна система, опорно-руховий аппарат, виникають вторинні ураження шкіри. Гістологічно в ураженій тканині виявляють лімфо- і плазмоцитарні інфільтрати (інколи плазмоцити можуть нагадувати клітини Рід-Штернберга). Циркуляція борелій викликає розвиток локальних васкулітів і оклюзій суглобів – артрити. Вони погано лікуються антибіотиками і обумовлені формуванням автоімунних механізмів (більшість пацієнтів HLA-DR2- і HLA-DR4-позитивні). Ураження суглобів набувають хронічного характеру. Через декілька місяців або років спостерігається ураження нервової системи (менінгіти, менінгоенцефаліти, мононеврити). Інколи виникають тромбози артерій, які можуть викликати смерть хворого.

ІМУНІТЕТ

Імунітет після захворювання хвороби Лайма залишається гуморальний, видоспецифічний до антигенів клітинної оболонки імунітет.

ЛАБОРАТОРНА ДІАГНОСТИКА ХВОРОБИ ЛАЙМА

Виділити борелії зі шкірних уражень, крові, синовіальної рідини суглобів і спинномозкової рідини важко, а тому орієнтуються на клінічні симптоми хвороби. Борелії можна виявити в тканинах методом сріблення або за допомогою ***РІФ,*** хоча техніка виконання складна.

Серологічні методи дослідження розробляються. Для діагностики з 3-4 тижня хвороби і для ретроспективної діагностики використовують серологічні тести на наявність антитіл до збудника. Застосовують реакцію ***непрямої імунофлюоресценції та ІФА*** зі специфічним антигеном.

Використовують комерційні реагенти, але їх застосування обмежують терміни виявлення специфічних антитіл (IgM – на 3-6 тиждень, а IgG – лише через кілька місяців після інфікування). Крім того, антитіла до антигена *B.burgdorferi* реагують також з антигенами інших спірохет; у хворих лаймобореліозом VDRL-реакція завжди від'ємна. Великі перспективи методу вестернблот, який виявляє антитіла до унікального білка (молекулярна маса – 39 кД) *B.burgdorferi.* В стадії розробки реагенти для полімеразної ланцюгової реакції, які виявляють ДНК борелій у крові і тканинах організму.

ПРОФІЛАКТИКА ХВОРОБИ ЛАЙМА

Полягає у попередженні укусів кліщів – носити захисний одяг, не ночувати в місцях масового перебування членистоногих, боротися з кліщами.

СПЕЦИФІЧНА ПРОФІЛАКТИКА ХВОРОБИ ЛАЙМА

Препарати для специфічної профілактики відсутні. Розробляється генно-інженерна вакцина на основі протективного антигена.

ЛІКУВАННЯ ХВОРОБИ ЛАЙМА

Для лікування початкової стадії призначають тетрациклін, пеніцилін, цефалоспорини, пізніх стадій – великі дози антибіотиків, особливо цефтріаксон. Під впливом антибіотиків настає тимчасове загострення – реакція Яриша і Герксгеймера, що виникає внаслідок сполучення антигенів борелій, антитіл і комплемента.

Питання для самоконтролю

1. Мікробіологічна характеристика збудників поворотного тифу.
2. Патогенез захворювань.
3. Бактеріоскопічні методи діагностики поворотноого тифу.
4. В яких випадках і як виготовляють препарат “роздавленої” краплі ?
5. Яким чином диференціюють збудників епідемічного і ендемічного поворотного тифів ?

Тестові завдання

1. Який мікроорганізм викликає бореліоз Лайма?
A. Treponema pertenue
B. Borrelia burgdorferi
C. Borrelia recurrentis
D. Borrelia caucasika
E. Borrelia hispanica

2. Хворий М. 43 років, пастух, звернувся до лікаря із скаргами - біль у голові, м’язах, на гострий початок хвороби, високу температуру до 39 °С суглобах. При обстеженні в ділянці шиї виявлено кільцевидну еритему, краї якої інтенсивно червоні, набряклі, дещо підвищені над поверхнею шкіри, центр блідий, без виражених місцевих ознак запалення, збільшені та болючі регіонарні лімфовузли. Лікар запідозрив системний кліщовий бореліоз. Які збудники можуть його спричинити ?

3. Який шлях зараження при поворотному тифі ?
A. Фекально-оральний
B. Контактний
C. Трансмісивний
D. Аліментарний
E. Повітряно-краплинний

4. Який патматеріал досліджують для виявлення збудника поворотного тифу ?
A. Блювотні маси

B. Спинномозкову рідину
C. Фекалії
D. Кров під час нападу гарячки
E. Сироватку в період апіреексії

ЛЕПТОСПІРИ

Лептоспіри – збудники гострих інфекційних захворювань лептоспірозів, які уражують людину, гризунів, велику рогату худобу, овець, свиней, собак та інших тварин. Викликається лептоспіроз збудниками *Leptospira interrogans* (грец. *leptos* – довгий, тонкий). Входять до родини *Leptospiraceae*, роду *Leptospira*. Вперше їх виявили в 1914-1915 р. японські вчені Р.Інадо і У.Ідо з органів морської свинки, зараженої кров'ю хворого на інфекційну жовтуху. Ці спірохети були названі ними *Spirochaeta icterohaemorrhagiae*. Уленгут і Фроме описали їх у 1915 р. В 1928 році С.А.Тарасов виділив збудник водної лихоманки *Leptospira grippotyphosa* (однакова клініка з грипом, тифом, і тому така назва). За біологічними властивостями їх класифікують як сапрофіти *L.biflexa*, які живуть у водоймах; варіанти, патогенні для людей і тварин, відомі як лептоспірози.

МОРФОЛОГІЯ ЛЕПТОСПІР

Лептоспіри нагадують пружину з 12-18 дрібними завитками, що щільно прилягають одна до одної. Амплітуда первинного завитка близько 0,25 мкм. При темнопольній мікроскопії первинні завитки мають вигляд скрученого шнурка, в центрі товстіші і витягуються до кінців, які закінчуються гудзичковими потовщеннями. На кінцях лептоспіри скручені у вигляді гачка (вторинні завитки), що надають їм S- або С-подібної форми. Є також безгачкові штами лептоспір. Свіжовиділені лептоспіри завжди коротші від лептоспір, які вирощені на штучних поживних середовищах. В культурах утворюють клубки з лептоспір. Рухливі, мають обертовий, поступальний і маятникоподібний рухи. Спор і капсул не утворюють.

При дослідженні на електронному мікроскопі виявлено осьову нитку, цитоплазматичний циліндр, який рівномірно закручений навколо осьової нитки, поперечні кільця і багатошарову оболонку. Осьову нитку утворюють два і більше периплазматичних джгутики, кожен з яких одним своїм кінцем прикріплений до одного з полюсів протоплазматичного циліндра і вони рідко перекриваються в центральній частині клітини. На поверхні цитоплазматичного циліндра при спеціальній обробці виявляють мікрофібрили. Цитоплазма дрібногранулярна, у старих культурах є вакуолі. Нуклеоїд розташований ексцентрично, має тонкі, безладно розташовані фібрили ДНК.

Морфологічно патогенні і сапрофітні лептоспіри не відрізняються одні від одних, вони різняться лише складом клітинних жирних кислот: у патогенних видів більш високий рівень олеїнової, у сапрофітних штамів – міристинової кислоти. Лептоспіри містять мало нуклеопротеїдів і тому погано забарвлюються за методом Романовського-Гімзи (у блідо-рожевий колір). Їх

можна легко виявити за методом Бурі (білі сріблясті нитки), сріблення за Морозовим (фарбуються в коричневий або чорний колір). До того ж фарба змінює структуру лептоспір, тому дослідження ведуть у темному полі зору (в живому стані). Лептоспіри слабо заломлюють світло. Грамнегативні. Розмножуються поперечним поділом. В старих культурах під впливом живильного середовища, підвищеної температури і при тривалому культивуванні можуть з'являтися атипові форми лептоспір, дегенеративні форми, "зернистий" розпад лептоспір.

КУЛЬТИВУВАННЯ ЛЕПТОСПІР

Лептоспіри – хемоорганотрофи, облігатні аероби (мікроаерофіли), ростуть при температурі 28-29°С і pH 7,1-7,4 у рідких і напіврідких живильних середовищах з додаванням 5-10% сироватки кроля. Можуть рости в межах 22-37°С. Оптимальна концентрація хлориду натрію 0,05%. Використовують розчин пептону у воді 1:1000 з додаванням декількох крапель метафосфорної кислоти, середовище Уленгута (стерильна водопровідна вода, 10% сироватки кролика, прогріті протягом 30 хв при 56°С), фосфатносироваткове середовище Терських (суміш розчинів Na_2HPO_4, KH_2PO_4, дистильована вода, 10% прогрітої сироватки кролика), безсироваткове середовище Ферворта-Вольфа для посіву. Після посіву покривають шаром вазелінової олії, витримують при 32°С, а пізніше при 25-28°С. Ріст з'являється на 5-8 добу (інколи на 21-25 добу). Лептоспіри не викликають помутніння бульйону, не мають запаху. Наявність лептоспір визначають мікроскопією краплини середовища в темному полі зору мікроскопа або за опалесценцією. У напіврідких середовищах утворюють колонії круглої форми діаметром 1-3 мм. В молодих культурах на відстані 2 см від поверхні спостерігається легке помутніння у вигляді кільця. На щільних середовищах – сироватка крові кроля 10%, суміш Зеренсена, 1% агар і дистильована вода, колонії з'являються на 4-8 добу.

ФЕРМЕНТАТИВНІ ВЛАСТИВОСТІ ЛЕПТОСПІР

Ферментативні властивості лептоспір достовірно не визначені; можливо, ферменти містяться в кількості, що важко виявляється у звичайній діагностичній практиці. Джерелом органічного вуглецю і енергії служать ліпіди. Отримують енергію шляхом окислення ненасичених жирних кислот і не можуть використовувати як джерело енергії амінокислоти або вуглеводи. Основним джерелом азоту для них є солі амонію. Деякі серовари лептоспір характеризуються гемолітичною активністю. Виявлено ферменти: каталаза, оксидаза, ліпаза, плазмокоагулаза, фібринолізин, цитотоксини.

АНТИГЕННА СТРУКТУРА ЛЕПТОСПІР

До патогенних лептоспір входять 38 серогруп і понад 200 сероварів: в нашій країні трапляється 27 сероварів, що належать до 13 серогруп. Кожен серовар циркулює в популяції тварин і є самостійним збудником захворювання.

Лептоспіри мають складну антигенну структуру. Містять білковий загальнородовий антиген, який виявляється в РЗК, а також варіантоспецифічний поверхневий антиген ліпополісахаридної природи, який виявляється в реакції мікроаглютинації з адсорбованими імунними

монорецепторними сироватками, антитіла до нього мають протективну активність.

ТОКСИНОУТВОРННЯ ЛЕПТОСПІР

Лептоспіри продукують ендотоксин. Токсичні речовини є тільки в живих лептоспірах, які паразитують в організмі людини і тварин.

ПАТОГЕНЕЗ ЛЕПТОСПІРОЗУ

Лептоспіроз – гостре інфекційне зоонозне захворювання, яке характеризується лептоспіремією, лихоманкою, інтоксикацією, ураженням нирок, капілярів печінки, м'язів, серцево-судинної і центральної нервової систем. Збудниками лептоспірозу часто є *L.pomona, L.monijakov, L.grippotyphosa, L.tarassovi, L.canicola, L.icterohaemorragiae.*

ДЖЕРЕЛО ІНФЕКЦІЇ

щурі (при жовтяниці), мишоподібні гризуни (полівки), велика рогата худоба, коні, собаки (без жовтяниці), які виділяють лептоспіри у навколишнє середовище.

МЕХАНІЗМ ПЕРЕДАЧІ ІНФЕКЦІЇ

контактний, фекально-оральний

ШЛЯХ ПЕРЕДАЧІ ІНФЕКЦІЇ

водний, аліментарний, контактно-побутовий

Інкубаційний період триває 5-12 діб.

Вхідні ворота – слизові оболонки ротової порожнини, носа, травного каналу, очей, ушкоджена шкіра.

Зараження людини відбувається при вживанні продуктів або води, яка інфікована сечею тварин, або носіями лептоспір; інколи при догляді за хворою худобою. В минулому хворобу пов'язували з водою і тому назвали її водною лихоманкою. Нею можна заразитися при сінокосі, купанні у водоймах, де п'ють воду коні. Пік захворювання – влітку, в серпні місяці.

Первинний ефект на шкірі і слизових оболонках не настає. Часто буває комбіноване зараження. Лептоспіри через лімфатичні шляхи рано з'являються в крові, циркулюють і поступово проникають в усі органи, найбільше локалізуються в печінці і нирках. Лептоспіри викликають ураження капілярів печінки, нирок, центральної нервової системи В тканинах даних органів лептоспіри розмножуються. Знову надходять у кров і викликають генералізацію інфекції – лептоспіремію,

Клінічні ознаки лептоспірозу: лихоманка, висока температура, біль голови і м'язів, інколи висипаннями. В процесі розпаду лептоспір виділяється токсична речовина, яка викликає інтоксикацію, лихоманку, жовтяницю, діє на ендотелій судин, викликаючи геморагії в паренхіматозних органах, ниркову недостатність, асептичний менінгіт.

Розрізняють дві форми лептоспірозу: інфекційна жовтяниця, або хвороба Васильєва-Вейля, і лептоспіроз без жовтяниці. Безсимптомне носійство важко ідентифікувати, хоча носій активно виділяє збудник із сечею, тоді інфекцію можна встановити серологічно.

Інфекційна жовтяниця характеризується високою до 40°С температурою, бактеріємією, лихоманкою, гіперемією обличчя, запамороченнями, загальною слабкістю, блювотою, болем голови, міалгіями, болем у м'язах ніг (литках), кон'юнктивітами, в сечі з'являється білок (ураження нирок). Лептоспіри концентруються в печінці, селезінці, лімфатичних вузлах, кістковому мозку. Приєднується нудота, блювота і біль у животі. Температура триває 3 тижні і закінчується. З'являється жовтяниця шкірних покривів і слизових оболонок. Часто спостерігають геморагічний герпетичний висип на обличчі. Під впливом токсичних речовин, що утворюються в результаті розпаду лептоспір, розвивається паренхіматозне і жирове переродження печінки, виникають вогнищеві крововиливи у селезінці і явища геморагічного нефриту. З розвитком гепатиту пов'язані прояви загальної інтоксикації, блювота. З'являються жовчні пігменти в сечі і болі в животі. Спостерігаються рецидиви захворювання. При сприятливому перебігу хвороби з кінця другого тижня і впродовж 5 – 6 тижнів настає видоровлення. Збудник *L.interrogans icterohaemorragiae.* Летальний кінець припадає на 4-8% випадків. Ускладення: ураження органів зору.

Лептоспіроз без жовтяниці (водна лихоманка, далекосхідна) викликається різними лептоспірами – *L.grippotyphosa, L.battavia, L.canicola, L.DBA* та інші. Перебігає легше, без жовтяниці і крововиливів з явищами ниркової недостатності, гіперемією склер і обличчя, ураженням кон'юнктиви. На 4-7 добу інколи з'являється поліморфний висип на ключицях, який розповсюджується на тулуб і кінцівки. Через дві-три доби висип зникає. Типові ознаки ураження травного каналу – нудота, блювота і біль у животі. Інколи відмічають респіраторні ураження. Температура тіла тримається тиждень. Хвороба закінчується виздоровленням. Більш тяжко перебігають ураження, викликані сероварами *australis, pyrogenes і autumnalis.* Летальність становить 3-4%. Основні ускладнення – нефрити, пневмонії та іридоцикліти.

ІМУНІТЕТ

В результаті перенесеного захворювання лептоспірозу виникає стійкий гуморальний сероваростецифічний імунітет, механізм якого пов'язаний з наявністю антитіл (аглютинінів, комплементзв'язуючих і лізинів). Антитіла з'являються на кінець 5-6 доби захворювання, досягають до 3-4 тижня високих титрів (1:10 000-1:100 000). Вони можуть зберігатися кілька років, що дає змогу ставити діагноз ретроспективно. Можливе повторне захворювання, викликане іншим сероваром лептоспір.

МЕТОДИ МІКРОБІОЛОГІЧНОЇ ДІАГНОСТИКИ ЛЕПТОСПІРОЗУ

У крові живі лептоспіри виявляються в перші 5-7 діб захворювання, в сечі – на 8-40 добу, в спинномозковій рідині – лише при важких формах лептоспірозу з менінгіальними явищами, в суспензії органів трупа (корковий шар нирки, печінка).

Матеріал на дослідження	Основні методи дослідження	Середовища
кров сечу спинномозкову рідину шматочки органів трупа воду харчові продукти трупний матеріал кров (органи тварин і людей, що загинули від лептоспірозу)	**Бактеріоскопічне дослідження** “роздавлених” крапель осаду, за Романовським-Гімзи, метод сріблення, метод негативного контрасту з конго червоним та метод імунофлюоресценції. **Бактеріологічний метод** **Серологічні методи** - реакція ***мікроаглютинації-лізису*** ***лептоспір, РЗК.*** ***Біологічна проба***	10% сироватково-водне середовище Уленгута, фосфатно-сироваткове середовище Терських, середовище Ферворта-Вольфа, середовище з лізованою кров’ю кролика (Воліна Е.Г.), БСА (буферно-сироватковий агар), кольорове агарове сироваткове середовище – ЦАСС, ЦАСС-199

Для виготовлення “роздавлених крапель” 2-3 см^3 крові з вени набирають у шприц з 4 см^3 1,5% розчину лимоннокислого натрію. Суміш виливають у пробірку, центрифугують 30 хв при 3 000 об/хв, відділяють осад. Сечу (30-50 см^3) і спинномозкову рідину (4-6 см^3) можна досліджувати при центрифугуванні 10 000 об/хв 20 хв або без центрифугування, оглядаючи по 10-15 препаратів “роздавлених крапель”. Кусочки досліджуваного органа вагою близько 2-3 г розтирають у ступці з 5-7 см^3 фізіологічного розчину до гомогенної маси. Суспензію відстоюють одну-дві години і оглядають препарати надосадової рідини.

Краплю осаду чи надосадової рідини досліджуваного матеріалу наносять на тонкі предметні скельця (товщиною 1 мм), накривають покривним скельцем (0,2 мм) і вивчають у темному полі зору сухою системою (об’єктив х20, х40, окуляр х7, х10) при боковому освітленні. Суху систему застосовують завдяки великим розмірам лептоспір. При розгляді препаратів “роздавленої краплі ” в темному полі зору мікроскопа видно тонкі, сріблясто-білі, рухливі лептоспіри. Необхідно пам’ятати, що в крові людини зустрічаються нитки фібрину, продукти розпаду еритроцитів, які мають вигляд дужок і за морфологією нагадують лептоспіри. Однак ці утворення не мають характерного для лептоспір руху. Морфологічно патогенні і сапрофітні форми лептоспір однакові, їх диференціюють за антигенними, культуральними і біохімічними критеріями. Від’ємні результати мікроскопії не виключають лептоспірозної природи хвороби.

Бактеріологічний метод. Успіх культивування залежить від pH поживного середовища (7,2-7,4), якості посуду (пробірки мають бути виготовлені з нейтрального скла), температури культивування (25-30°С). Всі посіви заливають вазеліновою олією, оскільки розмноження лептоспір краще відбувається в умовах анаеробіозу. Вазелінову олію стерилізують в автоклаві 30 хв при 120°С (після стерилізації олія каламутніє).

Виділення ***гемокультури лептоспір.*** Для отримання гемокультури 4-5 $см^3$ крові біля ліжка хворого засівають у 4 пробірки з безсироватковим середовищем (в першу пробірку – 2 $см^3$ крові, в другу – 1 $см^3$, в третю – 0,5 і в четверту – 0,25 $см^3$). В самій крові є достатня кількість поживних речовин для росту лептоспір. При посіві крові спостерігається 80% позитивних результатів.

Посів завжди проводиться в декілька пробірок, оскільки ріст лептоспір в різних пробірках буває неоднаковим, а в окремих пробірках його може не бути.

Посів можна проводити на 10% сироватково-водне середовище Уленгута, фосфатно-сироваткове середовище Терських, середовище Ферворта-Вольфа. Пробірки енергійно струшують для попередження згортання крові. Поміщають у термостат при 28°С на 5-7 діб. Посіви оглядають кожні 5 діб упродовж 3 місяців внаслідок того, що середовище при рості лептоспір залишається прозорим.

Не менше трьох препаратів готують з кожної пробірки: пробірку з посівом обережно нахиляють майже горизонтально, щоб вся олія перейшла на нижню стінку пробірки, і пастерівську піпетку вводять в поживне середовище по верхній стінці пробірки над шаром вазелінової олії. Препарати “роздавленої” краплі розглядають в темному полі зору мікроскопа. Нерідко лептоспіри виявляються через місяць і пізніше (60 діб). При відсутності росту впродовж 15-20 діб бажано провести пересів на свіже середовище. Ідентифікацію гемокультури лептоспір проводять в РА з аглютинуючими типовими сироватками.

На другому-третьому тижні захворювання засівають сечу. Осад сечі і спинно-мозкової рідини засівають по 0,5-1 $см^3$ в 3-4 пробірки в середовище, яке містить сироватку кролика, а також десятикратні розведення осаду сечі (від 1:10 до 1:100 000). Виділення ***уринокультур*** затримується у зв’язку із вмістом в сечі сторонньої мікрофлори. Із змішаної популяції лептоспіри отримують шляхом фільтрування сечі через мембранні фільтри №1 або внутрішньочеревно заражають морську свинку для того, щоб через 5-10 діб взяти в неї кров для посіву у відповідні середовища.

Шматочки органів на дослідження розтирають стерильно в фарфоровій ступці з 2-3 $см^3$ фізрозчину. Суміш зливають у пробірки, відстоюють одну годину. Верхній шар рідини мікроскопують і засівають по 1 $см^3$ в 3-4 пробірки з безсироватковим поживним середовищем. Поміщають у термостат при +28°С і кожних 5 діб (упродовж 3 місяців) з них готують препарати для мікроскопії в темному полі зору.

Для посіву досліджуваного матеріалу від хворих (кров, сеча, ліквор) рекомендується використовувати поряд з іншими середовищами рідке поживне середовище з лізованою кров’ю кролика (Воліна Е.Г. зі співавторами, 1988).

Пробірки з засіяним матеріалом поміщають у термостат з температурою 28-30°С. Для виявлення росту лептоспір на 3, 5, 7, 10-ту добу і при необхідності кожні 5 діб культивування готують препарати "роздавлена крапля" і мікроскопують у темному полі зору мікроскопа при збільшенні х400. Якщо впродовж трьох місяців з дня посіву лептоспір виявити не вдається, результати дослідження вважаються від'ємними. З пробірок, в яких виявлені лептоспіри, проводять посів на щільні поживні середовища за методом Дригальського на три чашки Петрі. Застосовують щільні поживні середовища: середовище БСА (буферно-сироватковий агар), кольорове агарове сироваткове середовище – ЦАСС, кольорове агарове сироваткове середовище 199 – ЦАСС-199. Скляні чашки заклеюють лейкопластирем для збереження вологості, а пластмасові не заклеюють, оскільки кришка щільно прилягає до чашки. Посіви інкубують у термостаті при 28°С. Оглядають чашки Петрі з 6-8-ї доби культивування, використовуючи освітлювач ОІ-19 з матовим склом. З ізольованих колоній готують препарат і вивчають у темному полі зору мікроскопа. Виділяють чисту культуру лептоспір на рідкому поживному середовищі. При нагромадженні лептоспір у цьому середовищі до 50-100 клітин в полі зору мікроскопа х400 починають ідентифікацію і видову диференціацію лептоспір.

Ідентифікація і видова диференціація виділеної чистої культури лептоспір проводиться за біологічними і ферментативними властивостями: найбільш показовим є бікарбонатний тест, визначення гемолітичної активності лептоспір, визначення фосфоліпазної активності, естеразної активісті.

Видову диференціацію лептоспір і їх вірулентність можна визначати на лабораторних тваринках. Ці дослідження повинні проводитися лише в спеціалізованих лабораторіях.

Серологічні методи. Серодіагностика заснована на виявленні аглютинінів, лізинів і комплементзв'язуючих антитіл в сироватці хворих з другого тижня захворювання. Для виявлення антитіл використовується реакція ***мікроаглютинації-лізису лептоспір.*** Виконання реакції мікроаглютинації: одну краплю розведеної сироватки вносять у заглибинки планшета і додають по одній краплі культури лептоспір, в контрольну – наливають культуру та ізотонічний розчин хлориду натрію. При позитивній реакції мікроаглютинації ставлять лінійну реакцію аглютинації. Реакцію ставлять у кілька рядів пробірок (за кількістю серологічних варіантів). Досліджувану сироватку розводять від 1:50 до 1:6400, розливають по 0,2 $см^3$ (4 краплі) в невеликі аглютинаційні пробірки або заглибинки планшета та додають рівну кількість живої культури еталонних штамів лептоспір різних сероварів (200 сероварів, 23 серогрупи). Стандартний набір штамів складає 17 серологічних груп: Іктерогеморагія, Канікола, Целедоні, Грипотифоза, Помона, Гебдомадіс, Батавія, Тарасові, Панама, Германі, Гаунуко, Аутумналіс, Аустраліс, Яваніка, Балум, Пірогенес, Ціноптері. Культури лептоспір, що використовуються як антиген, повинні містити не менше 30-40 рухливих лептоспір у полі зору, бути не старшими 10-15-денного віку і не містити особин, які склеюються (вигляд "павуків"). Необхідно враховувати, що при додаванні до сироватки однакового об'єму

культури лептоспір розведення сироватки подвоюється. В контрольну пробірку замість сироватки наливають фізіологічний розчин 0,2 $см^3$ та додають культуру лептоспір 0,2 $см^3$. Пробірки струшують, ставлять у термостат на 2 год при 25-30^oC. З кожної пробірки готують препарати і мікроскопують. Для обліку можна користуватися двома методами:

1) суміш антиген-сироватка забирають з заглибинки платиновою петлею і наносять на центральну частину освітленого предметного скельця на предметному столику мікроскопа. Після кожного антигена петлю пропалюють і охолоджують. Покривним скельцем краплю не накривають і оглядають при збільшенні х200 (об'єктив х20, окуляр х10). На одному скельці можна оглянути до 6-10 препаратів;
2) краплю суміші антиген-сироватка покривають покривним скельцем – "роздавлена крапля", оглядають при збільшенні х400 (об'єктив х40, окуляр х10). Враховують аглютинацію і лізис одночасно. При появі в сироватці антитіл до певного серовару лептоспіри в перших розведеннях спостерігається лізис, повне розчинення лептоспір, частковий лізис або зернисте набухання, зменшення лептоспір порівняно з контролем та зміна морфології лептоспір. У наступних розведеннях виявляється аглютинація лептоспір – склеювання у вигляді "павуків-агломератів", які відсутні в контрольній пробірці. В павучки можуть склеюватися як частково лізовані, так і не змінені лептоспіри, а тому вони бувають малими і великими.

Реакція аглютинації, яка не супроводжується лізисом, не може вважатися специфічною. Титром реакції аглютинації вважають максимальне розведення досліджуваної сироватки, при якому виявляються склеєні лептоспіри ("павучки") при відсутності їх у контролі (рис. 112). Аглютинаційний титр при лептоспірозі досягає 1:6400-1:12800). Літичним титром вважають максимальне розведення сироватки, при якому різко виражені зернистість і набухання лептоспір, які відсутні в контрольній пробірці. Літичний титр, як правило, нижчий від аглютинаційного.

Діагностичне значення має позитивна реакція в розведенні сироватки 1:100-1:400. Можна оцінювати також силу реакції в межах одного розведення і позначати її плюсами:

+ аглютиновано 25% лептоспір порівняно з контролем;

++ аглютиновано 50% лептоспір;

+++ майже всі або всі лептоспіри аглютиновано. В осіб, які перехворіли, антитіла зберігаються протягом багатьох років. У сумнівних випадках рекомендується повторне проведення реакції через 7-10 діб.

З метою спрощення розгорнутої реакції аглютинації В.С.Кіктенко рекомендує досліджувати штами лептоспір попередньо в орієнтовній реакції на склі. На предметне скло наносять три краплі: краплю досліджуваної сироватки хворого в розведенні 1:50, краплю сироватки в розведенні 1:500 і краплю ізотонічного розчину хлориду натрію. До кожної краплі додають однакову кількість культури лептоспір, внаслідок чого фактичне розведення сироватки подвоюється – в першій краплі 1:100, в другій – 1:1000. Суміш сироватки з

культурою лептоспір добре перемішують кутиком іншого предметного скельця і легко підігрівають. Результат реакції враховують через 3-5 хв – готують препарат "роздавлена крапля" і мікроскопують у темному полі зору. Штами лептоспір, які позитивно реагують з сироваткою хворого в досліді на предметному скельці, застосовують для виконання розгорнутої реакції аглютинації. Таким чином кількість рядів у реакції значно зменшується.

Для діагностики лептоспірозу можна застосовувати ***РЗК.*** Антигеном є культури лептоспір, концентровані на ультрацентрифугах, або аутолізати старих культур лептоспір. Сироватки крові хворих розводять 1:10 і вище. Позитивною вважають реакцію в розведенні 1:10 і вище при інтенсивності ++++ або +++. Застосовують також РПГА, антиген – діагностикум з еритроцитів з адсорбованими на них лептоспірами.

Для встановлення точного серологічного діагнозу виявляють IgG, які на відміну від IgM строго специфічні. З цією метою застосовують 2-меркаптоетанол і цистеїн, які вибірково розщеплюють IgM, не порушуючи серологічної активності IgG.

Інактивацію IgM цистеїном проводять за методикою Е.В.Чернохвостової. Цистеїн (314 мг) розчиняють в 10 $см^3$ 0,2 М розчину їдкого натру. Кожну досліджувану сироватку розводять буферним розчином 1:5 і ділять на дві частини. До однієї додають однаковий об'єм розчину цистеїну, до іншої – 0,85% розчин хлориду натрію. Пробірки з сумішами закривають гумовими корками і витримують 18-20 год в термостаті при 37°С. Сироватку крові хворого розводять 1:10-1:1600 і використовують для реакції мікроскопічної аглютинації.

Співставляють результати реакції в сироватках, оброблених цистеїном, і нативних. Якщо концентрація антитіл в обох пробах збігається, вважають, що вони належать до класу G (***ІФА***). Про наявність IgM судять за відсутністю антитіл в обробленій сироватці або по зменшенню в 4 рази і більше титрів у сироватках, які піддавали впливу редуцента, порівняно з контрольними.

Біологічна проба проводиться одночасно з бактеріологічним методом для виділення культури лептоспір, контамінованої сторонньою мікрофлорою матеріалу (сеча хворих, вода відкритих водоймищ, грунт); для очищення культур лептоспір від сторонньої мікрофлори; для дослідження води відкритих водоймищ.

Проводиться на молодих морських свинках масою 150-200 г, яких заражують внутрішньочеревинно 3 $см^3$ крові від хворого в лихоманковому періоді, 5-10 $см^3$ сечі або спинномозкової рідини, 1 $см^3$ завісини органів з трупа людини або тварини. Внаслідок розвитку лептоспір в організмі піддослідних тварин на початку 5-7 доби виникає лихоманка і пожовтіння слизових оболонок, а на 8-12 добу – загибель при явищах гіпотермії. При розтині трупів тварин спостерігається жовтяниця, у внутрішніх органах – чисельні геморагії. Лептоспіри *L.icterohaemorrhagie* виявляють у мазках-відбитках з печінки і нирок, легень і наднирників, рідше з інших органів і тканин. Для зараження іншими сероварами лептоспір найбільш придатні золотисті хом'ячки. Їх заражають внутрішньочеревинно, підшкірно, внутрішньовенно, через

скарифіковану шкіру і слизові оболонки. Кожного дня вимірюють температуру, зважують, а на другий тиждень проводять мікроскопію осаду сечі. При виявленні лептоспір у сечі тварин забивають і проводять посів тканини нирок на поживні середовища, беруть кров із серця для дослідження на наявність специфічних імуноглобулінів за допомогою реакції мікроаглютинації і лізису лептоспір (РМАЛ). Біологічна проба є раннім методом лабораторної діагностики лептоспірозу.

ПРОФІЛАКТИКА ЛЕПТОСПІРОЗУ

Профілактика визначається характером лептоспірозного вогнища. У природному вогнищі лептоспірозу не слід допускати контактів людей із зараженою водою. Для ліквідації природних вогнищ лептоспірозу застосовують осушення боліт та інші меліоративні заходи. У сільських вогнищах лептоспірозу здійснюють оздоровлення тварин (виявлення, ізоляція і лікування хворих тварин, вакцинація, запровадження карантину та ін.). Серед населення ведуть санітарно-освітню роботу, впорядковують місця для забору води, купання людей і тварин. У міських вогнищах лептоспірозу, як профілактичні заходи, застосовують дератизацію і захищають харчові продукти від гризунів.

СПЕЦИФІЧНА ПРОФІЛАКТИКА ЛЕПТОСПІРОЗУ

Осіб, які працюють у вогнищах інфекції, піддають вакцинації. Застосовують лептоспірозну корпускулярну вакцину (завісину вбитих нагріванням лептоспір основних серогруп), яка була запропонована А.А.Варфоломєєвою і Г.Н.Ковальським.

ЛІКУВАННЯ ЛЕПТОСПІРОЗУ

Хворим призначають антибіотики – пеніцилін, тетрациклін разом з лептоспірозним гетерологічним імуноглобуліном, який отриманий з крові імунізованих волів, і дезінтоксикаційні засоби (глюкоза, препарати крові), дотримання постільного режиму і молочно-рослинної дієти.

Питання для самоконтролю

1. Мікробіологічна характеристика збудників лептоспірозу.
2. Патогенез захворювань.
3. Основний метод мікробіологічної діагностики лептоспірозу.
4. Виділення гемокультур лептоспір.
5. Серологічні реакції, які застосовують для виявлення лептоспірозних антитіл.
6. Біологічна проба.

Тестові завдання

1. Які з перерахованих хвороб можуть перебігати у формі жовтяниці і без неї ?

A. Лептоспіроз
B. Сальмонельоз
C. Ешерихіоз
D. Рикетсіоз

E. Мікоплазмоз

2. Для діагностики лептоспірозу використовують метод гемокультури. На якому середовищі культивують лептоспіри ?
A. Середовище Кітт-Тароцці
B. Середовище Ферворта-Вольфа
C. Середовище Вільсон-Блера
D. Середовище Борде-Жангу
E. Средовище Левенштейна-Йенсена

3. Що є основною особливістю культивування лептоспір ?
A. Середовище мутне
B. Середовище не каламутніє, прозоре
C. Утворення поверхневої плівки
D. Утворення осаду
E. Дифузний ріст

4. У лікарню госпіталізований хворий з діагнозом лептоспіроз. Хворіє 4 дні. Який матеріал беруть від хворого на І-му тижні захворювання ?
A. Змиви з носоглотки
B. Кров та ліквор
C. Сечу та фекалії
D. Пунктат лімфовузлів
E. Виділення з виразки

5. Лептоспіроз – це гостра природньо-вогнищева інфекція, яка характеризується лихоманкою, симптомами загальної інтоксикації, ураженням нирок, печінки, нервової системи та геморагічним синдромом. Які методи не використовують при діагностиці лептоспірозу, а які використовують ?

6. Які препарати використовують для активної імунопрофілактики лептоспірозу ?
A. Анатоксин
B. Специфічний імуноглобулін
C. Атенуйована вакцина
D. Полівалентна вакцина
E. Хімічна вакцина

РИКЕТСІЇ

Рикетсії – бактерієподібні поліморфні облігатні внутрішньоклітинні паразити різних членистоногих, через яких проходить зараження людини і тварин. Рикетсіози – це кров'яні лихоманкові інфекції з розеольозними, петехіальними, макуло-папульозними висипками на шкірі, які викликають в людей 9 видів рикетсій. Вони не ростуть на штучних поживних середовищах. Для їх культивування як і для культивування хламідій і вірусів використовують клітинні культури, курячі ембріони і чутливі лабораторні тваринки.

Група мікроорганізмів рикетсії вперше була виявлена американським вченим Г.Рікетсом в 1909-1910 роках та Р.Уайлером. В 1913 році Г.Провацек відкрив збудника висипного тифу. В честь дослідників, які загинули Г.Рікетса і С.Провацека бразільський вчений Е.Роша-Лама в 1916 році запропонував назвати всю групу рикетсіями, а збудника висипного тифу – рикетсією Провацека.

Основна особливість рикетсій – облігатний паразитизм, властивість рости і розмножуватись внутрішньоклітинно – в цитоплазмі або ядрі клітини.

ТАКСОНОМІЯ

Рикетсії відносяться до класу Rickettsias, родини Rickettsiaceae. В склад родини входять три роди: Rickettsia, Coxiella, Rochalimae, вони уражують різні види тварин і людину.

Захворювання, які викликають рикетсії родини називаються рикетсіозами. Вони розповсюджені в усіх країнах світу.

КЛАСИФІКАЦІЯ

рикетсіозів заснована на комплексі ознак: на властивостях збудника, епідеміології і клініці хвороби; налічує 5 основних груп:

1. Вошиво-блошиний рикетсіоз (група висипного тифу).
2. Кліщовий рикетсіоз (група кліщових плямистих лихоманок).
3. Пневмотропний (група гарячки Ку).
4. Група цуцугамуші.
5. Група пароксизмальних рикетсіозів.

МОРФОЛОГІЯ І КУЛЬТУРАЛЬНІ ВЛАСТИВОСТІ

Рикетсії – дрібні (0,2-1 мкм), нерухомі поліморфні мікроорганізми. Розмножуються поділом. Розрізняють кокоподібні, короткі і довгі паличкоподібні і ниткоподібні форми. Виявлено фільтрівні форми.

За допомогою електронної мікроскопії і цитохімічних досліджень у рикетсій виявлено наявність нуклеоїду, внутрішньої і зовнішньої трьохшарової оболонки. У цитоплазмі – гранули типу рибосом величиною 20-70 нм і вакуолеподібні структури діаметром 6-8 нм.

В зв'язку з особливостями хімічного складу для забарвлення рикетсій використовують методи Романовського-Гімзи, Здродовського, Грама. За методом Здродовського рикетсії фарбуються в червоний колір, клітинні елементи в голубий, ядра в синій; за методом Грама в червоний.

КУЛЬТИВУВАННЯ

Культивуються рикетсії в жовтому мішку курячого ембріона, культурі тканин, організмі експериментальних тканин, організмі переносників. Вони активно проникають в клітини господаря, розмножуються помалу, поперечним поділом. В залежності від виду рикетсій розмноження проходить в цитоплазмі або в ядрі клітини. Рикетсіям властивий автономний обмін речовин, аеробний тип дихання.

При електронній мікроскопії у рикетсій Провачека виявлено мікрокапсулу товщиною 10-12 нм, клітинну стінку і цитоплазматичну мембрану.

АНТИГЕННА СТРУКТУРА І ТОКСИНОУТВОРЕННЯ

Виявлено специфічний термолабільний і груповий термостабільний антигени. У 1916 році Е.Вейль і А.Фелікс виділили з сечі хворих на висипний тиф Proteus 0X19, який має властивість аглютинуватися в присутності сироватки крові хворих на висипний тиф і реконвалесцентів. Виявилось, що протей має спільний з рикетсіями полісахаридний гаптен. Для диференціальної діагностики рикетсіозів використовували і інші штами протея (0X2, 0XK, 0XL).

Для серологічних реакцій використовують корпускулярні і розчинні антигени. Токсичні властивості має жива завісина рикетсій.

Механізм дії білкових токсинів полягає в ураженні клітин ендотелію, зміні проникливості капілярів, що приводить до виходу плазми в тканину, зменшенню об'єму крові і різкому падінню кров'яного тиску. Токсин має гемолітичні властивості, є дуже лабільним білком і руйнується при загибеллі клітини.

РЕЗИСТЕНТНІСТЬ

До дії високої температури рикетсії відносяться як вегетативні форми бактерій. Виключенням є рикетсії Бернета, які характеризуються високою стійкістю до усіх факторів, включаючи температурний. Добре зберігаються рикетсії при низьких температурах, та в лоофілізованому вигляді. Для збереження життєздатності використовується зберігання рикетсій при – 60^0 С. При дії формаліну проходить детоксикація без загублення антигенних властивостей. Чутливі до звичайних концентрацій дезречовин (0,25 % розчин формаліну, 0,5 % розчин фенолу), до жиророзчинників, високо чутливі до антибіотиків тетрациклінового ряду і левоміцетину, еритроміцину.

ПАТОГЕННІСТЬ ДЛЯ ТВАРИН

До рикетсій Провачека сприятливі мавпи, морські свинки, білі миші. У мавп можна відтворити висипний тиф, подібний за клінічною картиною на висипний тиф у людини. У морських свинок при внутрішньочеревному зараженні кров'ю хворого через 8-12 діб розвивається гарячка (температура тіла підвищується на 1-1,5 С), збудник виявляють в крові, внутрішніх органах, мозку. При зараженні морських свинок інтраперитонально, на 12 добу розвивається гарячка, рикетсії виявляються на поверхні оболонок яєчка, в очеревині, мозку. У білих мишей, заражених інтраназально під ефірним наркозом, розвивається пневмонія.

Збудник висипного тифу розмножується в клітинах стінки шлунка вошей-переносників, а після розпаду клітини з'являються у фекаліях вошей на 5 добу після зараження. Блохи і кліщі не гинуть від рикетсіозної інфекції, зберігають збудника в організмі на все життя, виділяючи їх з фекаліями. Кліщі передають збудників трансоваріально.

ІМУНІТЕТ

В процесі розвитку інфекції чи вакцинації формується антимікробний і антитоксичний імунітет, стійкий клітинний і гуморальний імунітет. Повторні випадки висипного тифу є рецидивами хвороби. Тому таку форму висипного тифу називають хворобою Брілла. Рецидиви наступають в результаті різних несприятливих дій (інфекційні або інші захворювання, хіхургічне втручання, переохолодження, психічні і фізичні травми, перевтома, голод та ін) на організм, який впродовж тривалого часу був носієм рикетсій у стані персистування. При первинному висипному тифі виробляються головним чином IgM, при рецидивуючому (хвороба Брілла) – IgG.

Для виявлення антитоксинів в крові може бути використана реакція нейтралізації (поява в крові хворих антитоксинів, яким властиво нейтралізувати токсин – реакція дозволяє диференціювати рикетсії Провачека від інших видів рикетсій. Ця реакція підтверджує білкову природу токсинів рикетсій.

ЗБУДНИК ЕПІДЕМІЧНОГО ВИСИПНОГО ТИФУ
КЛІНІКА І ПАТОГЕНЕЗ

Висипний тиф – антропонозна інфекція. Ще в 1896 році О.О.Мочутковський дослідами на собі довів, що збудник знаходиться в крові і передається кровосисними комахами. В 1909 році Ніколь Ш. з співробітниками в експерименті на мавпах довели, що висипний тиф передає платяна одежна воша Pediculus humanus.

Джерело інфекції – хвора людина, перенощик – одежна воша. Насмоктавши крові хворого воша стає заразною вже на 5 добу, рикетсії розвиваються при 30^0 С у клітинах епітелію слизової оболонки кишківника воші. Людина є заразною впродовж двох останніх діб інкубації і всього лихоманкового періоду. Рикетсії з випорожненням воші проникають в ранку від укусу і при розчісуванні, втиранні та роздавлюванні. Рикетсії мають тропізм до ендотеліальних клітин капілярів і дрібних судин; найбільш значно ураджуються судини центральної нервової системи. Інкубаційний період 10-14 діб, На 4-5 добу хвороби з'являється специфічна висипка - розеольозно-петехіального характеру (при надавлюванні петехії зникають). Захворювання супроводжується високою температурою, гарячкою, ураженням ЦНС. Тривалість хвороби 21 день. Смерть може наступити в результаті ураження наднирників, нервової і серцево-судинної систем.

Розрізняють: легку, середньоважку і важку форми інфекції. Можливі стерті форми інфекції.

В період епідемічного благополуччя відмічаються випадки повторного висипного тифу, як відмічалось вище – хвороба Брілла. Захворювання характеризується доброякісним протіканням і особливостями лабораторної

діагностики. Існують дві теорії, які намагаються пояснити епідеміологію і патогенз хвороби Брілла:

1. Повторний висипний тиф є рецидивом. Виникнення його пов'язано з рикетсіями Провачека, які збереглися в організмі людей, що раніше перенесли висипний тиф. При зниженні імунітету ці рикетсії можуть знову попадати в кров і викликати повторний висипний тиф.

2. Хвороба Брілла – реінфекція в результаті нового інфікування, яка має нетиповий перебіг, в зв'язку з наявністю в організмі залишкового імунітету в результаті раніше перенесеного захворювання.

ЛАБОРАТОРНА ДІАГНОСТИКА

Використання серологічних реакцій.

При постановці реакції аглютинації (Вейля-Фелікса) з протеєм 0Х19 вона завжди дає негативну відповідь, а з рикетсіями Провачека – позитивну. Це свідчить про визначні зміни, які пройшли в антигенній структурі рикетсій, що викликали хворобу Брілла. Проводять РА з рикетсіями Провачека (мікроаглютинацію на склі і розгорнуту в пробірках), РЗК, РНГА, РІФ. У хворих, які використовували антибіотики РА може бути з низьким титром антитіл без наступного його наростання.

Попередня обробка сироватки хворого сполученнями, які руйнують дисульфідні зв'язки IgM (2 меркаптоетанолом і ін.) дає можливість диференціювати первинний висипний тиф від хвороби Брілла.

Виконання ***реакції аглютинації з рикетсіями Провецека.*** Кров беруть з ліктьової вени або з пальця на 4-7 добу від початку хвороби, відділяють сироватку. Розводять сироватку від 1 : 20 до 1 : 1280 в об’ємі 0,2 мл ізотонічним розчином хлориду натрію. Додають 0,2 мл рикетсіозного діагностикуму. Ставлять контролі: 1) сироватка хворого 1 : 20 0,2 мл + 0,2 мл ізотонічного розчину хлориду натрію; 2) 0,2 мл діагностикуму + 0,2 мл фізрозчину; Результат врахувують після 18-20 год перебування штативу з пробірками в термостаті та 2 год при кімнатній температурі. Реакція вважається додатньою в розведенні сироватки 1:40, 1:80.

Виконання реакції непрямої гемаглютинації. Антиген для цієї реакції готують з рикетсій, вирощених в жовтковому мішку курячого ембріону та висушених у вакуумі. В день виконання реакції адсорбують антиген на еритроцитах барана: для цього еритроцити 15 хв обробляють розчином таніну в розведенні 1 : 20000 – 1 : 200000, що надає їм стійкості та кращої адсорбаційної здатності. Змішують з антигеном і інкубують 2 год при 37° С. Сенсибілізовані антигеном еритроцити 2 - 3 рази відмивають 0,85 % розчином хлориду натрію і в кількості 0,1 - 0,25 мл завісини додають до сироватки.

Проводять розведення сироватки від 1 : 10 до 1 : 1280; розливають по 0,25-0,5 мл в заглибинки або пробірки; додають еритроцитарного рикетсіозного діагностикуму по 0,25 мл. Ставлять контролі: завісини інактивованих і навантажених антигеном еритроцитів, які вносять в сироватки, що дають позитивну і негативну реакції. Результат враховують через 2 год інкубування в термостаті:

++++ еритроцити повністю покрили все дно виємки у вигляді

парасольки з нерівними краями;

+++, ++ осад еритроцитів у вигляді парасольки, в центрі невелике кільце з еритроцитів, що не склеїлися;

Виконання ***реакції зв'язування комплементу.*** Кров беруть на 5-7 добу хвороби, сироватку розводять від 1 : 50 до 1 : 1600. Як антиген використовують очищену і висушену у вакуумі завісину корпускулярних або частково розчинних рикетсій. Зв'язування комплементу (1 фаза) проходить при 37° С впродовж 1 год. Затримка гемолізу повинна бути в розведенні сироватки 1 : 200.

Високою чутливістю і специфічною є ***реакція нейтралізації токсину рикетсій***. Ставлять на мишах із застосуванням як токсину певної дози завісини живих рикетсій та відповідного розведення імунної сироватки. Але внаслідок складності виконання в практичних лабораторіях вона не застосовується.

Ставлять біопробу на морських свинках – самців заражають збудником епідемічного висипного тифу – виникає гарячка без виникнення періорхіту.

ПРОФІЛАКТИКА

Боротьба з вошами серед населення, санітарна культура, санітарна обробка у вогнищі інфекції у випадку виникнення висипного тифу, спостереження за контактуючими людьми з вимірюванням температури тіла, обов'язкова госпіталізація, рання діагностика.

СПЕЦИФІЧНА ПРОФІЛАКТИКА

Зараз розроблена хімічна висипнотифозна вакцина, яка являє собою очищені і концентровані поверхневі антигени рикетсій Провачека. Завдяки здійсненню профілактичних заходів епідемічний висипний тиф ліквідований.

ЛІКУВАННЯ

Застосовують антибіотики тетрациклінового ряду, левоміцетин. Сульфаніламідні препарати протипоказані – посилюють ріст рикетсій.

ЗБУДНИК ЕНДЕМІЧНОГО (щурів, блошиного, пацюкового) ВИСИПНОГО ТИФУ

Збудником спорадичного доброякісного гострого інфекційного захворювання є Rickettsia typhi. Відкритий в 1928 році Х.Музером. За біологічними властивостями однаковий з рикетсіями Провачека. За морфологією менш поліморфні ніж рикетсії Провачека. Це дрібні палички і коковидні клітини довжиною 0,7-1,3 мкм, шириною 0,35-0,6 мкм; рідко утворюють нітевидні клітини. Як і всі рикетсії грамнегативні, за методом Здродовського зафарбовуються в червоний колір. Добре розмножуються в курячому ембріоні і деяких культурах. При вирощуванні в культурі клітин курячого ембріону утворюють бляшки (як і Провачека). Оптимальна температура росту 35^0 С в курячому ембріоні.

R.typhi мають два типи антигенів:

1). Один з них термостабільний, екстрагується ефіром і є загальний з рикетсіями Провачека.

2). Термолабільний, не розчиняється ефіром, є специфічний для даного виду рикетсій.

Наявність видоспецифічного антигену дозволяє диференціювати рикетсії ендемічного висипного тифу від рикетсій Провачека. Збудник тифу утворює токсин, зв'язаний тісно з тілом клітини. Він за антигенною структурою інший від токсину рикетсій Провачека, що виявляється в реакції нейтралізації.

Ендемічний висипний тиф – це зоонозною інфекція, яка розповсюджена серед дрібних диких гризунів – сірих і чорних щурів та мишей. Збудник пов'язаний з тілом цих тварин і їх ектопаразитами – щурячими блохами, які можуть нападати на людину; щурячими вошами, які не нападають на людей і гамазовими кліщами. Ектопаразити заражаються при кровосмоктанні, рикетсії розмножуються в кишківнику і виділяються з фекаліями.

Циркуляція рикетсій ендемічного висипного тифу проходить по ланцюгу: щур чи миша – щуряча блоха чи воша – щур чи миша. Людина заражується шляхом втирання в шкіру при розчісуванні фекаліями блох, аерогенно при попаданні фекалій на слизові оболонки верхніх дихальних шляхів, а також при забрудненні харчових продуктів сечею гризунів – аліментарним шляхом.

Ендемічний висипний тиф розповсюджений в багатьох країнах – особливо в портових містах, де багато мишей і щурів.

Мавпи і кролі відносно стійкі до рикетсій цього виду. У морських свинок (самців) при зараженні їх у кон'юктиву ока, слизову оболонку носа і порожнини рота з'являється гарячка. Найхарактерніший симптом – рикетсіозний періорхіт (скротальний феномен), який розвивається при внутрішньочеревному зараженні.

R.typhi малостійкі до факторів навколишнього середовища, але при низькій температурі і в сухому стані можуть зберігатися довгий час.

ПАТОГЕНЕЗ

Патогенез однаковий з патогенезом епідемічного висипного тифу. Після захворювання розвивається стійкий антимікробний і антитоксичний імунітет. При цьому створюється несприйнятливість і до епідемічного виспного тифу.

Клінічно важко диференціювати ендемічний від епідемічного висипного тифу, тому мають місце лабораторні методи дослідження: РЗК, РАР – вивчення наростання титру антитіл реакції під час хвороби. Для диференціації ендемічного і епідемічного висипного тифу проводять паралельно РА з R.typhi і R.prowazekii. У випадку ендемічного висипного тифу діагностичний титр з R.typhi в 3-4 рази вищий титру ніж з R.prowazekii. При диференціації епідемічного висипного тифу має значення титр реакції з гомологічним і гетерологічним антигенами та внутрішньочеревне зараження морських свинок. В сумнівних випадках йдуть до зараження самців морських свинок, в яких поряд з гарячкою розвивається періорхіт.

Для ідентифікації рикетсій ендемічного висипного тифу можна використати тест нейтралізації токсину. При цьому слід врахувати, що

сироватки деяких здорових, які не хворіли людей можуть нейтралізувати токсин.

ПРОФІЛАКТИКА

Знищення гризунів і покращення санітарно-гігієнічних умов життя населення.

ЛІКУВАННЯ

Левоміцетином, антибіотиками тетрациклінового ряду.

ЗБУДНИК КУ-ГАРЯЧКИ

У 1937 році в Австрії серед робітників скотобоєнь Е.Деррік виявив захворювання, що дістало назву Ку-гарячки (від початкової літери англійського слова *Queri* – невизначений). У 1939 році Ф.Бернет збудника Ку-гарячки виділив із крові і сечі хворих.

Ку-гарячка трапляється в багатьох країнах світу, з 1948 року реєструється в багатьох районах нашої країни.

Викликає Ку-гарячку *Coxiella burneti*, яка відноситься до групи пневмотропних рикетсіозів.

МОРФОЛОГІЯ І БІОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ

Паличковидні клітини ланцетоподібної форми, довжиною 0,4 - 1 мкм, сферичної форми 0,3 - 0,4 мкм в діаметрі, грамвід'ємні. За Романовським-Гімзи і Здродовським фарбуються в червоний колір. Складаються з оболонки, цитоплазми, нуклеоїду. Можуть бути кокоподібні, овоїдні, паличкоподібні, ниткоподібні. Проходять через бактеріальні фільтри.

Рикетсії Бернета не ростуть на поживних середовищах, добре розмножуються за методом Кокса в курячих ембріонах, в культурі клітин курячих і мишиних фібробластів при температурі 35^0 С. Тканинні культури використовують для виготовлення діагностикумів і вакцин. Їм властивий бінарний поділ. Всередині клітин господаря розмножуються у вакуолях. Ферментативних властивостей рикетсії Бернета не мають. Наявність токсину в них не доведена, проте вони містять алергени і сенсибілізують організм з утворенням васкулітів і гранульом.

Містять антигени I та II фази. Антиген першої фази – поверхневий полісахарид, другої фази – природа невідома, лежить глибше. У рикетсій виділених від хворого чи інфікованої тварини визначено антиген першої фази.

Рикетсії, які довго культивуються в курячому ембріоні втрачають властивість утворювати антиген першої фази, в них виявлено антиген лише другої фази. Але достатньо одного пасажу через організм морської свинки для відновлення властивості синтезувати антиген першої фази.

ПАТОГЕНЕЗ

Ку-гарячка розповсюджена майже всюди (лише не зареєстрована в деяких країнах – Фінляндії, Швеції, Норвегії, Данії, деяких країнах Західної Африки, Південної Америки).

В природних вогнищах проходить циркуляція рикетсій Бернета по ланцюгу – кліщі – теплокровні тварини – кліщі.

В сільськогосподарських вогнищах резервуаром збудника є домашні тварини – велика і дрібна рогата худоба. Тварини заражаються від кліщів чи від хворих тварин, які виділяють збудника з випорожненнями. Хворі тварини можуть виділяти рикетсії також з молоком, а під час пологів – з плацентою, що може інфікувати людину.

Доведено зв'язок захворювання з роботою на бойнях, на підприємствах м'ясної промисловості, молочних фермах. Люди заражаються при обробці шерсті, під час перебування поблизу скотних дворів, молочних ферм, при вживанні продуктів від тварин. Захворювання найчастіше буває у квітні-травні. Хвора людина може виділяти рикетсії з харкотинням, яке треба знешкоджувати.

Ку-гарячка – гостре інфекційне захворювання, яке відрізняється різноманітністю хворобливих симптомів і важкістю перебігу, від легкої лихоманки до ураження внутрішніх органів і виникненням бронхопневмонії. Зараження людини може бути повітряно-пороховим шляхом, аліментарним – при вживанні молока і молочних продуктів, а також через забруднені руки. В організм людини збудник проникає через слизові оболонки чи уражену шкіру. Після проникнення рикетсій виникає первинна рикетсемія. Далі збудник потрапляє в макрофаги лімфоїдної тканини, в яких розмножується. Руйнування макрофагу веде до виходу рикетсій і генералізації інфекційного процесу (незавершений фагоцитоз).

Інкубаційний період при Ку-гарячці триває 7-30 діб. Клінічно характеризується вираженим поліморфізмом і тому, за клінічними ознаками, її часто важко діагностувати. Виділяють три форми захворювання: у формі пневмонії, гарячкову або грипозну, менінгоенцефалітну. Кожна з них має ряд особливостей. Захворювання розвивається раптово, після інкубаційного періоду 7-28 діб. Характеризується різким підвищенням температури до 38-40^0 С, морозить, сильний біль голови, міалгія, слабкість і безсоння. Летального кінця не буває або ж він спостерігається дуже рідко.

ІМУНІТЕТ

Імунітет розвивається міцний, тривалий.

ЛАБОРАТОРНА ДІАГНОСТИКА

Лабораторна діагностика Ку-гарячки. Серологічні реакції – ***РА, РЗК, РНГА.*** Антитіла в сироватці хворих виявляються на 8-10 добу захворювання. У зв’язку з низькими титрами анлютинінів сироватку крові хворого розводять від 1:4 до 1:64, розливають в пробірки по 0,25 мл і додають по 0,25 мл антигену. Поміщають в термостат. Врахування результатів реакції проводять через 18-20 год. Діагностичні титри – 1:4 – 1:16. Наростання титру антитіл впродовж

захворювання підтверджує діагноз і використовується для диференціації типового захворювання від випадків реконвалесценсії і латентної інфекції. РНГА є більш чутливою.

В РЗК вдається виявити антитіла до антигенів І та ІІ фаз. Максимум титру комплементзв'язуючих антитіл на третьому тижні хвороби. Позитивна реакція з антигеном ІІ фази і негативна чи слабкопозитивна реакція з антигеном І фази вказує на інфекційний процес; позитивна реакція з антигенами І та ІІ фаз свідчить про перенесене захворювання в минулому. Техніка виконання така сама як і при висипному тифі.

Для ретроспективної діагностики застосовується ***шкірно-алергічна проба.*** Внутрішньошкірно вводять 0,1мл спеціального алергена. Через 30 -36 год на місці введення з'являється гіперемія (2,5 х 2 см) з інфільтратом в центрі.

В сумнівних випадках рекомендується ***біопроба***. Збудника Ку-лихоманки виділяють шляхом внутрішньочеревного зараження морських свинок-самців 3-5 мл крові хворих або введенням 0,3-0,5 мл крові в яєчка. Матеріалом від інфікованої свинки заражають курячі ембріони по Коксу. При повторних пасажах рикетсії з фільтрівних форм переходять у видимі і виявляються при забарвленні за Романовським-Гімзе і Здродовському.

ПРОФІЛАКТИКА

Проводиться комплекс санітарноветеринарних та санітарнопротиепідемічних заходів. Для догляду за тваринами підбирають людей, які перехворіли Ку-гарячкою Ку вакцинованих. Молоко в несприйнятливих господарствах обов'язково кип'ятять, так як пастеризація не вбиває рикетсії Бернета.

СПЕЦИФІЧНА ПРОФІЛАКТИКА

Використання живої вакцини з рикетсій Бернета М-44 нашкірно, запропонованою П.Ф.Здродовським та В.А.Генігом.

ЛІКУВАННЯ

Етіотропними препаратами при гарячці Ку є антибіотики тетрациклінового ряду, левоміцетин та патогенетичні засоби (серцеві глікозиди, переливання крові або плазми крові).

Питання для самоконтролю

1. Правила взяття матеріалу на дослідження при висипному тифі.
2. Морфологічні типи рикетсій.
3. Особливості розмноження.
4. Основні методи лабораторної діагностики рикетсіозів.
5. Препарати для профілактика та терапії епідемічного та ендемічного висипного тифів.

Тестові завдання

1. У пацієнта з підозрою на ендемічний поворотний тиф під час нападу гарячки взято кров з пальця і виготовлено препарат "товста крапля". Яким методом зафарбувати препарат ?

A. Грама
B. Бурі
C. Ціля –Нільсена
D. Леффлера
E. Романовського-Гімзи

2. При огляді пацієнта виявлено кров'яну лихоманкову інфекцію з резеольозним, петехіальним, макуло-папульозним висипом на шкірі. Які мікроорганізми можуть давати таку клінічну картину хвороби ?
A. Спірохети
B. Рикетсії
C. Хламідії
D. Мікоплазми
E. Віруси

3. При огляді пацієнта з розеольозним висипом встановлено попередній діагноз висипний тиф. Яким методом можна підтвердити діагноз?
A. Мікроскопією препарату, зафарбованого за Грамом
B. Бактеріологічним методом
C. Біологічною пробою
D. Реакцію аглютинації з рикетсіозним діагностикумом
E. Алергійною пробою

4. Згідно скерування проведенно бактеріологічне дослідження сечі від пацієнта Н. Необхідно визначити антибіотикограму. Вкажіть, яким методом необхідно провести посів виділеної чистої культури мікроорганізмів для визначення її чутливості до антибіотиків ?
A. Уколом
B. Газоном
C. Штрихами на сектори
D. За Дригальським
E. Бляшками

5. Які з перелічених методів дослідження відносяться до експрес-методів лабораторної діагностики ?
A. Імуноферментний аналіз
B. Реакція імунофлюоресценсії
C. Радіоімунний аналіз
D. Полімеразна ланцюгова реакція
E. Антибіотикограма

ХЛАМІДІЇ

Це бактерії-паразити, які утворюють в уражених клітинах цитоплазматичні міхурці (*Chlamidia*). Хламідії за своїми морфофізіологічними особливостями близькі до рикетсій, але відрізняються більш складним функціональним циклом, в якому спостерігається
3 стадії:

- дрібні (0,2-0,4 мкм) і елементарні тіла
- первинні великі тіла (0,8-1,5 мкм), які розмножуються діленням; дочірні клітини перетворюються в елементарні тіла, які можуть заражати інші клітини;
- проміжна стадія між первинними і елементарними тілами.

Життєвий цикл хламідій займає біля 40 годин.
Вони об'єднані в порядок *Chlamydiales*, виділені в родину *Chlamydiaceae,*
рід *Chlamydia,* який нараховує чотири види: *C.trachomatis, C. psittaci, C.pneumoniae і C.pecorum.* Вони викликають гострі і хронічні захворювання людини, савців, птахів.

МОРФОЛОГІЯ І БІОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ХЛАМІДІЙ

Хламідії – сферичної форми, розміром 250-300 нм. Розмножуються в живих клітинах. Хімічний склад: ДНК і РНК, білки, ліпіди, вуглеводи.
Мають два види антигенів – термостабільні – групові, які реагують в РЗК, РГГА, РІФ з антитілами до всіх видів хламідій і термолабільні – видоспецифічні, які вступають в реакцію з гомологічними антитілами, виявляються в РЗК і реакції нейтралізації.

ЗБУДНИК ОРНІТОЗУ

"*Ornis*" – в перекладі птах, вперше описаний в 1876 році Юргенсеном. В 1930 році був виділений збудник *C.psittaci* і розроблені методи специфічної діагностики.

МОРФОЛОГІЯ І КУЛЬТУРАЛЬНІ ВЛАСТИВОСТІ

Збудник орнітозу добре забарвлюється аніліновими барвниками, за Романовським-Гімзе у фіолетовий колір, за Здродовським – у червоний колір. Хламідії не ростуть на штучних поживних середовищах. Добре культивуються в культурі тканин і в курячих ембріонах, а також в організмі лабораторних тварин.
Чутливі – білі миші.
Мають два види антигенів – термолабільний і термостабільний.

РЕЗИСТЕНТНІСТЬ

Хламідії чутливі до нагрівання, при 70о С гинуть впродовж 15-20 хв. При низькій температурі довго зберігаються, при –70о С залишаються життєздатними 2 роки. До дії дезречовин чутливі.

ПАТОГЕНЕЗ І КЛІНІКА ОРНІТОЗУ

Орнітоз – зоонозна інфекція. Орнітозом хворіють різні види птахів і людини. *C.psittaci* (15 сероваріантів) – збудник орнітозу, викликає в людини пневмонії, поліартрити, ентерити, енцефаліти.

ДЖЕРЕЛО ІНФЕКЦІЇ

Хворі птахи і носії (голуби, кури, папуги, гуси). Кішки, пси, телята, корови є джерелом при атипових пневмоніях, енцефаломіокардиті, гепатоенцефаліті, менінгіті та інших захворюваннях.

МЕХАНІЗМ ПЕРЕДАЧІ ІНФЕКЦІЇ

Зараження людини проходить при безпосередньому контакті з хворими тваринами і їх виділеннями.

ШЛЯХ повітряно-краплинний і повітряно-пильовий.

Інкубаційний період 7-15 діб.

Збудник - *C.pneumoniae* попадає на слизові оболонки верхніх дихальних шляхів і травного каналу. Проникає в кров і уражує різні органи. В організмі збудник проходить внутрішньоклітинний цикл розвитку, який повторюється декілька разів. Захворювання триває один місяць, інколи більше.

Розрізняють наступні клінічні форми: атипова пневмонія з ураженням легень; форми, які нагадують грип чи тиф. Часто виникає після гострої хронічна форма. Як ускладнення – це хронічні запалення дихальних шляхів, хронічний гепатит, артрит, різні алергічні прояви у вигляді висипу, порушення зі сторони вегетативної нервової системи та ін.

Роль *C.pecorum* в патології людини з'ясовується.

ІМУНІТЕТ

Спостерігаються рецидиви і повторні захворювання. В крові нагромаджуються антитіла, які гальмують гемаглютинацію і комплементзв'язуючі антитіла.

МЕТОДИ МІКРОБІОЛОГІЧНОЇ ДІАГНОСИКИ ОРНІТОЗУ

Матеріал для дослідження: кров, харкотиння, органи біопсії. Основні методи дослідження: виділення збудника проводиться шляхом зараження курячих ембріонів в жовтковий мішок чи алантоїсну порожнину, а також зараження культури клітин, внутрішньо-мозкове зараження білих мишей. Термін інкубування 7-10 діб. Застосовується метод непрямої імунофлюоресценсії, внутрішньо шкірна алергійна проба з специфічним антигеном. Застосовуються серологічні методи: РЗК, РГГА, РІФ, ІФА.

З органів мишів готують мазки-відбитки. В мишів розвивається менінгіт з смертельним кінцем. В культурі тканини збудник виявляється шляхом мікроскопії забарвленого моношару клітин.

ЗАБІР МАТЕРІАЛУ

Кров – з першого дня захворювання та до 10 діб; харкотиння – до 20-25 діб від початку захворювання; органи біопсії – кусочки легеневої тканини і селезінки. Орнітоз відноситься до висококонтагіозних інфекцій, а тому виділення збудника з інфікованого матеріалу можна проводити лише в спеціально обладнаних лабораторіях. При діагностиці хвороб, викликаних *C.pneumoniae* для дослідження беруть мазки з зіву і носа, носоглоткові змиви, харкотиння. З матеріалу готують мазки, після фіксації ацетоном мазки фарбують за методом Романовського-Гімзи і люмінесцентним імуноглобуліном. Виділення специфічних антитіл в сироватці крові здійснюють методом твердофазного ІФА.

СПЕЦИФІЧНА ПРОФІЛАКТИКА

Специфічну профілактику проводять співробітникам птахоферм. В 1964 році запропонована інактивована тканева вакцина і розроблений метод аерозольної вакцинації (дрібні частинки досягають клітин респіраторного тракту, який чутливий до збудника).

ЛІКУВАННЯ

Для лікування орнітозу застосовують антибіотики тетрациклінового ряду, еритроміцин.

ЗБУДНИК ТРАХОМИ

МОРФОЛОГІЯ І КУЛЬТУРАЛЬНІ ВЛАСТИВОСТІ

Збудник трахоми – *Chlamydia trachomatis* кольоподібної форми, утворює включення – тільця Провачека в досліджуваному матеріалі, який взятий з кон'юнктиви ока. Добре забарвлюється за Романовським-Гімзе у фіолетовий колір, розташовуються всередині і позаклітинно та мають вигляд круглих або овальних утворень діаметром 0,2-0,4 мкм (елементарні тільця) і 0,8-1,5 мкм (ретикулярні тільця). У випадку відсутності цих тілець можна заразити досліджуваним матеріалом в жовтковий мішок курячі ембріони. При розмноженні хламідій ембріони гинуть на 5-6-й день після зараження. В мазках-відбитках, виготовлених з жовткових оболонок, виявляються тільця Провачека.

ПАТОГЕНЕЗ ТРАХОМИ

Трахома – хронічне запалення слизової оболонки очей, яке перебігає по типу блефарокератокон'юнктивіту. Розповсюджене в країнах Африки, Азії, Індії. Це антропонозна інфекція. При трахомі джерелом інфекції може бути хвора людина; хворі при бленореї новонароджених (з включенями), кон'юнктивіті (з включеннями) дорослих, урогенітальних інфекціях. *Chlamydia trachomatis* уражує слизові оболонки органів зору і сечостатевої системи. Зараження проходить при контакті з хворим.

Відомо 15 сероварів цього збудника, які викликають різні захворювання в людини: A, B, Ba і C є збудником трахоми і кон'юнктивіту з включеннями (паратрахоми). Серовари від D до K викликають уретрити, цервіцити, сальпінгіти, епідидиміти і кон'юнктивіти, є причиною чоловічого і жіночого безпліддя. Серовари a1, a2, a3 викликають паховий лімфогранулематоз (хворобу Нікола-Фавра).

МЕТОДИ МІКРОБІОЛОГІЧНОЇ ДІАГНОСТИКИ ТРАХОМИ

Матеріал на дослідження: зішкріб епітелію слизової уретри, церві кального каналу, кон'юнктиви повік, пунктати. Основні методи забору матеріалу. Для взяття матеріалу з уретри і церві кального каналу використовують цитологічну щітку або ложку Фолькмана, за допомогою якої беруть зішкріб з передньої і задньої стінки уретри і церві кального каналу після видалення слизового корка. Для взяття зішкрябу з епітелію кон'юнктиви повік, очі хворого промивають два дні підряд (двічі на день) ізотонічним розчином хлориду натрію, який містить 250 ОД пеніциліну і стрептоміцину в 1 $см^3$. На

третій день проводять анестезію очей 0,5% розчином дікаїну, вивертають верхню повіку і тупим скальпелем зішкрябують поверхневий шар кон'юнктивального епітелію.

Методи дослідження: мазки готують на стерильних предметних скельцях, які фіксують 10-15 хв. в ацетоні. Частину мазків забарвлюють за методом Романовського-Гімзи. Застосовують прямий або непрямий МФА, РНГА і ІФА.

Виділення *C.trachomatis* проводять шляхом зараження курячих ембріонів або перещеплюваних ліній культур клітин Мак-Коя, L-929, Нер-2. Для цього матеріал гомогенізують, додають 1 см3 ізотонічного розчину хлориду натрію, що містить 500 мкг стрептоміцину і 1000 ОД пеніциліну. Суспензію витримують 2 год при 4о С і вводять по 0,2 см3 в жовтковий мішок курячих ембріонів 7-денного віку і по 2 см3 в пробірки з культурами клітин на скляних пластинах.

При наявності в досліджуваному атеріалі хламідій ембріони гинуть на 5-8-му добу після зараження. З жовткових мішків ембріонів що загинули готують мазки-відбитки, які фіксують і забарвлюють за методом Романовського-Гімзи і люмінесцентним хламідійним імуноглобуліном. Тими ж методами виявляють хламідії і в інфікованих культурах клітин.

ПРОФІЛАКТИКА ТА ЛІКУВАННЯ

Дотримання правил загальної і особистої гігієни, своєчасне лікування і виявлення хворих. Застосовують антибіотики – тетрациклін, еритроміцин, синтоміцин, сульфаніламідні препарати.

ПАТОГЕННІ МІКОПЛАЗМИ

Своєрідна група мікроорганізмів, клас бактерій, особливістю яких є те, що вони не мають щільної клітинної стінки і мають властивості як бактерій, так і вірусів. Вони відрізняються від інших бактерій малими розмірами, проникають через бактеріальні фільтри, поліморфні, на їх поверхні є трьохшарова цитоплазматична мембрана. Вони широко розповсюджені в природі: їх виділяють з організму людини, савців, птахів, комах, рослин, з води, грунту та інших джерел. Мікоплазми є самостійними збудниками чи іншими мікроорганізмами.

МОРФОЛОГІЯ І БІОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ МІКОПЛАЗМ

Середні розміри видимих при світловій мікроскопії клітин мікоплазм людини складають 300-500 мкм. Розміри субмікроскопічних тілець 200-250 мкм, елементарних тілець – 120-180 мкм. Характерною особливістю є багато подібних клітин у різних видів. Мікоплазми – грамнегативні, погано сприймають фарбу, фарбуються за Романовським-Гімзи. Відсутність щільної клітинної стінки, її основних складових компонентів (діамінопімелінової кислоти і мукопептидного комплексу) обумовлює поліморфізм, еластичність, механічну і осмотичну хрупкість клітинних елементів.

Мікоплазми входять до класу *Mollicutes* (*molli* – мягкий, *cutes* – покриття), порядку *Mycoplasmatales*, родини *Mycoplasmataceae*. Ця родина включає два роди: рід *Mycoplasma*, нараховує 69 видів. Найбільш розповсюджені патогенні для людини види – *M.pneumoniae і M. hominis*. Окремі види роду мікоплазм мають варіанти. Другий рід *Ureaplasma*. Патогенним для людини є вид *U.urealyticum* – збудник урогенітальних інфекцій.

Добрий ріст на свіжовиготовлених середовищах, що містять нормальну сироватку людини чи коня без консерванту і дріжджовим екстрактом. При рості мікоплазм на агарових середовищах утворюються характерні колонії з оптично більш щільним центром, який вростає в середовище і менш щільним периферичним краєм. Ростуть дуже повільно (не раніше 3-4 тижнів). Особливість – це подібність колоній різних видів, і L-форм бактерій. Більшість видів дають зону гемолізу на кров'яному агарі. Мікоплазми вирощують в культурах клітин і в епітелії бронхів курячих ембріонах.

АНТИГЕННІ ВЛАСТИВОСТІ

Мікоплазми людини володіють видовою антигенною специфічністю. Встановлено наявність трьох специфічних антигенних фракції: ліпоїдна, полісахаридна і білкова. Патогенні, імуногенні і антигенні властивості мікоплазм зв'язані не з клітинною стінкою, а з цитоплазматичною мембраною і цитоплазмою.

РЕЗИСТЕНТНІСТЬ

При 100 ^{o}C мікоплазми гинуть через декілька хвилин, погано переносять висушування, але добре зберігаються у вологих аерозолях; тривалий час можуть зберігатися при низьких температурах (1-4о С). Витримують лоофільне висушування, чутливі до солей золота, дії дезречовин у звичайних концентраціях. Мікоплазми не чутливі до дії пеніциліну, поліміксину В, ампіциліну, сульфадимезину, ацетату талію, які використовуються як бактеріостатичні фактори при виділенні мікоплазм (для пригнічення сопутньої флори). Чутливі до антибіотиків, механізм дії яких зв'язаний з синтезом внутрішньоклітинного білку і цитоплазматичних мембран.

ПАТОГЕНЕЗ І КЛІНІКА МІКОПЛАЗМОЗІВ

Найбільш повно вивчені мікоплазми – збудники респіраторних захворювань людини і тварин. *M.pneumoniae* викликає гострі респіраторні захворювання, є збудниками різних захворювань верхніх дихальних шляхів, первинної атипової пневмонії, ураження нирок, суглобів. Мікоплазми пневмонії викликають спорадичні випадки захворювання, часті спалахи описані в дітей у віці 14 років і випадки до 30 років.

При захворюваннях верхніх дихальних шляхів інкубаційний період становить від 3 до 10 діб. Інфекції можуть перебігати як без підвищення температури, так і з підвищенням її до 38-39о С. Перебіг захворювання характеризується загальним недомаганням, болем голови, сухим кашлем, явищами риніту і фарингіту. Тривалість захворювання від 1 до 10 діб.

Умовно-патогенними є *M.hominis* і *M.fermentans,* які викликають урогенітальні захворювання.

МЕТОДИ МІКРОБІОЛОГІЧНОЇ ДІАГНОСТИКИ МІКОПЛАЗМОЗІВ

Матеріал на дослідження: мазки з зіву, носоглоткові змиви, харкотиння, виділення уретри і піхви. Основні методи дослідження: прямий варіант МФА з контрастуванням фону. Виготовлені з досліджуваного матеріалу мазки фіксують в ацетоні 10 хв і фарбують 15-20 хв при 37о С люмінесціюючим імуноглобуліном *M.pneumoniae, і M.hominis* або *U.urealyticum* у вологій камері. Скла двічі промивають по 10 хв. в фосфатно-буферному розчині (рН 7,2-7,4) і промивають дистильованою водою. Препарати висушують у вигляді яскраво-зеленого гранулярного світіння на мембранах епітеліальних клітин і в міжклітинному просторі. При обмеженій кількості епітеліальних клітин в досліджуваному матеріалі додатня оцінка дається тоді коли в препараті не менше 10 яскраво-зелених гранул, які чітко виділяються на червонуватому фоні препарату.

При використанні рідкого діагностичного середовища з сечовиною для індикації уреаплазм до складу якого входить сечовина (по 2 см3 в пробірці), при рості уреаплазм в патматеріалі колір середовища змінюється від лимонно-жовтого до зеленого, а при великому вмісті збудника – до синього по всій пробірці без помутніння і осаду за рахунок ферментації сечовини. Ріст уреаплазм спостерігається впродовж 24 год, рідше – 48 год.

Для культивування мікоплазм викристовують щільні і рідкі поживні середовища. Рідке поживне середовище (на 100 см3) містить: 68 см3 стерильного бульйону з трептичного перевару сердець великої рогатої худоби; 20 см3 нормальної кінської сироватки без кнсерванту; 10 см3 20% дріжджового екстракту; 2 см3 2,5% розчину оцтовокислого талію; пеніциліна 1000 ОД/ см3; рН 7,7-7,8. Щільне поживне середовище містить додатково 1% агар-агару. Посіви інкубують при 37о С в аеробних умовах і при підвищеній вологості. Для виділення *M.pneumoniae* культивування проводять до 30 діб, при дослідженні на інші види мікоплазм – до 14 діб.

Колонії мікоплазм дуже маленькі – від 10 до 150 мкм, тому їх вивчають під мікроскопом при збільшенні в 100 разів. При мікроскопії колонії *M.pneumoniae* мають круглу форму з рівними краями, зернисту структуру і центр який вріс в агар. Колонії інших видів мікоплазм мають вигляд “яйця-глазуні”, щільний центр і широкий зернистий край з торочками.

Для виділення чистої культури колонію пересівають за допомогою агарового блоку. Обпаленим лезом вирізають квадратний кусочок агару з поміченою колонією. Блок агара поміщають на поверхню поживного середовища так, щоб колонія була на середовищі, легко натискаючи переміщають блок штрихом 2-3 см і залишають в кінці штриха на весь період інкубування, оскільки під ним часто спостерігається ріст мікоплазм. Пересівають колонію в рідке поживне середовище так само переносячи блок з агару. Ідентифікацію чистих культур мікоплазм проводять за культурально-ферментативними і антигенними ознаками.

Реакція інгібування метаболізму мікоплазм заснована на властивостях *M.pneumoniae* ферментувати глюкозу із зсувом рН середовища, що визначається за зміною кольору індикатора (фенолового червоного). Додавання

в середовище специфічного імуноглобуліна або досліджуваної сироватки хворого пригнічують ферментативну активність мікоплазм. Якщо метаболізм мікоплазм пригнічується імунною сироваткою, середовище залишається безбарвним або блідо-жовтим.

Для виявлення мікоплазм з метою ідентифікації штамів і виявлення захисних властивостей сироваток застосовується реакція нейтралізації і РІФ. Як антиген використовують колонії мікоплазм.

Використовуються РЗК, рідше РПГА, в яких виявляються в сироватці крові хворих антитіла і зростання їх титру в 4 рази і більше при дослідженні парних сироваток. Титри антитіл у всіх реакціях 1:20-1:320.

Також використовують реакцію інгібування метаболізму, ІФА.

РЗК, РНГА і ІФА ставлять за стандартними методиками. Антитіла в РЗК виявляються вкінці першої або напочатку другого тижня хвороби та досягають максимуму на 3-5тому тижні і тримаються до 3-6 місяців пізніше різко знижуються і до року зникають.

Антитіла, які виявляються за допомогою РНГА і ІФА з'являються вкінці інкубаційного періоду, досягають максимуму вкінці першого місяця хвороби, пізніше їх титр знижується, через 10-12 міс. антитіла зникають. Антитіла, які інгібують метаболізм мікоплазм, досягають найвищого рівня через 6 міс після хвороби і зберігаються на високому рівні до 1-2 років. Реакція інгібування метаболізму мікоплазм заснована на властивостях *M.pneumoniae* ферментувати глюкозу із зсувом pH середовища, що визначається за зміною кольору індикатора (фенолового червоного). Додавання в середовище специфічного імуноглобуліна або досліджуваної сироватки хворого пригнічують ферментативну активність мікоплазм. Якщо метаболізм мікоплазм пригнічується імунною сироваткою, середовище залишається безбарвним або блідо-жовтим.

Для виявлення мікоплазм з метою ідентифікації штамів і виявлення захисних властивостей сироваток застосовується реакція нейтралізації і РІФ. Як антиген використовують колонії мікоплазм.

ЛІКУВАННЯ

Для терапії різних клінічних форм захворювання, викликаних мікоплазмами пневмонії, застосовуються тетрацикліни та інші антибіотики широкого спектру дії: окситетрациклін, стрептоміцин, левоміцетин, еритроміцин.

Питання для самоконтролю

1. Морфологія та біологічні властивості хламідій.
2. Методи діагностики хламідіозів.
3. Морфологія та біологічні властивості мікоплазм.
4. Методи діагностики мікоплазмозів.

Тестові завдання

1. Які з перечислених збудників викликають хворобу орнітоз і трахому ?

A. Рикетсії
B. Хламідії
C. Мікоплазми
D. Спірохети
E. Найпростіші

2. В лабораторію на дослідження скеровано кров пацієнтки для виявлення антитіл до хламідій. Який метод дослідження слід застосувувати для підтвердження діагнозу ?
A. Реакцію преципітації
B. Імуноферментний аналіз
C. Реакцію Відаля
D. Реакцію аглютинації
E. Реакцію зворотньої непрямої гемаглютинації

3. При мікроскопії мазка-препарата виявлено поліморфні, без спор і джгутиків, без клітинної стінки мікроорганізми, які оточені тришаровою ліпопротеїдною цитоплазматичною мембраною, яка покрита капсулоподібним шаром. Для яких мікрорганізмів характерні такі ознаки ?
A. Рикетсій
B. Вірусів
C. Актиноміцет
D. Мікоплазм
E. Хламідій

4. Згідно скерування проведенно бактеріологічне дослідження сечі від пацієнта Н. Необхідно визначити антибіотикограму. Вкажіть, яким методом необхідно провести посів виділеної чистої культури мікроорганізмів для визначення її чутливості до антибіотиків ?
A. Уколом
B. Газоном
C. Штрихами на сектори
D. За Дригальським
E. Бляшками

5. Хламідії відрізняються від прокаріотів:
A. Будовою генетичного апарату
B. Будовою клітинної оболонки
C. Внутрішньоклітинним паразитизмом
D. Відсутність спор, капсул, джгутиків
E. Способом поділу

6. У життєвому циклі хламідії утворюють:
A. Елементарні тільця

B. Ретикулярні тільця
C. Проміжні тільця
D. Всі названі структури

7. Які з перелічених методів дослідження відносяться до експрес-методів лабораторної діагностики ?
A. Імуноферментний аналіз
B. Реакція імунофлюоресценсії
C. Радіоімунний аналіз
D. Полімеразна ланцюгова реакція
E. Антибіотикограма

8. Які з наступних бактерійних клітин не мають клітинної стінки ?
A. Mycoplasma
B. Treponema
C. Slaphylococcus
D. Klebsiella
E. Bacillus

9. Колонії, які нагадують розлиту яєчню "глазуню" характерні для:
A. Mycoplasma
B. Pseudomonas
C. Haemophilus
D. Bordelella
E. Salmonella

10. Яка структура забезпечує інфекційність хламідій ?
A. Тільця включень
B. Глікогенові тільця
C. Елементарні тільця
D. Агреговані тільця
E. Ініціальні тільця

ПАТОГЕННІ ГРИБИ

Загальна характеристика грибів

Гриби віднесені до рослинних гетеротрофних нефотосинтезуючих організмів – еукарітоів, що не мають хлорофілу. Тип грибів налічує понад 100 тисяч видів, об'єднаних у 7 класів: хитрідіоміцети, гіфохитрідіоміцети, ооміцети, зигоміцети, аскоміцети, базидіоміцети, дейтероміцети, які поділяються на підкласи, порядки, родини, роди, види, усередині останніх є штами.

Гриби схожі на водорості, мають диференційоване ядро (одне або кілька), клітинну стінку і цитоплазматичну мембрану. Цитоплазма молодих

культур гомогенна, у зрілих – зерниста. В цитоплазмі знаходяться мітохондрії, комплекс Гольджі, вакуолі, різні включення (глікоген, волютин, ліпіди, кристали органічних солей, пігменти).

Основним структурним компонентом клітин грибів є міцелій, побудований із розгалужених безбарвних ниток (гіф), завдовжки 4-70 мкм і діаметром 1-10 мкм. В одних міцелій складається з нерозчленованих клітин – Mucor, в інших він багатоклітинний – *Aspergillus, Penicillium*; в дріжджеподібних грибів – *Candida* є псевдоміцелій. Ріжки утворюють склероцій у вигляді міцного сплетіння гіф міцелію.

Гриби розмножуються поділом, проростанням, брунькуванням і спороносінням. Спороутворення є засобом не лише розмноження, а й розповсюдження грибів у навколишньому середовищв. Спори поділяються на зовнішні і внутрішні. Зовнішні, або екзоспори, утворюються на грибниці по боках або на кінцях її міцелію. Ендоспори у завершених грибів є результатом статевого процесу та дозрівають вони в асках (аскоміцети), спорангіях (мукор). У незавершених грибів є талоспори, які утворюються внаслідок перетворення окремих гілочок міцелію в спеціальні спори (артроспори, бластоспори, конідії, алейрії, геміспори).

Захворювання, які викликаються грибками – myces називаються мікози. Уражують людину, тварин і рослини. Широко розповсюджені в різних країнах. Розділ мікробіології, який займається вивченням патогенних грибів називається *медичною мікологією.*

Серед патогенних грибів можна виділити наступні 3 групи:

1. Дерматофіти – збудники епідермікозів (дерматомікозів) - викликають захворювання шкіри, волосся, нігтів.
2. Гриби роду *Candida* – збудники кандідозів, захворювань шкіри і слизових оболонок, інколи внутрішніх органів.
3. Кріптококи, гістоплазми, бластоміцети, кокцідіоїди, плісневі грибки – це збудники глибоких мікозів, які уражують різні органи і тканини.

ФІКОМІЦЕТИ

Фікоміцети – це гриби з несептованим міцелієм, входить рід *Mucor* або головчата плісень. Тіло мукорових грибів складається з міцелію у вигляді дуже розгалуженої клітини, від якої відходять плодоносні гіфи – спорангієносці з кулястим розширенням нагорі – спорангіями, які наповнені ендоспорами, що виконують функцію розмноження, розмножуються статевим шляхом. Поширені на хлібі, овочах, вологих поверхнях предметів, у гною, грунті, воді. Більш як 15 патогенних видів мукорових грибів можуть спричиняти у людини мукоромікози. Мукоромікози – ураження легень, печінки, що за клінічним перебігом подібні до туберкульозу, а також кератит, отомікоз, вульвовагініт, дерматомікоз, загальний інфекційний процес.

АСКОМІЦЕТИ

Аскоміцети – сумчасті гриби з багатоклітинним міцелієм. При статевому процесі розмножуються аскоспорами (спорами, які розвиваються в особливих сумках – асках). Безстатеве розмноження здійснюється конідіями (екзоспорами, які виконують функцію безстатевого розмноження у багатьох грибів). До аскоміцетів віднесено рід ***Aspergillus***. Гриби роду *Aspergillus* мають розчленований міцелій і одноклітинний конідієносець. На верхньому кінці розміщені короткі стеригми, від яких ланцюжками відшнуровуються спори – конідії. При мікроскопії аспергілів розташування спор у плодоносній частині нагадує струминки води, що виливається з лійки, звідки й назва – лійкова плісень. Типовим видом аспергілів є *Aspergillus niger*, який дуже поширений у природі, живе на вологих предметах, у хлібі, варенні. До патогенних й умовно-патогенних видів належить *Aspergillus fumigatus, Aspergillus flavus, Aspergillus niger* та інші. Вони уражують шкіру тулуба, рук, ніг, зовнішнього слухового проходу, приносові пазухи, легені, бронхи, рогівку ока, іноді кістки. Зустрічаються найчастіше у робітників борошномельної промисловості та ін. Важкі форми аспергільозу з високою летальністю можуть розвиватися в хірургічних та онкологічних відділеннях із зниженою опірністю та порушеною імунологічною реактивністю організму.

Дол класу аскоміцетів відносять також рід ***Penicillium***. Міцелій і конідієносець у них багатоклітинний, плодоносне тіло має вигляд пензлика. У верхній частині конідієносець розгалужений, на його кінцях утворюються стеригми від яких відшнуровуються чіткі ряди конідій. Його виявляють у кормах, молочних продуктах, на вологих предметах, старих шкірах, у чорнилі, варенні. Типовим видом є *Penicillium graucum*. Спеціальні штами *Penicillium notatum* використовують для виготовлення пеніциліну. Спричиняють пеніцилінози – ураження шкіри, нігтів, органу слуху, верхніх дихальних шляхів, легень, а також генералізовану інфекцію з утворенням вогнищ у внутрішніх органах. Патогенними видами вважають *Penicillium crustaceum, Penicillium glaucum, Penicillium niger.*

Лабораторна діагностика мукоромікозів, аспергільозів, пеніцильозів охоплює мікроскопічне дослідження патологічного матеріалу. Готують препарат “роздавлена крапля”: препарувального голкою відділяють невелику ділянку міцелію з плодоносними гіфами та тонким шаром поживного середовища. Матеріал поміщають в краплю води на предметному скельці, голкою розправляють міцелій, притискають покривним скельцем і мікроскопують при опущеному конденсорі. Препарат розглядають з об’єктивом 8, а пізніше 40. Висівають патматеріал на поживні середовища Сабуро і культивують при 25-28^{o} С. Колонії чи культури грибів мікроскопують безпосередньо на чашках або в пробірках під малим збільшенням. Ідентифікацію і диференціацію виділеної чистої культури проводять за морфологічними, культуральними і біохімічними ознаками, а в деяких випадках – за антигенною структурою.

До класу аскоміцет, порядку *Sacharomycetales* (первинно-сумчасті гриби) входять дріжджі – дріжджові гриби, які являють собою великі клітини

овальної, шаровидної і паличковидної форми, мають двоконтурну оболонку, добре диференційоване ядро. Цитоплазма їх гомогенна, тонкозернистої будови, має включення (глікоген, волютин, ліпіди) і вакуолі, а також нитчасті кільця – хондріосоми, які приймають участь у процесах синтезу що відбуваються в клітині. Розмножуються брунькуванням, поділом, спороутворенням, деякі види – статевим шляхом. При брунькуванні від материнської клітини відокремлюються дочірні, які перетворюються в самостійні особини. Багато видів і різновидів цього роду мають властивість зброджувати вуглеводи. Їх широко використовують у пивоварінні, виноробній примисловості та хлібопечінні.

ДЕРМАТОМІЦЕТИ

До **глибоких захворювань**, які викликають дерматоміцети, відносяться трихофітія, мікроспорія, фавус (парша), епідермофітія. Дерматоміцети відносяться до несправжніх грибів.

Збудники трихофітії або стриженого лишаю відносяться до роду *Trichophyton*. В людини захворювання викликає гриб *Trichophyton violaceum* (фіолетовий трихофітон), який утворює морщинисті, шкірні колонії від блідо-бузкового до темно-фіолетового кольору. Уражує шкіру, волосся, нігті (поверхнева трихофітія). Всередині ураженого волосся виявляються ланцюжки спор розміром 3-4 мм. Інколи вони розташовуються безладно (“мішок з горіхами”). В шкірі і нігтях виявляються нитки міцелію з спорами. Фіолетовий трихофітон виклиткає захворювання в людини. Збудники трихофітії тварин – великої рогатої худоби, домашніх і диких тварин є *Trichophyton dupseum і Trichophyton faviforme*. В людини вони уражують шкіру, волосся, рідше нігті і можуть викликати нагноєну або глибоку трихофітію.

Патогенез і клініка. Джерелом захворювання є хвора людина або тварина. Передається через головні убори, білизну, гребені, ножниці, при догляді за хворою твариною. Дорослі заражаються поверхнею трихофітією рідко, але можуть бути хворі з дитинства. Трихофітія має професійний характер. Інфікування при ручній епіляції – знищення волосся, обробка пошкоджених нігтів.

При поверхневій через 5-7 діб, а при глибокій – через 2 місяці після зараження на шкірі з'являються рожево-червоні круглі плями з гуперемією по периферії. Свербіння відсутнє. При хронічній трихофітії плями зливаються, набувають синюшній колір. Локалізуються на верхніх і нижніх кінцівках, обличчі, вушних раковинах. При ураженні волосяної частини голови волосся стає сірим, губить блиск, обламується на віддалі 1-3 см над рівнем шкіри (стрижений лишай), має вигляд у фолікулах як залишки волосся у вигляді чорних крапок, як погано вистрижене волосся. Нігті при ураженні втрачають блиск, поверхня їх стає нерівною, горбковою, потовщеною, брудно-сірого кольору. Нігті частіше уражуються в дорослих, ніж дітей.

Мікробіологічна діагностика *збудників трихофітії або стриженого лишаю:* беруть шкірні лусочки, уражене волосся і нігті, які поміщають на предметне скельце в краплю 10% розчину гідроксиду калію, обережно

підігрівають, не доводячи до кипіння та розглядають препарат "роздавлена" крапля. Мікроскопують з об'єктивом 8 та окуляром 40, оглядаючи міцелій гриба.

В шкірних лусочках знаходять міцелій гриба, а в ураженому волоссі залежно від виду збудника спори і міцелій можуть бути всередині волосся і оточувати його ззовні, а також розташовуватись всередині і з зовні. При посіві досліджуваного матеріалу на середовище Сабуро, солодовий-агар після 1-2 тижнів культивування при 24° С одержують культуру збудника, яку ідентифікують на основі морфологічних ознак. Колонії дерматофітів на щільних середовищах різні: гладкі, шкірні, морщинисті, мучнисті, пухнасті, часто пігментовані.

Збудники поверхневої трихофітії – тріхофітон віоляцеум на середовищі Сабуро ростуть з утворенням куполоподібних, шкірястих, матових колоній з вологою, нерідко блискучою поверхнею, можуть бути гладенькими і зморшкуватими, з радіальними борозенками, за кольором фіолетові, чорні, рожеві, малиново-червоні. До роду Trichophyton відносять Trichophyton tonsurans, Trichophyton soudanence, Trichophyton rubrum.

Збудники глибокої трихофітії на живильному середовищі ростуть з утворенням пухнастих білосніжних колоній з рівною і куполоподібною поверхнею, часто утворюють порошкоподібний гіпсовидний наліт, можливе жовтувате і рожевувате забарвлення пушку.

Серологічні реакції застосовують при глибокій трихофітії і хронічних формах хвороби. *Внутрішньошкірні проби* ставлять з алергенами типу "трихофітіну", фільтрату культури гриба на рідких живильних середовищах.

Профілактика. Профілактика та організація роботи заснована на принципах диспансерного обслуговування, проведення поточної і остаточної дезинфекції у вогнищі та санітарної пропаганди серед населення. Індивідуальна профілактика заснована на дотриманні правил особистої гігієни.

Лікування антибіотиками гризеофульвін, рентгенотерапія, препарати йоду, міконазол і ін.

Збудники мікроспорії – гриб мікроспорум відноситься до роду *Microsporum*. Уражують шкіру, волосся, рідко нігті. Захворювання розповсюджено в країнах Західної Європи, США. В людини захворювання викликають *Microsporum lanosum*, який може уражувати і людину. В ураженому волоссі виявлені розгалужені нитки міцелію з великою кількістю дрібних спор, особливо в периферичній частині. Довкола волосся утворюється немовби чехол з дрібних мозаїчно розташованих спор. В лусках шкіри виявляються кручені нитки міцелію, які розпадаються на спори.

Патогенез і клініка подібні з трихофітією. Джерело хвороби – хвора людина, зараження проходить при сімейному контакті і в дитячих колективах при контакті, при користуванні спільними головними уборами, машинками для стрижки волосся. Джерелом також можуть бути хворі кішки і собаки. При зараженні від тварин загальна реакція на шкірі більш виражена, збільшуються шийні і потиличні лімфатичні вузли. Мікроскопія волосяної частини голови

уражує тільки дітей, які виздовлюють до періоду статевого дозрівання навіть без лікування. Імунітет не розвивається.

Мікробіологічний діагноз мікроспорії ставиться при мікроскопії волосся або лусочок шкіри в краплі лугу. Вигляд мікроспоруму визначається при посіві на поживні середовища за характером колоній: Microsporum canis в культурах на живильному середовищі має вигляд великих гострокінцевих веретен з 5-12 камерами і зубчатою оболонкою; міцелій гриба має ракетоподібний характер. На середовищі Сабуро утворює білі або злегка жовтуваті пухнасті колонії, іноді з радіальними або концентричними борозенками. Уражене волосся має червоно-зелене світіння при люмінісцентній мікроскопії.

Профілактика і лікування як при трихофітії, виявлення хворих собак, кішок, знищення бездомних і бродячих тварин.

Збудники фавусу або парші. Збудник *Achorion schonlaynii* відкритий в 1849 році Шеплейном. Уражують шкіру, волосся і нігті. У волоссі виявляють поліморфні грибкові елементи, поряд з тонким міцелієм зустрічається міцелій широкий, який складається з прямокутних клітин. Часто спостерігаються спори круглої або прямокутної форми, а також піхурці повітря, краплини жиру. Кінці міцелію за формою нагадують роги оленя, канделябри, булаву. Розмножуються за допомогою хламідоспор. У борошнистих колоніях на боках міцелію добре виражені алейрії (алейроспори, що утворюються внаслідок цитоплазматичної конденсації міцелію). При культивуванні на середовищі Сабуро утворюються сухі зморшкуваті куполоподібні сморжоподібні колонії сіро-жовтого або коричневого кольору з восковидною і борошнистою поверхнею. У нашій країні зустрічаються лише поодинокі захворювання на фавус.

Патогенез і клініка. Джерело інфекції – хвора людина, зараження проходить при безпосередньому контакті і через головні убори, гребені, булизну, одежу, килими, при тісному сімейному контакті і грубому порушенні гігієнічних правил. Хворіють в основному діти. Зараження можливо і від хворих собак, кур, мишей.

Мікробіологічний діагноз заснований на характерній клінічній картині: після 14 діб волосся робиться тьмяним, губить блиск і нагадує клоччя, але не ломається, довкола волосяного фолікулу формується щиток-скутула у вигляді жовтої крапки. Зливаючись, ці щитки утворюють суцільні сухі кірки жовтувато-коричневого кольору, які випускають мишачий запах. Рубцева тканина, яка розвивається під скутулами, веде до загибелі волосся і стійкого облисіння. Ахоріон може уражувати лімфатичні вузли, внутрішні органи, легені, кістки, кишківник. Діагноз – це утворення скутул, атрофічних рубців на шкірі, типові зміни волосся і своєрідній морфології гриба у волоссі. При атиповому захворюванні виділяють культуру ахаріону на поживних середовищах. Ахоріон утворює на середовищі Сабуро морщинисті, які піднімаються над середовищем, порожнисті колонії. Деревовидний міцелій по

краю колонії вростає в середовище і при мікроскопії має вигляд розгалужених оленячих рогів.

Профілактика. Обов'язкова диспансеризація всіх членів сім'ї хворого; двори в сільській місцевості, де є хвороба, підлягають дезинфекції; проводиться санітарна пропаганда. Лікування таке саме як і при інших дерматомікозах.

Збудники епідермофітії відносяться до роду *Epidermofiton.* Уражують роговий шар епідермісу, рідше нігті і ніколи не уражують волосся. В лусочках шкіри і нігтів виявляються нитки міцелію, вилкоподібно розгалужені. Інколи вони розпадаються на продовгуваті клітини. Серед ниток знаходяться ланцюжки спор. На поживних середовищах утворюють пухнасті білі колонії з гладкою куполоподібною поверхнею. У культурі утворюють бархатисто-борошнисті складчасті і горбкуваті колонії жовто-сірого, іноді зеленого кольору.

Розрізняють епідермофітію пахову і епідермофітію стопи. Діагноз ставлять при виявленні в лусочках і кірочках розгалуженого міцелію з спорами. Збудників розрізняють за типом колоній при культивуванні.

Патогенез і клініка. Джерело інфекції – хвора мікозом людина. Зараження проходить через білизну, підкладне судно, клейонку, мочалку, термометр або при безпосередньому контакті з хворим.

Профілактика. В лікувальних закладах хворих епідермофітією поховою ізолюють і лікують. Всі предмети догляду добре дезинфікують.

Епідермофітію стопи викликають *Epidermofiton* Кауфмана-Вольфа і *Epidermofiton rubrum* (руброфітія). На поживних середовищах утворюють білі пухнасті колонії, рожеві на поверхні і коричневі із зворотньої сторони. Колонії Epidermofiton rubrum набувають з часом яскраво-червоне забарвлення із зворотньої сторони. Епідермофітони уражують міжпальцеві складки стопи, інколи шкіру лиця, тулуба, кісток рук і дуже рідко волосся. Хвороба перебігає в'яло. Епідермофітон Кауфмана уражує звичайно людей з підвищеною пітливістю ніг, а руброфітією частіше хворіють особи з сухою шкірою, які страдають гіперкератозом ступні.

Патогенез і клініка. Джерело інфекції – хвора мікозом людина. Зараження проходить в банях, спортзалах, басейнах, через взуття, панчохи, шкарпетки, ножниці для стрижки нігтів, грубому порушенні гігієнічних правил.

Мікробіологічний діагноз епідермофітії ставлять на основі дослідження лусочок шкіри, зушкрабуванням з глибоких частин уражених нігтів під мікроскопом. Епідермофітони розрізняють при культивуванні їх на поживних середовищах. Внутрішньошкірна проба з епідермофітіном (фільтрат культури гриба) має діагностичне значення при розпізнаванні і диференціації з екземою стопи.

Профілактика. Нагляд за санітарним станом закладів, де можуть виникати захворювання, проведення дезинфекції, санація банщиків і дотримання правил особистої гігієни.

В лікувальних закладах хворих епідермофітією ізолюють і лікують. Всі предмети догляду добре дезинфікують.

КАНДІДА

До збудників **кандидозу** належать дріжджоподібні гриби з роду кандіда. Це одноклітинні організми, округлі, овоїдні або довгасті клітини, розмножуються багатополюсним брунькуванням, утворюють псевдоміцелій у вигляді ланцюжків довгастих клітин. У патології людини найбільше значення мають: кандіда альбіканс, кандіда тропікаліс.

Патогенез і клініка. Одним з найбільших частих проявів кандидозу – молочниця слизової оболонки роту. Кандіда – це нормальні представники слизової оболонки порожнини рота, дихальних шляхів, травного каналу і піхви здорових людей, умовно-патогенні мікроорганізми. Але при зниженні резистентності організму, зв'язаного з важкими захворюваннями, зниженні імунної системи, порушенні обміну речовин, ферментопатія, гормональних розладах, імунодефіцитному стані, недостачі вітамінів, деяких інфекційних і злоякісних хворобах, використанні імунодепресантів, контрацептивних засобів, антибіотиків зростає ймовірність прояву мікозів.

Це ендогенна і екзогенна інфекція – при розповсюдженні з слизових та через предмети, руки, пеленки в новонароджених. Професійні захворювання нігтів і міжпальцевих складок в робітниць кондиторських виробництв, що зв'язано із значним забрудненням банщиків, робітників кишкових цехів м'ясокомбінатів та осіб по виробництву антибіотиків.

Кандидози перебігають по типу поверхневих і глибоких мікозів:

При поверхневих мікозах на слизовій оболонці порожнини рота, язика, мигдалинах, в кутках рота, піхві з'являються білі нальоти – молочниця. Вони легко знімаються, але знову з'являються. На шкірі утворюють червоні плямки, піхурці, які перетворюються в ерозії темно-червоного кольору, особливо в глибині різних складок.

При глибоких вісцеральних кандідамікозах проходить розповсюдження збудника по травному каналі: шлунок, кишківник, гартань,бронхи, легені, або гематогенно через кров. Висока температура, знобить, піт, кашель або понос, домішки крові, вздуття з болями в животі, кандідасепсіс однаковий з бактеріальним сепсісом.

Мікробіологічна діагностика – це зішкріб з уражених частин і слизових оболонок, харкотиння, сеча, випорожнення. Мікроскопія патматеріалу за Грамом і мікроскопія нативного матеріалу, виявлення нагромадження брунькуючих дружджових клітин (одноклітинні грампозитивні мікроорганізмии круглої або овальної форми, без спор) та ниток міцелію, з яких формується псевдоміцелій, який відрізняється від справжнього міцелію відсутністю загальної оболонки, перегородок і складається з довгих клітин, які з'єднуються один з одним вузькою основою.

Для встановлення діагнозу необхідні кількісні посіви патматеріалу на 2 - 5 % цукровий агар, солодовий-агар, агар Сабуро (пептонна вода, агар, мальтоза). Виявлення культури гриба в досліджуваному матеріалі дає основу для встановлення постановки діагнозу: колонії гладкі, блискучі, сметаноподібної консистенції або морщинисті, матові. На картопляному агарі характерне явище філаментації, вростають в середовище.

Ідентифікацію грибів роду кандіда проводять на основі даних мікроскопії патологічного матеріалу, культуральних ознак, біохімічної активності, типів росту – філаментації і патогенності, яку визначають при зараженні лабораторних тварин.

При вісцеральному кандідамікозі виявляють антитіла в реакції аглютинації або РЗК, шкірні проби з специфічними алергенами, що дає діагностичне значення.

ЛАБОРАТОРНА ДІАГНОСТИКА МІКОЗІВ

Мікроскопічне дослідження. З прозорих зразків – ліквора, сечі зразу ж готують препарат “роздавлена крапля”, використовуючи для суспендування суміш спирту з гліцерином (1:1). Шкірні і нігтьові лусочки, волосся попередньо освітлюють 10-30% розчином КОН. Кров мікроскопують в “товстій краплі”, харкотиння і гній – в мазку. З кусочків тканин готують мазки-відбитки або гістологічні препарати. Випорожнення не мікроскопують. В більшості випадків препарати не зафарбовують. В то й час мазки, виготовлені з харкотиння, крові, гною, а також мазки-відбитки з тканин і гістологічні препарати зафарбовують за Грамом, Романовським або іншим способом, який сприяє контрастному виділенню елементів гриба. Всі препарати мікроскопують при збільшенні об’єктива в 40 разів.

Необхідно пам’ятати, що багато грибів диморфні, тобто мають різну будову в паразитичній і сапрофітній фазах свого існування (гриби *Candida*, дерматофіти, збудники особливо небезпечних мікозів і т.п.). Діагностичне значення мають виявлення тканинної форми грибів. Якщо тканинна форма має характерну будову, тоді можна ставити кінцевий діагноз.

Так при мікроскопії волосся ураженого фавусом виявляють специфічну для цієї хвороби картину: всередині волосся поряд з тонкими міцелієм зустрічається міцелій широкий, який складається з прямокутних клітин, а також скупчень круглих або прямокутних спор, міхурців повітря і крапельок жиру.

Trichophyton violaceum і *T.tonsurans* уражують волосся за типом “ендотрикс”, тобто елементи гриба, в основному спори, ланцюжками розташовуються всередині волосся, В той час при трихофітії, викликаної *T.verrucosum* і *T.mentagrophytes*, варіант *gypseum*, спори грибів розташовуються як всередині, так і зверху волосся – ураження за типом “ектотрикс”.

Спори збудників мікроспорії також уражують волосся за типом “ектотрикс”, але в цьому випадку вони розташовуються хаотично і ланцюжків не утворюють.

В лусочках шкіри і нігтів можна виявити міцелій який складається з гілок або артроспоровий міцелій, що є доказом грибкового ураження. Але визначити вид, рід збудника в даному випадку неможливо.

Виявлення псевдоміцелія вказує на розвиток у хворого кандидозу.

При нехарактерному диморфізмі (наприклад, для плісневих грибів) діагностично значимим можна вважати виявлення гриба при мікроскопії лише матеріалу, який не стикався з навколишнім середовищем (ліквора, крові, гною з закритих абсцесів).

У всіх випадках грибкового ураження вид гриба з'ясовується лише після посіву на поживні середовища.

В процесі культуральної діагностики досліджуваний матеріал засівають на збагачені вуглеводами середовища, що містять антибактеріальні антибіотики. Універсальним є середовище Сабуро і солодовий агар. Плісневі гриби добре ростуть на середовищі Чапека-Докса. Посіви культивують при 37^{o} С (добре розвиваються дріжджеподібні гриби) або при 22-27^{o}С (добре розвиваються міцеліальні гриби). При діагностиці опортуністичних мікозів проводять кількісний посів. Час культивування грибів різний. Гриби роду Candida формують колонії впродовж 2 діб, плісневі гриби – 4-7, дерматофіти – за 2-4 тижні.

При ідентифікації грибів враховують вигляд колоній за формою і характером поверхні, так і за кольором. Крім того, при мікроскопії препаратів, виготовлених з культур, досліджують будову елементів які їх складають, враховуючи всю їх різноманітність: форму і розмір клітин, розгалуження міцелію, наявність спор і вигляд спор. Для визначення виду грибів роду *Candida* і роду *Criptococcus* необхідно вивчити їх біохімічні властивості.

У випадку виділення від хворих культур умовнопатогенних грибів необхідно підтвердити наявність патологічного процесу, диференціюючи його від носійства. Таким підтвердженням може бути виявлення тканинної форми (у диморфних грибів), або діагностичне визначення титрів специфічних антитіл.

Імунологічне дослідження важливо при діагностиці вісцеральних мікозів. Титри антитіл визначають за допомогою МФА, РНГА, ІФМА. Складність в тому, що немає стандартних антигенів багатьох грибів. Необхідно мати на увазі ті обставини, що причиною виникнення опортуністичних мікозів може бути імунодепресія, що затруднює трактування результатів.

Алергічні проби виявляють характер сенсибілізації організму хворих, що має значення для розробки правильної тактики лікування. Але застосування алергічних проб обмежено у зв'язку з відсутністю стандартних антигенів.

ПРОФІЛАКТИКА І ЛІКУВАННЯ

Виникнення молочниці в пологових будинках попереджують закапуванням 5 днів по 100 000 ОД ністатину в рот новонародженим, дотримання санітарно-гігієнічного режиму, дородової санації породіль. Робітники заводів, де виробляють антибіотики профілактично отримують колі-бактерин.

Для лікування використовують антибіотики: ністатін, леворин, амфотерицин И, синтетичні препарати - клотримазол, міконазол,

гризеофульвін, вітаміни А і С. При вісцеральному мікозі - переливання крові, гама-глобулін, кандідавакцина.

АКТИНОМІЦЕТИ

Актиноміцети (*myces* – гриб, *actis* – промінь) відносяться до групи грамдодатніх неспороутворюючих бактерій неправильної форми. До цієї ж групи відносять нокардіоформні актиноміцети (нокардії). Окремі види роду *Actinomyces* (*A. israelii, A. naeslundii*, A. *bovis* та ін.) складають нормальну мікрофлору організму людини або тварин, які при певних умовах викликають актиномікози.

МОРФОЛОГІЯ І ФІЗІОЛОГІЯ

Актиноміцети – одноклітинні грамдодатні бактерії. Клітини їх розгалужені і нагадують міцелій грибів, розміром 7-100 мкм і більше х 0,5-1,5 мкм. Джгутиків, капсул і ендоспор не мають.

Тоненькі прямі або злегка зігнуті палички і нитки з розгалуженням. Короткі палички часто з булавоподібними кінцями, які нагадують коринебактерії. Типові розгалужені палички з розгалуженими нитками на кінцях. Грамдодатні, нерухомі, не утворюють спор, некислотостійкі. Конідій на відміну від грибів не утворюють. Факультативні анаероби. Потребують додатково CO_2. Хемоорганотрофи з бродильним типом метаболізму. При ферментації вуглеводів утворюють кислоту. На щільних середовищах через 24 год формують характерні для окремих видів мікроколонії, а через 7-14 діб – макроколонії. Ферментують глюкозу з утворенням кислоти, мають слабо виражені протеолітичні властивості.

АНТИГЕННА СТРУКТУРА

В складі клітинних стінок міститься неідентичні видоспецифічні антигени, що дає можливість розділити їх на 5 серогруп. *A.israelii* відноситься до серогрупи D, *A. naeslundii* до серогрупи А, *A. bovis* до серогрупи D. Кожна серогрупа поділена на серовари.

ПАТОГЕННІСТЬ

Фактори вірулентності і токсини актиноміцет, які зустрічаються в патології людини і тварин, вивчені недостатньо.

ПАТОГЕНЕЗ

Актиномікоз відноситься до антропонозних інфекцій. Але актиноміцети які уражують тварин (рогату худобу, свині), особливо *A.bovis,* за думкою деяких авторів, можуть викликати захворювання у людей. Вважають, що хвороба виникає ендогенним шляхом, оскільки *A.israelii* виявляють в порожнині рота здорових людей. Екзогенна інфекція також має місце при зараженні людей аерозольним шляхом з навколишнього середовища. Показано, що актиноміцети не лише зберігають свою життєдіяльність, але і розмножуються в навколишньому середовищі.

Актиномікоз – хронічне інфекційне захворювання, при якому уражується шкіра, легені, кістки. сечостатева і центральна нервова системи, кишківник з

утворенням в них гранулем, які піддаються в людей некротичному розпаду з утворенням гною.

Збудник локалізується на епітеліальних клітинах слизової оболонки порожнини рота та інших порожнин і органів, а також клітин шкіри, де утворюються запальні вогнища – актиномікоми – у випадку імунодефіцитних станів. В актиномікомах виявляються друзи актиноміцет. З первинного вогнища збудник розповсюджується в організмі або контактним, або лімфогенним шляхом. Бактеріємія відсутня. Вторинні вогнища інфекції можуть утворюватись в різних органах (легені, печінка і ін.). До основного захворювання часто приєднується вторинна бактеріальна інфекція.

ІМУНІТЕТ

Післяінфекційний імунітет характеризується слабою напруженістю. В сироватці крові виявляються протимікробні антитіла, які не мають протективних властивостей. Відмічається формування гіперчутливості сповільненого типу.

ЛАБОРАТОРНА ДІАГНОСТИКА

З досліджуваного матеріалу (гній із свищів, пунктат з закритих вогнищ, зішкряб з грануляцій, харкотиння і ін.) готують мазки, фарбують їх за Грамом і мікроскопують. Виявлення друз в організмі людини і тварин (скупчення актиноміцет) – дрібних жовтуватих або сіро-білих з зеленим відтінком зерен з гомогенним центром і колбоподібним здуттям по периферії, які приклеюються до стінки пробірки при її нахиленні, свідчить про захворювання актиномікозом. Друзи захоплюють петлею, вносять на декілька хвилин в краплю 5-10% їдкого лугу на предметному склі, накривають покривним скельцем. Спочатку мікроскопують при малому збільшенні, відмічають округлу форму друзи з безструктурним центром і нитками, які радіально відходять від нього, пізніше під імерсійним об’єктивом виявляють переплетення тонких гіф з пігментованими зернами.

Для забарвлення друзу промивають водопровідною водою на предметному скельці і обережно роздавлюють між двома предметними скельцями. Фарбують за Грамом і Цілем-Нільсоном, лужним розчином метиленового синього. За Грамом – центр друзи фарбується додатньо, а край колб – від’ємно. За Цілем-Нільсоном гіфи з колбоподібними потовщеннями фарбуються в червоний колір. При забарвленні лужним розчином метиленового синього в центрі друзи виявляють густе сплетіння блідо-голубих ниток з гіфами, що відходять як промені та на кінцях колбоподібно потовщені; елементи гною в препараті фарбуються в інтенсивно синій колір.

Якщо друзи не виявлено, з патматеріалу готують мазки і фарбують їх за Грамом. При мікроскопії видно грамдодатні залишки ниток (*A. israelii*) і сплетіння дихотомічно розгалужених гіф (*A.bovis*).

Виділення культур актиноміцет. При актиномікозі в гною і харкотинні знаходиться велика кількість супутньої мікрофлори. Для її пригнічення додають розчини пеніциліну і стрептоміцину з розрахунку 100-200 ОД кожного на 1 см^3. Суміш центрифугують і осад для культивування анаеробного виду *A. israelii* засівають в пробірки з високим стовпчиком розплавленого і

охолодженого до 45° С цукрового агару, охолоджують і ставлять в термостат при 37° С. Через 5 діб з'являються колонії актиноміцет білого або жовтого кольору. Для отримання аеробного виду *A.bovis* матеріал засівають на поверхню слаболужного агару або агару з 2% гліцерину. Можна користуватись також агаром Сабуро з мальтозою. Чашки ставлять в термостат при температурі 36° С. Ріст актиноміцет з'являється через 2-4 доби у вигляді круглих, випулих щільних колоній. З колоній аеробних і анаеробних актиноміцет за допомогою препарувальної голки відділяють невелику ділянку колонії, яка вросла в середовище, поміщають в краплю води на предметному скельці та шляхом роздавлювання міцелію між двома предметними скельцями готують мазки і фарбують за Грамом. При бактеріологічному дослідженні отримують чисту культуру збудника на кров'яному агарі з екстрактом серцевого м'яза та ідентифікують на основі описаних вище ознак. При цьому слід пам'ятати, що аеробні актиноміцети можуть виділятися з гною і харкотиння від здорових людей і хворих різними хворобами. Діагноз актиномікозу підтверджується лише при виділенні від хворих анаеробних штамів актиноміцет.

Серодіагностику проводять для підтвердження діагнозу вісцеральної (легеневої) форми актиномікозу в РЗК з антигеном – полівалентним актинолізатом. Позитивна реакція реєструється у 80% хворих. Оскільки антигеном є лізат різних аеробних актиноміцет, реакція є недостатньо специфічна і може бути позитивною при раку легень і важких гнійних процесах у внутрішніх органах.

Шкірно-алергічну пробу ставлять шляхом внутрішньошкірного введення екстракту з актиноміцет – з актонолізатом. Її діагностичне значення невелике, оскільки вісцеральний актиномікоз перебігає без значної алергізації організму.

ПРОФІЛАКТИКА І ЛІКУВАННЯ

Вакцина проти актиномікозу відсутня. Для лікування використовують (пеніцилін, хлорамфенікол і ін.).

Питання для самоконтролю

1. Класифікація мікозів.
2. Джерела і фактори передачі грибкових інфекцій в природі.
3. Диференціальні ознаки пліснявин і дерматоміцетів.
4. Критерії диференціації дріжджових і дріжджоподібних грибів.
5. Умови розвитку, патогенез і мікробіологічна діагностика мукорозів, аспергільозів, пеніцилінозів.
6. Умови розвитку, патогенез і мікробіологічна діагностика кандидозу.
7. Умови розвитку, патогенез і мікробіологічна діагностика дерматомікозів.
8. Профілактика мікозів.
9. Промікозні лікувальні препарати.

Тестові завдання

1. Актиноміцети не викликають у людей ураження:
A. Шкіри
B. Кісткової системи
C. Лімфатичних вузлів
D. Органів дихання
E. Центральної нервової системи

2. У тканинах, уражених актиноміцетами, знаходять особливі структури, які називаються:
A. Друзами
B. Гронами
C. Цистами
D. Конідіями
E. Спорангіями

3. Гриби належать до:
A. Прокаріотів
B. Еукаріотів
C. Архебактерій
D. Ціанобактерій
E. Нітрофікуючих бактерій

4. Ендо- та екзоспори грибів виконують функції:
A. Збереження виду
B. Розмноження
C. Пристосування до умов існування
D. Всі три функції

5. Основу тіла гриба становить:
A. Спорангієносець
B. Конідієносець
C. Грибниця
D. Органи плодоносіння
E. Спори

6. До нитчастих грибів належать роди:
A. Penicillium
B. Aspergillus
C. Mucor
D. Всі перераховані

7. Найбільше значення в грибковій патології людини мають такі гриби:
A. Дейтероміцети
B. Ооміцети
C. Зигоміцети
D. Хитридіоміцети
E. Базидіоміцети

8. Які гриби викликають захворювання при нераціональному лікуванні антибіотиками?
A. Penicillium glaucum
B. Aspergillus niger
C. Mucor mucedo
D. Candida albicans
E. Базидіоміцети

9. За якими ознаками гриби (еукаріоти) подібні до тваринних організмів:
A. Наявність пептидоглікану
B. Вміст тейхоєвих кислот
C. Наявність хітину
D. Наявність флагеліну
E. Наявність міозину

10. Яка основа клітинної оболонки грибів?
A. Одношаровий пептидоглікан
B. Багатошаровий пептидоглікан
C. Полісахариди та целюлоза
D. Ліпополісахариди
E. Фосфоліпіди

ВІРУСИ. ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА І КЛАСИФІКАЦІЯ

Вірусні захворювання виникли в глибоку давнину, але вірусологія як наука почала розвиватися вкінці 19 століття.

В 1892році вітчизняний вчений-ботанік Д.І.Івановський, вивчаючи мозаїчну хворобу тютюну встановив, що захворювання це викликається дрібними мікроорганізмами, які проходять через мікропористі бактериальні фільтри. Ці мікроорганізми отримали назву фільтрівних вірусів (від латинського virus-отрута). Далі було доведено, що є і інші мікроорганізми, які проходять через бактеріальні фільтри, тому фільтрівні віруси стали називати просто вірусами.

Питання про походження вірусів є предметом багатьох досліджень і дискусій. Одні вчені вважають, що віруси є нащадками неклітинних форм живих паразитичних мікроорганізмів. Інші вважають, що віруси виникли в

результаті регресивної еволюції одноклітинних мікроорганізмів. Треті думають, що віруси пішли з клітинних елементів, які стали автономними системами.

Видно, що різні групи вірусів виникали в історично різний час з різних генетичних елементів клітин і тому зараз різні групи вірусів мають поліфілогенетичне походження, тобто не мають одного предка.

Великий внесок у вивчення вірусів внесли такі вчені вірусології: М.А.Морозов, Н.Ф.Гамалея, Л.А.Зільбєр, М.П.Чумаков, А.А.Смородінцев, В.М.Жданов і інші.

Віруси це неклітинна форма існування живої матерії. Вони дуже маленькі. За висловами Жданова В.М. ”величину їх щодо величини середніх бактерій можна порівняти величиною миші щодо слона”. Побачити віруси стало можливо лише після винайдення електронного мікроскопа.

РОЗВИТОК ВІРУСОЛОГІЇ

Історія вірусології незвичайна. Перша вакцина для попередження вірусної інфекції – віспи була запропонована англійським лікарем Е.Дженером в 1796 р, друга вакцина – антирабічна була запропонована засновником мікрообіології Л.Пастером в 1885 р.

Честь відкриття вірусів належить нашому вченому Д.І.Івановському, який вперше в 1892 р довів існування нового типу збудника захворювань на прикладі листя тютюну. Студент Петербурзького університету виїжджав на Україну і в Бесарабію для вивчення причин захворювання листя тютюну, а пізніше, після закінчення університету, продовжував дослідження в Нікітському ботанічному саду під Ялтою. У вмісті ураженого листя він не виявив бактерій, але сік хворої рослини викликав ураження здорових листків. Д.І.Івановський профільтрував сік хворої рослини через свічку Шамберлана, пори якої задержували дрібні бактерії. В результаті він виявив, що збудник проходить через такі пори, оскільки фільтрат продовжував викликати захворювання листя тютюну. Культивування його на штучних поживних середовищах було неможливим. Д.І.Івановським приходить до висновку, що збудник має незвичайну природу: він фільтрується через бактеріальні фільтри і не здатний рости на штучних поживних середовищах. Він назвав новий тип збудника “фільтрівні бактерії”.

Досліди Д.І.Івановського повторив в 1898 р голандський вчений М.В.Бейєринк. Він прийшов до висновку, що збудник тютюну – рідкий живий контагій. Д.І.Іваноський з цим висновком не погодився. Незабаром були опубліковані праці Ф.Лефлера, П.Фроша, які показали, що збудник ящуру також проходить через бактеріальні фільтри. Д.І.Івановський, аналізуючи ці дані, прийшов до висновку, що агенти ящура і листя тютюну подібні.

Досліди Д.І.Івановського були покладені в основу його дисертації “Про дві хвороби тютюну”, представлену в 1888 р, та викладені в книзі такої ж назви, що вийшла в 1892 р. Цей рік і вважається роком відкриття вірусів.

Д.І.Івановський відкрив вірус рослин, Ф.Лефлер і П.Фрош відкрили вірус, що вражає тварин. Накінець, в 1917 році Ф.Д’Ерель відкрив бактеріофаг – вірус, що вражає бактерії.

Слово “вірус” значить отрута, воно застосовувалось ще Пастером для позначення заразного початку. Пізніше стали застосовувати назву “ультравірус” або “фільтрівний вірус”, пізніше визначення відкинули і вкорінився термін “вірус”.

ПЕРІОДИ РОЗВИТКУ ВІРУСОЛОГІЇ

Рівень організму: 30-40-роки XX століття. Основною експерементальною моделлю є лабораторні тваринки (білі миші, щурі, кролики, хом’яки і т.д.), основним модельним вірусом – вірус грипу. Як експериментальна модель входять курячі ембріони, які чутливі до вірусів грипу, віспи завдяки дослідженням австралійського вірусолога і імунолога Ф.М.Бернета, автора посібника по вірусології “Вірус як організм”.

Відкриття в 1941 році американським вірусологом Херстоном феномену гемаглютинації немало сприяло вивченню взаємодії вірусу з клітиною на моделі вірусу грипу і еритроцитів.

Великим внеском вітчизняних вірусологів в медичну вірусологію стало вивчення природно-вогнищевих захворювань – епідемічних енцефалітів. В 1937 р була організована перша експедиція, яку очолював Л.А.Зільбер, в складі якої були Е.Н.Левкович, А.К.Шубладзе, М.П.Чумаков, В.Д.Соловйов і ін. Завдяки дослідженням був виявлений вірус кліщового енцефаліту, його перенощики – іксодові кліщі, розроблені методи лабораторної діагностики, профілактики і лікування. Віросологами були вивчені вірусні геморагічні гарячки, розроблені препарати для діагностичної і лікувально-профілактичної мети.

Рівень клітини (50-ті роки). В 1949 році є можливість культивувати клітини в штучних умовах. В 1952 році Дж.Ендерс, Т.Уелер, Ф.Робінс отримали Нобелівську премію за розробку методу культури клітин. Використання культури клітин у вірусології послужило основою для виділення нових вірусів, їх ідентифікації, клонування, вивчення їх взаємодії з клітиною. З’явилась можливість отримання культуральних вакцин (на прикладі вакцини проти поліомієліту). В співпраці з американськими вірусологами Дж.Солком і А.Сейбином, вірусологами М.П.Чумаковим, А.А.Смородінцовим і ін. була розроблена технологія виробництва, апробована і введена в практику вбита і жива вакцина проти поліомієліту. В 1959 р була проведена масова імунізація дитячого населення в країні (біля 15 млн) живою поліоміетною вакциною, в результаті чого знизились захворювання і практично зникли паралітичні форми захворювання. В 1963 році за розробку і введення в практику живої поліомієлітної вакцини М.П.Чумакову і А.А.Смородінцеву була присуджена Ленінська премія. Далі Дж.Ендерс і А.А.Смородінцев отримали живу кореву вакцину. Впроваджувались в практику і інші культуральні вакцини – енцефалітна, ящурна, антирабічна і т.д.

Молекулярний рівень (60-роки). Віруси стали моделлю для молекулярної біології. Ні одне відкриття молекулярної біології не обійшлося без вірусної моделі, включаючи генетичний код, весь механізм внутрішньоклітинної експресії геному, реплікації ДНК, процесінг (дозрівання)

інформаційних РНК, використання молекулярних методів у вірусології дозволило встановити принципи будови (архітектури) вірусних індивідуумів – віріонів (термін введений французьким мікробіологом А.Львовом), способи проникнення вірусів в клітину, їх репродукції.

Субмолекулярний рівень (70-ті роки).

Розвиток молекулярної біології відкриває можливості вивчення первинної структури нуклеінових кислот і білків. З'являються методи нуклеотидного аналізу ДНК, визначення амінокислотних послідовностей білка. Отримують перші генетичні карти геномів ДНК-вмістних вірусів.

В 1970 р Д.Балтимором і одночасно Г.Теміном і С.Мізутані була відкрита зворотня транскриптаза в складі РНК-вмісних онкогенних вірусів, фермент, який переписує РНК на ДНК. Стає реальним синтез гена за допомогою цього ферменту на матриці, виділеній з полісом І-РНК. З'являється можливість переписати РНК в ДНК і провести дослідження її нуклеотидної послідовності.

В 1972 р виникає новий розділ молекулярної біології – генна інженерія. В цьому році публікується повідомлення П.Берга в США про створення рекомбінантної молекули ДНК, яке поклало початок ері генної інженерії. З'являється можливість отримання великої кількості нуклеїнових кислот і білків шляхом введення рекомбінантних ДНК в склад геному прокаріот і простих еукаріот. Одним з основних додатків нового методу є отримання дешевих препаратів білків, які мають значення в медицині (інсулін, інтерферон) і сільському господарсті (дешеві додатки для кормів).

Цей період характеризується важливим відкриттями в галузі медичної вірусології. У фокусі вивчення – три найбільших захворювання – грип, рак, гепатит.

Встановлено причини регулярно повторених пандемій грипу. Детально вивчені віруси раку тварин (птахи, гризуни), встановлено структуру їх геному і ідентифікований ген, відповідальний за злоякісну трансформацію клітин – онкоген. Встановлено, що причиною гепатитів А і В є різні віруси: гепатит А викликає РНК-вмістимий вірус, що відноситься до родини пікорнавірусів, а гепатит В – ДНК-вмістимий вірус, що відноситься до родини гепаднавірусів. В 1976 році Г.Бламберг, досліджуючи антигени крові в аборигенів Австралії, виявив так званий австралійський антиген, який він прийняв за один з антигенів крові. Пізніше було доведено, що цей антиген є антигеном гепатиту В, носійство якого розповсюджено у всіх країнах світу. За відкриття австралійського антигену Г.Бламбергу в 1976 р була присуджена Нобелівська премія.

Друга Нобелівська премія в 1976 р присуджена американському вченому К.Гайдушеку, який встановив вірусну етіологію одної з сповільнених інфекцій людини – куру, що спостерігалася в одній з туземних племен на острові Нова Гвінея і зв'язаної з ритуальним обрядом – поїдання зараженого мозку померлих родичів. Завдяки зусиллям К.Гайдушека, який посилився на острові Нова Гвінея, ця традиція була викоренена і число хворих різко зменшилось.

ПРИРОДА ВІРУСІВ

Природа вірусів: фільтрівність, нездатність розмножуватися на штучних поживних середовищах, внутрішньоклітинний паразитизм, наявність лише однієї з двох нуклеїнових кислот, відсутність власних білок-синтезуючих систем. Синтез вірусних білків здійснює білоксинтезуючий апарат клітини - клітинні рибосоми, які зв'язуються з вірусними І-РНК. Віруси вводять в клітину лише свою генетичну інформацію, яка успішно конкурує з клітинною інформацією. А тому паразитизм вірусів визначається як генетичний паразитизм, а віруси розглядаються як генетичні паразити.

До унікальних властивостей вірусу відноситься спосіб його розмноження, який різко відрізняється від способів розмноження всіх інших клітин і організмів (бінарний поділ, брунькування, утворення спор). Віруси здатні розмножуватися, мають спадковість, мінливість, пристосування до умов навколишнього середовища, на них розповсюджуються закони еволюції органічного світу на землі.

ПЛАЗМІДИ - інші назви-епісоми, епівіруси, являють собою двоспіральні кільцеві ДНК з молекулярною масою в декілька мільйонів, реплікуючі клітиною. Їх вважають екстрахромосомними факторами спадковості. У вигляді вірусів - плазмід можуть існувати віруси папіломи корів, мавп'ячий вірус SV-40.

До вірусів відносяться ВІРОЇДИ-агенти, відкриті Т.О.Дайнером в 1972році, які викликають захворювання деяких рослин і які здатні передаватися як звичайні інфекційні віруси. При їх вивченні вияснилось, що це невеликі молекули суперспіралізованої РНК, які складаються з 300-400 нуклеотидів.

Нарешті агент СКРЕПІ-збудник підгострої губкоподібної енцефалопації овець. Це агент білкової природи і отримав специфічну назву - пріон (від слів – *proteinaceons infectious particle* - білкова інфекційна частинка). Подібні агенти викликають деякі хвороби людини.

Всі віруси, включаючи сателіти і дефектні віруси, плазміди, віроїди і навіть агенти скрепі (їх гени), мають щось спільне, яке їх об'єднує. Всі вони є автономними генетичними структурами, здатними функціонувати і репродуктуватися у сприятливих клітинах тварин, рослин, найпростіших, грибів, бактерій.

Була висловлена гіпотеза (Жданов В.М., 1974), згідно якої віруси є важливим фактором еволюції органічного світу. Долаючи видові бар'єри, віруси можуть переносити окремі гени або групи генів, а інтеграція вірусної ДНК з хромосамами клітин може приводити до того, що вірусні гени стають клітинними генами, які виконують важливі функції. Віруси здатні уражати людину, тварин, комах, рослини, гриби та бактерії.

ПРІОНИ

Паніку у світі посилює той факт, що досі не знайдено ліків проти страшного захворювання. Наша країна має зовсім мало шансів для того, щоб запобігти поширенню пріонових захворювань.

Винуватця страху лікарів, біологів, генетиків і просто освічених обивателів важко помітити навіть “озброєним” оком. Його несе в собі білок-пріон, нешкідливий “будматеріал” для будь-якої живої істоти. У процесі мутацій цей білок перетворюється на смертельного ворога. Портапивши в організм тварини чи людини, він руйнує центральну нервову систему, паралізує тіло, прирікаючи живу істоту на неминучу болісну смерть.

Уперше про пріонові захворювання Європа заговорила у 1986 році, після спалаху у Великобританії епідемії губчатої енцефалопатії великої рогатої худоби (коров’ячий сказ). Пік хвороби припав на 1992-1993 роки: у ту пору тисячі інфікованих корів були забиті, перероблені й … надійшли в торговельну мережу. У пресі промайнула інформація про те, що частину м’ясних продуктів з Англії через Бельгію було завезено в Росію. Їхню подальшу долю історія замовчує.

Недавні дослідження відкрили справжню природу інфекційного агента. Пріони – не бактерії і не віруси, а новий клас збудників.

Відомі так звані неканонічні віруси – **пріони** – білкові інфекційні частинки, білкові молекули певної структури з молекулярною масою 30 кДа, що мають вигляд фібрил розміром 10-20х100-200 нм. Вони здатні індукувати деструктивні процеси в клітинах організму людини і тварин, принципіально відрізняються від всіх мікроорганізмів стійкістю до високих температур, іонізуючої радіації, ультрафіолета та інших факторів. Вони витримують кип’ятіння впродовж трьох годин, добре і довго зберігаються у висушеному матеріалі. При 40^{o}С кілька років не втрачають активності, чудово почуваються у 12% розчині формаліну. Чутливі до фенолу і детергентів при нагріванні. Надзвичайно стійкі до ультрафіолетового та іонізуючого випромінювання, а також до будь-яких відомих дезинфектантів. Матеріал, що містить пріони, заразний навіть при 10-мільйонному розведенні! Знешкодження стійкої інфекції досягається лише після двогодинного автоклавування при температурі 138 градусів.

Пріони можуть довго персистувати в організмі людини і не викликати ні клітинної, ні гуморальної імунної відповіді. Вони не виробляють інтерферон і не чутливі до нього. При нагромадженні в клітинах пріонів проходить кристалізація пріонових білків, яка супроводжується руйнуванням клітин.

Пріони є збудниками повільних інфекцій, існують в двох формах – нормальній та патогенній. В нормальній – пріонний білок є природним компонетом клітин здорового організму, внаслідок чого приймає участь в механізмі старіння мозку і клітин нервової системи. Вважають, що пріони розмножуються шляхом подвоєння патогенних форм після їх контакту з нормальними формами. При цьому нормальні форми перетворюються в непатогенні, число яких постійно збільшується.

Пріони є індукторами і продуктами автономного гена людини або тварини і викликають в них енцефалопатії в умовах повільної вірусної інфекції (хвороби Крейтцфельдта-Якоба, куру і ін.).

Зведення із “західного фронту” не встигають змінювати одне одного. Канада наклала заборону на імпорт консервованої яловичини і м’ясного

екстракту з Бразилії. Щоб запобігти можливому зараженню пацієнтів вірусом коров'ячого сказу, в лікарнях Великобританії відкладено тисячі хірургічних операцій. Іспанський уряд готує рішення про заборону продажу м'яса биків, яких убили матадори. Американський Червоний хрест відмовився приймати кров у донорів, що від 1980 року жили в Англії та Західній Європі. Німецькі фермери шоковані: уряд планує забій 600-700 тисяч "неблагодійних" корів. Федеральний інститут захисту здоров'я споживачів і ветеринарної медицини в Берліні попереджає: маргарин, а також різні кондитерські вироби німецького виробництва можуть бути заражені губчатим енцефалітом.

Науковий світ українських медиків облетіла радісна звістка. Президент підписав указ про розробку невідкладних заходів, покликаних запобігти поширенню в Україні епідемії кров'ячого сказу. Після затяжного мовчання державна влада нарешті відреагувала на тривожні прогнози епідеміологів, грізні публікації у пресі й паніку, що охопила Європу.

Епідемія коров'ячого сказу в Західній Європі спонукала українських учених до поглибленого вивчення пріонових інфекцій.

Член-кореспондент НАНУ, професор Аркадій Федорович Фролов так коментує ситуацію: немає сумніву, що в Україні були і є випадки пріонових захворювань. У 1987-му році він починав роботу по боротьбі з поширенням СНІДу. За якихось два-три роки становище погіршилось. Є всі підстави припустити, що аналогічно складається ситуація і з групою пріонових інфекцій.

Справу ускладнює той факт, що за життя діагностика таких хвороб можлива лише у 6-ти відсотках випадків. Зазвичай їх діагностують як інсульти, хворобу Паркінсона, цирози печінки і т.д. Є тут й інша аналогія зі СНІДом. Поширення ВІЛ-інфекції має міцну "прив'язку" до статевого інстинкту. Пріонові хвороби пов'язані з іншим "основним" інстинктом – тамуванням голоду. Варто пам'ятати, що ми маємо до діла з особливо небезпечною інфекцією, що загрожує здоров'ю і безпеці нації.

Науковці твердять, що відомих лазівок для проникнення інфекції в організм людини стає дедалі більше. Правда, недавно до них додавалася навіть … хатня пилюка.

Можливості пріона необмежені. "Підхопити" білок-мутант можна з їжею, з певними лікарськими препаратами (ліпоцеребрин, церебролізин, цереброліцетин, гонадотропін, гормони росту та ін.). Крім того, у групу ризику входять ліки зі сироватки крові, наприклад, імуноглобуліни. Де гарантія, що вони не містять отруйний білок?! Інфекція може потрапити в організм при трансплантації органів. Стійкі до дезинфекції й високої температури, пріони можуть залишатися на поверхні інстументів нейрохірургів. На жаль, у хворого немає надій на виживання. Якщо при СНІДі смерть настає у 67% випадків, то тут 100% летальний випадок. Єдина "розрада" – тривалий інкубаційний період від моменту потрапляння пріона в організм до його активізації.

Сьогодні медики все частіше стикаються з важко діагностованими захворюваннями. Очевидно, без пріонів тут не обійшлося. Однак у цьому винна не лише нова інфекція. Є група вірусів, що уражують нервову і серцево-судинну системи не в гострій, а в так званій персистуючій формі, тобто формі,

за якої інфекція перебігає повільно. Таких стійких до антитіл організму вірусів налічується 42. З них лише п'ять-шість інфекцій – пріонової природи. Походження інших – головоломка для лікарів. Фінал їх неквапливої, але наполегливої роботи – неминуча смерть людини.

Любителям підсмаженого мозку, баранячих і коров'ячих очей краще відмовитись від своїх кулінарних уподобань. Небезпечний пріон може ховатися у ліверних продуктах: печінці, селезінці, кишці. Їх у своєму меню треба обмежити.

Потрапляючи в організм, інфекційні агенти насамперед опиняються в кишківнику, осідають у сліпій кишці, а коли їх там нагромаджується критична кількість, мігрують у спинний мозок, звідти – в центральну нервову систему. Особливу увагу приділяйте термічній обробці продуктів. Під час смаження м'ясо може підгоряти, а всередині залишатися сирим. Це треба пам'ятати любителям свинини і біфштексів із кров'ю.

До речі, найбезпечніше, з цього погляду, м'ясо кролика, тоді як кури теж потрапили у групу ризику. Цікавтесь походженням м'ясних продуктів. Хоч в Україні ситуація не з'ясована, будемо вважати, що наші ковбаси і консерви більш-менш безпечні. Остерігайтесь імпорту. Як бачите, є сенс підтримати національного виробника не тільки з ідейних міркувань, але й в інтересах власного життя.

Ученим досі невідомий механізм появи коров'ячого сказу. Найкраще, безперечно, записатися у вегетаріанці. Якщо комусь не під силу зовсім відмовитися від м'яса, можна спробувати "сісти" на молочну чи рибну дієту. Не зашкодить маргарин рослинного походження, яйця, а також овочі, фрукти, різноманітні крупи.

ПРИНЦИПИ КЛАСИФІКАЦІЇ І НОМЕНКЛАТУРА ВІРУСІВ

В основу сучасної класифікації покладені наступні основні критерії:

- Тип нуклеїнової кислоти (РНК чи ДНК), її структура (кількість ниток).
- Наявність ліпопротеїдної оболонки.
- Стратегія вірусного геному.
- Розмір і морфологія віріона, тип симетрії, число капсомерів.
- Феномени генетичних взаємодій.
- Коло чутливих господарів.
- Патогенність, в тому числі патологічні зміни в клітинах і утворення внутрішньоклітинних включень.
- Географічне розповсюдження.
- Шлях передавання.
- Антигенні властивості.

На основі перерахованих ознак віруси поділяються на родини, підродини, роди, типи. Поділ на родини проведено за критеріями, викладеними в пунктах 1, 2, поділ на роди і типи – на основі нижче перерахованих ознак.

Сучасна класифікація вірусів людини і тварин охоплює більше 4/5 всіх відомих вірусів, які розподілені в 19 родин, з них 7-ДНК- та 12 –РНК- вірусів.

Для упорядкування назв вірусів вироблено такі правила. Назви родин закінчуються на "*viridae*", підродин-"*virinae*", роду - "*virus*". В назвах допускаються звичні латинізовані позначення, цифри при позначенні типів, скорочення, букви і їх сполучення.

ДНК-віруси:

- Поксвіруси (вірус натуральної віспи, вірус вісповакцини).
- Аденовіруси (аденовіруси людини).
- Герпесвіруси (вірус простого герпеса, вірус вітряної віспи).
- Паповавіруси.
- Гепаднавіруси.
- Парвовіруси.

РНК-віруси:

- Пікорнавіруси (вірус поліомеліту, КОКСАКИ і ЕСНО).
- Ортоміксовіруси (вірус грипу)
- Параміксовіруси (віруси парагрипу, свинки, кору і інші).
- Тогавіруси (вірус кліщового енцефаліту, вірус жовтої гарячки, вірус омської геморагічної гарячки).
- Флавовіруси.
- Коронавіруси.
- Аренавіруси.
- Буньявіруси.
- Рабдовіруси (вірус сказу).
- Ретровіруси.
- Каліцівіруси.
- Філовіруси.
- Реовіруси.

ПРИНЦИПИ СТРУКТУРНОЇ ОРГАНІЗАЦІЇ ВІРУСІВ

Для вивчення вірусів використовують багато **методів**: хімічні, фізичні, молекулярно-біологічні, імунобіологічні і генетичні. У всіх вірусів спостерігається велика різноманітність форм і біологічних властивостей, але всі вони мають загальні риси будови. Зрілі частинки вірусів називають ВІРІОНАМИ.

АРХІТЕКТУРА ВІБРІОНУ

В центрі віріону знаходиться нуклеїнова кислота, яка оточена капсидом (від грецького "капса" - ящик), всередині капсид складається з білкових субодиниць - капсомерів. Зрілий вірус за хімічною структурою є нуклеокапсидом. Кількість капсомерів і спосіб їх укладки строго постійні для кожного виду вірусу.

Наприклад, вірус поліомеліту містить 32 капсомери, а аденовірус - 252 капсомери. Капсомери можуть бути вкладені у вигляді багатогранника з рівними симетричними гранями - кубоїдальний тип симетрії (аденовірус). Укладка у вигляді спіралей (сферична) характерна для вірусів грипу. Може

бути тип симетрії, при якому нуклеїнова кислота має вигляд пружини, довкола якої вкладені капсомери, в цьому випадку вірус має паличковидний тип симетрії (вірус мозаїки тютюну).

Складний тип симетрії має фаг: головка кубоїдальної, а відросток-паличковидної форми (сперматозоїдний тип). Таким чином, залежно від способу укладки віруси поділяють на: кубоїдальний, сферичний, паличковидний, сперматозоїдний тип симетрії.

Деякі віруси, з більш складною структурою, мають оболонку, яка називається пеплос. Вона утворюється при виході вірусу з клітини- господаря. Вірусний капсид при цьому обволікається внутрішньою поверхнею цитоплазматичної мембрани клітини господаря і утворюється один або декілька шарів оболонки - суперкапсид. Таку оболонку мають тільки деякі віруси сказу, герпесу, енцефаліту. Ця оболонка містить фосфоліпіди, які руйнуються під дією ефіру. Таким чином, діючи ефіром, можна відрізнити вірус, що має пеплос, від вірусу з "голим капсидом".

У деяких вірусів з зовнішнього ліпідного шару оболонки виходять капсомери у вигляді виступів. Такі структури називаються пепломерами (наприклад у вірусу грипу).

Нуклеїнова кислота вірусу є носієм спадкових властивостей, а капсид і зовнішня оболонка несуть захисні функції, ніби оберігають нуклеїнову кислоту. Крім цього, вони сприяють адсорбції та проникненню вірусу в клітину.

РОЗМІРИ ВІРУСІВ

Вимірюються віруси в нанометрах, величина їх від 15 - 20 до 350 - 400нм.

МЕТОДИ ВИМІРЮВАННЯ ВІРУСІВ

Методи вимірювання вірусів: фільтрування через бактеріальні фільтри з відомою величиною пор, ультрацентрифугування (великі віруси осаджуються швидше), фотографування вірусів в електронному мікроскопі.

ХІМІЧНИЙ СКЛАД ВІРУСІВ

Просто організовані віруси являють собою нуклеопротеїди і складаються з нуклеїнової кислоти (РНК або ДНК) і декількох кодованих нею білків, які формують вірусну оболонку довкола нуклеїнової кислоти - капсид.

Складно організовані віруси містять додаткові оболонки, білкові або ліпопротеїдні, і мають більш складний хімічний склад. Крім нуклеїнової кислоти і білків, вони містять ліпіди в зовнішніх оболонках та вуглеводи в складі білків зовнішніх оболонок (глікопротеїдів). Звичайно ліпіди і вуглеводи мають клітинне походження. В складі деяких вірусів виявляються також клітинні нуклеїнові кислоти і білки.

На відміну від клітин живих організмів віруси містять лише один вид нуклеїнової кислоти – ДНК або РНК. Обидві можуть зберігати спадкову інформацію, виконуючи таким чином функції геному.

Вірусні **нуклеїнові кислоти** характеризуються різноманітністю форм. Вірусний геном може бути представлений як односпіральними, так і двоспіральними молекулами РНК і ДНК. ДНК може бути як лінійною, так і кільцевою молекулою. Молекулярна маса вірусних ДНК від $1x10^6$ до $250x10^6$.

Найбільші вірусні геноми містять декілька сотень генів, а найменші містять інформацію, достатню для синтезу лише декількох білків.

В геномах, що мають двоспіральну ДНК, інформація звичайно закодована на обох нитках ДНК. Це свідчить про максимальну економію генетичного матеріалу у вірусів, що є властивістю їх як генетичних паразитів.

РНК-геном містить біля 80% вірусів. Геномна РНК може мати інфекційні властивості залежно від своєї структури. Структура вірусних РНК різноманітна: односпіральна і двоспіральна, лінійна, фрагментована і кільцева РНК. РНК-геном є гаплоїдним, але геном ретровірусів – диплоїдним, тобто складається з двох ідентичних молекул РНК. Існують віруси РНК яких в клітині виконує функцію і-РНК, саме ця РНК є інфекційною (+РНК). (-РНК) не є інфекційною і не є інформаційною, але в клітині синтезується її комплементарна нитка, що має властивості і-РНК.

БІЛКИ

В інфікованій клітині вірусний геном кодує синтез двох груп білків: структурних, які входять у склад вірусних частин, наприклад вірус листя тютюну – найбільш просто організований вірус, містить один білок; вірус віспи – складно побудований (містить більше 30 структурних білків) Структурні білки діляться на дві групи: капсидні білки, які утворюють капсид для НК віруса, які входять в склад суперкапсиду, тобто зовнішньої вірусної оболонки.

Просто організовані віруси, які являють собою нуклеокапсид, містять лише капсидні білки. Складно організовані віруси містять капсидні і суперкапсидні білки.

Друга група білків – це неструктурні білки, які беруть участь в процесі внутрішньоклітинної репродукції віруса на різних етапах, але в склад вірусних частин не входять. До них відносяться:

- Попередники вірусних білків;
- Ферменти синтезу РНК і ДНК (РНК- і ДНК-полімерази), які забезпечують транскрипцію і реплікацію вірусного генома;
- Білки регулятори;
- Ферменти, які модифікують вірусні білки, наприклад протеїнази і протеїнкінази.

ЛІПІДИ

Ліпіди виявлені в складно організованих вірусів і в основному містяться в складі ліпопротеїдної оболонки (суперкапсиду), формуючи її ліпідний бішар, в який вставлені суперкапсидні білки.

Всі складно організовані РНК - вмісні віруси мають в своєму складі значну кількість ліпідів (від 15 до 35% від сухої ваги). З ДНК-вмісних вірусів ліпіди містять віруси віспи, герпесу і гепатиту В. Приблизно 50-60% ліпідів в складі вірусів представлено фосфоліпідами, 20-30% складає холестерин.

Ліпідний компонент стабілізує структуру вірусної частинки.

ВУГЛЕВОДИ

Вуглеводний компонент вірусів міститься в складі глікопротеїдів. Кількість цукрів в складі глікопротеїдів може бути великою 10 – 13 % від маси віріону. Хімічна специфічність їх повністю визначається клітинними ферментами, які забезпечують перенос і приєднання відповідних цукрових залишків: фруктози, сахарози, манози, галактози, нейрамінової кислоти, глюкозаміну. Вуглеводний компонент визначається клітиною-господарем.

Джерелом ліпідів і вуглеводів є оболонка клітини господаря. Полісахариди, які входять до складу деяких вірусів, обумовлюють властивість їх викликали аглютинацію еритроцидів.

ФЕРМЕНТИ ВІРУСІВ ТА ЇХ КЛАСИФІКАЦІЯ

Віруси не мають власного метаболізму, тому вони не потребують ферментів обміну речовин. Однак в деяких вірусів виявлена наявність ферментів здатних проникати в клітину господаря. Наприклад: у віруса грипу А виявлена нейрамінідаза, яка відщеплює нейрамінову кислоту, що міститься в оболонках тваринних клітин (еритроцитів і інш.), у фагів виявлено - лізоцим, який руйнує клітинну оболонку, фозфатаза і інші.

Найважливішими є ***структурні*** та ***неструктурні*** ферменти, що забезпечують синтез вірусних нуклеїнових кислот: РНК-залежна РНК-полімераза (РНК-віруси), РНК-залежна ДНК-полімераза (ревертаза ретровірусів), ДНК-полімераза ДНК-вірусів, що розмножуються в цитоплазмі клітини.

РЕПРОДУКЦІЯ ВІРУСІВ
ОСНОВНІ СТАДІЇ ВЗАЄМОДІЇ ВІРУСІВ І КЛІТИНИ

Проникнення вірусу в клітину, взаємодія його з клітиною господаря і репродукція (розмноження) складаються з таких стадій:

- СТАДІЯ 1. Починається з процесу **адсорбції** за рахунок рецепторів віріону і клітини. В складних віріонів рецептори розташовуються на поверхні оболонки у вигляді шипоподібних відростків (вірус грипу), у простих віріонів на поверхні капсиду.
- СТАДІЯ 2. **Проникнення** (**пенетрація**) вірусу в клітину господаря перебігає по різному в різних вірусів. Наприклад, деякі фаги проколюють оболонку своїм відростком і впорскують нуклеїнову кислоту в клітину господаря. Інші віруси проникають в клітину шляхом втягування вірусної частинки за допомогою вакуолі, тобто на місці проникнення в оболонці клітини утворюється заглиблення, пізніше краї її стуляються і вірус в клітині. Таке втягування називається віропексис.
- СТАДІЯ 3. ”Роздягання вірусів” (**дезинтеграція**). Для свого відтворення вірусна нуклеїнова кислота звільняється від захисних її білкових покривів (оболонки і капсиду). Процес роздягання може початися під час адсорбції, а може пройти тоді, коли вірус знаходиться вже всередині клітини.

- СТАДІЯ 4. На цій стадії проходить **реплікація** (відтворення) нуклеїнових кислот і синтез вірусних білків (**депротеїнізація**) внаслідок реалізації генетичної інформації вірусного геному.
- СТАДІЯ 5. **Збирання віріону**. Цей процес забезпечується самозбиранням білкових частин довкола вірусної нуклеїнової кислоти. Синтез білка може початися безпосередньо після синтезу вірусної кислоти або після інтервалу в декілька хвилин або декілька годин. В одних вірусів самозбирання проходить в цитоплазмі. В інших в ядрі клітини господаря. Утворення зовнішньої оболонки (пеплоса) завжди проходить в цитоплазмі.
- СТАДІЯ 6. **Вихід віріону** з клітини господаря проходить шляхом просочування вірусу через оболонку клітини чи через отвір, який утворився в клітині господаря (в цьому випадку клітина господаря гине). Звільнення віруса може відбуватися одномоментно "вибухово" або поступово впродовж тривалого часу.

ТИПИ ВІРУСНОЇ ІНФЕКЦІЇ КЛІТИНИ-ГОСПОДАРЯ

Перший тип взаємодії вірусу і клітини – **продуктивна** інфекція – характеризується утворенням нових віріонів в клітині господаря. Другий тип – **абортивний** полягає в тому, що обривається реплікація нуклеїнової кислоти (НК). Третій тип – характеризується вбудовуванням вірусної НК в ДНК клітини господаря - **інтегративний**; виникає форма існування віруса і клітини господаря (вірогенія), в цьому випадку забезпечується синхроннісь реплікації вірусної і клітинної ДНК. У фагів це називається **лізогенія.**

ГЕНЕТИКА ВІРУСІВ

Модифікація (неспадкові зміни у вірусів) обумовлюється особливостями клітини господаря, в якій проходить репродукція віруса. Модифіковані віруси набувають здатності заражати клітини аналогічні тим, в яких вони модифікувались. В різних вірусів модифікація проявляється по різному. Наприклад, у фагів змінюється форма "негативних плям" (фагових колоній).

Мутація – у вірусів виникає під впливом тих же мутагенів, які викликають мутацію у бактерій (фізичні і хімічні фактори). Виникає мутація під час реплікації нуклеїнових кислот. Мутації змінюють різні властивості вірусів, наприклад чутливість до температури і ін.

Генетична рекомбінація – у вірусів може виникнути в результаті одночасного зараження клітини господаря двома вірусами, при цьому може пройти обмін окремими генами між двома вірусами і утворюються рекомбінанти, що містять гени двох батьків.

Генетична реактивність генів інколи проходить при схрещуванні інактивованого вірусу з повноцінним, що приводить до спасіння інактивного вірусу. Спонтання і спрямована генетика вірусів має більше значення в розвитку інфекційного процесу.

МЕТОДИ КУЛЬТИВУВАННЯ ВІРУСІВ

Віруси розмножуються тільки в життєздатних клітинах. Їх культивують в курячих ембріонах, культурах тканини людини і різних тварин, в організмі чутливих тварин та чутливих членистоногих.

Зараження курячих ембріонів. Для репродукції вірусів застосовують курячі ембріони 7-12-денного віку, інкубовані в термостат при 37°С. Для розвитку зародку необхідно створювати певну вологість повітря, аерацію. За допомогою овоскопа перевіряється придатність курячого ембріону для зараження - за рухом ембріону і розвитком сітки кровоносних судин на хоріон-алантоїсній оболонці.

Зараження курячих ембріонів проводиться в боксі з використанням стерильних інструментів. Перед зараженням курячі ембріони триразово дезинфікують ватним тампоном (спирт-йод-спирт).

ЗАРАЖЕННЯ НА ХОРІОН-АЛАНТОЇСНУ ОБОЛОНКУ. Після дезинфекції яйця обережно зрізають шкорлупу з тупого кінця, знімають підшкорлупну оболонку - при цьому виявляється хоріон-алантоїсна оболонка. Інфекційний матеріал по 0,1 - 0,2 мл за допомогою шприца або пастерівської піпетки наносять на хоріон-алантоїсну оболонку. Після зараження отвір закривають ковпачком і просвіт між ним і шкаралупою заливають парафіном.

На другій стороні яйця простим олівцем пишуть назву інфекційного матеріалу і дату зараження.

ЗАРАЖЕННЯ В АМНІОТИЧНУ ПОРОЖНИНУ. Яйце дивляться в овоскоп і на боковій стороні вибирають ділянку, де хоріон-алантоїс не має великих кровоносних судин. Цю ділянку відмічають олівцем. Яйця вкладають на підставку горизонтально, дезинфікують і спеціальним стерильним кінцем скальпеля проколюють отвір в шкарлупі на глибині 2 - 3 мм, через який вводять на цю ж відстань голку з інфекційним матеріалом безпосередньо в амніотичну порожнину. Для того, щоб введена рідина не витекла, попередньо роблять проколювання над повітряним мішком, після чого оба отвори заливають парафіном.

ЗАРАЖЕННЯ В АЛАНТОЇСНУ ПОРОЖНИНУ. Зараження проводять в затемненому боксі. Відмічають повітряний простір, шкарлупу над повітряним простором дезинфікують і через отвір в шкаралупі вводять в напрямку до ембріону голку шприца з матеріалом. Якщо голка проникла в алантоїсну порожнину, то спостерігається зміщення тіні ембріону. Після зараження отвір заливають парафіном.

ЗАРАЖЕННЯ В ЖОВТКОВИЙ МІШОК. Шкарлупу дезинфікують. Яйце поміщають на підставку тупим кінцем вправо так, щоб жовтковий мішок був повернений вверх. Над повітряною камерою в центрі проколюють отвір. Через отвір в шкаралупі горизонтально на глибині 2 - 3 мм вводять голку шприца, яка проникає в жовтковий мішок. Матеріал вводять в об'ємі 0,2 - 0,3 мл. Після введення матеріалу отвір парафінують.

Температурний режим і термін культивування залежить від біологічних властивостей введеного вірусу.

Інфіковані яйця кожного дня перевіряють – овоскопують для перевірки життєздатності ембріону. Якщо ембріони гинуть на першу добу, то причиною цього буває травма при зараженні. Такі ембріони виводять з досліду.

При необхідності окремо досліджувати кожну складову частину ембріону матеріал забирають в певному порядку: відсмоктують алантоїсну рідину, пізніше амніотичну рідину, розрізають хоріон-алантоїсну оболонку, відділяють амніотичну оболонку, ембріон, жовтковий мішок і тільки після цього вибирають хоріон-алантоїсну оболонку, відділивши її від внутрішньої поверхні шкаралупи. Наявність вірусу в зараженому ембріоні визначають за характерними змінами хоріон-алантоїсної оболонки зараженого курячого ембріону.

Для виявлення вірусу в алантоїсній або амніотичній рідинах заражених ембріонів ставлять РГА (гемаглютинація викликається алантоїсною або амніотичною рідинами або завісиною, виготовленою з хоріон-алантоїсної оболонки).

Віруси, які не мають гемаглютинуючої активності, виявляють за допомогою РЗК або інших серологічних реакцій.

Культивування вірусів в культурі клітин. Для нагромадження вірусів в чутливих клітинних культурах використовують тканини людини і різних тварин. Найбільше практичне застосування отримали одношарові культури первинно-трипсинізованих і перещеплюваних ліній клітин.

Одношарові культури клітин вирощують в скляних плоских посудинах-матрацах. Клітинна суспензія в рідкому поживному середовищі при температурі 37^{o}С дозволяє отримати “in vitro” шар клітин з визначеною гістологічною структурою (моношар). Присутність вірусів в культурах тканин виявляють за змінами клітин (за цитопатогенною дією - ЦПД). Тип вірусів визначають шляхом нейтралізації дії вірусів при додаванні до вірусовмісного матеріалу відповідних типоспецифічних сироваток.

Ці методи дозволяють швидше враховувати результати дослідження і є більш економними. В тих випадках, коли віруси не розмножуються в культурі клітин і не розвиваються в курячих ембріонах, використовуються методи зараження тварин.

Для культивування вірусів використовують перещеплювані клітини, які найчастіше отримують з клітин злоякісних пухлин.

Одношарові культури отримують з ембріонів людини, курки, тварин. Перевага одношарових культур клітин - простота методики і легкість обліку.

Здатність клітин до розмноження поза організмом зв’язана із ступенем диференціації тканини. Менше диференційовані тканини володіють більшою здатністю до проліферації (сполучна, епіталіальна тканини).

Суть методів при виготовленні первинних культур тканин полягає в руйнуванні міжклітинної тканини і роз’єднанні клітин для отримання моношару. Роз’єднання клітин проводиться шляхом дії на тканину протеолітичних ферментів, частіше трипсину. Розчин трипсину сприяє роз’єднанню клітин при збереженні в них здатності до розмноження. Для вирощування культури клітин необхідне поживне середовище. Ці середовища

складні, вони містять ряд інградієнтів: амінокислоти, вітаміни, мінеральні солі, коферменти, глюкозу і т. п. Отримання культури тканини проводять в строго асептичних умовах. Найпоширенішими є стандартні середовища 199, Ігла, RPMI та ін. Замість фізіологічного розчину використовують складні буферні сольові суміші: розчин Хенкса, Ерла та інші. До середовищ додають антибіотики (500 ОД пеніциліну і 250 ОД стрептоміцину в 1мл) для пригнічення росту бактеріальної флори, а також 10 % телячої сироватки крові.

Підготовлену тканину заливають 0,25 % розчином підігрітого трипсину і інкубують в термостаті при 37° С. Під час інкубування тканини періодично помішують. Трипсинізовані клітини центрифугують при 800-1000 об/хв впродовж 5хв.

Трипсинізацію і центрифугування проводять дуже обережно, щоб не травмувати клітини. Після центрифугування надосадову рідину зливають, а осад клітин поміщають в невеликий об'єм поживного середовища. Для отримання однорідної маси завісину клітин фільтрують через шар марлі у стерильній воронці. Завісину клітин перевіряють на стерильність шляхом посіву по 0,1 мл в 2 пробірки з цукровим бульйоном.

Успіх культивування клітин залежить від посівної дози, тому після трипсинізації провводять підрахунок клітин в камері Горяєва. Після підрахунку завісину клітин розводять поживним середовищем з такого розрахунку, щоб в 1мл містилось 500 000-1 000 000 клітин і розливають по пробірках і матрацах. Пробірки з культурою тканини інкубують в термостаті похило.

Засіяні культури кожного дня проглядають під малим збільшенням мікроскопу для визначення характеру росту. Нормальні проліферуючі клітини світлі і ростуть одношаровим пластом. РН середовища змінюється в кислу сторону (середовище поступово змінює колір з малинового в жовтий). Якщо клітини темні, зернисті і не проліферують, рН середовища не змінюється або навпаки, дуже швидко змінюється в кислу сторону, це може бути результатом забруднення (погана обробка посуду або забруднення інградієнтів, або проростання бактеріями, грибами). Такі культури знімають з досліду.

Заміна поживного середовища через 2-3 дні після посіву покращує інтенсивність проліферації. Первинні культури не пересівають, бо вони мають обмежену здатність до поділу.

Нормальні, добре проліферуючі клітини заражають досліджуваним матеріалом. Диплоїдні культури одержують з нормальних клітин, але технологія їх культивування передбачає заморожування при -70° С і зберігання, внаслідок чого їх підтримують в лабораторіях тривалий час.

Перещеплювані культури переважно отримують із злоякісних пухлин. Штам Hela - культура клітин раку шийки матки жінки Helena (отриманий в 1950році); штам Нер-2 виділений від хворого раком гортані. Ріст цих клітин підтримується в лабораторіях шляхом послідовних пасажів. Особливість їх полягає в тому, що вони здатні до безмежного розмноження і вирощуються в лабораторіях впродовж десятків років. Зараз ці клітини пройшли вже тисячі генерацій. В процесі пасажів вони гублять деякі морфологічні і біохімічні властивості, піддаються мутаціям. Але залишаються придатними для

культивування в них вірусів. Культурою цих клітин користуються лабораторії всього світу.

Розмноження вірусу в культурі клітин проходять в різні терміни залежно від властивостей вірусу і виду клітин.

Про наявність вірусу судять за цитопатогенною дією. Час цитопатичної дії і його характер залежать від дози і властивостей віруса.

В мікроскопі спостерігається дегенерація клітин, руйнування моношару, утворення злиття клітин - багатоядерних клітин, які називаються симпластами. При цьому pH середовища не змінюється. Деякі віруси викликають злоякісне переродження клітин.

В деяких вірусів цитопатогенна дія виявляється через декілька днів (вірус віспи), в інших - через 1 – 2 тижні (вірус гепатиту і інших).

РЕЗИСТЕНТНІСТЬ

Стійкість до факторів навколишнього середовища. Віруси інактивуються під дією високих температур (вийняток - вірус гепатиту). До низьких температур не чутливі, інактивуються під дією УФ-променів, стійкі до гліцерину (зберігають в гліцерині), до антибіотиків (тому обробляють матеріал). Кислоти, луги, дезречовини інактивують віруси. Однак деякі віруси, інактивовані формаліном, зберігають імуногенні властивості, що дозволяє використовувати формалін для отримання вакцин (проти сказу).

СПРИЙНЯТЛИВІСТЬ ТВАРИН

До вірусу сказу чутливі багато тварин. Деякі віруси уражують тільки один вид тварин, наприклад вірус чуми собак уражує тільки псів. Тварини не чутливі до вірусу кору і т.д.

ОРГАНОТРОПНІСТЬ ВІРУСІВ

Віруси мають здатність уражувати певні органи, тканини і системи. Наприклад, вірус сказу уражує нервову систему, вірус віспи – дермотропний. Вірусні інфекції можна розділити на дві великі групи:

1) вогнищеві, коли дія вірусу проявляється у вхідних воріт інфекції в зв’язку з його локальною репродукцією;

2) генералізовані, при яких після певного періоду репродукції вірусу в первинних вогнищах проходить генералізація інфекції, і вірус досягає чутливих тканин, формуючи вторинні вогнища інфекції.

При довготривалій взаємодії вірусу з організмом виникає **персистентна** форма інфекції (від латинського – постійність). Персистента інфекція може бути латентною, хронічною або сповільненою залежно від виділення віруса в середовище і проявів симптомів захворювання.

Латентна інфекція – це прихована інфекція, яка не супроводжується виділенням вірусів в навколишнє середовище. При латентних інфекціях вірус не завжди вдається виявити в зв’язку з його дефектним станом, або в зв’язку з персистенцією субвірусних компонентів. При дії факторів, які активують інфекцію, може пройти активація вірусу, і латентна інфекція може перейти в гостру або хронічну. Латентні інфекції можуть викликати аденовіруси, віруси герпесу, онкогенні віруси, вірус СНІДу і ін.

Від хворого організму віруси можуть виділятися з калом (поліоміеліт), з слиною (сказ), з виділенням носоглотки (грип).

ОСНОВНІ ШЛЯХИ ПЕРЕДАЧІ ВІРУСІВ

Основні шляхи передачі вірусів: повітряно-краплинний (грип, віспа), харчовий (поліеміеліт, гепатит А), контактний (сказ), трансмісивний (енцефаліт).

ДЖЕРЕЛО ІНФЕКЦІЇ

Джерелом інфекції може бути людина або тварина.

ОСОБЛИВОСТІ ІМУНІТЕТУ ПРИ ВІРУСНИХ ІНФЕКЦІЯХ

Організм людини має вроджену стійкість до деяких вірусів. Наприклад: людина не чутлива до вірусу чуми собак, тварини не чутливі до вірусу кору. В цих випадках противірусний імунітет заснований на відсутності клітин, здатних підтримувати репродукцію вірусів.

Противірусний імунітет зумовлений як клітинними, так і гуморальними факторами захисту, неспецифічними і специфічними.

Неспецифічні фактори.

А.Айзекс і Ж.Ліндеман в 1957 р виявили, що клітини, заражені вірусом, виробляють особливу речовину, яка пригнічує розмноження як гомологічних так і гетерологічних вірусів, її назвали інтерфероном. Пізніше було доведено, що існує багато інтерферонів і тому необхідно говорити про систему інтерферонів. Система інтерферону тісно зв’язана з імунною системою, вона забезпечує нуклеїновий гомеостаз. Інтерферони – це білки, закодовані в генетичному апараті клітини.

Відомо три типи інтерферонів людини:

α - інтерферон, або лейкоцитарний інтерферон, який виробляється лейкоцитами, обробленими вірусами і іншими агентами;

β - інтерферон, або фібробластний інтерферон, який продукується фібробластами, обробленими вірусами та іншими агентами.

Оба вони відносяться до типу 1.

γ - інтерферон, або імунний інтерферон, належить до типу 2.

Інтерферони добре переносять кисле середовище, а тому воно використовується для виділення інтерферонів і їх очищення. Антигенні властивості в них мало виражені, в зв’язку з чим антитіла до них вдається отримати лише після багаторазових імунізацій.

Інтерферони не мають специфічності щодо вірусів та віруси не мають одинакової чутливості до інтерферонів. Частими індукторами інтерферону є рабдовіруси (вірус везикулярного стоматиту), параміксовіруси, тогавіруси.

Інтерферони мають антивірусну, протипухлинну, імуномодулюючу дію.

Інтерферони застосовують для профілактики і лікування вірусних інфекцій: при грипі і гострих респіраторних вірусних інфекціях. Він ефективний на ранніх стадіях захворювання, застосовується місцево шляхом закапування або введення за допомогою інгалятора в верхні дихальні шляхи. Інтерферон має терапевтичну дію при гепатиті В, герпесі, а також при деяких злоякісних новоутвореннях. Перебільшені дози мають токсичну дію.

Інтерферон може викликати лімфопенію, затримку дозрівання макрофагів, в дітей – важкі шокові стани, в хворих з серцево-судинними захворюваннями – інфаркт міокарду. Очищення інтерферону значно знижує його токсичність і дозволяє застосовувати більш високі концентрації. Очищення здійснюється за допомогою афінної хромотографії з використанням моноклональних антитіл до інтерферону.

Генноінженерний інтерферон отримують в прокаріотичних системах (кишковій паличці).

Специфічні фактори. До специфічних факторів противірусного імунітету відносяться віруснейтралізуючі антитіла, антигемаглютиніни і преципітини.

Білкові компоненти віріона мають антигенні властивості і спричинюють утворення антитіл класів Ig M, Ig A, Ig G. При хронічних вірусних інфекціях, при повторних захворюваннях переважають Ig M. Антитіла здатні нейтралізувати вірус, але лише поза клітиною. Всередині клітин віруси недоступні до дії антитіл.

Клітини, інфіковані вірусами, набувають ознак антигенів щодо власної імунної системи, особливо коли вірусні білки з'являються на поверхні клітин. Такі клітини розпізнаються імунною системою організму і на них спрямовується специфічна імунна відповідь клітинного типу. Загибель інфікованих клітин приводить до припинення репродукції вірусу, але одночасно є важливим компонентом патогенезу вірусних інфекцій. Імунна відповідь розвивається тоді, коли лімфоцит розпізнає на поверхні ураженої клітини вірусні антигени і антигени гістосумісності (подвійне розпізнавання).

ДІАГНОСТИКА ВІРУСНИХ ІНФЕКЦІЙ

Лабораторна діагностика вірусних інфекцій ведеться в трьох напрямках:

- Виявлення збудника або його компонентів (антигенів, ДНК, РНК, вірусспецифічних ферментів) безпосередньо в клінічному матеріалі, взятому від хворого (змиви з носоглотки, фекалії хворих) – експрес- діагностика.
- Виділення вірусу з клінічного матеріалу і його ідентифікація.
- Серодіагностика вірусних інфекцій.

Вибір методу лабораторної діагностики визначається характером захворювання і певним можливим збудником, вирішується в кожному випадку залежно від періоду захворювання і умов лабораторії.

Основні методи виявлення та ідентифікації вірусів:

- Реакція гемаглютинації, реакція затримки гемаглютинації, реакція непрямої гемаглютинації, реакція зв'язування комплементу.
- Реакція нейтралізації вірусів в культурі тканин.
- Метод імунофлюресценсії, імуноферментний і радіоімунний аналіз;
- Гістологічний метод – виявлення включень (тілець Бабеша-Негрі – при сказі, тілець Пашена – при віспі і ін.).

Мікроскопічне дослідження – для виявлення включень – це застосування методу серебріння за Морозовим, використання імерсійної системи мікроскопу, більш дрібних – використання електронного мікроскопу;

- Біологічний метод;
- Виявлення вірусних нуклеїнових кислот.

Необхідно відмітити, що при нормальній імунній відповіді на вірусну інфекцію домінують антитіла класів IgG і IgM. На 3-5 день захворювання з'являються IgM і щезають через декілька тижнів, через 2 тижні з'являються і довго тримаються антитіла класу IgG. Таким чином виявлення антитіл класу IgM є надійним методом швидкої діагностики і свідчить про свіжоперенесену інфекцію навіть при заборі однієї сироватки в гострій стадії хвороби. Тому в непрямій імунофлюресценсії і при імуноферментному аналізі використання спеціальних анти-IgM антисироваток дозволяє вибірково визначати антитіла класу IgM.

Питання для самоконтролю

1. Класифікація вірусів.
2. Властивості вірусів.
3. Методи культивування вірусів.
4. Як проходить взаємодія віруса з клітиною?
5. Якими методами можна виявити вірус в досліджуваному матеріалі?
6. Індикація та ідентифікація вірусів.
7. Експрес-методи діагностики вірусних інфекцій.

Тестові завдання

1. Віруси, як інфекційні агенти мають унікальні властивості, що відрізняють їх від інших збудників інфекційних хвороб – бактерій, рикетсій, хламідій, мікоплазм. Вкажіть, яка з названих властивостей характерна виключно для вірусів ?

A. Внутрішньоклітинний паразитизм
B. Розміри менші 0,5 мкм
C. Залежність від клітинних ферментів синтезу АТФ
D. Наявність одного типу нуклеїнової кислоти – ДНК або РНК
E. Здатність утворювати внутрішньоклітинні включення

2. Який з приведених нижче термінів або означень вживається для характеристики морфології вірусів ?

A. Віріон як структурна одиниця
B. Нуклеоїд
C. Плазміда
D. Транспозон
E. Білатеральний тип симетрії

3. Яка з названих біосистем використовується для культивування вірусів ?
A. Комплекс ферментів–ДНК-полімераз, нуклеотидів, ембріональний екстракт
B. Суміш рибосом, транспортних РНК, вірусних РНК
C. Середовища, що містять гомогенат клітин
D. Новонароджені білі миші
E. Серодовища, що містять мітохондрії клітин та вірусні нуклеїнові кислоти

4. Технологія вирощування клітин поза організмом (культура клітин) потребує застосування спеціальних сольових розчинів та спеціальних середовищ. Виберіть розчин, що використовується при вирощуванні клітинних культур.
A. Розчин Рінгера
B. Розчин Хенкса
C. Фізіологічний розчин з глюкозою
D. Фізіологічний розчин з глюкозою та АТФ
E. Розчин Рінгера з вітамінами

5. Для культивування вірусів використовується клітинні культури, що сформували моношар. Виберіть визначення, яке характеризує моношар клітин.
A. Ультратонкий зріз паренхіматозного органу, поміщений в середовище росту
B. Клітини, що утворили суцільну плівку на поверхні середовища росту
C. Суцільний пласт клітин у середовищі росту
D. Суцільний шар клітин, фіксований на дні посудини під середовищем росту
E. Культура клітин, що зберігає морфологічні ознаки тканини певного органу

6. Через субмікроскопічні розміри, пряме виявлення віріонів утруднене і віруси виявляють за їх дією. Вкажіть який з названих методів застосовують для виявлення вірусів ?
A. Реакція імунного гемолізу
B. Реакція непрямої гемаглютинації
C. Реакція гемаглютинації
D. Реакція імунного цитолізу
E. Фільтрація через бактеріальні фільтри

7. В чому полягає феномен вірусної гемаглютинації ?
A. Склеювання еритроцитів в наслідок дії гемаглютинінів
B. Дія специфічних противірусних антитіл на еритроцити
C. Руйнування еритроцитів під впливом противірусних антитіл і комплементу
D. Склеювання еритроцитів гемолітичною сироваткою
E. Склеювання вірусних антигенів, адсорбованих на еритроцитах

8. Після зараження вірусовмісним матеріалом моношару клітин через 48 годин при мікроскопії під малим збільшенням виявлено зміни, що полягають в

частковому злущуванні клітин з моношару, округлення клітин, pH середовища не змінився. Вкажіть як називаються такі зміни ?
A. ЦПД – симпластоутворення
B. ЦПД – злоякісна трансформація
C. Апоптоз клітин в моношарі
D. ЦПД - дегенерація клітин, руйнування моношару
E. ЦПД –бляшкоутворення

9. Яку реакцію слід застосувати для ідентифікації вірусу, виділеного на курячому ембріоні, якщо цей вірус у складі віріону містить білок-гемаглютинін?
A. Затримки гемаглютинації
B. Непрямої гемаглютинації
C. Вірусної гемаглютинації
D. Затримки непрямої гемаглютинації
E. Пасивної гемаглютинації

10. Технологія вирощування клітин поза організмом (культура клітин) потребує застосування спеціальних сольових розчинів та спеціальних середовищ. Виберіть середовище, що використовується при вирощуванні клітинних культур.
A. Середовище 199
B. Середовище із сироваткою крові
C. Середовще із глюкозою та антибіотиками
D. Цукровий бульйон із сироваткою крові
E Середовище, що містить ембріональний екстракт

РНК-ГЕНОМНІ ВІРУСИ

РОДИНА ОРТОМІКСОВІРУСІВ (Orthomyxoviridae)
Віруси грипу

До родини ортоміксовірусів (грецьк. *orthos* – правильний, *myxa* – слизь) відносяться віруси грипу типів А, В, С, які мають подібність до муцину. Віруси грипу А уражують людину і деякі види тварин (коні, свині і ін.), птахи. Віруси грипу типів В і С патогенні лише для людей. Ще на початку XX століття в 1904 р. М.І.Афанасьев і П.В.Вакс висловили думку про вірусну природу інфекції. Але встановити це вдалося лише в 1933 р., коли Ч.Смітс, К.Ендрюс і П.Лейдоу виділили від хворих і вивчили різновидності вірусів грипу, названі вірусами грипу типу А. В 1940 р. Т.Френсіс, Т.Меджил вивчили віруси грипу В, а в 1947 р. Р.Тейлор відкрив вірус грипу С.

При класифікації вірусів грипу завжди були певні складності, які пов’язані з їх антигенною мінливістю. Віруси грипу підрозділяють на три типи А, В і С. До типу А віднесено декілька підтипів, які відрізняються один від

одного своїми антигенами – гемаглютиніном і нейрамінідазою. Згідно класифікації ВОЗ (1980 р.), віруси грипу людини і тварин типу А поділені на 13 антигенних підтипи за гемаглютиніном (Н1-Н13) і на 10 – за нейрамінідазою (N1-N10). З них до складу вірусів грипу людини типу А входить три гемаглютиніни (Н1, Н2 і Н3) і дві нейрамінідази (N1 і N2). Однак недоліком даної класифікації є об'єднання в єдиний підтип Н1 трьох вірусів-збудників, різних за характером викликаних ними пандемій і епідемій минулих років. Віруси грипу типів В і С мають стабільні антигени, хоча гемаглютинін віруса грипу В також зазнає по часу антигенний дрейф. Номенклатура вірусів грипу включає низку обов'язкових показників, це: тип віруса (А, В і С), природній господар, географічне місце виділення, лабораторний номер штаму, рік виділення, у вірусу типу А в скобках вказується підтип гемаглютиніна і нейрамінідази (наприклад – вірус грипу А: Хабарівськ/90/77 (Н1N1).

МОРФОЛОГІЯ, УЛЬТРАСТРУКТУРА

Вірус грипу має сферичну форму, діметром 80-120 нм, хоча зустрічаються і ниткоподібної форми. Оболонка має пепломери. Кількість капсомерів точно не встановлено. До складу входить односпіральна РНК, нуклеокапсид спіральної симетрії. Нуклекапсид представляє собою рибонуклеопротеїновий тяж, який вкладений у вигляді двійної спіралі, яка складає серцевину віріона. З нею зв'язані РНК-полімераза і ендонуклеази (Р1 і Р3). Серцевина оточена мембраною, яка складається з білка М, який з'єднює тяж з двійним ліпідним шаром зовнішньої оболонки і шипоподібними відростками, які складаються з гемаглютиніна і нейтрамінідази.

РНК синтезується в ядрі клітини господаря. Вірусні білки синтезуються в цитоплазмі. Формування віріонів проходить поблизу оболонки клітини. Віріони містять біля 1% РНК, 70% білка, 24% ліпідів і 5% вуглеводів. Ліпіди і вуглеводи входять до складу ліпопротеїдів і глікопротеїдів зовнішньої оболонки і мають клітинне походження.

Геном віруса представлений мінус-нитковою фрагментованою молекулою РНК. Віруси грипу типів А і В мають 8 фрагментів РНК. З них 5 кодують по одному білку, а 3 останніх – по два білки кожен.

КУЛЬТИВУВАННЯ, РЕПРОДУКЦІЯ

Вірус грипу добре розмножується в курячому ембріоні, де репродукується впродовж 36-48 год; клітинах амніотичної чи алантоїсної порожнин; культурі клітин нирок мавп, ембріону людини і деяких тварин. Репродукція віруса в цих культурах супроводжується слабовираженою ЦПД, яка нагадує спонтанну дегенерацію клітин.

Віруси грипу адсорбуються на глікопротеїнових рецепторах епітеліальних клітин, в яких вони проникають шляхом рецепторного ендоцитозу. В ядрі клітини проходить транскрипція і реплікація вірусного геному. При тому зчитуючі окремі фрагменти РНК у вигляді *і*РНК транслюються на рибосоми, де проходить синтез вірусспецифічних білків. Після реплікації вірусного генома формується фонд вірусних РНК, який використовується при збірці нових нуклеокапсидів.

АНТИГЕННА СТРУКТУРА

Віруси грипу мають S-антиген, по якому в реакції зв'язування комплементу вони поділяються на типи А, В, С; поверхневі антигени – гемалютинін Н і нейрамінідаза N.

Гемаглютинін має 4 підтипи /H_0, H_1, H_2, H_3 /, а нейрамінідаза – два /N_1 і N_2/. За сполученнями цих антигенів визначають підтип вірусу, який змінюється при різних епідеміях. Гемаглютинін є складним глікопротеїном, який має протективні властивості. Він сприяє виробленню віруснейтралізуючих антитіл – антигемаглютинінів, які виявляються в РГГА. Мінливість гемаглютиніна (Н-антигена) визначає антигенний дрейф і шифт віруса грипу. Під антигенним дрейфом розуміють незначні зміни Н-антигена, які викликані точковими мутаціями в гені, що контролює його утворення. Подібні зміни можуть нагромаджуватися в нащадках під впливом таких селективних факторів, як антитіла. Тоді змінюються антигенні властивості гемаглютиніну. При антигенному шифті проходить повна заміна гена, в основі якої лежать рекомбінації між двома вірусами. Це приводить до зміни підтипу гемаглютиніна або нейрамінідази, а інколи обох антигенів, і поява нових антигенних варіанти віруса, які викликають великі епідемії і пандемії. Гемаглютинін є також рецептором, за допомогою якого вірус адсорбується на чутливих клітинах, в тому числі еритроцитах, викликаючи їх склеювання, і приймає участь в гемолізі еритроцитів.

Вірусна нейтрамінідаза – фермент, який каталізує відщеплення сіалової кислоти від субстрату. Він має антигенні властивості і приймає участь у звільненні віріонів з клітини господаря. Нейрамінідаза, подібно гемаглютиніну, змінюється в результаті антигенного дрейфа і шифта.

Сполучення цих антигенів визначає мінливість вірусу А. Вірус типу В більш стійкий. Найстійкіший тип С. Типи і підтипи вірусів не дають перехресного імунітету. Віруси грипу мають загальний антиген з ізоантигенами еритроцитів людини.

РЕЗИСТЕНТНІСТЬ

Вірус грипу малостійкий у навколишньому середовищі. В повітрі приміщень гине впродовж декількох годин, при температурі 60^{o}С через 4-5 хв. Але зберігається у висохлому стані при –20^{o} і –70^{o}С. Чутливий до хлораміну, формаліну, ефіру, дії ультрафіолетових променів, ультразвуку і нагрівання, дезинфектантів, детергентів.

ПАТОГЕНЕЗ

Грип – гостра вірусна інфекція, яка характеризується інтоксикацією і ураженням верхніх дихальних шляхів, періодично епідемічного і пандемічного розповсюдження. Часто грип виникає взимку і весною. Збудником грипу є *Orthomyxovirus* типів А, В, С.

Джерело інфекції – хвора людина і вірусоносій. Шлях передачі – повітряно-краплинний. Інкубаційний період при грипі продовжується від декілька годин до 1-2 діб. Віруси мають тропізм до слизових оболонок верхніх дихальних шляхів. Вірус попадає на слизову оболонку, проникає в епіталіальні клітини дихальних шляхів, пізніше в кров (вірусемія) і викликає явища

інтоксикації. Циркуляція віруса в крові супроводжується ураженням ендотеліальних кровоносних капілярів, в результаті чого підвищується їх проникливість. У важких випадках спостерігаються крововиливи в легені, серцевий м'яз та інші органи. Попадаючи в лімфатичні вузли, віруси грипу уражують лімфоцити. Захворювання починається раптово, при кашлі, чханні з крапельками слизу віруси інтенсивно виділяються у навколишнє середовище. Через 5-9 діб більшість хворих втрачає свою заразність, оскільки до того часу організм звільняється від вірусу.

В слизовій оболонці вірус викликає загибель клітин. Це створює умови для проникнення інших мікроорганізмів, які викликають вторинну інфекцію – пневмонію, бронхіт і ін. Активуються бактерії, які локалізуються у верхніх дихальних шляхах, виникає автоінфекція. Також вірус грипу активізує хронічні захворювання, такі як туберкульоз.

Епідемія грипу типу А має спалаховий характер: впродовж 1-1,5 місяця перехворіють 20-50% населення. Епідемії грипу, що викликані вірусом В, повторюються кожні 3-4 роки, розповсюджуються помалу і тривають звичайно 2,5-3 місяці, охоплюючи не більше 25% населення. Вірус грипу С викликає лише спорадичні захворювання. В результаті різної тривалості міжепідемічного періоду спалахи грипу А і В інколи нашаровуються і виникають двохвильові епідемії.

Приблизно через кожні десять років епідемії грипу набувають характер пандемій. Це пояснюється зміною Н- і N-антигенів віруса типу А, зв'язаного з антигенним дрейфом і шифтом. Так вірус грипу А з гемаглютиніном NSW1 викликав в 1918 році пандемію "іспанки", де загинуло 20 млн. людей. В 1957 році "азіатський" вірус грипу (H2N2) викликав пандемію, яка охопила 2 млрд. людей. В 1968 році з'явився новий пандемічний варіант – вірус грипу А (H3N2), який отримав назву "гонконгський", що циркулює до цього часу. В 1977 році до нього приєднався вірус типу А (H1N1). Оскільки цей вірус вже циркулював в 1947-1957 роках, і був витіснений "азіатським" підтипом, виникла гіпотеза, що шифтові варіанти вірусу не є новими, а циркулюючими в минулому серопідтипами. Поки що нез'ясовано, де зберігаються шифтові антигенні варіанти віруса грипу типу А. Можливо їх зберігають дикі і домашні тварини, птахи. При цьому в організмі птахів проходять генетичні рекомбінації між пташиним і людськими вірусами, які приводять до формування нових антигенних варіантів.

За іншою гіпотезою віруси грипу всіх підтипів постійно циркулюють серед населення, але стають епідемічно актуальними лише при зниженні колективного імунітету.

Віруси грипу типів В і С більш антигенно стабільні та викликають: вірус грипу типу В – менш інтенсивні епідемії і локальні спалахи, вірус грипу типу С – спорадичні захворювання.

ІМУНІТЕТ

Захист організму обумовлюється факторами противірусного захисту – інтерфероном та іншими інгібіторами, які знаходяться в сироватці крові

людини. Імунітет формується за рахунок гуморальної відповіді – антитіл-антигемаглютинінів, які перешкоджають адсорбції вірусів на чутливих клітинах. Велику роль відіграють антинейрамінідазні антитіла, які мають віруснейтралізуючі властивості. Специфічний імунітет забезпечується факторами клітинної імунної відповіді – макрофагами та Т-кіллерами.

Післяінфекційний імунітет при грипі А зберігається 1-3 роки, при грипі В – впродовж 3-6 років. Новонароджені мають пасивний імунітет, обумовлений антитілами класу IgG до відповідного підтипу віруса А. Імунітет зберігається впродовж 6-8 місяців.

Звичайно імунітет носить типо- і штамоспецифічний характер. Зміна підтипів вірусу А виключає надійний захист організму від цієї інєкції, так як перехресного імунітету немає, а прогнозувати напрямок мінливості інколи не вдається.

СПРИЙНЯТЛИВІСТЬ ТВАРИН

Під час епідемічних спалахів до вірусу грипу можуть адаптуватися домашні тваринки. Це виявлено збільшенням їх титру антитіл. Але епідемічна роль тварин невідома. Може вони зберігають вірус в природі і відіграють роль в його циркуляції.

З експериментальних тварин можна заразити тхорів через дихальні шляхи, інтраназально – білих мишів, щурів. Через 2-3 доби вони захворіють. Частіше нагромаджуються віруси в легенях.

ЛАБОРАТОРНА ДІАГНОСТИКА

Забір матеріалу при грипі: відбитки слизової оболонки носової порожнини проводять так: ватним тампоном забирають виділення, кірки і вводять в носовий хід вузьку пластинку з скла або з прозорої обезжиреної пластмаси, притискають до нижної поверхні носової порожнини і обережно виводять назовні.

Забір носоглоткового слизу проводять шляхом полоскання рота ізототонічним розчином хлориду натрію 2-3 рази, а горло 10-15 $см^3$ розчину Хенкса. Змиви збирають в широкогорлу посудину, сухим тампоном протирають слизову оболонку задньої стінки глотки і носові шляхи, або злегка зігненим тампоном, змоченим 5% інактивованою сироваткою крові тварини. Протирають 2-3 рази слизову оболонку задньої стінки глотки, кожен раз використовуючи інший тампон. Всі тампони від одного хворого опускають в пробірку з 5 $см^3$ бульйону і обкладають льодом. Перед дослідженням тампон і змив відтають, фільтрують через декілька шарів марлі і до 10 $см^3$ освітленого змиву для адсорбції віруса додають 1 $см^3$ 5 % стерильної, трьохразово відмитої завісини еритроцитів.

Суміш поміщають на 1 год в холодильник, 5 хв центрифугують і зливають надосадову рідину. До 1 $см^3$ осаду для пригнічення бактеріальної флори додають по 200 ОД пеніциліну і стрептоміцину.

Кров забирають в 1-ий період захворювання і 2-ий раз в період виздоровлення для реакції з парними сироватками. Кров беруть з вени в кількості 3-5 $см^3$ і отримують сироватку.

Виділення і ідентифікація віруса грипу в курячому ембріоні. Після спеціальної обробки змиви використовують для зараження 9-11 денних курячих ембріонів. По 0,1-0,2 $см^3$ змиву вводять в алантоїсну і амніотичну порожнину 4-5 ембріонам. Дві доби культивують в термостаті при 36° С. Ембріони витримують 24 год при 4° С в холодильнику, вскривають, відсмоктують алантоїсну і амніотичну рідину. Розмноження вірусів виявляють через 3-4 доби за допомогою реакції гемаглютинації. Антиген – гемаглютинін одержують з алантоїсної рідини курячих ембріонів, в яких розмножився вірус. Виділений вірус ідентифікують за допомогою РЗГА і РН в курячих ембріонах, використовуючи набір стандартних імунних сироваток до еталонних штамів кожного серологічного типу віруса грипу. Сироватки отримують від тварин, імунізованих відповідними типами вірусів.

В деяких випадках носоглотковими змивами заражають первинно-трипсинізовані ембріональні тканини нирок людини і мавп. Індикацію віруса грипу проводять за допомогою реакції гемадсорбції, а ідентифікацію за допомогою РІФ. Для цього культури клітин, які виросли в пробірках на покривних скельцях через 19-24 год після їх зараження вірусом, обробляють специфічними міченими сироватками. Грипозний антиген в клітинах має таке саме розташування і форму, як і в циліндричному епітелії слизової оболонки носа.

П р и с к о р е н і реакції при грипі:

Риноцитоскопічне дослідження є орієнтовним. Відбитки взяті з поверхні носової порожнини забарвлюють за Романовським і мікроскопують. При грипі в препаратах виявляють ***змінений циліндричний епітелій,*** клітини якого не мають війок, включення за Романовським забарвлюється в фіолетовий колір. Зміни циліндричного епітелію і виявлення включень спостерігають в перший період захворювання.

До експрес-методів відноситься також метод імунофлюоресценсії. Мазки-відбитки обробляють імунофлюоресцентними типоспецифічними антисироватками. Наявність вірусних антигенів в епітеліальних клітинах викликає жовто-зелене світіння у вигляді гранул в цитоплазмі і ядрі клітин. Застосовують також імуноферментний аналіз.

Серологічна діагностика при грипі. Для ретроспективної діагностики використовують метод парних сироваток. У хворого беруть кров на початку захворювання і в період виздоровлення. З отриманими сироватками ставлять РЗК і РГГА. Антигеном служать діагностичні грипозні антигени або алантоїсні рідини курячих ембріонів, які заражені еталонними штамами віруса грипу. Позитивний серодіагноз грипу враховується за чотирьохресною системою і наростанню титру специфічних антитіл в других порціях сироваток (реакція

парних сироваток). Діагностичне значення має 4-кратне наростання титру антитіл в парних сироватках, взятих з інтервалом 1-2 тижні.

Для уточнення штаму віруса грипу можна використати реакцію нейтралізації вірусів в курячих ембріонах, які розвиваються, сироваткою крові людей які перехворіли.

Застосовується також реакція зворотньої непрямої гемаглютинації (РЗНГА), реакція ензиммічених антитіл (РЕМА) для індикації білка М.

ПРОФІЛАКТИКА

Ізоляція хворого, перевітрювання приміщення, вологе прибирання їх з розчином хлораміну, використання масок під час спалахів грипу. Важливо також попередження охолодження, яке знижує вироблення такого захисного фактору як інтерферон.

СПЕЦИФІЧНА ПРОФІЛАКТИКА

Використовують живу вакцину, яка містить ослаблені віруси типу А і В. Вводиться вакцина інтраназально. Отримана жива вакцина для дітей, яка вводиться перорально. Для індивідуального захисту користуються людським лейкоцитарним інтерфероном і оксалиновою маззю (змазують слизову оболонку носа).

Зараз отримані інактивовані вакцини різних типів: віріонні, субодиничні, розщеплені і змішані. Віріонні вакцини отримують шляхом якісного очищення вірусів, які вирощені в курячих ембріонах. Субодиничні вакцини являють собою очищені поверхневі антигени віруса грипу – гемаглютиніни і нейрамінідазу. Вони мають знижену реактогенність і високу імуногенність. Розщеплені або дезінтегровані вакцини отримують з очищеної суспензії віріонів шляхом обробки детергентами. Однак поки що відсутня єдина думка про переваги якої-небудь однієї з цих вакцин. Інактивовані вакцини сприяють імунній відповіді гуморального імунітету, але менше індукують синтез інтерферону. Ведуться дослідження по створенню вакцини з гемаглютинів, нейрамінідази, спроби по створенню генноінженерних і синтетичих грипозних вакцин.

Лікування. При грипі, викликаному вірусом А, застосовується ремантадин. Достатньо ефективними є препарати лейкоцитарного і генноінженерного (рекомбінантного) інтерферону. Для попередження вторинної інфекції використовують різноманітні антибактеріальні препарати.

РОДИНА ПАРАМІКСОВІРУСІВ (Paramyxoviridae)

Родина параміксовірусів (лат. *para* – біля, *myxa* – слиз) включає три патогенних для людини роди: *Paramyxavirus, Morbillivirus, Pneumovirus*. До першого роду відносяться віруси парагрипу і епідемічного паротиту, до другого – вірус кору і підгострого склерозуючого паненцефаліту. До третього –

респіраторно-синтиціальний вірус. Відомі також параміксовіруси, патогенні для тварин (птахів, собак і ін.). Інфекції, які викликані параміксовірусами, частіше всього спостерігаються у дітей раннього віку.

МОРФОЛОГІЯ, УЛЬТРАСТРУКТРА

Віріони мають сферичну форму діаметром 150-500 нм. В центрі віріона розташований нуклеокапсид з спіральним типом симетрії, оточений зовнішньою оболонкою з шипоподібними відростками. Вірусна РНК представлена несегментованою односпіральною мінус-ниткою. До складу нуклекапсиду входить декілька вірусспецифічних ферментів, в тому числі РНК-полімераза (транскриптаза). Нуклеокапсид покритий матриксним білком, що вистелений зсередини зовнішньою оболонкою. Оболонка складається з двох ліпідних шарів клітинного походження і трьох вірусспецифічних білків. Два з них – глікопротеїни NM, що входять до складу шипоподібних відростків, мають гемаглютинуючу і нейрамінідазну активність. Третій F-білок приймає участь в злитті клітинних мембран з вірусною оболонкою, обумовлюючи тим самим проникнення віруса в клітину господаря. Даний білок відповідає за гемолітичні та цитотоксичні властивості віруса.

РЕПРОДУКЦІЯ

Параміксовіруси за допомогою глікопротеїнових рецепторів адсорбуються на чутливих клітинах господаря. Проникнення віріона в клітину проходить шляхом рецепторного ендоцитозу або при злитті вірусної оболонки з цитоплазматичною мембраною. Реплікація вірусної РНК проходить в цитоплазмі інфікованих клітин. При формуванні віріонів проходить модифікація окремих ділянок цитоплазматичної мембрани клітини-господаря за рахунок вбудування в неї з зовнішньої сторони вірусних глікопротеїнів, а з внутрішньої – мембранного білка. До модифікованих ділянок клітинної мембрани по активних нитках транспортуються вірусні нуклеокапсиди. Вихід вірусних частинок проходить шляхом брюнькування. В цитоплазмі інфікованих клітин утворюються ацидофільні включення.

АНТИГЕННА СТРУКТУРА

Параміксовіруси містять два вірусспецифічних антигени: внутрішній S-антиген (нуклеопротеїн) і зовнішній Y-антиген (глікопротеїни шипоподібних відростків). Загальний антиген для всієї родини відсутній. В деяких параміксовірусів Y-антиген містить два самостійних антигенних компоненти, один з яких є гемаглютиніном (H-антигеном), інший – нейрамінідазою (N-антигеном).

РЕЗИСТЕНТНІСТЬ

Параміксовіруси є високочутливі до дії фізичних і хімічних факторів. Вони руйнуються детергентами, а також при нагріванні до температури 50^{o} С. Джерелом інфекції є хворі і вірусоносії. Віруси передаються аерозольним і в деяких випадках контакним шляхом. Найбільш важко захворювання перебігає в дітей раннього віку.

ЛАБОРАТОРНА ДІАГНОСТИКА

Вірус виділяють з матеріалу (слина, сеча, кров, змиви з зіву і ін.) в культурі клітин різного походження. Ідентифікацію вірусів проводять за

характером ЦПД і в серологічних реакціях: РЗК, нейтралізації, РГГА. Крім того, для виявлення вірусного антигна в досліджуваному матеріалі при парагрипі, кору, рем'піраторно-синцитиальній інфекції використовують імунофлюоресцентний метод.

Серодіагностика проводиться в РЗК, реакції нейтралізації, РГГА – з парними сироватками хворих людей.

ВІРУС КОРУ

До роду *Morbillivirus* відноситься вірус кору, а також віруси чуми собак і великої рогатої худоби. Вірусна природа кору доведена в 1911 р. Т.Андерсеном і Дж. Гольдбергом. Вперше вірус був виділений в 1954 р Дж.Ендерс і співавторами Т.Піблс в культурі клітин нирок мавп.

МОРФОЛОГІЯ, УЛЬТРАСТРУКТРА

Морфологія, ультраструктура вірусу типова для параміксовірусів. Діаметр віріонів 120-250 нм, спіралі нуклеокапсиду – 17 нм, крок спіралі – 4,5 нм. Вірус складається з ліпопротеїдної оболонки, в яку вбудовані з зовнішньої сторони глікопротеїди – гемаглютинін, F-білок. Відрізняється він від інших вірусів відсутністю нейрамінідази. В складі вірусу знаходяться шість білків з молекулярними масами від $37x10^3$ до $200x10^3$; крім двох глікопротеїдів, білки нуклеокапсиду Р і NP, РНК-полімерази (L-білок) і М-білок. Геном – це односпіральна "мінус-спіральна" РНК. Цитоплазматичні включення містять крім білків вірусного РНП, неструктивний білок С. Ядерні включення в основному містять білок С.

КУЛЬТИВУВАННЯ

Найбільш чутливими клітинними культурами є первинні культури нирок мавпи і ембріону людини. Вірус може бути адаптований і до клітин нирок собак, телят, клітин амніону людини і до перещеплюваних культур клітин людського (*HeLa, KB, FL*) і мавп'ячого (*Vero, MS, BSCL*) походження. Він спричиняє характерний цитопатогенний ефект з утворенням ***гігантських багатоядерних клітин-симпластів,*** які включають до 100 ядер. В заражених клітинах формуються включення – ацидофільні в цитоплазмі, базофільні в ядрі. В заражених культурах з'являється гемадсорбція.

АНТИГЕННА СТРУКТУРА

Вірус містить декілька антигенів. Антигени зовнішньої оболонки можуть бути відділені від антигенів серцевини при руйнуванні очищеного вірусу жиророзчинниками чи детергентами. Вірус має загальні антигенні детермінанти з вірусом чуми собак і великої рогатої худоби. За допомогою моноклональних антитіл виявлено декілька сероваріантів вірусу кору.

Вірус має гемаглютинуючу, гемолітичну і симпластоутворюючу активністю; аглютинує еритроцити мавп (макака резус), але не аглютинує еритроцити курей, морських свинок і інших видів тварин.

РЕЗИСТЕНТНІСТЬ

Вірус чутливий до ефіру і детергентів, швидко інактивується при pH 2,0-4,0 при температурі 56°С через 30 хв. У висохлих краплях слизу при температурі 12-15° С він може зберігатися декілька діб.

ПАТОГЕННІСТЬ ДЛЯ ТВАРИН

З лабораторних тварин до вірусу кору чутливі лише мавпи, які дають типову клінічну картину коревої інфекції.

ПАТОГЕНЕЗ

Кір – це ендемічна інфекція. Фактором, який обумовлює розповсюдження інфекції, є стан колективного імунітету населення. Спалахи кору виникають при винекненні сприятливості в дітей. При проникненні вірусу в ізольовані колективи, де циркуляції вірусу не було, кором хворіють люди різного віку. Класичним прикладом є занесення кору на Фарерські острови в 1846 році, коли кором перехворіло все населення, окрім осіб похилого віку, які застали останню епідемію кору. В таких ситуаціях кір перебігає важко і смертність досягає 25%.

Спалахи кору реєструються в кінці зими і весною. Вірус виділяється головним чином в продромальному періоді при диханні і кашлі з крапельками слизу.

Інкубаційний період біля 10 діб до моменту підвищення температури і 14 діб до утворення висипу. Вірус проникає у верхні дихальні шляхи і розмножується в клітинах епітелію слизової оболонки носоглотки, трахеї і бронхів. В продромальному періоді інфекція нагадує ГРЗ і перебігає з симптомами ураження верхніх дихальних шляхів (риніт, фарингіт, кон'юктивіт). Далі вірус проникає в кров і викликає ураження ендотелію судин. В результаті ексудації плазми з ендотелію капілярів епідермісу і локального некрозу клітин ендотелію з'являється висип. В порожнині рота з'являються плями Копліка-Філатова – везикули, які утворилися в результаті некрозу епітеліальних клітин слизової оболонки порожнини рота. Діагностичною ознакою є *плями Копліка-Філатова на слизовій оболонці щоки*. Висип характеру папули – спочатку з'являється на шкірі голови (у лобній зоні і за вухами), а пізніше розповсюджується по всьому тулубу і кінцівках. Температура тримається 7-8 діб. Проходить генералізована гіперплазія лімфоїдної тканини, в лімфатичних вузлах, мигдаликах, аденоїдах, селезінці виявляються багатоядерні гіганські клітини. Вони виявляються в шкірних ураженнях і плямах Копліка-Філатова. Ускладненням кору – це пневмонія в ранньому періоді захворювання, набряк гортані, круп.

Вірус пригнічує функціональну активність Т-лімфоцитів, що приводить до розвитку вторинного імунодефіциту. Дуже рідко вірус проникає в ЦНС, викликаючи енцефаломіеліт. У випадку персистування віруса в лімфоїдних тканинах і нейронах ЦНС через декілька років після перенесення хвороби може розвинутися підгострий склерозований паненцефаліт – сповільнена інфекція з летальним кінцем. Інколи розвивається (один на 2000 випадків) енцефаломіеліт, який звичайно виникає в дітей старших 8-10 років.

ІМУНІТЕТ

Після перенесеного захворювання залишається стійкий гуморальний пожиттєвий імунітет. В людей, які перехворіли кором, з'являються антитіла до вказаних вірусів – комплементзв'язуючі і антигемаглютиніни. Протикореві антитіла класу IgG проникають через плаценту в організм плоду і захищають новонароджених впродовж 6 місяців.

ДІАГНОСТИКА КОРУ

Діагностика кору ставиться на основі клінічної картини, наявності плям Копліка-Філатова, які є приблизно у 95% хворих. Експрес- діагностика заснована на виявленні методом імунофлюоресценсії специфічного антигену в клітинах епідермісу шкіри при взятті зішкрібу з висипу. Діагностичною ознакою є виявлення специфічного антигену і багатоядерних клітин у виділенні з носоглотки. Широко застосовується метод виявлення антитіл класу IgM в ІФА з використанням анти IgM сироватки. В 97% хворих менше ніж через тиждень після початку захворювання виявляються IgM, які зберігаються впродовж 60 діб.

Виділення вірусу кору із змивів носоглотки і крові можливе в продромальному періоді і впродовж першої доби після утворення висипу. Для виділення вірусу кору використовують культуру клітин нирок ембріону людини і пересаджені культури *L-41, Vero* і клітини амніону людини (штам FL). Культури нирок мавп також чутливі до вірусу кору, але рідше застосовуються для виділення вірусу у зв'язку з можливою кантамінацією мавпячим кореподібним вірусом. Через 72-96 год вірус кору викликає в культурі клітин утворення гігантських багатоядерних клітин і синцитіїв з цитоплазматичними включеннями, пізніше утворюються внутрішньоядерні включення, які не містять антиген і не флюоресціюють. Включення гомогенні і оточені світлим ореолом. Ідентифікацію виділеного вірусу проводять за допомогою ІФ, РЗГА, РН в культурі тканин. Антиген виявляють через 36-48 год після зараження культури тканини, спочатку в біляядерний частині цитоплазми, пізніше в складі цитоплазматичних включень, а пізніше дифузно розміщується по всій цитоплазмі.

Серологічна діагностика кору проводиться в РН в культурі клітин, РЗК і РЗГА. В клітинах *Hep-1, Hep-2*, КВ, амніону людини ставлять РН, використовуючи вірус, який адаптований до даної культури і який викликає в ній виражені цитопатогенні зміни. В РЗК застосовують екстракт заражених культур після трьохразового заморожування і відтаювання (антиген). РЗГА ставлять з 0,5% завісиною еритроцитів барана при кімнатній температурі.

Всі три реакції мають однакову чутливість.

СПЕЦИФІЧНА ПРОФІЛАКТИКА

Специфічна профілактика заснована на імунізації живою вакциною, виготовленою з атенуйованих штамів вірусу. В нашій країні для одержання вакцини використовують культуру клітин фібробластів ембріонів японських перепелиць. При вакцинації 90-95% дітей різко знижується захворюваність і припиняється циркуляція вірусу.

Але вакциновані можуть також захворіти кором в результаті таких причин: по-перше, в результаті введення вакцини, яка втрачає імуногенність, і по-друге, в результаті відсутності імунітету (імунітет формується у 95-97% вакцинованих). Завдяки вакцинації кір практично ліквідований, наприклад в Чехословаччині.

У вогнищі інфекції дітям до 2 років та ослабленим дітям старшого віку для пасивної імунізації вводять протикоревий імуноглобулін, що виготовлений з донорської і плацентарної крові. Тривалість пасивного імунітету до 1 місяця.

ВІРУС ЕПІДЕМІЧНОГО ПАРОТИТУ

Вірусна природа паротиту (свинки) вперше була встановлена К.Джонсоном і Е.Гудпасчером в 1934 році.

МОРФОЛОГІЯ

Вірус має типову для параміксовірусів морфологію і біологічні властивості.

АНТИГЕННА СТРУКТУРА

За антигенною структурою містить V- і S-антигени. Відомо лише 1 серотип віруса.

КУЛЬТИВУВАННЯ, РЕПРОДУКЦІЯ

Вірус паротиту добре розмножується в курячих ембріонах при зараженні їх в амніотичну порожнину. Пасажі на курячих ембріонах знижують патогенність для людини і ця властивість використовується при створенні живої вакцини. Вірус культивується в клітинних культурах з утворенням багатоядерних гігантських клітин, синцитіїв. Він викликає аглютинацію еритроцитів курей, морських свинок, коня, барана, людини групи О. Найменшу чутливість мають еритроцити курей.

СПРИЙНЯТЛИВІСТЬ ТВАРИН

До вірусу чутливі мавпи, в яких розвивається захворювання, подібне з захворюванням в людини.

ПАТОГЕНЕЗ

Епідемічний паротит (свинка) є гострою інфекцію, яка характеризується ураженням однієї чи обох білявушних слинних залоз і можливим ураженням інших органів.

Вхідними воротами інфекції є верхні дихальні шляхи. Первинна репродукція віруса проходить в епітеліальних клітинах носоглотки. Зараження проходить повітряно-краплинним шляхом і через предмети, забруднені слиною і сечею. Людина заразна впродовж всього інкубаційного періоду і першого тижня захворювання. Захворювання може перебігати безсиптомно і виявляється за приростом антитіл. Особи з безсимптомною інфекцією є джерелом зараження.

Інкубаційний період триває 18-21 добу. Захворювання розпочинається з запалення білявушної залози, однієї або обох та інших слинних залоз.

Запалення триває біля тижня і супроводжується помірним підйомом температури. Вірус переміщується з порожнини рота по протоці білявушної залози (стенонова протока), де проходить його репродукція. Можливо, первинна репродукція вірусу проходить в епітелії слизової оболонки верхніх дихальних шляхів, пізніше вірус поступає в кров і розноситься по всьому організму, проникаючи в яєчники, яєчка, підшлункову, щитовидну залози і мозок. В неускладнених випадках проходить місцеве ураження тканин білявушних залоз. Приблизно у 20% хлопчиків старші 13 років розвивається орхіт, який може обумовити статеву стерильність. При важких формах орхітів яєчка набрякають, при пункції виявляється геморагічна рідина, розвивається дегенерація епітелію сім'яних канальців. Ураження ЦНС спостерігається у запальних реакціях, ураженні нейроглії, крововиливах, деміелінізації.

Ускладненням є орхіт, менінгіт, менінгоенцефаліт, більш рідкісні ускладнення – поліартрит, панкреатит, нефрит, тиреоїдит.

Епідемічний паротит розповсюджений по всьому світу. Хоча інфекція часто реєструється в дітей від 5 до 15 р, але можуть хворіти і дорослі. Смертельні випадки зустрічаються дуже рідко, навіть при наявності ускладнень і уражень ЦНС.

ІМУНІТЕТ

Перенесена інфекція залишає стійкий післяінфекційний імунітет. Імунітет, зв'язаний з передаванням антитіл від матері до плоду, що ефективний в перші 6 місяців життя дитини.

Після захворювання і в період реконвалесценсії виявляються комплементзв'язуючі і віруснейтралізуючі антитіла, причому антитіла проти V-антигена зберігаються довше, ніж проти S-антигена. Останні щезають зразу ж після виздоровлення. Через 3-4 тижні після початку захворювання з'являється реакція ГСТ.

ЛАБОРАТОРНА ДІАГНОСТИКА

Матеріалом для виділення вірусу паротиту є слина хворих, взята в перші 3 дні захворювання. При менінгіті, менінгоенцефаліті, окрім слини, беруть цереброспінальну рідину, не пізніше 6 діб від початку захворювання.

Вірус можна виділити з сечі і в більш пізній час. Заражають 7-8 денні курячі ембріони і інкубують при температурі 35^{o} С 6-7 діб. Наявність вірусу в амніотичній рідині визначають в РГА з курячими еритроцитами. Після декількох пасажів вірус виявляється в алантоїсі. Ідентифікацію вірусу паротиту проводять в РЗГА і РЗК.

Для виділення вірусу паротиту використовують також культури клітин нирок мавпи, ембріону людини, морської свинки або *HeLa*. Через 48-72 год після зараження в культурі клітин з'являються багатоядерні гігантські клітини і симпласти. В клітинах виявляються цитоплазматичні включення, позитивною стає реакція гемадсорбції (адсорбція еритроцитів на уражених клітинах). Далі проходить повне руйнування клітин. В культуральному середовищі з'являються гемаглютиніни. Ідентифікацію вірусу паротиту проводять в реакціях імунофлюоресценсії, нейтралізації, гальмування гемадсорбції, гемаглютинації,

зв’язування комплементу. В культурах клітин вірус паротиту виділяється більше, ніж в курячих ембріонах.

Серологічна діагностика паротиту проводиться шляхом встановлення наростання антитіл в парних сироватках хворих в РГГА або РЗК. Як антиген використовують амніотичну або алантоїсну рідину заражених курячих ембріонів або екстракт заражених культур клітин, а також стандартний діагностикум. Сироватки хворих звільняють від неспецифічних інгібіторів шляхом обробки каоліном і 50% еритроцитарною масою.

ПРОФІЛАКТИКА

Застосування живої вакцини показано для дітей старше 1 року, а також для підлітків і дорослих, які раніше не хворіли свинкою. Вакцина (А.А.Смородінцев і Н.С.Клячко) застосовується у вигляді моновакцини або асоційованої вакцини разом з вакциною проти кору та вводиться підшкірно, одноразово.

ЛІКУВАННЯ

Для лікування і пізньої профілактики використовується імуноглобулін, однак він не ефективний при орхітах.

РОДИНА РАБДОВІРУСІВ (Rhabdoviridae)

В родину включені віруси, патогенні для хребетних і бехребетних тварин, найпростіших, рослин. Для людини патогенними є вірус везикулярного стоматиту і вірус сказу.

МОРФОЛОГІЯ, УЛЬТРАСТРУКТРА

Віріони мають паличкоподібну форму, розміром 170х70 нм. Звідси назва родини (грецьк. *rhabdos* – прутик). Ззовні є ліпідна оболонка з відростками, в центрі – нуклеокапсид спірального типу симетрії, відділений від зовнішньої оболонки матриксним білком.

Віріони містять декілька білків: капсидні і матриксні білки, РНК-полімеразу та інші ферменти, а також глікопротеїн, що входить до складу шипоподібних відростків зовнішньої оболонки.

До складу геному входить односпіральна нефрагментована мінус-РНК.

РЕПРОДУКЦІЯ

Рабдовіруси репродукуються в цитоплазмі клітин. Синтезують 4 види *і*РНК. Трансляція проходить після пригнічення макромолекулярного синтезу компонентів клітини-господаря на полірибосомах. Вихід віріонів з клітини проходить шляхом брунькування через модифіковані ділянки плазматичної мембрани. В цитоплазмі клітин утворюються ацидофільні включення.

АНТИГЕНИ

Нуклеопротеїн є групоспецифічним антигеном, який виявляється в реакціях імунофлюоресценсії, преципітації в гелі і РЗК. Глікопротеїн зовнішньої оболонки являє собою типоспецифічний антиген, який відповідальний за інфекційну і гемаглютинуючу активність віріонів. Він може бути виявлений в реакції нейтралізації і РГГА.

ВІРУС СКАЗУ

Відноситься до родини рабдовірусів, рід *Lyssavirus* (грецьк. *lyssa* – сказ) Сказ – латинська назва *Rabies, Hydrophobia* – відомі давно як захворювання диких і домашніх тварин. Вірус сказу вибірково уражує клітини центральної нервової системи. Тому захворювання супроводжується збудженням нервової системи, гідрофобією, аерофобією, паралічами.

Вперше сказ вивчив Л.Пастер в 1880 році, одержавш вакцину проти сказу (1885). В 1886 році група одеських лікарів на свої кошти відправила у відрядження Н.Ф.Гамалея до Пастера в Париж для ознайомлення з методом виговлення вакцини проти сказу. Після його повернення в Одесі була відкрита лабораторія, де виготовлялася антирабічна вакцина.

Відомо декілька родинних біоварів збудника: вірус "дикування" оленів, песців і лисиць в Арктиці, вірус летючих мишей в Америці, вірус "безумної собаки" в Західній Африці та ін.

МОРФОЛОГІЯ, УЛЬТРАСТРУКТРА

Збудник має паличкоподібну форму, розміром 80-180 нм. Віріон містить односпіральну РНК, оточений капсидом, який покритий оболонкою, в склад якої входять глікопротеїди і гліколіпіди. В оболонці є шиповидні утворення – пепломери.

В цитоплазмі клітин нейронів головного мозку, які уражені вірусом, утворюються специфічні включення описані Бабешом (1892) і Негрі (1903). Тому їх називають ***тільцями Бабеша-Негрі.*** Форма тілець сферична, величина від 3-4 до 20 мкм. За Романовським-Гімзе зафарбовуються в малиново-червоний колір. Виявлення тілець має діагностичне значення.

КУЛЬТИВУВАННЯ

Вірус сказу культивується в мозковій тканині мишей, курчаток, кроликів, в курячих ембріонах, ембріонах телят, овець; культурах клітин різного виду тварин, в культурі клітин нирок новонароджених хом'ячків, в диплоїдних клітинах людини. Цитопатогенна активність непостійна. Вірус може бути адаптований до курячих у гусячих ембріонів при зараженні в жовтковий мішок.

АНТИГЕННА СТРУКТУРА

Віруси сказу не мають антигенних різновидностей. Розрізняють два біовари вірусу сказу: вуличний вірус, який виділяють від хворих тварин, і фіксований вірус, одержаний Пастером при довготривалих пасажах вуличного вірусу через мозок кролика. Фіксований вірус, який втратив вірулентність, але зберіг імуногенність, використовують для виготовлення антирабічних вакцин.

ПАТОГЕННІСТЬ ДЛЯ ТВАРИН

До вуличного вірусу сказу сприйнятливі всі теплокровні дикі і домашні тварини, менше – птахи. Хворіють більше собаки, вовки, лисиці, летючі миші, які можуть зберігати вірус сказу в природі.

В лабораторних тварин – кроликів, білих мишів, морських свинок – виникають паралітичні форми сказу при різних шляхах зараження.

РЕЗИСТЕНТНІСТЬ

Вірус сказу чутливий до нагрівання. При 56^{o} С інактивується через 60 хв, при 80-100^{o} С – за 1 хв. Він швидко інактивується в розчинах йоду, лугу, детергентів і при ультрафіолетовому опроміненні. Висушування приводить до інактивації збудника в матеріалі за декілька днів, а в умовах ліофілізації вірус зберігається роками.

ПАТОГЕНЕЗ

Сказ – гостре зоонозне захворювання, яке характеризується корчами ковтальних і дихальних м'язів, виділенням слини, яке закінчується паралічем і парезом. Збудник сказу *Lyssavirus* вибірково уражує нервові клітини гіпокампу, мозочка і продовгуватого мозку.

Основним джерелом і резервуаром вірусу є дикі тварини (лисиці, вовки) і домашні тварини (собаки, кішки). В летючих мишей може формуватися хронічна безсимптомна інфекція.

Зараження тварин і людини проходить при попаданні слини на уражену шкіру чи слизові оболонки і при укусі скаженими тваринами. Збудник сказу виділяється через слинні залози не тільки під час хвороби, але і в інкубаційному періоді, інколи за 7-8 діб до появи перших ознак захворювання.

Інкубаційний період при сказі 10-15 діб при проникненні збудника через шкіру голови і обличчя; при укусах кінцівок – кисті рук, стопи ніг – досить тривалий – до 1,5 місяця і більше. Первинна репродукція вірусу проходить в клітинах м'язевої тканини.

Захворювання починається з появи болів на місці укусу, відчуття страху, схвильованості. При спробах напитися води з'являються паралічі ковтання, боязнь води (гідрофобія). З місця проникнення віруси розповсюджуються по нервових стовбурах (осьових циліндрах і периневральних просторах) і попадають в клітини центральної нервової системи. Найбільша кількість вірусу концентрується в гіпокампі, продовгуватому мозку, ядрах черепних нервів і в поперековій частині спинного мозку. В нейронах проходить інтенсивна репродукція віруса, в результаті чого з'являються цитоплазматичні тільця Бабеша-Негрі, які містять вірусні нуклеокапсиди.

В результаті ураження нервової системи з'являється підвищена рефлекторна збудженість: корчі, особливо дихальних і ковтальних м'язів. Людина задихається. Хворі можуть кидатися на медперсонал. Через декілька діб наступають паралічі м'язів кінцівок, лиця, дихальної мускулатури і смерть. Захворювання триває 6-7 діб.

Клінічна картина сказу в собак така: тварина стає похнюплена, в собаки тече слина, може ковтати неїстивні речі – каміння, палки. Пізніше наступає період збудження. Собаки біжать по прямій лінії, низько опустивши голову. Вони нападають на зустрічних людей. Тварина без гавкання кусає людину. Період збудження змінюється паралічами і смертю тварини.

ІМУНІТЕТ

В організмі синтезуються віруснейтралізуючі антитіла, які мають протективну дію до проникнення збудника в клітини ЦНС.

Імунітет виникає після вакцинації, зберігається до 6 місяців. Людям при появі ознак сказу щеплення не проводять. При важких укусах в ділянці шиї, голови одночасно з антирабічною вакциною вводять імуноглобулін. За підозрілими тваринами ведуть нагляд 7 діб і, якщо захворювання не з'являється, їх вважають здоровими.

ВІРУСОЛОГІЧНА ДІАГНОСТИКА

Для прижиттєвої ідентифікації вірусу беруть слину людини і тварини. Після обробки антибіотиками інрацеребрально заражають слиною мишів. Через 2-4 доби в їх мозковій тканині виявляють цитоплазматичні включення Бабеша-Негрі. Недавно вірус сказу виявляють в мазках-відбитках з слинних залоз хворих за допомогою РІФ.

Діагностика ставиться також на основі типової клінічної картини захворювання. Після смерті в уражених клітинах мозку, в клітинах слинних залоз, знаходять тільця Бабеша-Негрі. Готують декілька препаратів за Муромцевим – цитоплазма нервових клітин голубого кольору, а тільця Бабеша-Негрі – фіолетового з рожевим відтінком і вираженою темно-фіолетовою зернистістю. Проводять мазки-відбитки з нефіксованої мозкової тканини і гістологічні зрізи.

В клітинах мозку хворих сказом тварин тільця Бабеша-Негрі виявляють частіше, ніж в зрізах, зроблених з слинних залоз.

Специфічний антиген можна виявити також методом флюоресцентних антитіл в клітинах мазків-відбитків з рогівки ока.

Виготовлення зрізів і мазків для вірусоскопії. Виймають мозок і кладуть основою вверх, видаляють мозочок і оголюють з внутрішньої сторони завитку, під якою розташований гіпокамп. Проби відбирають з гіпокампа і мозочка одночасно для гістологічних зрізів, мазків-відбитків, звичайних мазків і біологічного експерименту.

Гістологічні зрізи готують з кусочків мозку товщиною 3-4 мм. Мазки-відбитки готують на знежирених предметних скельцях, які злегка притискають до зрізаного мозку. Тканину для мазка беруть в різних ділянках гіпокампа, розтирають в ступці до утворення гомогенної маси і наносять її товстим шаром.

Гістологічні препарати зафарбовують за Туревичем і Муромцевим, відбитки і мазки – частіше за Муромцевим і один-два з них обробляють міченими антирабічними антитілами.

Внутрішньоклітинні включення Бабеша-Негрі виявляють в гангліозних клітинах у вигляді витягнутих поодиноких або декількох утворень з щільним центром і зернистою периферією, розміром від 0,25 до 25 мкм, які зафарбовуються за Туревичем у вишнево-червоний, а за Муромцевим – в блідо-фіолетовий колір.

В мазках-відбитках вірус сказу і скупчення його антигенів виявляються у вигляді яскравих зелених (РІФ) чи блідо-фіолетових (фарбування за Муромцевим) гранул різної форми і величини – від ледь помітних до 15-20 мкм в діаметрі.

Біологічна проба. Відсутність в препаратах внутрішньоклітинних включень Бабеша-Негрі не виключає захворювання сказом. Щоб встановити

кінцевий діагноз, вірус можна виділити шляхом біопроби на лабораторних тваринках. Чутливі до вірусу сказу кролики і білі миші. Досліджувану суспензію мозку (0,2-0,3 $см^3$) вводять кроликам під тверду оболонку мозку у велику цистерну, дорослим мишам – по 0,03 $см^3$ інтрацеребрально. Інкубаційний період у кроликів становить від 12 до 15 діб, в мишів – від 8 до 14. Гинуть вони від паралічу.

Для виявлення антирабічних антитіл під час хвороби застосовують РЗК, РПГ, ІФА, РІА. Але найбільш зручна реакція нейтралізації на мишах.

Зберігання, пересилання нефіксованого матеріалу і роботу з ним здійснюють за правилами, передбаченими для роботи з особливо небезпечним інфекційним матеріалом.

СПЕЦИФІЧНА ПРОФІЛАКТИКА

Вводять антирабічну вакцину. Вакцину готують з 5-10% завісини мозкової тканини кролика, зараженого фіксованим вірусом. Існують різні типи вакцин, які розрізняють між собою кількістю і якістю консервантів. Вакцина Ферми містить 1% фенолу, вакцина Семпля – 0,25% фенолу, вакцина Філліпса – гліцерин.

В останні роки запропонована жива антирабічна вакцина з вірусу, який і культивують на ембріонах птахів (вакцина Флорі) або в культурі клітин нирки сірійських хом'яків. Як вважають, дія вакцин заснована на тому, що вірус вакцини займає місце в клітині і перешкоджає розмноженню вуличного вірусу. Це явище отримало назву інтерференції вірусів. Вакцинації підлягають всі люди, які вкушені чи ослинені хворими або підозрілими на сказ тваринами.

Зараз готують також живу антирабічну вакцину з вірусу, вирощеного на диплоїдних клітинах людини. Її розглядають як лікувально-профілактичний препарат, оскільки специфічні захисні реакції розвиваються впродовж інкубаційного періоду. Протипоказів до застосування вакцини немає, бо це єдиний спосіб порятунку заражених.

Щеплення проводять багаторазово впродовж 12-30 діб і більше залежно від важкості укусу, його локалізації. Вакцину вводять підшкірно в живіт. Щеплення необхідно починати як можна раніше після укусу і проводити згідно існуючої інструкції.

При множинних укусах – особливо голови і шиї, коли інкубаційний період може бути коротким, паралельно з вакциною вводять специфічний імуноглобулін, виготовлений з сироватки крові гіперімунізованих коней.

Ефективні методи **лікування** сказу відсутні.

Питання для самоконтролю

1. Який патологічний матеріал відбирають для мікробіологічного дослідження при вірусних інфекціях ?
2. Якими методами відбирають назофарингеальні зразки ?
3. Яке середовище використовують для транспортування вірусовмісного матеріалу ?

4. Яким вимогам має відповідати упаковка вірусовмісного матеріалу ?
5. У яких умовах транспортують і зберігають вірусовмісний матеріал?
6. Які методи серологічної діагностики вам відомі ?
7. Які методи вірусологічної діагностики респіраторних вірусних інфекцій вам відомі ?
8. Які препарати використовують для специфічної профілактики і лікування вірусних інфекцій ?

Тестові завдання

1. Які білки вірусу грипу входять до складу вакцинного препарату ?
A. Нейрамінідаза
B. Нейрамінідаза та F-білок
C. Гемаглютинін
D. Гемаглютинін та нейрамінідаза
E. Гемаглютинін, нейрамінідаза F-білок

2. Який білок насамперед сприяє прикріпленню вірусу грипу до чутливих епітеліальних клітин верхніх дихальних шляхів ?
A. Нейрамінідаза
B. Гемаглютинін
C. Матриксний білок
D. Нуклеопротеїд
E. Білок злиття та нейрамінідаза вірусу грипу B та C

3. Вакцина проти грипу містить наступні компоненти:
A. Гемаглютинін та нейрамінідаза вірусу грипу A та B
B. Гемаглютинін та нейрамінідаза вірусу грипу A, B і C
C. Нуклеопротеїд та нейрамінідаза вірусу грипу A, B і C
D. Гемаглютинін та нейрамінідаза тільки вірусу грипу B
E. Гемаглютинін

4. За внутрішнім нуклеопротеїдним антигеном ортоміксовірусів визначають:
A. Тип вірусу
B. Підтип
C. Гемаглютиніни
D. Нейрамінідази
E. РНК-полімерази

5. Для специфічної профілактики грипу використовують:
A. Анатоксин
B. Живі або вбиті вакцини
C. Асоційовані вакцини
D. Протигрипозні сироватки

E. Інтерферон

6. Якою реакцією краще встановити штамову належність вірусу грипу ?
A. Реакцію гальмування гемаглютинації
B. Реакцією нейтралізації в курячих ембріонах
C. Реакцією зв'язування комплементу
D. Реакцією імунофлюоресценції
E. Реакцією гальмування гемадсорбції

7. Віруси грипу добре культивуються на 10-11 денних курячих ембріонах. Куди краще заражати їх ?
A. На хоріоналантоїсну оболонку
B. В амніотичну порожнину
C. У жовтковий мішок
D. У тіло ембріона
E. В алантоїсну порожнину

8. Мисливець звернувся по медичну допомогу з приводу укусів рук пораненою лисицею. Яку основну допомогу слід надати йому з метою специфічної профілактики сказу ?
A. Промивання рани мильним розчином
B. Хірургічне оброблення рани
C. Введення антибіотиків
D. Введення антирабічної вакцини
E. Оброблення рани спиртовим розчином йоду

9. У родині старша сестра хворіє на кір. Молодшій дитині віком 1 рік 7 місяців, яка на кір не хворіла, підійшов час проведення планового щеплення вакциною АКДП. Як в даній ситуації повинен поступити педіатр ?
A. Ввести дитині вакцину проти кору
B. Провести щеплення АКДП на фоні призначення антибіотика широкого спектру дії
C. Ввести дитині вакцину АКДП і одночасно вакцину проти кору
D. Планове щеплення АКДП відстрочити, дитині ввести протикоровий імуноглобулін
E. Провести щеплення АКДП на фоні призначення антибіотика вузького спектру дії

РОДИНА ПІКОРНАВІРУСІВ (Picornaviridae)

Родина пікорнавірусіви (від латинського "pico" – маленький, "rna" – РНК- вмісний) – дуже маленькі віруси, просто організовані. Вони відносяться до чотирьох родів – Enterovirus, Rinovirus, Cardiovirus, Aphrovirus.

Пікорнавіруси розміром 20-30 нм, мають загальні ознаки – дрібні, містять додатній РНК-вмісний геном, який функціонує, як іРНК, що має

інфекційні властивості, та подібні механізми репродукції. Мають кубічний тин симетрії капсиду з 60 капсомерами, зовнішньої оболонки не мають, стійкі до ефіру.

В основі диференціації родів лежать антигенні відмінності, неоднакова чутливість до низьких значень pH, різна патогенність для людини і деякі інші ознаки.

У групу пікорнавірусів входять: ентеровіруси або кишкові віруси, зараження якими проходить через травний канал. Викликають у людей нейроінфекції і захворювання різних органів і тканин. Це віруси поліомієліту, Коксаки групи А і В, ЕСНО, ентеровіруси серотипів 68-72 і вірус гепатиту А. Кардіовіруси і афтовіруси патогенні для тварин. До афтовірусів відноситься вірус яшура.

ВІРУСИ ПОЛІОМІЄЛІТУ

Поліомієліт – захворювання, відоме з давніх-давен. Вірусна етіологія його була доведена в 1908-1909 році К.Ландштейнером і Е.Поппером, які викликали в мавп типове захворювання з в'ялими паралічами, заразивши їх емульсією з спинного мозку хворої дитини, яка померла від поліомієліту. В

1949 р. Ендерс одержав фільтруючий вірус (синонім поліовірус) в культурі тканин.

МОРФОЛОГІЯ, УЛЬТРАСТРУКТРА

Вірус поліомієліту, розміром до 30 нм, утворює внутрішньоядерні включення в уражених клітинах. Капсид віріона має форму ікосаедра і складається з 60 субодиниць. Складається з односпіральної РНК і білкового капсиду. Одержаний в кристалічному вигляді.

КУЛЬТИВУВАННЯ, РЕПРОДУКЦІЯ

Культивувати вірус поліомієліту можна у вирощений культурі тканин з нирок мавп або ембріону людини, на перещеплених культурах клітин *Hela*. Присутність вірусу встановлюють за цитопатогенною дією на клітини (дегенерація клітин). В курячих ембріонах вірус не розвивається.

Адсорбція поліовірусів проходить переважно на ліпопротеїнових рецепторах клітини, в яку вони проникають шляхом віропексиса, – вірус захоплюється клітинною мембраною, яка вп'ячується всередину, утворюючи мікровакуоль. Після звільнення віріона від капсиду утворюється реплікативна форма РНК, яка є матрицею для синтезу *і*РНК і фонду віріонних РНК. Репродукція поліовіруса проходить в цитоплазмі чутливих клітин.

Спочатку синтезується єдиний гігантський поліпептид, який розрізається протеолітичними ферментами на декілька фрагментів. Одні з них являють собою капсомери, з яких будується капсид, інші – внутрішні білки, треті – віріонні ферменти (РНК-транскриптаза і протеаза). Пізніше проходить формування декілька сотень віріонів в кожній інфікованій клітині, які звільняються після її лізису.

АНТИГЕННА СТРУКТУРА

Існує 3 серовари вірусу поліомієліту (I, II, III), які відрізняються між собою антигенними властивостями і патогенністю для тварин. Всі три серотипи мають загальний комплементзв'язуючий антиген. Їх диференціація проводиться в реакції нейтралізації.

Частіше зустрічається вірус I типу – 85%. Він виділений майже при всіх великих епідеміях поліомієліту. Вірус II типу виявляється в 12% випадків. Його виділяють при всіх епідеміях. Вірус III типу викликає окремі захворювання.

РЕЗИСТЕНТНІСТЬ

Вірус поліомієліту стійкий: впродовж декількох років може зберігатися в 50% гліцерині при низьких температурах (-20-70˚ С). В грунтових водах, куди він потрапляє з фекаліями, зберігається впродовж декількох місяців. Кип'ятіння впродовж 100˚С вбиває вірус відразу ж. Нагрівання при температурі 50^{o} С інактивує вірус через 30 хв. у воді, а при 55^{o} С в молоці, сметані, маслі і морозиві. При кімнатній температурі вірус може зберігатись до 3 міс. У випорожненнях на холоді зберігається до 6 міс. В молоці – до 3 міс.

Збереження вірусів в грунті, відкритих водоймах має епідеміологічне значення. Вони стійкі до дії шлункового соку і до 1% фенолу. Чутливі до формаліну, хлораміну, перекису водню, пермангату калію. Вірус стійкий до детергентів, але високочутливий до ультрафіолетових променів і висушування, а також, хлорвмісних дезинфектантів (хлорне вапно, хлорамін).

СПРИЙНЯТЛИВІСТЬ ТВАРИН

До вірусу поліомієліту I, II, III типу чутливі мавпи (шимпанзе, макаки). До вірусу II типу чутливі гризуни (бавовникові щурі, хом'яки, миші). Експериментальне зараження викликає в них захворювання, яке супроводжується паралічами.

ПАТОГЕНЕЗ

Поліомієліт – гостре інфекційне захворювання переважно дітей, в перші дні проявляється лихоманкою і загальними хворобливими явищами, яке частіше всього закінчується паралічами і парезами проксимальних відділів нижніх кінцівок, які наступають після руйнування рухових нейронів передніх рогів спинного мозку поліовірусом типу 1, 2, 3. При паралітичній формі, яка перебігає класично, клінічно поставлений діагноз не вимагає лабораторного підтвердження.

Поліомієліт – антропозна інфекція з фекально-оральним шляхом передавання, але можливий і краплинний шлях зараження. Сприйнятливість до поліомієліту невисока, і значна частина населення набуває імунітет в результаті безсимптомної інфекції. Хворіють найчастіше діти раннього віку.

Джерелом інфекції є хворі і вірусоносії. Вхідними воротами є слизова оболонка верхніх дихальних шляхів і травний канал. Проникнувши в організм людини на слизову оболонку носоглотки, вірус проникає в лімфатичні вузли ковтального кільця, та через епітеліальні клітини слизової оболонки рота проникає також в клітини тонкого кишківника (пейєрові бляшки), де проходить його первинна репродукція. З лімфатичної системи вірус проникає в кров, викликає вірусемію. Стадія вірусемії триває від декількох годин до декілька

днів. Нагромаджуються віруснейтралізуючі антитіла, які блокують проникнення вірусу в ЦНС. В тому випадку, коли вірус всеж таки проникає в ЦНС (очевидно через аксони периферичних нервів), він локалізується в рухових нейронах передніх рогів спинного мозку і в сірій речовині підкірки, в нейронах великого і довгастого мозку, де викликає запально-дегенеративний процес. В цитоплазмі уражених нейронів виявляються кристалоподібні скупчення віріонів. В результаті виникають в'ялі паралічі, частіше нижніх кінцівок.

Інкубаційний період при поліомієліті становить від 5 до 35 діб. Вірус виділяється з глотки і з фекаліями вже в інкубаційному періоді. Початок зненацький – з невеликим підвищенням температури, блювоти, біль голови, м'язеві болі.

Клінічно поліомієліт перебігає в трьох формах: абортивній, легкій формі, непаралітичній (менінгіальна форма з ураженням оболонок мозку за типом серозного менінгіту) і паралітичній, після цього йде відновна і резидуальна стадія. Вірус поліомієліту виділяється з випорожненнями і слизом з носоглотки. В 1 г фекалій міститься до 1 млн. інфекційних доз. Тому основне значення має фекально-оральний механізм передачі інфекції через забруднені фекаліями воду і харчові продукти. Певна роль належить мухам. В епідемічних вогнищах може проходити інфікування людей повітряно-крапельним шляхом.

ІМУНІТЕТ

Імунітет після перенесеного захворювання стійкий і залишається на все життя. Утворюються віруснейтралізуючі антитіла до гомологічних типів вірусу.

ВІРУСОЛОГІЧНА ДІАГНОСТИКА

Вірусологічне дослідження і серодіагностика проводяться при стертих, нетипових формах поліомієліту, а також за епідпоказами для з'ування джерел і шляху передавання інфекції.

Матеріалом для дослідження служить випорожнення, взяті в 1-ий і 2-ий тиждень захворювання та у вірусоносіїв; носоглотковий слиз – взятий в перші дні захворювання; кусочки головного і спинного мозку, вміст тонкого і товстого кишківника, лімфовузли (секційний матеріал).

Виділення вірусів проводять шляхом зараження досліджуваним матеріалом двох видів культур – первинних і перещеплюваних клітин.

Випорожнення заливають п'ятикратним об'ємом розчину хлориду натрію (20% суспензія). Флакони загортають в серветку, змочену 3% розчином хлораміну або 5% лізолу, і добре струшують до одержання гомогенної завісини. Отриману суспензію центрифугують при 3000 об/хв 30 хв. Надосадову рідину відсмоктують пастерівськими піпетками за допомогою гумового балончика і додають антибіотики по 1000 ОД пеніциліну і 500 ОД стрептоміцину на 1 $см^3$. Залишають при кімнатній температурі на 1-2 год. Відсівають завісину для перевірки на стерильність, розивають в ампули або маленькі пробірки з гумовими корками і зберігають в замороженому стані до зараження при –20° С.

Носоглотковий слиз беруть тампоном, після чого його обломлюють і поміщають в пеніциліновий флакон, куди додають 10 $см^3$ 0,85% розчину

хлориду натрію або розчину Хенкса, яким хворий прополіскував горло. Тампон відтискають, рідину центрифугують і далі досліджують так само як випорожнення.

Секційний матеріал окремо гомогенізують в ступці з стерильним кварцевим піском або потовченим склом і готують 10% суспензію на ізотонічному розчині натрію хлориду. Перед зараженням клітинні культури промивають від середовища росту, вносять матеріал на 30-40 хв для адсорбції, знову промивають і вносять середовище підтримування (без сироватки).

Зараження культур тканин. Культивується поліовірус в клітинах людського ембріона, амніотичній оболонці плаценти і нирковій тканині макак-резус або макак-циномольгус. Застосовуються також перещеплювані клітини *Hela, Hep-2* та інші.

Заражають досліджуваним матеріалом по 0,2-0,5 $см^3$ кожну з даних культур в 3-5 пробірках. Вірус, що репродукувався, має цитопатогенну дію і впродовж 12 діб здатний викликати дегенерацію клітин, яка легко визначається при малому збільшенні мікроскопа (руйнується моношар, клітини округлюються, pH середовища не змінюється).

Ступінь дегенерації клітин тканини позначається плюсами:

“±” або “+” – незначна кількість дегенерованих клітин; “++” – половина; “+++” – три четвертини; “++++” – повне руйнування клітинного шару.

При відсутності дегенерації клітин впродовж 7-10 діб після зараження проводять наступний пасаж. Для другого посіву використовують культуральну рідину, взяту з першого пасажу, і заражають нову культуру клітин. При відсутності дегенерації клітин у другому пасажі результат вважають негативним.

Культуральну рідину зберігають в замороженому вигляді, її застосовують для титрування і типування вірусів. Титрування вірусу за методом бляшок проводять в одношарових культурах, які вирощені у флаконах. Для одержання бляшок у два флакони вводять по 0,1 $см^3$ два-три розведення вірусвмісної рідини, залишають на 1 год при кімнатній температурі, а пізніше заливають агаровою сумішшю з нейтральним червоним. Після її застигання посіви інкубують при температурі 37° С. Бляшки підраховують на 2-5 добу. Клітини, що загинули під дією поліовіруса, мають вигляд світлих плямок на фоні рожево-червоного моношару.

Поліовірус ідентифікують при позитивному результаті за реакцією нейтралізації в культурі тканини з комерційними сироватками проти вірусу поліомієліту трьох типів (типоспецифічними сироватками).

Серологічна діагностика - метод ретроспективної діагностики.

Для підтвердження діагнозу поліомієліту ставлять реакцію нейтралізації з парними сироватками хворого. Одну сироватку беруть на початку захворювання, другу – через місяць після початку захворювання і обидві досліджують в реакції нейтралізації. Для цього сироватки прогрівають впродовж 30 хв. При 56˚С і розводять розчином Хенкса. Розведення роблять від 1:4 до 1:1024. Кожне розведення змішують з стандартною дозою вірусу I, II, III типу. Після годинного контакту при кімнатній температурі кожною сумішшю

заражають по 2 пробірки з завісиною культури клітин і поміщають в термостат на 4-9 діб. Про результати реакції говорять за зміною кольору середовища (від малинового до жовтого). Зміна кольору свідчить про наявність антитіл, і це відбувається тому, що клітини залишаються життєздатними, утворюють продукти обміну, змінюють реакцію pH і відповідно колір середовища. Життєздатність клітин забезпечує нейтралізація вірусу відповідною сироваткою.

Позитивною вважають реакцію тільки при чотирьохкратному збільшені титру віруснейтралізуючих антитіл, тобто, якщо титр першої сироватки був 1:8, а титр другої через 1-2 міс не менше ніж 1:32.

ПРОФІЛАКТИКА

Хворих ізолюють. Виписка реконвалесцентів проводиться після зникнення гострих явищ, але не раніше 40-го дня від початку захворювання.

СПЕЦИФІЧНА ПРОФІЛАКТИКА

Специфічна профілактика здійснюється активною імунізацією. Перша вакцина була запропонована Дж.Солком в 50-х роках XX століття (США). Ця вакцина складалася з інактактованих формаліном поліовірусів I, II, III типу. Але вона не викликала стійкого імунітету і викликала болі при трьохкратному внутрішньом'язевому введенні.

Друга вакцина запропонована А.Себіном. Складалася з живих ослаблених штамів-мутантів трьох типів поліомієліту. Ці штами були лишені інфекційних властивостей, але зберігали імуногенність.

В 60-х роках М.П.Чумаков і А.А.Смородінцев, використав ослаблений штам, що отримав А.Себін, і розробив метод виготовлення живої поліовірусної вакцини у вигляді цукорків-драже або крапельок, що значно полегшило її застосування. Масова вакцинація дітей привела до повної ліквідації поліомієліту в країні, за що автори отримали Ленінську премію.

Механізм дії вакцини складається в інтерференції вірусів, тобто вакцинний штам вірусу, заселяючи клітини кишківника, блокує репродукцію дикого штаму, а також в утворенні віруснейтралізуючих антитіл.

Для пасивної профілактики в передпаралітичній стадії застосовують людський імуноглобулін по 0,3-0,5 $см^3$/кг.

ВІРУСИ КОКСАКИ

Віруси Коксаки виділені в 1948 році Г.Сіклсом і Г.Долдорфом з кишківника дітей з поліомієлітоподібними захворюваннями в місті Коксакі (США) шляхом інфікування мишей-смоктунців. Віруси Коксаки відносяться до групи кишкових вірусів.

МОРФОЛОГІЯ

Розміри від 15 до 30 мкм.

АНТИГЕННА СТРУКТУРА

Серед вірусів розрізняють до 30 сероварів, які об'єднують в дві групи: А (24 серовари) і В (6 сероварів). Віруси груп А і В мають загальний

комплементзв'язуючий антиген і розрізняються за типоспецифічним антигеном в реації нейтралізації. Деякі штами вірусів Коксаки мають гемаглютинуючі властивості по відношенню до еритроцитів людини групи О, внаслідок чого вони можуть бути ідентифіковані в РГГА.

РЕЗИСТЕНТНІСТЬ

Малостійкі до нагрівання, але добре зберігаються в замороженому стані і в гліцерині.

ПАТОГЕННІСТЬ

Ці віруси патогенні для білих мишей-смоктунців (дводенного віку) і при внутрішньом'язевому введені дають омертвіння м'язів – в'ялі паралічі (віруси групи А), а також ураження внутрішніх органів і центральної нервової системи – спастичні паралічі, енцефаломіеліт (віруси групи В). Для виявлення вірусів Коксаки заражають новонароджених мишей або хом'яків.

ПАТОГЕНЕЗ

Для вірусів Коксаки характерний поліорганний тропізм, характеризуються високою міотропністю. В людей вони викликають різні клінічні симптоми, які супроводжуються лихоманкою і менінгіальними явищами. Інкубаційний період від 2 до 9 діб, захворювання від 3 до 5 діб.

Віруси Коксаки А були виділені при діареї в дітей, герпангіні – гостра лихоманка з головними болями, з міхурцевим висипом на слизових оболонках зіву і ротової порожнини; міхурцями порожнини рота і кінцівок, асептичним серозним менінгітом – гостра лихоманка з менінгіальними явищами та іншими захворюваннями.

Віруси Коксаки В характеризуються більш високою нейротропністю. Виділяються при асептичном серозному менінгіті, міокардиті і енцефаломіокардиті новонароджених (і дітей до 3 років), перебігає важко, дає високу летальність.

Віруси обох груп можуть викликати поліміелітоподібні захворювання, епідемічну міальгію, перебігає з високою температурою і колючими болями у верхній половині живота і нижній частині грудей.

В гострій стадії захворювання віруси Коксаки виділяють з фекалій (беруть в 1 і 2 тиждень захворювання), з глоткових змивів (перші 3 дні захворювання), спинномозкової рідини, крові.

ІМУНІТЕТ

Після захворювання залишається напружений типоспецифічний імунітет. В сироватці крові нагромаджуються віруснейтралізуючі антитіла (зберігаються довго) і коплементзв'язучі антитіла (щезають швидко).

ВІРУСИ ЕСНО

Віруси Есно були описані Ендерсом в 1951 р. Свою назву вони отримали від перших букв англійського виразу "*Enteric cytopatogenic human orphans*", що значить "кишкові цитопатогенні віруси-сироти людини", оскільки їх роль в

патології людини була невідома. Віруси ЕСНО при рості на тканинах дають цитопатогенний ефект, але непатогенні для новонароджених мишей.

КУЛЬТИВУВАННЯ

Віруси ЕСНО культивуються на фібробластах людського ембріону, клітинах нирок мавп.

АНТИГЕННА СТРУКТУРА

Неоднорідні в антигенному відношенні і включають до 34 сероварів, мають загальний комплемнтзв'язуючий антиген. Вони диференціюються в реакції нейтралізації.

ПАТОГЕНЕЗ

Віруси ЕСНО є збудниками асептичних менінгітів, інколи енцефалітів, лихоманкових захворювань з висипом і без висипу, респіраторних захворювань. Вони широко циркулюють серед населення. Описані спалахи внутрішньолікарняного ЕСНО-вірусного енцефаліту в палатах для новонароджених дітей з летальним кінцем. Деякі штами викликають запальні процеси в поперечно-смугастих м'язах, які проявляються у вигляді епідемічної міалгії, міокардиту. Інколи гастроентерити, гострі респіраторні захворювання в дітей, ураження паренхіматозних органів та судин оболонки ока (увеіт). Механізм передачі фекально-оральний, повітряно-краплинний.

ІМУНІТЕТ

Після перенесеного захворювання виникає стійкий гуморальний типоспецифічний імунітет.

СПЕЦИФІЧНА ПРОФІЛАКТИКА

Специфічна профілактика не розроблена.

ЛАБОРАТОРНА ДІАГНОСТИКА ЕНТЕРОВІРУСНИХ ІНФЕКЦІЙ

В гострій стадії захворювання віруси ЕСНО виділяють з фекалій (беруть в 1 і 2 тиждень захворювання), з глоткових змивів (перші 3 дні захворювання), спинномозкової рідини, крові.

Виділення вірусів проводять одночасно в первинній культурі клітин нирок мавп і перещеплюваних клітинах амніону людини. Всі типи вірусів ЕСНО викликають цитопатогенні зміни, в цей час як віруси КОКСАКІ А важко виділяються в культурах клітин, а ЦПД в культурі клітин нирок мавп викликає лише вірус А9. Типування вірусів проводять в РН в культурі клітин. Типування вірусів, які мають гемаглютинуючу активність, проводять в РГГА з еритроцитами людини групи О. Використовують також непрямий метод ІФ.

Для виділення ентеровірусів та їх ідентифікації заражають мишей-смоктунців і культури тканин. Кожною пробою рекомендується заражати три групи тварин по 8 мишей 1-2 денного віку (першу групу – в мозок, другу – внутрішньом'язево, третю – внутрішньочеревинно). Відомо, що віруси Коксаки підгрупи В легше виділяються при внутрішньомозковому зараженні, а підгрупи А – при внутрішньом'язевому або внутрішньочеревинному. В мозок вводять не більше 0,02 $см^3$ завісини на глибину 2-3 мм в лобну ділянку; внутрішньом'язево і в черевну порожнину 0,3-0,5 $см^3$. Спостерігають за тваринами до 14 діб. При позитивному результаті миші хворіють на 4-7 добу після зараження.

Віруси Коксаки А викликають в'ялі паралічі з дегенеративно-запальними змінами в поперечносмугастих м'язах, окрім віруса типу 9, вони важко адаптуються до культур тканин.

Для хвороб, які викликають віруси Коксаки В, характерні спастичні паралічі, тремтіння, корчі. При гістологічних дослідженнях спостерігається ураження головного мозку і вогнищевий міозит. Віруси Коксаки В легко виділяються з культур тканин. Серотипи 1 і 5 непатогенні для новонароджених мишей.

Мишей, що захворіли, вбивають; шкіру і кишківник відкидають, а тулуб розтирають і готують 10 % суспензію в розчині Хенкса. Завісину центрифугують, надосадову рідину зливають, осад обробляють антибіотиками. При від'ємному результаті посіву на вміст мікроорганізмів, вірусовмісну рідину зберігають в холодильнику для дальнішої роботи.

Культуру тканин (клітини нирок ембріона людини, *Нер-2* і ін.) інфікують тим самим матеріалом і спостерігають впродовж 7-10 діб. Середовище з пробірок з дегенерованою тканиною відсмоктують і нею заражають свіжу культуру тканин. Додатній результат в другому пасажі підтверджує розмноження віруса в культурі тканин.

На основі досліджень роблять попередній висновок:

- Якщо миші хворіють, а в культурі тканин відсутня цитопатогенна дія, то це мабуть віруси Коксаки А;
- Якщо миші хворіють, тканина дегенерована, допускають вміст вірусів Коксаки В;
- Додатній результат в культурі тканин і від'ємний в дослідах на мишах частіше дають віруси ЕСНО.

Для визначення типу виділеного віруса ставлять реакцію нейтралізації спочатку з сумішшю сироваток, при додатньому результаті – з окремими сироватками.

Гемаглютинуючі варіанти вірусів ЕСНО і Коксаки можна ідентифікувати за допомогою РГГА, яка, подібно реакції віруснейтралізації, характеризується типоспецифічністю.

Виділення ентеровірусів з фекальних мас не є основою для поставки діагнозу, оскільки є безсимптомні вірусоносії. Тому проводиться серодіагностика. Серологічне дослідження спрямоване на визначення антитіл в парних сироватках хворих за допомогою РЗК, РГГА і реакції нейтралізації в культурі тканин і на мишах-смоктунцях з використанням еталонних препаратів ентеровірусів. Кров у хворих беруть в перші дні і через 2-3 тижні від початку хвороби.

ПРОФІЛАКТИКА

Профілактика зводиться до ранньої госпіталізації хворих і проведення всіх заходів, рекомендованих при кишкових інфекціях.

Специфічної профілактики не розроблено.

РОДИНА ФЛАВІВІРУСІВ (Flaviviridae)

Раніше флавівіруси були включені в родину тогавірусів, оскільки вони подібні з ними. В родину флавівірусів входить більше 50 арбовірусів (антигенна група В). Назва арбовірусів зв'язана з перенесенням їх членистоногими – "народжені членистоногі" (*arthropod* – членистоногі, *borne* – народжені). Типовим представником є вірус жовтої лихоманки, звідси назва родини (лат. *flavus* – жовтий) До даної родини віднесено вірус гепатиту С.

Флавівіруси включають 4 підгрупи антигенно-родинних вірусів (кліщового енцефаліту, японського енцефаліту, денге і жовтої лихоманки).

МОРФОЛОГІЯ, УЛЬТРАСТРУКТУРА

Форма віріону флавівірусів сферична, розмір від 25 до 120-180 нм. Складаються з односпіральної плюс-РНК, білка, ліпідів, мають зовнішню оболонку.

КУЛЬТИВУВАННЯ, РЕПРОДУКЦІЯ

Розмножуються в курячих ембріонах і культурах різних клітин, організмі тварин, птахів і членистоногих. Утворюють гігантські багатоядерні клітини по типу симпластів. Цикл репродукції більше 20 годин.

Після адсорбції на фосфоліпідних або гліколіпідних рецепторах віріони проникають шляхом рецепторного ендоцитозу у внутрішньоклітинну вакуоль і звільняються від свої оболонок. Після синтезу вірусних білків і реплікації РНК починається формування зрілих віріонів. Вихід віріонів проходить шляхом брунькування через модифіковані мембрани ендоплазматичного ретикулуму клітини. Віріони нагромаджуються у везикулах, в складі яких транспортуються до зовнішньої клітинної мембрани, і виходять з клітини шляхом вип'ячування (екзоцитозу). Клітини при цьому залишаються життєздатними. Флавівіруси мають слабу цитопатогенну активність.

АНТИГЕННА СТРУКТУРА

До складу нуклеокапсиду входить один білок з групоспецифічними антигенними властивостями. На зовнішній оболонці є шипоподібні відростки, які містять глікопротеїн, що має гемалютинуючі властивості. Зовнішні білки мають типову специфічність.

ПАТОГЕНЕЗ

Первинна репродукція віруса проходить в макрофагах і гістіоцитах, далі – в регіональних лімфатичних вузлах. Пізніше віруси попадають в кров, заносяться у внутрішні органи, нервові клітини головного мозку, де проходить їх репродукція. Викликають в людей важкі захворювання, що перебігають у формі менінгоенцефаліту або лихоманки з геморагічним висипом або без нього.

ІМУНІТЕТ

Після захворювання формується гуморальний, типоспецифічний, напружений імунітет. При цьому розвивається алергія сповільненого типу. Інколи утворюються імунні комплекси.

ЛАБОРАТОРНА ДІАГНОСТИКА

Вірус виділяють з крові, спинномозкової рідини в ранні терміни хвороби шляхом зараження новонароджених мишей, курячих ембріонів і культур

клітин. Для ідентифікації виділеного віруса використовують реакції нейтралізації, РГГА, РЗК.

При серодіагностиці орієнтуються на збільшення антитіл в парних сироватках або на присутність вірусспецифічних IgM – показників недавно перенесеної інфекції. Серодіагностика проводиться в реакції нейтралізації, РЗК, РГГА, а також за допомогою ІФА і РІА.

ВІРУС КЛІЩОВОГО ЕНЦЕФАЛІТУ

Вірус весняно-літнього або кліщового енцефаліту вперше було виявлено і вивчено в СРСР на Далекому Сході групою радянських вчених: А.А.Зільбером, А.А.Смородінцевим, В.Д.Соловйовим, М.П.Чумаковим. Ними ж в 1937 році був відкритий збудник захворювання. Епідеміологія і питання природного вогнища вивчені Е.Н.Павловським з співробітниками. Далі захворювання було описано на Україні, в Поволжі, Сибірі, в Білорусії, Казахстані.

МОРФОЛОГІЯ

Збудник – вірус розміром 25-45 нм, утворює включення в ядрах клітин амонового рогу.

КУЛЬТИВУВАННЯ

Культивується в одношарових культурах тканин, в оболонках курячого ембріону і зараженням (підшкірно, через ніс і в мозок) білих мишей і мавп.

РЕЗИСТЕНТНІСТЬ

Зберігається в 50% гліцерині до 70 діб, гине при 60-70^{o} С через 10-15 хв, в 1% лізолі – через 30 хв, 3% лізолі – через 2 хв.

ПАТОГЕНЕЗ

Кліщовий енцефаліт – гостре інфекційне захворювання з ураження центральної нервової системи, яке закінчується розвитком атрофічних парезів і паралічів плечового пояса і шиї. Збудником є *Flavivirus.*

Вірус уражує рухові нейрони передніх рогів шийного сегменту спинного мозку, мозочка, м’яку оболонку головного мозку. До проникнення в мозок вірус репродукується в лімфоцитах, в клітинах печінки, селезінки, ендотелії судин (екстраневральне розмноження).

В зв’язку з тим, що енцефаліт спостерігали в певний період травня-липня місяця в людей, що жили в тайзі чи працювали, це навело на думку, що умови перебування в тайзі впродовж певного сезону – основна причина виникнення даного захворювання. Працями експедицій встановлено, що переносником вірусу в тайзі служать пасовищні кліщі (*Ixodes persulcatus*), які заражаються в тайзі від диких гризунів – бурундуків, зайців, білок, а також птахів, паразитуючи на них. Тварини є основним резервуаром вірусу енцефаліту в природі, а кліщі – додатковим резервуаром, оскільки зберігають в своєму тілі вірус довго і передають його вертикально. Нападаючи на людину, кліщі при укусі заражають вірусом енцефаліту. Таким чином створюється природне вогнище енцефаліту (Е.Н.Павловський). Він викликає важку форму захворювання на Далекому Сході.

Оскільки виділено два антигених варіанти віруса, другий – європейський варіант (Центральна Європа), передається кліщами *Ixodes ricinus.* Він викликає інфекцію з більш легким перебігом. Вірус кліщового енцефаліту зберігається в кліщів на всіх стадіях їх розвитку і передається трансоваріально.

На сільськогосподарських домашніх тварин також нападають кліщі. В них виникає безсимптомна інфекція з вірусемією. У корів і кіз вірус проникає в молоко. Одночасно було встановлено, що можна заразитися аліментарним шляхом (через сире козяче молоко від хворих тварин).

Захворювання починається гостро, через 10-15 діб після зараження, піднімається температура до 40^{o} С, менінгіальні явища, корчі, блювота, біль голови, гіперестезії. Стан важкий впродовж 5-12 діб. Пізніше з'являються в'ялі паралічі верхніх кінцівок, плечового поясу, тулуба. Летальність висока – до 25%. Після виздоровлення можуть залишатися стійкі паралічі м'язів шиї і плечового поясу. Інколи перебіг кліщового енцефаліту може бути легким, у вигляді стертих і абортивних форм.

Існує думка, що при хронічній формі енцефаліту вірусний геном зберігається в інтегрованому стані в хромосомах нейронів головного мозку.

ІМУНІТЕТ

Імунітет після перенесеного захворювання довготривалий, напружений гуморальний.

ЛАБОРАТОРНА ДІАГНОСТИКА

Лабораторна діагностика включає вірусологічний і серологічний методи дослідження. Вірусологічна діагностика – це виділення вірусу. Матеріалом для виділення віруса є кров і спинно-мозкова рідина. До вірусу чутливі білі миші, курячі ембріони і культура клітин.

Кров беруть в перший тиждень захворювання (або кусочки мозку осіб, які померли), вводять одній і тій самій білій миші в мозок 0,03 см^3 і внутрішньочеревно 0,25 см^3. Заражають не менше чотирьох напівдозрілих тварин, в яких через 4-5 діб виникає різке збудження, яке змінюється загальмованістю і паралічем задніх кінцівок. За тваринами спостерігають впродовж 7-8 діб. При відсутності симптомів захворювання, двох заражених мишів вбивають і отриманою суспензією мозку заражають ще одну групу. При негативному результаті через 7-8 діб проводять другий пасаж, після якого тварини хворіють і гинуть.

Заражають 8-9 денні курячі ембріони в жовтковий мішок, 10-12 денні – в хоріоналантоїсну порожнину. Вводять 0,25-0,3 см^3 матеріалу, проводять розтин ембріонів після трьох діб інкубування в термостаті при 37° С. Заражають виготовленою завісиною мазку ембріона в хоріоналантоїсній рідині 3-4 білих мишей і декілька курячих ембріонів. Виявляють вірус за допомогою РГА.

Найбільш чутливими культурами клітин вважають фібробласти курячих ембріонів і клітини нирок свиней, в яких вірус викликає цитопатогенний ефект. Через 3-4 доби після зараження культуральну рідину вводять в мозок білих мишей і проводять другий пасаж в культуру клітин. Для ідентифікації виділених штамів застосовують реакцію нейтралізації на мишах із стандартною типовою сироваткою.

З метою **серодіагностики** для виявлення антитіл в сироватці крові вкінці першого тижня хвороби ставлять РЗК. Антигени отримують з мозку заражених мишів або курячих ембріонів. Віруснейтралізуючі антитіла у високих титрах з'являються в сироватці хворих через 2-2,5 місяці. Їх виявляють в РГГА з еритроцитами курей, а також проводять РН на білих мишах і в культурі фібробластів курячих ембріонів.

ПРОФІЛАКТИКА

Проводиться рання діагностика і госпіталізація хворих, попередження від нападу кліщів, знищення їх. Для індивідуальної профілактики при укусі кліща використовують протиенцефалітний імуноглобулін, який вводять в кількості 1,5-3 $см^3$.

СПЕЦИФІЧНА ПРОФІЛАКТИКА

Для специфічної профілактики використовують інактивовану формаліном висушену вакцину, виготовлену з вірусу вирощеного на фібробластах курячих ембріонів. Обов'язковій вакцинації підлягають особи, які працюють в природніх вогнищах.

ЛІКУВАННЯ

Для лікування використовують протиенцефалітний імуноглобулін.

Питання для самоконтролю

1. Який патологічний матеріал відбирають для мікробіологічного дослідження при кишкових вірусних інфекціях ?

2. Яке середовище використовують для транспортування вірусовмісного матеріалу ?

3. Яким вимогам має відповідати упаковка вірусовмісного матеріалу ?
4.У яких умовах транспортують і зберігають вірусовмісний матеріал ?
5. В чому полягає діагностика вірусних кишкових інфекцій ?
6. Які методи серологічної діагностики вам відомі ?
7.Які препарати використовують для специфічної профілактики і лікування кишкових вірусних інфекцій ?

Тестові завдання

1. Скільки серотипів мають віруси ЕСНО ?
A. 26
B. 30
C. 34
D. 38
E. 42

2. Яка структура нуклеїнової кислоти у вірусів Коксакі ?
A. Одноніткова РНК, нефрагментована

B. Одноніткова РНК, фрагментована
C. Одноніткова РНК, циркулярна
D. Двоніткова РНК, лінійна
E. Всі відповіді вірні

3. Джерелом інфекції при Коксаки-вірусних захворюваннях є:
A. Велика рогата худоба
B. Дрібна рогата худоба
C. Собаки
D. Домашні птахи
E. Люди

4. Для щеплення проти поліомієліту використовують живу вакцину з декількох серотипів збудника. Скільки серотипів мають віруси поліомієліту ?
A. 1
B. 1,2
C. 1,2,3
D. 1,2,3,4
E. 1,2,3,4.5

5. За яким принципом оцінюють “кольорову пробу” при встановленні типу вірусу поліомієліту ?
A. За зміною кольору індикатора фенолового червоного з оранжевого на жовтий
B. За зміною кольору індикатора фенолового червоного з жовтого на фіолетовий
C. За зміною кольору індикатора фенолового червоного з жовтого на рожевий
D. За зміною кольору індикатора фенолового червоного з жовтого на фіолетовий
E. За зміною кольору індикатора фенолового червоного з рожевого на жовтий

6. Які вакцини використовують для активної імунізації дітей проти поліомієліту ?
A. Вакцина Ельберта і Гайського
B. Вакцина Солка і Себіна
C. Вакцина Кальмета і Герена
D. Вакцина Селімова
E. Вакцина Ценковського

7. Паралітичні форми поліомієліту зустрічаються з такою частотою серед всіх захворілих:
A. 90-95 %

B. 50-60 %
C. 10-20 %
D. 2-6 %
E. 0,1-1 %

8. Капсид поліовірусу має таку кількість і форму капсомерів:
A. 30 циліндричних
B. 20 гексагональних
C. 60 шароподібних
D. 50 трубчастих
E. 60 паличкоподібних

9. Яка структура нуклеїнової кислоти у вірусів Коксакі ?
A. Одноніткова РНК, нефрагментована
B. Одноніткова РНК, фрагментована
C. Одноніткова РНК, циркулярна
D. Двоніткова РНК, лінійна
E. Всі відповіді вірні

10. Вірус поліомієліту культивують на культурах клітин:
A. Hela
B. Vero
C. Амніону людини
D. Нер–2
E. Всіх перерахованих

11. Вірус поліомієліту належить до родини:
A. Picornaviridae
B. Togaviridae
C. Flaviviridae
D. Bunyaviridae
E. Arenaviridae

ДНК-ГЕНОМНІ ВІРУСИ.
Загальна характеристика.

Патогенні для людини ДНК-геномні віруси входять до складу 6 родин: *Adenoviridae, Parvoviridae, Herpesviridae, Poxviridae, Hepadnaviridae і Papovaviridae*.

В порівнянні з РНК-геномними вірусами вони генетично більш консервативні, тобто меншмінливі, нерідко здатні до тривалої персистенції в

організмі господаря. Більшість ДНК-вмісних вірусів репродукується в ядрах клітин.

РОДИНА ГЕРПЕСВІРУСІВ (Herpesviridae)

До даної родини відноситься три підродини: *Alphaherpesvirinae, Betaherpesvirinae і Gammaherpesvirinae.*

МОРФОЛОГІЯ, УЛЬТРАСТРУКТУРА

Віріони мають сферичну форму з діаметром 140-210 нм. Нуклеокапсид оточений зовнішньою оболонкою. Капсид складається з 162 капсомерів.

Геном віруса представлений лінійною двоспіральною ДНК, яка складається з двох ковалентно зв'язанних між собою фрагментів, різних за величиною і нуклеотидним складом. В геномі віруса герпеса є біля 80 генів.

До складу віріона виявлено біля 300 білків. В інфікованих клітинах є біля 20 вірусспецифічних білків, які не входять до складу вірусних частинок. У зовнішній оболонці містяться глікопротеїни.

АНТИГЕНИ

Глікопротеїни зовнішньої оболонки є типоспецифічними антигенами, які дозволяють диференціювати окремі серотипи вірусів герпесу в реакціях нейтралізації, імунофлюоресценсії, РЗК. Білки нуклеокапсиду несуть групоспецифічні антигенні епітопи, одинакові для окремих вірусів герпеса, патогенних для людини або тварин. Їх виявляють в реакціях преципітації в імунодифузії.

КУЛЬТИВУВАННЯ

Віруси герпеса культивують в культурах клітин різного походження. При цьому ЦПД різних представників родини дуже змінюється. Характерним є утворення гігантських багатоядерних клітин. Деякі серотипи репродукуються в курячих ембріонах.

Віруси герпеса проникають в чутливі клітини шляхом рецепторного ендоцитозу, в процесі якого втрачають зовнішню оболонку. Вивільнений нуклеокапсид трансформується в ядро, де проходить його депротеїнізація. Транскрипція вірусної ДНК проходить за допомогою клітинних транскриптаз, а її реплікація – за допомогою вірусспецифічної ДНК-полімерази.

Структурні білки транспортуються в ядро, де утворюються нуклеокапсиди. Формування віруса закінчується в процесі брунькування через модифіковані ділянки ядерної мембрани, коли нуклеокапсид покривається зовнішньою оболонкою. Синтез вірусів герпесу проходить на фоні різко ослабленого макромолекулярного синтезу компонентів клітини господаря.

В ядрах інфікованих клітин формуються вірусспецифічні еозинофільні включення, які складаються з кристалізуючих капсидів.

АНТИГЕННА СТРУКТУРА

Глікопротеїни зовнішньої оболонки є типоспецифічними антигенами, які дозволяють диференціювати окремі серотипи вірусів герпесу в реакціях нейтралізації, імунофлюоресценсії, РЗК. Білки нуклеокапсиду несуть групоспецифічні антигенні епітопи, одинакові для окремих вірусів герпеса, патогенних для людини або тварин. Їх виявляють в реакціях преципітації в імунодифузії.

ПАТОГЕНЕЗ

Віруси герпеса характеризуються поліорганним тропізмом. Спільним в патогенезі всіх інфекцій, які викликають віруси герпесу, є їх здатність тривало персистувати в організмі, викликаючи хронічні і латентні форми інфекції з періодичними загостреннями. При цьому вірус може зберігатися в клітинах у вигляді провіруса, інтегрованого з геномом клітини. Деякі віруси герпеса передаються трансплацентарно, викликаючи внутрішньочеревну і неонатальну патологію.

Всі представники родини *Herpesviridae* характеризуються вираженою імуносупресивною дією, пригніченням клітинних і гуморальних реакцій імунітету. Доведено формування інфекційних комплексів з уражуючою дією і алергізація організму.

ІМУНІТЕТ

Імунітет до збудника носить клітинний характер, рецидиви захворювання можуть виникати на фоні високих титрів противірусних антитіл в сироватці хворих.

АЛЬФА-ГЕРПЕСВІРУСИ

До даної підродини відносяться два серотипи віруса простого герпеса – ВПГ-1 і ВПГ-2, які мають загальні групові антигени і подібні біологічні ознаки, а також вірус вітряної віспи і вірус оперізуючого лишаю (герпес-зостер).

В патогенезі, клініці та епідеміології захворювань викликаних цими вірусами є істотні відмінності.

РЕЗИСТЕНТНІСТЬ

Віруси герпеса є нестійкими до дії фізичних і хімічних факторів. Вони руйнуються органічними розчинниками, детергентами, протеолітичними ферментами. При 50-52^{o} С інактивація настає через 30 хв. На поверхні різних предметів при кімнатній температурі інфекційні властивості вірусів герпеса зникають через декілька годин. Віруси руйнуються під дією ультразвуку, повторного заморожування і відтаювання, УФ-опромінення.

ПАТОГЕНЕЗ

Джерело інфекції – хворі люди і носії. ВПГ-1 передається контакним шляхом від матері до новонароджених та маленьким дітям (від 6 міс до 3 років). Крім того, вірус може передаватися повітряно-крапельним шляхом. При

повітряно-крапельному зараженні первинна репродукція віруса проходить в клітинах епітелію слизової оболонки рота. При контактному зараженні – в клітинах шкіри або кон'юнктиви очей. По лімфатичних судинах вірус може попасти в кров, викликаючи в певних випадках генералізовану інфекцію. Вірус персистує в гангліях трійничного нерва.

Вірус герпеса ВПГ-1 є збудником гострого гінгівостоматиту і фарингіту, афтозного стоматиту, герпетичної екземи, кератокон'юнктивіту, менінгоенцефаліту.

ВПГ-2 уражує осіб, які статево дозріли, передається статевим шляхом, а також уражує новонароджених, які інфікуються при пологах через піхву матері. ВПГ-2 викликає генітальний герпес, герпес новонароджених, зустрічається при року шийки матки.

Обидва типи віруса, проникаючи в організм через уражену шкіру, можуть викликати раневий герпес.

ІМУНІТЕТ

При первинній імунній відповіді з'являються типоспецифічні віруснейтралізуючі антитіла класу IgM, які у випадку інфекції, викликаної ВПГ-2, нейтралізують віруси обох серотипів. При вторинній імунній відповіді нагромаджуються IgG до тих самих серотипів. Присутність в сироватці крові антитіл одночасно з вірусами герпеса свідчить про тривале вірусоносійство. В здорових осіб антитіла до ВПГ-1 виявлені в 90% випадків.

ЕПІДЕМІОЛОГІЯ

ВПГ-1 передається контакним шляхом від матері до новонароджених та маленьким дітям (від 6 міс. до 3 років). Захворювання перебігає у вигляді везикулярного стоматиту. Крім того, вірус може передаватися повітряно-крапельним шляхом. Передача ВПГ-2 проходить статевим шляхом. Новонароджені діти інфікуються під час пологів.

ЛАБОРАТОРНА ДІАГНОСТИКА

Для експрес-діагностики готують мазки-відбитки із зішкрябу герпетичних везикул, фарбують за Романовським-Гімзе і мікроскопують. При додатній реакції виявляють гіганські багатоядерні клітини з внутрішньоклітинними включеннями.

Культивують вірус в курячих ембріонах, де на хоріоалантоісній оболонці формуються бляшки. Крім того, при зараженні білих мишей в мозок розвивається енцефаліт, а кроликів – в рогівку ока – кератит.

Ідентифікацію віруса і серодіагностику проводять в реакціях нейтралізації, РЗК, ІФА.

ПРОФІЛАКТИКА І ЛІКУВАННЯ

Розроблені інактивовані вакцини, багаторазове введення яких зменшує кількість виникнення рецедивів герпетичної інфекції. Для лікування застосовують ацикловар.

ВІРУС ВІТРЯНОЇ ВІСПИ ОПЕРІЗУЮЧОГО ЛИШАЮ

(герпес-зостер)

Один і той самий вірус викликає обидва захворювання, яке розрізняється по клініці та епідеміології. За своїми властивостями цей вірус ідентичний або близький до інших представників родини *Herpesviridae.*

ПАТОГЕНЕЗ

При вітряній віспі вхідними воротами є слизова оболонка дихальних шляхів, в епітеліальних клітинах якої проходить первинна репродукція вірусів. По лімфатичних судинах вони попадають в кров, викликаючи вірусемію. З кров'ю заносяться в епітеліальні клітини шкіри і слизових оболонок, в результаті чого з'являються везикулярний висип на обличчі, тулубі, кінцівках, слизовій оболонці рота.

При мацерації піхурців вірус легко передається оточуючим аерозольним і рідше контактним шляхом. При захворюванні жінок в перші 3 міс вагітності існує ризик виникнення в дитини вроджених вад.

Вважають, що після перенесення вітряної віспи в дитячому віці вірус може зберігатися декілька років в клітинах гангліїв задніх корінців спинного мозку.

При оперізуючому лишаю на шкірі тулуба, голови, шиї з'являється везикулярний висип. Можливе трансплацентарне передавання віруса, яке веде до патології плоду.

ІМУНІТЕТ

В людей, які перенесли в дитячому віці вітряну віспу, імунітет формується не все життя. В сироватці крові циркулюють віруснейтралізуючі і комплементзв'язуючі антитіла. Однак вони не можуть попередити рецидиви хвороби, оскільки вогнище персистуючої інфекції зберігається в гангліях спинного мозку. Разом з тим збільшується кількість Т-супресорів, які є причиною вторинного імунодефіциту.

ЛАБОРАТОРНА ДІАГНОСТИКА

Виділення віруса проводиться в культурі клітин фібробластів ембріона людини з ідентифікацією віруса в РЗК. РЗК застосовують також для серодіагностики вітряної віспи.

СПЕЦИФІЧНА ПРОФІЛАКТИКА

Отримана жива вакцина для імунізації дітей в ранньому віці. У вогнищі інфекції рекомендується застосувувати імуноглобуліни, отримані з крові реконвалесцентів.

ЛІКУВАННЯ

Для лікування оперізуючого лишаю використовують інтерферон.

БЕТА-ГЕРПЕСВІРУСИ

До даної підродини відноситься цитомегаловірус (ЦМВ). На відміну від альфа-герпесвірусів, він містить велику за молекулярною масою ДНК, має більш тривалий цикл репродукції і культивується в культурі фібробластів людини, викликаючи незначні цитоплазматичні зміни клітин.

ПАТОГЕНЕЗ

Характерною особливістю ЦМВ є його властивість утворювати гігантські клітини (20-24 мкм), які містять включення. Збудник патогенний лише для людини. Вірус передається через плаценту, при проходженні через піхву матері, з молоком матері, при трансплантації органів. Більше 20% дітей перших років життя виділяють ЦМВ з сечею і слиною.

Вірус уражує всі органи і тканини, викликає безсимптомне носійство або клінічно виражене захворювання. Особливе значення має властивість ЦМВ інфікувати імунокомпетентні клітини і персистувати в них.

Крім того, ЦМВ подібний до клітин слинних залаз і нирок, викликаючи в них утворення великих внутрішньоядерних включень. ЦМВ викликає перинатальну інфекцію в 1% новонароджених. При гострих формах уражуються внутрішні органи (печінка, нирки, головний мозок), при підгострій формі розвивається атипова інтерстиціальна пневмонія. Дисеміновані ураження спостерігаються після внутрішньочеревного зараження, а також при переливанні дитині препаратів інфікованої ЦМВ крові. Латентна інфекція може бути активована вагітністю, численними гемотрансфузіями. ЦМВ може проходити через плаценту, викликаючи народження мертвого плоду або дебілізм. Вважають, що 1-2% новонароджених інфіковані ЦМВ.

Активація латентної інфекції в дорослих спостерігається при імунодепресивній терапії, вторинних імунодефіцитних станах, СНІДі. Має місце при цьому вірусемія, ураження внутрішніх органів, кісткового мозку, ЦНС, розвиток імунопатологічних реакцій.

ЕПІДЕМІОЛОГІЯ

Збудник патогенний лише для людини. Вірус передається через плаценту, при проходженні через піхву матері, з молоком матері, при трансплантації органів. Більше 20% дітей перших років життя виділяють ЦМВ з сечею і слиною.

ЛАБОРАТОРНА ДІАГНОСТИКА

Матеріал для дослідження: осад сечі, слина, ниркові біоптати, спинномозкова рідина. З осаду готують мазки, які фарбують гематоксиліном-еозином або іншими фарбами для виявлення типових гігантських клітин.

Вірус виділяють в культурі фібробластів ембріона людини, з сечі з настурною ідентифікацією в РЗК, реакції нейтралізації.

Серодіагностику проводять в РЗК, РПГА, РН при підозрі на вроджену інфекцію. При імунофлюоресценсії і гібридизації ДНК наявність віруса встановлюють через 24 год.

ПРОФІЛАКТИКА І ЛІКУВАННЯ

Вакцинація проводиться живими вакцинами, інколи разом з вакциною проти краснухи. Для лікування використовують ацикловір, аномальні нуклеозиди, а також імуномодулятори (левомізол).

ГАММА-ГЕРПЕСВІРУСИ

До даної підродини відносять вірус Епштейна-Барр, який викликає інфекційний мононуклеоз, лімфому Беркита і саркому Капоші в хворих СНІДом.

ПАТОГЕНЕЗ

Єдиним джерелом інфекції є людина. Вірус передається повітряно-крапельним, рідше трансмісивним, або статевим шляхом.

Патогенез інфекційного мононуклеозу характеризується реплікацією віруса у верхніх дихальних шляхах і регіональних лімфовузлах. Збудник індукує появу популяції реактивних Т-клітин (атипові лімфоцити), поліклональну активацію В-клітин та їх диференціювання в плазмоцити. При цьому геном віруса може зберігатися в В-лімфоцитах. Подібна латентна інфекція зустрічається в багатьох людей.

Питання для самоконтролю

1. Герпесвіруси виділяють на курячих ембріонах. В яку частину ембріона найчастіше вводять матеріал ?
A. У порожнину алантоїсу
B. В тіло ембріона
C. На хоріоналантоїсну оболонку
D. В амніотичну порожнину
E. У жовтковий мішок

2. Який з вірусів може мати відношення до виникнення карциноми шийки матки?

A. Cytomegalovirus
B. Epstein-Barr virus
C. Herpes simplex virus type 2
D. Всі перераховані

3. Який з наступних методів можна використати для діагностики захворювань, викликаних вірусом простого герпесу I типу?
A. Флюоресцентна мікроскопія
B. Виявлення внутріядерних включень
C. Виявлення характерного цитопатичного ефекту в культурі клітин фібробластів людини
D. Всі перераховані

4. Який з наступних препаратів використовується для лікування простого герпесу?
A. Acyclovir
B. Azidothymidine
C. Ribavirin
D. Всі названі

5. Причиною оперізуючого лишая є:
A. varicella-zoster virus
B. Cytomegalovirus
C. Epstein-Barr virus
D. herpes simplex virus type 1

6. Яка з наступних пухлин асоційована з вірусом Епштейна-Барр?
A. Лімфома Беркіта
B. Назофарингіальна карцинома
C. В клітинна лімфома
D. Всі перераховані

7. Після зараження вірусовмісним матеріалом моношару клітин через 48 годин при мікроскопії під малим збільшенням виявлено зміни, що полягають в частковому злущуванні клітин з моношару, округлення клітин, pH середовища не змінився. Вкажіть як називаються такі зміни ?
A. ЦПД – симпластоутворення
B. ЦПД – злоякісна трансформація
C. Апоптоз клітин в моношарі
D. ЦПД – дегенерація клітин, руйнування моношару
E. ЦПД –бляшкоутворення

8. Технологія вирощування клітин поза організмом (культура клітин) потребує застосування спеціальних сольових розчинів та спеціальних середовищ. Виберіть розчин, що використовується при вирощуванні клітинних культур.

A. Розчин Рінгера
B. Розчин Хенкса
C. Фізіологічний розчин з глюкозою
D. Фізіологічний розчин з глюкозою та АТФ
E. Розчин Рінгера з вітамінами

9. Віруси, як інфекційні агенти мають унікальні властивості, що відрізняють їх від інших збудників інфекційних хвороб – бактерій, рикетсій, хламідій, мікоплазм. Вкажіть, яка з названих властивостей характерна виключно для вірусів ?
A. Внутрішньоклітинний паразитизм
B. Розміри менші 0,5 мкм
C. Залежність від клітинних ферментів синтезу АТФ
D. Наявність одного типу нуклеїнової кислоти – ДНК або РНК
E. Здатність утворювати внутрішньоклітинні включення

10. Яка з названих біосистем використовується для культивування вірусів ?
A. Комплекс ферментів–ДНК-полімераз, нуклеотидів, ембріональний екстракт
B. Суміш рибосом, транспортних РНК, вірусних РНК
C. Середовища, що містять гомогенат клітин
D. Новонароджені білі миші
E. Серодовища, що містять мітохондрії клітин та вірусні нуклеїнові кислоти

РОДИНА ПОКСВІРУСІВ (Poxviridae)
ВІРУС НАТУРАЛЬНОЇ ВІСПИ

Покс-віруси – це велика родина ДНК-вірусів, *Poxviridae*, рід *Orthopoxvirus*. Уражують савців, людину, тварин, птахів, комах, риб, амфібій. Назва походить від англійського "*pox*" – пустула, виразка. Родина складається з двох підродин – віруси віспи хребетних і комах. Перша підродина має 6 родів. Представники кожного роду мають загальні антигени і здатність до генетичної рекомбінації. Головне значення в патології мають вірус натуральної віспи, вірус контагіозного молюска, вірус віспи мавп, вірус віспи корів.

Рід *Orthopoxvirus* включає вірус натуральної віспи, патогенний для людини, мавп, а також віруси вісповакцини, віспи корів, ектромелії (вірус віспи мишей), віспи кроликів. Особливістю цих вірусів є їх резистентність до ефіру і здатність аглютинувати еритроцити курей.

Віруси роду *Parapoxvirus* відрізняються меншими розмірами і іншою морфологією – віріони мають овальну або циліндричну форму і більш товсту зовнішню оболонку. Вони чутливі до ефіру і не здатні до гемаглютинації.

Природніми їх господарями є копитні тварини. До цього роду відносятся вірус вузликів доярок, орф-вірус (вірус контагіозного пустульозного дерматиту).

Рід *Avipoxvirus* включає віруси, патогенні для птахів, вони не чутливі до ефіру.

Віруси роду *Capripoxvirus* уражують овець і кіз, чутливі до ефіру.

Рід *Leporipoxvirus* включає віруси фіброми і міксоми кроликів. Віруси чутливі до ефіру, передача може здійснюватися членистоногими.

Віруси роду *Suipoxvirus* патогенні для свиней.

До некласифікованих віспяних вірусів відносяться віруси Тана, Яба і вірус контагіозного моллюска, патогенний для людини.

ІСТОРИЧНІ ДАНІ

Віспа відома давно. Ще за 3000 років до нашої ери в Китаї, Індії, Єгипті описувались важкі захворювання, які утворювали на тілі гнійні міхурці. В VI столітті нашої ери віспа проникла в Європу, а в XVI-XVII столітті розповсюдилась у всі країни світу. Впродовж багатьох століть виникали великі епідемії віспи, які забирали мільони життя, паралізували діяльність великих районів.

В 1796 році в історії боротьби з віспою та в історії медицини пройшло велике відкриття: англійський лікар Е.Дженнер провів щеплення коров'ячої віспи восьмирічному хлопчику з метою запобігти захворюванню натуральна віспа.

В 1874 році Вайгерт виявив, а в 1892 році італійський вчений Гварнієрі детально описав в епітеліальних клітинах рогівки ока інфікованого кролика цитоплазматичні утворення – біляядерні включення (тільця Гварніері). В 1906 році у вмісті вакцинних пустул, а в 1912 – 1913 роках в пустулах хворого натуральною віспою при звичайній мікроскопії Пашен виявив та описав дрібні круглі утворення (тільця Пашена) – збудники натуральної віспи. В 1925 році М.А.Морозовим було запропоновано забарвлення збудника віспи сріблення. В 1937 році Лазарус вдалось отримати на хоріон-алантоїсній оболонці курячих ембріонів чисту культуру вірусу віспи.

Удосконалення методу вакцинації створило реальні умови для поступового ліквідування цього захворювання. В 1937 році завдяки декретованому обов'язковому щепленню віспа була ліквідована.

На XI сесії ВООЗ в 1958 році була прийнята програма ліквідування віспи в світі. Тому останній випадок віспи в ендемічних вогнищах інфекції в світі був зареєстрований вкінці 1977 року в Сомалі. В 1980 році ВООЗ верифікувала ліквідування віспи в світі. На сьогоднішній день лише у двох лабораторіях світу в США та в Росії зберігається цей вірус. Планувалося, що після детального вивчення генома вірусу він мав бути знищений до 2000 року.

МОРФОЛОГІЯ, УЛЬТРАСТРУТУРА

Вірус віспи великий, розміром 240-269 х 150 нм. Має найбільш складну будову з усіх вірусів. Кубоїдальної форми, на ультразрізах віспяних віріонів виявлена ліпопротеїдна оболонка, під нею віроплазма. В центрі віріона розташовується серцевина у формі гантелі, оточена білковим капсидом. До центра серцевини приєднано два латеральних тіла. Зовнішня оболонка віріона містить ліпіди і трубчаті білкові структури, які утворюють характерні виступи. В складі віріона міститься 30 білків і біля 50 білків знаходяться в інфікованих клітинах. Більше 10 вірусних білків є ферментами, які каталізують нуклеїновий синтез: ДНК-залежну РНК-полімеразу, нуклеозид-трифосфат фосфогідролазу, ДНК-азу і ін. ДНК у віруса віспи – двоспіральна, з нуклеокапсиду віріону виділені деякі ферменти.

В мазках з віспяних чи вакцинних пустул, забарвлених за методом Морозова, при мікроскопії виявляють маленкі кокоподібні утворення чорного кольору – ***елементарні тільця Пашена,*** які являють собою частинки віспяного вірусу. В електронному мікроскопі ці частинки мають багатокутну форму. Крім елементарних тілець виявлено включення – ***тільця Гварнієрі*** (це скупчення елементарних тілець).

КУЛЬТИВУВАННЯ

Віспяний вірус можна культивувати на хоріон-алантоїсній оболонці курячого ембріону, де він утворює скупчення вірусу у вигляді дрібних мутних бляшок, а також в первинних і перещеплюваних культурах клітин людини і тварин (мавп, свиней, овець та ін). Ріст характеризується цитопатогенною дією (дегенерацією клітин через 48-72 год). Ідентифікація віруса проводиться в реакції гемадсорбції. Цикл репродукції завершується за 6-7 год. В цитоплазмі клітин формуються круглі або серпоподібні включення – тільця Гварніері, які розташовуються в біляядерній зоні цитоплазми. Аналогічні включення виявлені у віспяних пустулах людини. Це має діагностичне значення.

Репродукція віруса починається з транскрипції зверхранніх *і*РНК, які кодують синтез білка, що "роздягається" (він завершує депротеїнізацію віріонів), синтезуються ранні *і*РНК, які транслюють інформацію про синтез вірусспецифічної реплікази. З дочірних молекул ДНК транслюється інформація про синтез багаточисельних структурних і функціональних вірусних білків. Формування віріонів проходить в цитоплазмі клітини господаря. Зрілі віріони транспортуються через апарат Гольджі до клітинної оболонки і при виході з клітини набувають двошарову зовнішню оболонку з компонентів клітини господаря.

АНТИГЕННА СТРУКТУРА

У віруса віспи виявлено декілька антигенів: розчинні (L – термолабільний і S – термостабільний), нуклеопротеїновий антиген NP, що розташовуються в серцевині віріона. У зовнішній оболонці антигена містяться гліколізовані білки, які є протективними антигенами. Це вірусний

гемаглютинін ліпопротеїдної природи. Віруси віспи мають загальні антигени з вірусом віспʼяної вакцини і еритроцитами людини групи А і АВ.

РЕЗИСТЕНТНІСТЬ

При температурі 100°С гинуть раптово. Температура 60°С губить їх через годину. Низькі температури і висушування віруси натуральної віспи переносять добре – у віспʼяних кірочках вони зберігаються довго. Дезрозчини (30 % хлорамін, лізол) інактивують віруси віспи через 30 хв. До фенолу і ефіру вони більш стійкі, а в 50 % гліцерині віруси віспи зберігаються місяцями. При кімнатній температурі не втрачають життєдіяльності навіть через 17 місяців. Відрізняються стійкістю до висушування, довго зберігаються на предметах домашнього вжитку, в кірочках пустул, в рідині везикул.

Еталонні штами вірусів натуральної віспи зберігаються в спеціальних лабораторіях ВООЗ.

ПАТОГЕНЕЗ

Натуральна віспа (*Variola vera*) – гостре вірусне захворювання, яке характеризується важкою інтосикацією і лихоманкою, розвитком везикулярно-пустульозного висипу на шкірі і слизових оболонках. В 1980 році ВООЗ підтвердила ліквідацію натуральної віспи на нашій планеті. Раніше віспу відносили до групи особливо небезпечних (карантинних) захворювань.

Резервуар і джерело вірусів – хвора людина, яка є заразною з останніх днів інкубаційного періоду до повного видоровлення і відпадання кірочок. Максимальна заразність відмічається з 7-9-ої доби захворювання. Зараження віспою проходить повітряно-краплинним, повітряно-пироховим, інокуляційним, контактно-побутовим, траспланцентарним шляхами. Найбільше значення має повітряно-краплинний шлях передачі. Сприятливість людей до натуральної віспи абсолютна.

Після проникнення вірусу в організм людини через слизову оболонку верхніх дихальних шляхів вірус розмножується в регіонарних лімфатичних вузлах, репродукується і надходить в кров, обумовлюючи вірусемію. Вірус виділяється з крові лише в перші дні хвороби. З крові проникає у внутрішні органи, де розмножується в мононуклеарно-фагоцитарній системі, та локалізується в клітинах лімфоїдної тканини (вторинна репродукція). Наступає генералізація інфекції, що відповідає початку клінічних симптомів хвороби. Вірус має дермотропні властивості – попадає в епідерміс, викликає набряк і запальну інфільтрацію, що клінічно проявляється висипом на шкірі (пустули) і слизових оболонках рота.

Розрізняють такі клінічні форми хвороби: геморагічний висип (віспʼяна пурпура, пустульозно-геморагічна, або чорна віспа) і зливна віспа (це важка форма); середньої важкості (розсіяна віспа) і легка (варіолоїд, віспа без висипу, без температури). До легких форм відносять особливо доброякісну форму – аластрім, яка викликається іншим вірусом, що циркулював в Південній Америці.

Інкубаційний період продовжується в середньому від 9 до 14 діб, але може складати 5 - 7 чи 17 - 22 доби. Виділяють ряд періодів натуральної віспи.

Продромальний період триває 3-4 доби і характеризується раптовим підвищенням температури, біль в крижах, міагліями, біль голови, часто з блювотою. Впродовж 2-3 діб в половини хворих з'являється кореподібний чи скарлатиноподібний висип, який локалізований в ділянці стегнового трикутника Сімона і грудних трикутників. До кінця продромального періоду температура знижується; при цьому на шкірі і слизових оболонках з'являється віспяний висип, який характеризується етапним розповсюдженням і локалізацією від центру. Спочатку виникає на лиці, на тулубі, на кінцівках, уражуючи при цьому долоні і підошви. На одній ділянці шкіри висип завжди мономорфний.

Елементи висипу мають вигляд плям рожевого кольору, швидко перетворюються в папули, а через 2-3 доби – у віспяні міхурці, які мають багатокамерну будову з пупковидним втягненням в центрі елементу і оточені зоною гіперемії. З 7-8 доби захворювання розвивається гниття віспяних елементів, піднімається температура, різко погіршується стан хворого. Пустули втрачають багатокамерну будову, спадаються при проколі, болючі. До 15-17 доби вони відкриваються, підсихають, утворюють кірочки, біль зменшується, з'являється нестерпний шкірний свербіж.

Впродовж 4-5 тижнів на фоні нормальної температури тіла кірочки відпадають, на їх місці залишаються глибокі білі рубчики, які надають шкірі горбковатого (”рябого”) вигляду. Триває хвороба 5-6 тижнів. В клітинах шкіри з'являються цитоплазматичні, ацидофільні включення – тільця Гварніері.

Важко перебігають геморагічні форми віспи, нерідко з розвитком інфекційно-токсичного шоку, оскільки пустули нерідко контаміновані стафілококом.

ІМУНІТЕТ

Після перенесеного захворювання зберігається стійкий післяінфекційний імунітет, пожиттєвий. Обумовлюється він віреснейтралізуючими, гемаглютинуючими і комплементзв'язуючими антитілами і клітинними факторами (реакція ГСТ, яка пригнічує репродукцію віруса і його розповсюдження в організмі). Вважають, що інтерферон також є фактом захисту.

Штучна імунізація з наступною ревакцинацією дає стійкий імунітет. Антитіла після вакцинації вже з'являються на 8-9 день і досягають максимуму через 3 тижні.

ВІРУСОЛОГІЧНА ДІАГНОСТИКА

Вірусологічна діагностика заснована на даних епідеміологічного анамнезу, результатах клінічного обстеження, на виявленні збудника віспи. Робота з вірусом віспи проводиться в строго режимних умовах. Матеріал для

дослідження: шкірний висип – протирають спиртом чи ефіром шкіру для отримання чистого матеріалу; вміст папул, везикул, беруть тоненькою стерильною пастерівською піпеткою; з міхурців, котрі лопнули, беруть стерильним шпателем; лусочки збирають стерильним пінцетом; 2-3 $см^3$ крові беруть стерильно з вени, отримують сироватку; забирають також виділення слизової оболонки носоглотки. Роблять відбитки із зішкрібу папул і вмістимого везикул.

Найбільш доступним методом лабораторного дослідження, який підтверджує діагноз натуральної віспи, є вірусоскопічне виявлення в патологічному матеріалі віріонів (тілець Пашена) шляхом обробки мазків сріблення, міченою флюорохромами сироваткою і барвниками або цитоплазматичних включень Гварніері, які добре зафарбовуються за методом Романовського-Гімзе.

Вірусоскопічне дослідження. Мазки краще готувати з везикул і виділення слизової оболонки носоглотки, ніж з гною пустул, які багаті клітинними елементами і детритом. Одні з них обробляють методом сріблення за Морозовим, інші – зафарбовують 35 хв через фільтрувальний папір сумішшю рівних об'ємів 1% розчину генціанового фіолетового і 2% розчином бікарбонату натрію, підогріваючи їх до пари 5 хв. В препаратах виявляють групи і ланцюжки чорних і фіолетових круглих елементарних тілець Пашена.

Електоронна мікроскопія матеріалу дозволяє виявити морфологічні особливості будови віріонів натуральної віспи.

Для виявлення в патологічному матеріалі віріонів і їх антигенів застосовують реакцію непрямої імунофлюоресценсії, РЗК і РПГ. При РІФ препарати обробляють сироваткою кролика, імунізованого вірусом вакцини, а пізніше антикролячими флюоресціюючими імуноглобулінами. При люмінесцентній мікроскопії виявляють яскраве світіння – жовто-зелені тільця-зерна та їх конгломерати.

РЗК ставлять з гіперімунною сироваткою тварин, яка взята в 4-8 кратному титрі, і з двократно зростаючим розведенням матеріалу. Результат вважається додатнім, якщо різниця в титрах антигену, що реагує з гіперімунною і контрольною сироватками, складає не менше двох розведень.

Для РПГ використовують адсорбовану типоспецифічну антивакцинну сироватку, нормальну кролячу сироватку, відомий віспяний і досліджуваний антигени.

Вірусологічний метод. Досліджуваний матеріал попередньо розводять ізотонічним розчином хлориду натрію і обробляють антибіотиками. Зібраним матеріалом заражають 12-14 денні курячі ембріони в хоріон-алантоїсну оболонку. Після інкубування в термостаті при температурі 35° С через 72-96 год яйця вскривають і на поверхні оболонок виявляють дрібні, білі, щільні, куполоподібні віспяні бляшки, які містять у великій кількості вірус віспи.

Для кінцевої ідентифікації віруса застосовують імунну сироватку проти віруса вакцини в реакції нейтралізації на курячих ембріонах, РГГА з еритроцитами курей або РЗК. Антигеном є 10% суспензія уражених хоріоналантоїсних оболонок.

Одночасно заражають культури клітин, де проходить інтенсивне розмноження вірусу віспи. В перещеплених культурах клітин людини *Hela, HEp-1, HEp-2, F1* вірус через три-чотири доби після зараження викликає вогнища проліферації. В уражених клітинах виявляються включення Гварніері, які розташовуються біля ядра в цитоплазмі, круглої або овальної форми, щільної, інколи зернистої консистенції.

Ідентифікація віруса проводиться в реакції гемадсорбції з еритроцитами курей і реакції гальмування гемадсорбції з імунними сироватками. До розвитку цитопатогенної дії вже через 6-12 годин після зараження культур, специфічний антиген віруса виявляють за допомогою РІФ.

Експрес-діагностика – це застосування методу флюоресціюючих антитіл, електронної мікроскопії (виявлення антигенів в інфекційному матеріалі).

Серодіагностика. На п’яту-шосту добу хвороби в сироватці крові людини можна визначити титр антигемаглютинінів, нейтралізуючих і комплементзв’язуючих антитіл. Оскільки ці антитіла в низьких титрах можуть міститися в крові вакцинованих осіб, виявлення антитіл до вірусу віспи за допомогою РГГА, РН і РЗК рекомендують проводити з парними сироватками. Збільшення титру антитіл в 4 і більше разів підтверджує діагноз.

ПРОФІЛАКТИКА

Рання діагностика, ізоляція, дезинфекція, попередження завозу віспи з інших країн, карантин.

СПЕЦИФІЧНА ПРОФІЛАКТИКА

Контактних осіб вакцинують і ізолюють на 14 діб. Для екстренної профілактики застосовують противісп’яний імуноглобулін.

ЛІКУВАННЯ

Лікування комплексне, включаючи противісп’яний імуноглобулін, метісазон, антибіотики широкого спектру і дезінтоксикаційну терапію.

ГЕПАДНАВІРУСИ

До вірусів, які викликають гепатит у людей, відносяться 5 груп вірусів: вірус гепатиту А (історичні назви – інфекційний гепатит, епідемічний гепатит, хвороба Боткіна); вірусний гепатит В (сироватковий гепатит), віруси гапатитів С, D, Е.

ВІРУСИ ГЕПАТИТУ А

Віруси гепатиту А відноситься до родини РНК-вмісних пікорнавірусів роду ентеровірусів. Віруси гепатиту В виділені в окрему родину ДНК-вмісних гепаднавірусів. Віруси гапатиту D є вірусом-сопутником гепатиту В. Вірус гепатиту С відносять до флавівірусів, а вірус гепатиту Е до каліцивірусів.

Вірус гепатиту А викликає найбільш розповсюджений вірусний гепатит. Вірус вперше був виявлений С.Фейстоуном в 1979 році у фекаліях хворих методом імунної електронної мікроскопії.

МОРФОЛОГІЯ

Вірус гепатиту А – це дрібний вірус 20 – 25 нм, РНК-вмісний, тип симетрії кубічний, капсид складається з 60 білкових молекул, не містить ліпіди, вуглеводи. Складається з нуклеоїду і зовнішньої оболонки. За морфологією і структурою вірус гепатиту А подібний до ентеровірусів, виявлено нуклеотидні послідовності, спільні з іншими ентеровірусами. Вірус типу А називають HAV - Enterovirus тип 72.

АНТИГЕННА СТРУКТУРА

Вірус гепатиту А містить один вірусспецифічний антиген білкової природи. У віруса гепатиту А не виявлені серотипи. Він взаємодіє лише з антитілами HAV.

РЕЗИСТЕНТНІСТЬ

Віруси типу А досить стійкі, повна їх інактивація проходить лише при кип’ятінні впродовж 30 - 40 хв, частково руйнується при нагріванні до 60° С впродовж 1 години. Вони добре переносять низькі температури, висушування, дію кислот, ефіру, не руйнуються під дією УФ-променів, звичайні концентрації дезрозчинів інактивують їх через 40 – 60 хв. Витримує заморожування.

КУЛЬТИВУВАННЯ І РЕПРОДУКЦІЯ

Вірус гепатиту А не репродукується в звичайних культурах клітин. Але вдалося заразити вірусом гепатиту А перещеплювані лінії гепатоцитів людини і мавп. Репродукція віруса в культурі клітин не супроводжується цитопатогенною дією. HAV майже не виявляється в культуральній рідині, оскільки асоційований з клітинами, в цитоплазмі яких він репродукується.

ПАТОГЕНЕЗ

Віруси гепатиту - інфекційні захворювання, які викликаються гепатотропними вірусами, що перебігають з вираженою інтоксикацією, жовтяницею (або без неї**)** і іншими проявами печінкової недостачі. Збудником є Enterovirus 72.

Джерелом інфекції при вірусному гепатиті А є вірусоносій, хворі в кінці інкубаційного періоду, в перші дні жовтяниці і хворі з формами без жовтяниці. Переважно уражує дітей. Передається HAV фекально-оральним механізмом передачі (через їжу, воду). Не виключена передача вірусу гепатиту А контактно-побутовим шляхом (предмети вжитку, дитячі іграшки). Це типова

кишкова інфекція, хоча допускається парентеральний і повітряно-краплинний механізм зараження.

Основний шлях проникнення вірусу – через слизову оболонку травного каналу. Попавши в травний канал, HAV проникає в епітеліальні клітини слизової оболонки тонкого кишківника і регіональні лімфатичні вузли, звідки в кров (виникає вірусемія), з кров'ю віруси розносяться по всьому організму та уражують паренхіматозні органи. Найбільший тропізм HAV має до гепатоцитів (клітин печінки), в цитоплазмі яких вірус репродукується.

Не виключена можливість ураження гепатоцитів NK-клітинами (натуральними кілерами), які в активованому стані можуть взаємодіяти з ними, руйнуючи їх. Активація NK-клітин проходить в результаті їх взаємодії з інтерфероном, індукованим вірусом. Порушується білковий і вуглеводний обмін. Порушення вуглеводного обміну приводить до збільшення в сироватці крові ферментів: альдолаз і трансфераз. Ураження гапатоцитів супроводжується розвитком жовтяниці. В крові з'являються жовчні кислоти і білірубін. Збудник з жовчю потрапляє в просвіт кишківника і виділяється з фекаліями. Кал стає безбарвним, а сеча темніє.

Відмічено високу концентрацію віруса вкінці інкубаційного періоду і в перші дні хвороби (до розвитку жовтяниці). Гепатит А звичайно закінчується повним виздоровленням, летальні випадки бувають дуже рідко.

Найбільш чутливі до вірусу А діти у віці від 1 року до 15 років. Характерна весняно-зимова сезонність. При загибелі великої кількості гепатоцитів (печінкова дистрофія) розвивається токсичне ураження центральної нервової системи – печінкова енцефалопатія, відома як печінкова кома. Неповноцінний розвиток імунних реакцій сприяє тривалому (інколи роками) знаходженню вірусу в печінкових клітинах, що є основою розвитку хронічних форм гепатоцитів. Перенесення якого-небуть типу гепатиту не охороняє від зараження іншими вірусами. Розрізняють чотири періоди захворювання вірусного гепатиту: інкубаційний, продромальний період (перед жовтяницею), розпал (жовтяниця), реконвалесценсію. Інкубаційний період при ВГА від 7 до 50 діб.

В продромальному періоді (1 тиждень) знижується апетит, нудота, блювота, відчуття важкості в правому підребер'ї, схильність до запору, рідкий стілець, може бути висока температура до 38-39˚С. Відмічається сильний біль голови, напад коліки, холецестит. Перед жовтяницею може бути біль в суглобах, в крижах, зниження працездатності, апатія, стурбованість, порушення сну. Клініко-лабораторні дані, ще до появи жовтяниці, дозволяють діагностувати вірусний гепатит. При обстеженні хворого виявляється: здуття живота, брадікардія, гіпертензія, гепатомегалія, глухі серцеві тони, може бути висип на шкірі. Далі йде період – жовтяниці, яка проявляється на склерах, язиці, піднебінні, забарвлюється шкіра обличчя, тулуба, кінцівок. Зникає жовтяниця в зворотньому порядку. В цей період з'являються симптоми інтоксикації, біль в епігастральній ділянці і правому підребер'ї, збільшена печінка, схильність до запору або рідкий стілець. Може бути патологічний

процес нервової системи, який виражений по різному: сонливість, безсоння, нерідко біль голови.

В період реконвалесценсії (від 2 до 12 міс і більше) симптоми хвороби поступово зникають. Залежно від симптомів інтоксикації і інтенсивності жовтяниці розрізняють легку, середньо важку і важку форми захворювання. Клінічна форма вірусного гепатиту без жовтяниці перебігає легко. Нерідко хвороба набуває хронічного перебігу з цирозом печінки. Діагностувати дану форму важко.

ІМУНІТЕТ

Після перенесеного захворювання формується стійкий гуморальний імунітет, зв'язаний з синтезом противірусних антитіл. Імуноглобуліни класу М зникають з сироватки через 3 - 4 місяці після початку захворювання, коли в цей час Ig G зберігаються впродовж багатьох років. Встановлено синтез секреторних (S) Ig A.

ВІРУСОЛОГІЧНА ДІАГНОСТИКА

Матеріалом на дослідження є кров хворих і випорожнення. Вірусологічна діагностика HAV - це визначення антигенів (Enterovirus 72) і антитіл в крові. Застосовують серологічні методи для ранньої і ретроспективної діагностики вірусного гепатиту. В гострій стадії хвороби діагноз зводиться до виявлення вірусного антигену у фекаліях хворих методом імуноелектронної мікроскопії з сироваткою реконвалесцентів, а також можна використати імунофлюоресцентний і радіоімунний аналізи.

Найбільш чутливі серологічні методи: реакція преципітації в гелі, реакція пасивної гемаглютинації, зустрічний імуноелектрофорез та ІФА. Виявляють Ig M в парних сироватках крові, які досягають високого титру впродовж перших 3 - 6 тижнів. Ig G виявляють вкінці хвороби. Щоб виявити антитіла можна застосувати РЗК, де антигеном є екстракт печінки заражених ентеровірусом 72 мавп мармозеток.

ПРОФІЛАКТИКА

При вірусному гепатиті А – ізоляція хворих, знешкодження випорожнень, харкотиння хворих, загальносанітарні заходи.

СПЕЦИФІЧНА ПРОФІЛАКТИКА

Вакцинопрофілактика гепатиту А в стадії розробки. Досліджується інактивована і жива культуральні вакцини; виробництво сповільнено в зв'язку з слабою репродукцією вірусу в культурах клітин. Найбільш перспективний напрямок – розробка генно-інженерної вакцини. Для пасивної імунопрофілактики гепатиту А використовують імуноглобулін, отриманий з суміші донорських сироваток або з плацентарної крові.

ВІРУС ГЕПАТИТУ В

В 1961 році Блумберг з співавторами в сироватці крові хворих виявила антиген, який дістав назву австралійський антиген. В 1970 році Дейн в

сироватці крові хворих гепатитом В виявив більш великі частинки, які назвали частинками Дейна.

МОРФОЛОГІЯ

Вірус гепатиту В – складно організований вірус, який складається з нуклеоїду і зовнішньої ліпідної оболонки. Віріони, або частинки Дейна, мають сферичну форму діаметром 42 нм. Серцевина віріона – нуклеокапсид в формі ікосаедра – складається з 180 капсомерів. В склад віріона входить ДНК, білки, ферменти, ліпіди і вуглеводи. Зустрічаються і дрібні сферичні частинки – 22 нм в діаметрі, трубчасті частинки різної довжини. Вважають, що останні дві форми являють собою вільні білкові частинки – капсиди.

Геном складається з кільцевої двоспіральної молекули ДНК, яка може приймати лінійну форму. Проте, в кільцевій структурі ДНК виявлено дефект однієї нитки. Ізольовано вона не має інфекційних властивостей. В складі вірусного генома виявлено біля 6 генів, які контролюють утворення антигенів, структурних білків і не менше двох ферментів (ДНК-полімераза, протеїнкіназа).

АНТИГЕННА СТРУКТУРА

Вірус гепатиту В містить 4 антигени: HB_s, HB_c, HB_e, HB_x. HB_s-антиген (стара назва “австралійський антиген”) глікопротеїн з ліпідним компонентом, який міститься у зовнішній оболонці віріона. В його складі виявлено два поліпептидних фрагменти. Один з них (pre S_2) є поліглобуліновим рецептором, який відповідальний за адсорбцію віруса на аналогічних рецепторах гепатоцитів. Він зв’язується з сироватковим альбуміном, який при полімеризації перетворюється в поліальбумін. Таким чином, в склад зовнішньої оболонки віруса гепатиту В входять ті ж самі поліальбуміни, які містяться в сироватці крові людини. Другий фрагмент (pre S_2) має виражені імуногенні властивості. Цей пептид, отриманий генноінженерними методами, може бути використаний для виготовлення вакцини. HB_s-антиген виявляється в крові.

HB_c –антиген є нуклеопротеїном. Він міститься в серцевині віріонів, які містяться в ядрах гепатоцитів, але не поступають в кров.

HB_e –антиген відщеплюється від HB_c-антигену при його проходженні через мембрану гепатоцитів, внаслідок чого виявляється в крові.

HB_x –антиген мало вивчений. Можливо він має відношення до ракової трансформації гепатоцитів.

В організм хворих гепатитом В синтезуються антитіла до трьох антигенів: анти-HB_s, HB_c, HB_e.

РЕЗИСТЕНТНІСТЬ

Вірус гепатиту В стійкий до заморожування, але більш стійкий до нагрівання – навіть кип’ятіння впродовж 15 - 20 хв не веде його до інактивації. Дія 3 – 05 % фенолу або 3% розчину хлораміну пригнічує активність вірусу В. Інфекційні і антигенні властивості віруса зберігаються при УФ-опроміненні плазми крові і збереженні при -20° С.

РЕПРОДУКЦІЯ

Вірус гепатиту В розмножується в культурі гепатоцитів ембріону людини, в диплоїдних клітинах печінки людини, а також в органах і тканинах мавп шимпанзе.

Після проникнення в клітину вірусна ДНК-полімераза добудовує дифектну частину нитки ДНК і молекула стає повністю двоспіральною. На одній з ниток йде синтез вірусспецифічної РНК. Далі відбуваються процеси властиві лише гепаднавірусам: на новосинтезованій РНК йде комплементарний синтез ДНК, а після цього процеси транскрипції і трансляції. Можлива інтеграція вірусного генома в геном клітини. Звичайно спостерігається надлишковий синтез HB_s – антигена і утворення неінфекційних вірусних частинок.

ПАТОГЕНЕЗ

Вірусний гепатит В – гостре або хронічне інфекційне захворювання, де основними клінічними симптомами є інтоксикація і ураження печінки, яке супроводжується пожовтінням слизових оболонок і шкірних покривів. Вірус гепатиту В – *Hepadnavirus* (*hepatitis* – запалення печінки, *dna* - ДНК-вмісний). Джерелом інфекції при гепатиті В є кров хворих і носіїв антигена. Передається парантерально при ін'єкціях вакцин, сироваток крові, ліків, алергенів нестерильними голками, зараженими вірусом, скарифікаторами.

При вірусі гапатиту В можливий статевий, фекально-оральний, трасмісивний (через кровосисних комах), трансплацентарний механізм передачі і в новонароджених при пологах. Найчастіше хворіють діти до 1 року і дорослі, переважно похилого віку. Інкубаційний період при ВГВ – від 40 до 180 діб. Вже через 2-6 тижнів після зараження вірус В і його частинки Дейна визначається в сироватці крові, гапатоцитах, у всіх біологічних рідинах організму (лімфа, слина, сеча, сперма, секрет піхви). Встановлено, що після перенесення гепатиту В вірус може виділятися у всіх біологічних рідинах впродовж багатьох років (носіїв).

Однак репродукція вірусу не супроводжується цитолізом гепатоцитів, бо вірус немає цитопатогенної дії і патологічний процес в печінці виникає не з моменту проникнення збудника в гепатоцити, а лише після розпізнавання імуноцитами його антигенів на зовнішній мембрані цих клітин. Таким чином, ураження клітин печінки при гепатиті В є імунообумовленим.

Клінічні прояви вірусів гепатиту А і В подібні (гострі, підгострі, хронічні або персистуючі). При гострих формах гепатиту В пригнічується активність Т-хелперів, при хронічних – беруть участь Т-супресори, формуються умови для розвитку автоімунних реакцій спрямованих на власні клітинні антигени – печінкові ліпопротеїни. Порушується розпізнавання вірусних антигенів, що веде до пригнічення антитілоутворення.

HBV може взаємодіяти з макрофагами і навіть вбудовувати свою ДНК в їх клітинний геном. При нормальному розвитку імунної відповіді вірусні антигени індукують гуморальну відповідь, яка закінчується синтезом HB_S, HB_c, HB_e-антитіл. Внаслідок того повторні захворювання зустрічаються рідко.

Ураження HBV макрофагів веде до розвитку імунодефіцитного стану, що є основною причиною персистуючих форм гепатиту В.

Інтеграція вірусної ДНК в геном гепатоцитів проходить як при гострій, так і при хронічній формах гепатиту. В хромосому гепатоцитів вбудовується невизначена ділянка вірусної ДНК. При цьому інтегрована вірусна ДНК може бути дефектною, що робить експресію її генів неможливою, в тому числі і тих, які контролюють утворення антигенів. При інтеграції повноцінної вірусної ДНК синтезуються вірусні антигени, з яких HB_s поступає в кров. При цьому реакції імунного цитолізу не проходять внаслідок відсутності мішені на мембрані гепатоцитів для Т-кіллерів і NK-клітин. Вірусні ДНК атакуцють лише гепатоцити, які несуть HB_c-антиген: чим більше даного антигена на мембрані, тим інтенсивніше вони руйнуються в результаті імунного цитолізу. При цьому проходить масивний вихід вірусів із зруйнованих клітин і генералізація інфекції. Актуальною стає проблема хронічного вірусного гепатиту, який розвивається в 5 – 12 % випадків після гострої фази хвороби.

Можлива тривала персистенція віруса або хронічний активний гепатит В, що веде до цирозу печінки. Вірус гепатиту В має канцерогенні властивості і в деяких країнах первинний рак печінки, спричинений цим вірусом, стоїть на першому місці серед онкозахворювань.

ДІАГНОСТИКА

Для діагностики гепатитів В застосовують визначення біохімічних показників сироватки крові хворих, які вказують на функціональний стан печінки. Порушення пігментного обміну функції печінки визначають за кількістю вільного і зв'язаного білірубіну в сироватці та за активністю її специфічних ферментів – фруктозомонофосфатальдолази, аланінкетотрансамінази. Для виявлення порушення білково-синтетичної функції ставлять тимолову пробу, сулемовий титр. Всі ці дослідження проводять в клінічних лабораторіях.

Вірусологічна діагностика гепатиту В. Практично діагноз вірусного гепатиту В підтвержується серологічними реакціями, за допомогою яких в сироватці хворих визначають HB_s–антиген або імуноглобуліни до HB_s-антигена. Використовують реакцію подвійної дифузії в гелі (РПГ). Рідше застосовують РНГА для виявлення сироваткового HB_s-антигена. Готують еритроцити, покриті анти-HB_s-антитілами, а для виявлення імуноглобулінів до HB_s-антигена – еритроцити, на яких адсорбують антиген.

Найбільш чутливими методами виявлення HB_s-антигена і специфічних до нього імуноглобулінів в крові хворих є імуноферментний і радіоімунологічний аналізи. HB_s-антиген виявляється в сироватці крові в інкубаційному періоді, при хронічній формі і у вірусоносіїв.

Показами гострої форми інфекції є одночасне виявлення в крові HB_s- і HB_c-антигенів. Найновіші методи діагностики передбачають виявлення вірусної ДНК і вірусної ДНК-полімерази (полімеразна ланцюгова реакція).

Динаміка синтезу антитіл проти різних антигенів неоднакова: в продромальний період з'являються HB_c-антитіла, пізніше HB_e- антитіла і лише

в останню чергу після зникнення HB_s-антигенів з крові – HB_s-антитіла. За вмістом антитіл до тих або інших антигенів віруса можна говорити про період захворювання. А за наявністю вірусних ДНК і вірусних ДНК-полімераз судять про активність процесу при хронічних формах. Для постановки діагнозу гострого гепатиту В має значення виявлення антитіл класу Ig M проти HB_c-антигенів.

Застосовуються також - реакція ензиммічених антитіл (РЕМА), реакція зворотньої непрямої гемаглютинації (РЗНГА), зустрічний імуноелектрофорез для виявлення Ig до АГ HBV.

Вірусологічні тести діагностики HBV. 1) В гострій стадії діагностика здійснюється шляхом виявлення HBs-антигену в сироватці крові хворого. 2) Виявлення антитіл-HBs в РЗК. Анти-HBs з'являються лише через 2-4 тижні після початку захворювання і довго циркулюють в крові. 3) Ретроспективна діагностика гепатиту В здійснюється шляхом визначення анти- HBs в парних сироватках крові хворого в реакції преципітації в гелі.

ПРОФІЛАКТИКА

Профілактичні заходи у відношенні медперсоналу, який працює з матеріалом, інфікованим HBV, заснований на дотриманні особливої обережності при роботі з кров'ю (робота в гумових рукавицях, обробка рук, забруднених кров'ю, 2% розчином перекису водню і т.д.), дотримання режиму стерилізації інструментів і відбір донорів при використанні їх крові. Донорську кров перевіряють на вміст HBs - антигену.

СПЕЦИФІЧНА ПРОФІЛАКТИКА

Існують вакцини першого покоління, одержані з плазми крові хронічних носіїв HB_s антигенів. Вона складається з частинок HB_s-антигенів і є досить ефективною, хоча виробництво обмежено внаслідок малого резерву плазми крові. Широке використання вакцин першого покоління дозволило виробити тактику вакцинації. Вакцини нового покоління отримані генноінженерним шляхом при вбудуванні гена, котрий контролює утворення HB_s-антигенів, в геном клітини еукаріот (дріжджів).

Дельта-вірус – збудник гепатиту, вперше був виявлений в 1977 році в ядрах гепатоцитів у хворих хронічним гепатитом В. Частинка віруса сферичної форми діаметром біля 36 нм. Її серцевина містить РНК і зовнішній білок (D-антиген). Зовнішня оболонка дельта-віруса містить HB_s-антиген. Геном дельта-віруса – це односпіральна молекула РНК з молекулярною масою 5 х 10^5 мД. Вірус не здатний самостійно реплікувати-ся в гепатоцитах господаря. Для його репродукції необхідна участь віруса – помічника – віруса гепатита В (HBV).

Висловлено припущення, що дельта-вірус має ЦПД на відміну від HBV. Співіснування обох вірусів приводить до розвитку тяжких форм патологічного процесу. Епідеміологія гепатиту викликаного дельта-вірусом, практично не відрізняється від епідеміології гепатита В. Дельта-вірус так само, як HBV передається парентеральним шляхом.

Серологічна діагностика дельта-вірусної інфекції заснована на виявленні антитіл до антигена віруса в сироватці крові імуноферментним або радіоімунним методами. Специфічна профілактика не розроблена.

Збудник гепатиту С за біологічними властивостями подібний до флавівірусів. Розмір вірусної частинки менше 80 нм. Генетичний матеріал представлений РНК. Вірус гепатиту С передається парентеральним шляхом. Серодіагностика заснована на виявленні антитіл в сироватці крові. Вірус гепатиту С дуже розповсюджений, про що свідчить виявлення специфічних антитіл в крові здорових донорів в 0,5 – 1 % випадків.

Гепатит С особливо важко, іноді з смертельним результатом перебігає у вагітних і в осіб з імунодепресією.

Збудник гепатиту Є подібний до каліцивірусів. Розмір вірусної частинки 32 - 34 нм. Генетичний матеріал представлений РНК. Передається вірус гепатиту Є ентеральним шляхом. Серодіагностика заснована на виявленні антитіл до антигена Є віруса.

Питання для самоконтролю

1. Реакція імунофлюоресценції широко використовується для експрес-діагностики багатьох вірусних інфекцій. Виберіть умову, без дотримання якої неможливо визначити результат реакції:
A. Наявність світлового мікроскопа
B. Наявність електронного мікроскопа
C. Наявність люмінісцентного мікроскопа
D. Наявність фазово-контрастного мікроскопа
E. Наявність світлового мікроскопа з темнопольною насадкою

2. Для специфічної профілактики вірусного гепатиту В сьогодні широко застосовується вакцинація. Яким методом виготовляють препарат для вакцинації ?
A. Із вбитого формаліном віруса гепатиту В
B. Генно-інженерними методами
C. З печінки овець, заражених вірусом гепатиту В
D. З HBs-антигена, виділеного з крові носіїв
E. З віруса гепатиту В, вирощеного в культурі клітин

3. Для постановки прямої реакції імунофлюоресценції (РІФ) необхідно:
A. Невідоме антитіло і антиген мічений флуорохромом
B. Специфічна сироватка, антиген, барвник
C. Невідомий вірус, специфічна сироватка зв’язана з флуорохромом
D. Антиген, специфічна сироватка, антиглобулінова люмінесцентна сироватка
E. Вірус, сироватка хворого, антиглобулінова люмінесцентна сироватка

4. Під час проведення лабораторної діагностики гепатиту В останніми роками виявляють наявність вірусної ДНК у крові хворого. За допомогою якої з

названих реакцій це встановлюють ?
A. Реакції зв'язування комплементу
B. Реакції непрямої гемаглютинації
C. Ланцюгової полімеразної реакції
D. Імуноферментного аналізу
E. Реакції гальмування гемаглютинації

5. Які експрес-методи діагностики використовують при вірусних інфекціях ?
A. Зараження курячих ембріонів
B. Зараження лабораторних тварин
C. Зараження культур клітин
D. РІФ, ПЛР
E. Всі вищезгадані

6. Які лабораторні методи дослідження використовують для ранньої діагностики вірусних інфекцій ?
A. Визначення імунного статусу
B. Виявлення АГ і нуклеїнових кислот збудника в досліджуваному матеріалі
C. Визначення титру противірусних АТ в парних сироватках
D. Зараження лабораторних тварин
E. Гістологічне вивчення біоптатів уражених органів

7. Під час оперативного втручання пацієнту проведено переливання крові. На антигени якого збудника необхідно перевірити цю кров ?
A. Аденовірусів
B. Вірусу гепатиту А
C. Вірусу гепатиту Е
D. Ентеровірусів
E. Вірусу гепатиту В

8. У сироватці крові при постановці імуноферментної реакції було виявлено HBs-антиген. При якому захворюванні виявляють цей антиген ?
A. Сифілісі
B. Вірусному гепатиті А
C. СНІДі
D. Туберкульозі
E. Вірусному гепатиті В

9. Як здійснюється ретроспективна діагностика гепатиту А ?
A. Дослідження парних сироваток крові в РЗК і РПГ
B. Дослідження змивів в РНГА
C. Виконанням імунофлюоресценсії
D. Мікроскопічним методом
E. Мікологічним методом

10. Який тип симетрії вірусу гепатиту А ?
A. Паличкоподібний
B. Кубічний
C. Сперматозоїдний
D. Сферичний
E. У вигляді ланцюжка

РЕТРОВІРУСИ. ВІРУС ВІЛ-інфекції

Синонім – синдром набутого імунодефіциту.

Acguired immunodeficiency syndrome, AIDS.

Синдром набутого імунодефіциту СНІД – характеризується недостатністю клітинного імунітету (зниження рівня Т-лімфоцитів), порушенням функцій імунної системи, в результаті чого організм стає сприятливий до вторинної інфекції і злоякісних пухлин.

ІСТОРИЧНІ ДАНІ

Вперше захворювання було описано в 1981 р в чоловіків-гомосексуалістів. В них з 1970 р розвивався пневмоцистоз і ідіопатична геморагічна саркома Капоші. Захворювання поширювалось, прогресувало. У всіх хворих було виявлено ураження Т-клітинної ланки імунної системи. Це дозволило допустити загальний механізм виникнення захворювань, зв'язаних з імунною недостатністю.

В 1982 р число їх збільшилось до 1000, були сумовані загальні ознаки захворювання і СНІД був названий хворобою XX століття. Інфекційна природа була доведена, так як епідемія охопила цілі країни. Було доведено можливість передачі при переливанні крові і її препаратів.

В 1983 р паралельно у Франції і США від хворих був виділений вірус. У Франції вірус був виділений з лімфатичного вузлика хворого СНІДом з вираженою аденопатією і отримав назву вірус, асоційований з лімфопатією – *Lymphadenopathy associated virus – LAV.* В США вірус був виділений (*R.Gallo*) з лімфоцитів периферичної крові хворих і людей, обстежених прf епідпоказами і був названий Т-лімфотропний вірус людини III типу – *Human T-lymphotropic virus type III – HTLV-III.*

Отримані дані у Франції і США були ідентичними за морфологією і антигенними властивостями. Для позначення збудника СНІДу в 1985 р ВОЗ була прийнята абревіатура – *LAT/HTLV-III* а з 1987 р – *HIV (Human immunodeficiency virus)*, по українськи ВІЛ – вірус імунодефіциту людини.

З моменту відкриття СНІД був виявлений в 100 країнах світу на всіх континентах, загальне число випадків біля 100 тисяч, летальність більше 50%, виздоровлень не описано, 1,5 млн вірусоносіїв.

ЕТІОЛОГІЯ

ВІЛ – РНК-вмістимий екзогенний вірус, відноситься до родини ретровірусів – *Retroviridae*, Т-лімфотропний ретровірус *HTLV–I* виявляється у

хворих з Т-клітинною лімфомою – райони Японії, Африки, Карібського басейну.

HTLV–II вперше був виділений від хворого з лейкемією і Т-клітинною недостачею.

HTLV –III відрізняється від вірусів *HTLV I* та *II* за морфологічними, біологічними і імунологічними характеристиками, хоча всі три типи мають антигенну будову подібну. Ближче до підродини лентівірусів (вірусу сповільненої інфекції вівців) – віспа стоїть. ВІЛ може бути довго в організмі людини в літентному стані, не викликаючи клінічних симптомів захворювання, широкий спектр клітин, в тому числі нервової системи, при цьому має вибіркову цитопатичну дію на Т-хелпери з антигенним маркером (поміткою) ОКТ-4.

БУДОВА. УЛЬТРАСТРУКТУРА

Зрілі віріони досягають 100-140 нм. Ядро кругле чи овальне, розташоване ексцентрично, містить високомолекулярну зворотню транскриптазу, характерну для ретровірусів. ВІЛ генетично неоднорідний, розрізняють ВІЛ І, ВІЛ ІІ та ВІЛ ІІІ. Вірус культивується на пересаджених лініях Т- і В-лімфоцитів, первинних культур мононуклеарів.

РЕЗИСТЕНТНІСТЬ

ВІЛ не має стійкості до умов зовнішнього середовища. Інактивується при нагріванні до 56^{o}С через 30 хв, при кип'ятінні 1-5 хв, різкій зміні pH середовища (менше 1, більше 13), дії дезречовин (3% перекись водню, 5% лізол, 0,2% гіпохлорит натрію, 20% етанол, ефір, ацетон). Стійкий до УФ-опромінення і іонізуючого випромінення.

ЕПІДЕМІОЛОГІЯ

Джерелом інфекції – є хвора СНІДом людина і вірусоносій. ВІЛ виявлено в крові, спермі, слині, грудному молоці, сльозах, вагінальному і цервікальному секретах хворих і вірусоносіїв, в тканині мозку і спинномозковій рідині. Епідеміологічну небезпеку складає кров і сперма, яка містить дозу достатню для інфікування.

Зараження проходить статевим шляхом, трансплацетарно від матері дитині, парентерально (переливанням крові і її препаратів, використання інфікованих медінструментів і ін.).

Джерелом інфекції може бути як чоловік, так і жінка при різних статевих стосунках, при статевих стосунках з різними чоловіками, безладному статевому житті, зносинах в період менструацій.

Описані випадки інфікування ниркових трансплантатів, а також жінок при штучному запліднені. Випадки повітряно-краплинного шляху (через слину) не доведено, випадки побутового СНІДу не описані. Роль комарів як переносників не підтвердилась.

Визначені групи ризику: чоловіки-гомосексуалісти, наркомани, які вводять препарати внутрішньовенно, проститутки, особи, які не розбираються в статевих стосунках і які мають велику кількість статевих партнерів, часті реципієнти крові, хворі гемофілією, діти, народжені від інфікованих батьків,

жителі окремих географічних районів (США, країни Центральної Африки, Гаїті). В нас зареєстровані випадки – є хворі.

Існує думка, що джерелом розповсюдження СНІДу серед людей були африканські мавпи, в яких описано подібне захворювання. Цю гіпотезу підтверджує дослід зараження приматів ВІЛ і отримання аналогічної клінічної картини тільки на цій біологічні моделі, так званий мавп'ячий СНІД. Звідти гомосексуалісти перенесли на Гаїті і в США, а звідти в Европу і інші країни світу.

При СНІДі летальність складає 38-65%, через 1 рік - 40%, через 2 роки – 80%, через 3 р – 100%.

Снід проявляється захворюваннями, які раніше рідко зустрічалися: саркома Капоші, лімфоретикулярна неоплазма, і інші пухлини, інфекції викликані пневмоцистами, мікробактеріями, токсоплазмами, кокцидіями, шігелами, нокардіями, грибами роду *Candida*, легіонелами, мікоплазмами і хламідіями.

Особливість перебігу інфекції у хворих СНІДом, обумовлені недостаеністю кліткового імунітету і організму протистояти захворюванню.

ПАТОГЕНЕЗ

Класичний СНІД виникає внаслідок ураження імунної системи вірусним анентом. Пригнічення кліткового імунітету зв'язано з вибірковим ураженням Т-хелперів. При цьому може бути лімфопенія – зниження кількості лімфоцитів. Змінюється відношення між Т-хелперами і Т-супресорами. Відповідно проходить порушення функції Т-лімфоцитів. Менше страдають інші клітини імунної системи – моноцити і макрофаги. Проходить активація В-лімфоцитами, IgA та IgI, що циркулюють, імунних комплексів, утворюються антитіла до лімфоцитів. Починаються аутоімунні процеси з визначеними клінічними проявами.

У зв'язку з неспецифічною активацією В-фагоцитів, у хворих СНІДом порушується здатність до формування первинної специфічної відповіді на введення антигену, що затруднює серодіагностику в ранній період захворювання, вторинний гуморальний імунітет збережений.

В-клітинна активація виражається в збільшенні кількості клітин, які виробляють імуноглобулін. При порушенні регуляції імунітету також свідчать: підвищення рівня кислотолабільного α-інтерферону, α_2-тімозину, β_2-мікроглобуліну, зниження продукції інтерлейкіну2. Ці зміни (порушення Т-клітинного імунітету і збереження В-клітин) не є строго специфічним і можуть бути при інших паталогічних станах і в деяких здорових осіб. Але, все ж таки виявлення таких змін сприяє постановці діагнозу СНІДу.

Клініка. Інкубаційний період класичного СНІДу складає від 2-4 місяців до 5-6 років. До ранніх сиптомів і діагностичних ознак відносять лихоманку невиясненої етіології, лімфоденопатію, загальну слабість, зменшення маси тіла на 10-20%, збільшення лімфатичних вузлів, діарею, кашель, гепатоспленомегалію, зниження рівня лейкоцитів в крові.

За даними ВОЗ для клінічної діагностики СНІДу є: саркома Капоші в осіб молодші 60 р, хронічна діарея більше 2 місяців, яка не піддається лікуванню з

наявністю в калі криптоспорідій, довготривала лихоманка, лімфома ЦНС, хронічна пневмонія, яка не піддається терапії, при виділенні з харкотиння пневмоцист, без причини – зниження маси тіла на 10% і більше, лімфопенія неясної етіології, часті інфекції, викликані умовно-патогенними і патогенними мікроорганізмами (простійші, гельмінти, біктерії, гриби, віруси), особливо мікст-інфекції.

Виключення: імуносупресивна терапія, вроджений імунодефіцит, злоякісні новоутворення, важкі соматичні хвороби.

Для диференціальної діагностики і виробу лікування може бути корисним скурпульозний збір анамнезу, при якому особливу увагу необхідно звертати на епідеміологічні фактори ризику.

Розрізняють такі форми протікання СНІДу:

1) Легенева форма людини – важко дихати, гіпоксія, біль в грудях, при рентгенобстеженні – дифузні інфільтрати. Найчастіше – це пневмонія, викликана пневмоцистою Каріні – *Pneumocystis Carinii.*

   Аналогічну картину дають інфекції, викликані легіонелами – *Legionella pneumophila* цитомегаловірусом.
2) Церебральний тип – абсцесс мозку, який викликаний *Toxoplasma gondii*, криптококовий менінгіт, прогресуюча багатовогнищева лейкоенцефалопатія, підгострий енцефаліт, обумовлений цитомегаловірусом і іншими інфекціями, опухолевими процесами (лімфома головного мозку), судинними ускладненнями (небактеріальний тромботичний ендокардит і крововилови в головний мозок, зв'язані з тромбоцитопенією), а також ураженням ЦНС з вогнищевими порушеннями головного мозку і доброякісним асептичним менінгітом.
3) Шлунково-кишкова форма – яка супроводжується діареєю і зниженням маси тіла, зв'язана з інфекціями, викликаними *Cryptosporidium* простійшими і іншими мікроорганізмами. Діарея, як правило, погано піддається лікуванню, які проводять протягом 2-3 місяців.
4) Дисемінований тип (форма) – характеризується стійкою лихоманкою неясного походження. При цьому спостерігається стоматит, субфебрільна температура тіла, піт вночі, недомагання, слабість, загублення маси тіла на 10-15 кг. Деколи розвиваються генералізовані процеси, обумовлені грипами.
5) Саркома Капоші – виявлена у 30% хворих СНІДом – рідкісна форма пухлин судинних стінок, яка локалізується на шкірі, а пізніше метастазує в лімфатичну систему за типом злоякісного ретикульозу. В цих хворих розвиваються інфекції, які викликаються умовно-патогенними мікроорганізмами.

Можуть спостерігатися і інші клінічні симптоми: ураження шкіри і слизових оболонок, порушення гостроти зору, помутніння сітківки ока. Характерне – депресія і почуття відчуженості.

В дітей клінічні прояви такі ж самі, як і в дорослих, але найбільш часто – це є хронічна діарея, анемія і стоматит, які сповільнюють ріст і розвиток дитини.

ДІАГНОСТИКА

Прояви СНІДу різноманітні і це затруднює діагностику. Заснована діагностика на оцінці імунного статусу хворих – імунодіагностика. У всіх хворих вибірково уражується Т-клітинний імунітет і Т-залежна імунна відповідь. В-система лімфоцитів або не змінена абоактивізована. У хворих визначають кількість Т-лімфоцитів, а пізніше їх функцію. При лабораторному дослідженні крові виявляється лімфопенія, гіпергаммаглобулінемія з збільшенням в крові циркулюючих імунних комплексів. Виявлення ВІЛ можливе лише у лабораторіях обладнаних для роботи з збудниками I та II груп мікрорганізмів, до того ж на пізніх стадіях протікання захворювання виділяється рідко.

Антитіла до вірусу визначаються не раніше ніж через місяць після інфікування і також можуть щезати на пізніх стадіях хвороби. Для виявлення антитіл використовують радіоімунопреципітації, імунофлюресценції, імуноферментний метод.

Для підтвердження специфічності вказаних методів використовують метод імуноблотінгу ("вестерн-блот") – це зустрічна преципітація в гелі антитіл сироватки хворого з різними вірусними білками, які розділені за молекулярною масою за допомогою електрофорезу у вертикальному блоці поліакріламідного гелю і пізніше нанесеними на нітроцелюльозну мембрану.

Можливе застосування реакції нейтралізації.

Наявність антитіл без клінічних ознак є доказом СНІДу чи ознакою його розвитку.

ЛІКУВАННЯ

Противірусні препарати: азидотімідин, аденінарабінозид, рибавірін, інтерферон, сурамін (трипаносомоз); великі надії на інтерферон, його синтетичний аналог – реаферон, отриманий методом генної інженерії іфективний при розвитку саркоми Капоші.

Лікування ведеться в трьох напрямках:

1. Використання засобів, які вбудовуються у вірусну частинку і інфіковані ним клітини, що зупиняє розмноження вірусу (азидотімидин, сурамін, рибавірин).
2. Імуностимуляція чи імунореконструкція з застосуванням інтерферону, реаферону, інтерлейкіну-2, персадження кісткового мозку, трансплантації лейкоцитів.
3. Дія на аутоімунний компонент, який продукує вірус, шляхом назначення циклоспоріну А і ін.засобів. Доцільно проведення імуностимулюючої і імунозамісної терапії, використовують препарати вилочкової залози: тімалін, тімазин, Т-активін, а також переливання зрілих лімфоцитів і трансплантацію кісткового мозку.

ПРОФІЛАКТИКА

Здоровий спосіб життя, виключення безладних статевих стосунків, саносвітня робота, використання презервативів.

Побутовим шляхом вірус не передається, а тому звичайні контакти з хворими не є небезпечними. Медперсоналу необхідно дотримуватись професійної безпеки, які є обов'язковими при вірусних інфекціях, які передаються з кров'ю і біологічними рідинами. При обстеженні хворих і роботі з матеріалом, підозрілим на інфікованість вірусом СНІДу, необхідно виключити попадання біосубстратів, особливо крові на шкірні покриви здорових осіб. Переливання крові і кровозамінників необхідно проводити після перевірки їх на наявність антитіл до вірусу СНІДу. При цьому рекомендується перевіряти кожну порцію крові, яка використовується для переливання крові, так і для отримання препаратів крові. При парентеральному введенні використовувати стерильний чи разовий шприц.

Жінкам, зараженим ВІЛ, рекомендується переривати вагітність.

З метою профілактики СНІДу у багатьох країнах світу, в тому числі і в нас, введені правила медичного засвідчення на виявлення зараження вірусом СНІДу.

Підлягають особи: донори крові, плазми і інших біологічних рідин, тканин, іноземці, які прибули до нас на навчання чи роботу на термін більше 3 місяців з країн, де за даними ВОЗ є розповсюдження СНІДу, наші громадяни і іноземці, які мали контакт з вірусоносіями чи хворими СНІДом, громадяни, які вертаються з зарубіжних відряджень більше 1 місяця, особи з груп ризику: які отримали багаторазове переливання крові чи її препаратів, які страдають наркоманією, гомосексуалісти, проститутки, хворі з клінічними проявами СНІДу, громадяни, які бажають пройти засвідчення.

Найбільш перспективний напрямок профілактики СНІДу – розробка вакцин проти ВІЛ. Зараз ведуться дослідження по виготовленню вакцин методами генної інженерії.

Питання для самоконтролю

1. Віруси імунодефіциту людини (ВІЛ) належать до:
A. Реовірусів
B. Риновірусів
C. Ретровірусів
D. Ротавірусів
E. Рабдовірусів

2. ВІЛ мають фермент:
A. Ревертазу
B. Декарбоксилазу
C. Трансферазу
D. РНК-полімеразу

E. ДНК-полімеразу

3. Які клітини найчастіше інфікуються ВІЛ ?
A. CD4+ Т лімфоцити
B. CD8+ Т лімфоцити
C. NK клітини
D. В клітини

4. Які патогенетичні механізми ВІЛ інфекції ?
A. Вірусний цитоліз CD4+ Т клітин
B. Утворення синцитію між інфікованими і неінфікованими CD4+ Т клітинами
C. Імунний цитоліз CD4+ Т клітин
D. Все вище приведене

5. ВІЛ може інфікувати:
A. CD4+ Т lлімфоцити
B. Моноцити
C. Клітини мікроглії
D. Всі названі клітини

6. Які бактеріальні інфекції найчастіше мають місце при ВІЛ
інфекції ?
A. Мікобактеріальна інфекція
B. Сальмонельозна інфекція
C. Бартоленозна інфекція
D. Клебсіельозна інфекція

7. Які вірусні інфекції найчастіше спостерігаються при ВІЛ інфекції ?
A. Herpes simplex
B. Varicella-zoster
C. Cytomegalovirus
D. Всі перераховані

8. Які грибкові інфекції найчастіше спостерігаються при ВІЛ інфекції ?
A. Candidi asis
B. Cryptococcosis
C. Aspergillosis
D. Всі перераховані

9. Які паразитарні інфекції найчастіше спостерігаються при ВІЛ інфекції ?
A. Isosporiasis
B. Toxoplasmosis
C. Cryptosporidiosis
D. Всі перераховані

10. Які тести застосовуються для виявлення ВІЛ інфекції ?
A. ІФА
B. Латекс-аглютинації
C. Імуноблот
D. Всі названі

11. Які з названих тестів підтверджують ВІЛ інфекцію ?
A. Виділення вірусу
B. Виявлення антигена p24
C. Виявлення вірусної нуклеїнової кислоти
D. Всі перераховані тести

САНІТАРНО-БАКТЕРІОЛОГІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

В останні роки питання навколишнього середовища та його проблеми вирішуються на основі математичного моделювання.

Одним з факторів, що можуть вплинути на здоров'я людини, є бактерії і віруси, які є у навколишньому середовищі і вивченням їх займається санітарна мікробіологія і вірусологія.

Одним із нових напрямків в медичній науці є охорона навколишнього середовища, в основу якого покладено вивчення несприятливого впливу факторів на людину (в тому числі мікроорганізмів) та розробка рекомендацій, спрямованих на збереження здоров'я.

Історія розвитку та завдання санітарної мікробіології

Санітарна мікробіологія – наука, яка вивчає мікрофлору навколишнього середовища (в тому числі патогенні бактерії і віруси) і процеси, що викликаються її життєдіяльністю, які можуть безпосередньо впливати на здоров'я людей і навколишнє середовище. Санітарна мікробіологія розробляє методи контролю за санітарним станом води, повітря, грунту, харчових продуктів і предметів вжитку.

Початком розвитку санітарної мікробіології можна вважати 1888 рік, коли французький лікар Й.Масе запропонував вважати кишкову паличку показником фекального забруднення води.

З 1919 року охорона здоров'я носить профілактичний напрям. Склалися спеціалізовані інститути, санітарно-гігієнічні факультети в мединститутах, медуніверситетах та академіях в яких гігієнічні дисципліни ставилися на перше місце, їх диференціювали на профільні, з'являлися перші підручники.

Зараз нараховується більше 2000 гігієнічних норм, в яких регламентується несприятливий вплив на здоров'я людини біологічних, хімічних і фізичних факторів. Формування санітарної мікробіології як науки – 30-ті роки XX століття. На ранніх етапах розвитку санітарна мікробіологія

виконувала роль прикладної дисципліни, вирішуючи завдання загальної гігієни і епідеміології.

На сучасному етапі санітарна мікробіологія самостійна наука, яка стоїть на межі трьох дисциплін: мікробіології, гігієни, епідеміології.

Перші в світі підручники з санітарної мікробіології вийшли А.Міллера "Санітарна мікробіологія" в 1935 році, Г.П.Каліни "Санітарна мікробіологія" в 1969 році.

В 1968 році завідуючим кафедрою мікробіології Ленінградського санітарно-гігієнічного мединституту професором Г.Н.Чистовичем було написано перший підручник для студентів "Основи санітарної мікробіології". В І977 році професором А.М.Смірновою було видано методпосібник для студентів "Санітарна мікробіологія". Сформована і санітарна вірусологія. Затверджено цілу низку різних нормативно-технічних документів та наказів згідно з якими працює санітарно-епідеміологічна служба.

Основна роль належить удосконаленню санітарно-гігієнічних норм, правил і державних стандартів, різним підрозділам санепідстанцій СЕС. Вперше СЕС була організована на Україні в 1924 році. Сьогодні працюють спеціалізовані науково-дослідні інститути, які вносять свій внесок в розвиток санітарної мікробіології і вірусології. Це інститут ім. академіка Н.Ф.Гамалеї, інститут вірусології Д.І.Івановського. В 2004 році виповнилося 80-річчя санітарної служби. Вагомий внесок санепідслужби в справі ліквідації деяких інфекційних захворювань (чуми, натуральної віспи, холери), зниження захворювання кишковими інфекціями (черевний тиф**),** поліомієліт завдяки санітарно-гігієнічним заходам, успіхам в справі охорони навколишнього середовища.

Результати досліджень в галузі санітарної мікробіології використовуються в профілактичній і лікувальній медицині, а також в сільському господарстві, промисловості, при будівництві, тощо.

Завдання санітарної мікробіології:

- розробка, удосконалення, оцінка мікробіологічних методів дослідження об'єктів навколишнього середовища – води, повітря, грунту, харчових продуктів, предметів вжитку;
- оцінка результатів впливу людини і тварин на навколишнє середовище. Постійне попадання мікроорганізмів в навколишнє середовище привело до утворення так званого нормального взаємообміну мікрофлорою людини, тварин і оточуючого середовища. При оцінці значна увага приділяється вивченню порушень процесів природного самоочищення води, грунту, які викликані виробничою діяльністю людини або невірним очищенням та знешкодженням відходів та стічних вод;
- розробка держстандартів, методичних вказівок та інших норм, які визначають відповідність мікрофлори об'єктів навколишнього середовища гігієнічним вимогам, включаючи мікробіологічні показники;

- розробка рекомендацій, заходів з оздоровлення навколишнього середовища і контроль за їх виконанням.

Лікарі-гігієністи беруть участь в проведенні попереджуючого і текучого санітарного нагляду за якістю водопостачання, розробці правил, нагляд за роботою харчової і торгової мережі, за правильним і ефективним знешкодженням стічних вод і відкидів.

Охорона навколишнього середовища – це новий напрям в гігієні – гігієна навколишнього середовища, яка покликана всесторонньо вивчати закономірності взаємодії людини з факторами навколишнього середовища та розробляти рекомендації із збереження здоров'я людини на 20-30 років вперед.

Санбаклабораторії та їх обладнання

Санбаклабораторії входять до складу СЕС як самостійні структурні одиниці. Предметом дослідження в санбаклабораторіях є: вода питна, відкритих водоймищ, стічні води; повітря операційних, пологових будинків, дитячих ясел, палат, лікарень, аптек, дитячих садків, шкіл, кінотеатрів та інших приміщень; лікарські препарати для ін'єкцій, очні краплі, дистильована вода аптек; грунт – при будівництві дитячих закладів, комунальних споруджень, деяких інших об'єктів і за епідпоказами; хірургічний матеріал на стерильність; харчові продукти при харчових отруєннях; предмети вжитку, інвентар, обладнання підприємств громадського харчування, торговельних закладів, руки персоналу перерахованих підприємств.

Санбаклабораторія складається з таких приміщень: кімната для бакдослідження, для варіння середовищ, автоклавна, для миття посуду, матеріальна, віварій, реєстратура, кабінет завідуючого, бокс з передбоксником (бактерицидні лампи, стіни пофарбовані масляною фарбою або викладені плиткою І,7м, підлога покрита лінолеумом, столи з пластиком).

На робочому місці: бакпетля, штатив для пробірок, скельця, фарби, лоток з рейками, імерсійна олія, фільтрувальний папір, банки з дезрозчином, піпетки пастерівські і градуйовані, шпателі, пінцет, ножиці, скальпель, стерильні пробірки, фарби, олівці для скелець, газові або спиртові пальники, мікроскоп.

Правила і режим роботи такий самий як і в інших мікробіологічних лабораторіях. Необхідно також пам'ятати, що між патогенністю і непатогенністю мікроорганізмів немає різкої межі. Наприклад: збільшення захворювань, викликаних умовно-патогенними мікроорганізмами та їх роль в патології людини, особливо в етіології внутрішньолікарняних інфекцій.

Санітарно-показникові мікроорганізми

Санітарно-мікробіологічні дослідження об'єктів навколишнього середовища вирішують питання про наявність або відсутність в них небезпечних для людини мікроорганізмів.

Порожнини тіла людини і тварин заселені великою природньою

мікрофлорою, яка є постійною за якісним складом і порівняно мало змінюється при інфекційних захворюваннях. Для багатьох видів мікроорганізмів єдиним природнім середовищем знаходження є вміст порожнини рота або кишківника.

А тому, якщо ми їх знаходимо поза організмом – це свідчить про забруднення відповідними виділеннями. Якщо ж в досліджуваному матеріалі знаходимо представників мікрофлори порожнини рота, ми маємо можливість думати про попадання слизу з дихальних шляхів, в якому можуть бути збудники дифтерії, скарлатини, туберкульозу та інших; а при знаходженні нормальних представників кишківника, ми даємо заключення про наявність фекального забруднення, а також можливих черевнотифозних, дизентерійних паличок, збудників інших кишкових нфекцій.

Виділені в таких випадках мікроорганізми є показниками санітарної небезпеки досліджуваних об'єктів, а тому вони названі "санітарно-показниковими". Але не всі вони можуть бути санітарно-показниковими.

Вимоги, яким повинні відповідати санітарно-показникові мікроорганізми:

- вони повинні постійно міститися у виділеннях людини і теплокровних тварин та надходити в навколишнє середовище у великих кількостях;
- вони не повинні мати іншого природного резервуару, ніж організм людини або тварин;
- після виділення в навколишнє середовище, вони повинні зберігати життєздатність таких термінів, які близькі до термінів виживання патогенних мікробів, які виводяться з організму такими ж шляхами;
- вони не повинні розмножуватись в навколишньому середовищі;
- вони не повинні значно змінювати свої біологічні властивості в навколишньому середовищі;
- повинні бути достатньо типовими, з тим щоб їх диференціальна діагностика здійснювалась без особливої складності;
- індикація, ідентифікація і кількісний облік повинні проводитись сучасними, легко доступними і економними мікробіологічними методами;

Кишкову паличку довгий час вважали індикатором фекального забруднення, а зеленіючий стрептокок – показником повітряно-краплинного забруднення. Кишкова паличка – це постійний житель товстого кишківника людини і теплокровних тварин, яка виділяється в навколишнє середовище з фекаліями. Її стійкість і виживання перевищує властивості патогенних ентеробактерій, не розмножується ні у воді, ні у грунті.

БГКП – бактерії групи кишкових паличок визначаються бактеріологами всього світу основним показником фекального забруднення та індикатором епідеміологічної небезпеки об'єктів навколишнього середовища.

Зараз в категорію санітарно-показникових мікроорганізмів (індикаторних) включені:

представники кишкової мікрофлори людини

- БГКП, ФКП (фекальні кишкові палички), до яких в основному відноситься кишкова паличка;
- ентерококи, основна різновидність *S. faecalis;*
- клостридії анаеробної інфекції *C. perfringens;*
- бактерії групи протею;
- термофіли;
- стрептококи, стафілококи.

Санітарно-показникові мікроорганізми об'єктів навколишнього середовища

Вода – БГКП, ентерококи, стафілококи, віруси.
Грунт – БГКП, ентерококи, клостридії, термофіли.
Повітря – стрептококи, стафілококи, кишкова паличка, сальмонели.
Предмети вжитку – БГКП, стафілококи, ентерококи.
Харчові продукти – БГКП, ентерококи, стафілококи, бактерії групи протею.

Принципи і методи санітарно-мікробіологічних досліджень

1. Вірно взяти пробу, дотримуючись всіх правил регламентованих для кожного об'єкту та правил стерильності, швидко провести аналіз або зберегти матеріал лише в холодильнику та не більше 6-8 годин. Кожна проба повинна мати скерування (направлення) в якому вказується назва досліджуваного матеріалу, номер проби, час, місце взяття, характеристика об'єкту, підпис особи, яка взяла пробу.

2. Проведення серійних аналізів. Беруть серію проб з різних частин досліджуваного об'єкту, велику кількість (за можливістю). Всі проби змішують, відміряють необхідну кількість матеріалу – *середнє* по відношенню до досліджуваного матеріалу в цілому.

3. Повторний відбір проб. Так як мікроби нерівномірно розташовуються і це дає можливість визначити біологічну контамінацію об'єктів навколишнього середовища.

4. Застосування стандартних та уніфікованих методів дослідження, затверджених відповідними держстандартами та інструкціями, що дає можливість одержання порівняльних результатів аналізів в різних лабораторіях.

5. Використання комплексу тестів для отримання різносторонньої санітарно-мікробіологічної характеристики. Використовуються прямий і непрямий методи. До непрямого методу відноситься визначення загального мікробного числа, кількісного і якісного складу санітарно-показникових мікроорганізмів.

6. Проведення оцінки досліджуваних об'єктів за сокупністю отриманих результатів.

7. Відповідальність лікарів санітарної служби за точність висновків про стан досліджуваного об'єкту. При цьому лікарі користуються інструкціями, нормами, держстандартами.

Методи санітарно-мікробіологічних досліджень:

Для отримання характеристик об'єктів навколишнього середовища використовують комплекс тестів:

- визначення загальної мікробної забрудненості (загального мікробного числа);
- визначення і титрування санітарно-показникових мікроорганізмів;
- індикація в досліджуваних об'єктах патогенних мікроорганізмів та їх токсинів;
- визначення ступеня мікробного псуття об'єктів або продуктів, які досліджують.

Мікробне число характеризується кількістю мікробів в 1 $см^3$ води, рідини або в 1 г твердої речовини. Існує два методи визначення мікробної забрудненості: метод прямого підрахунку і метод кількісного посіву різних розведень зразків і проб досліджуваного об'єкту.

1. Прямий підрахунок проводиться під мікроскопом, в підрахункових камерах Горяєва або за допомогою приладу для підрахунку колоній бактерій.
2. Другий метод – метод кількісного посіву досліджуваного матеріалу на щільні живильні середовища. З виготовлених серійних десятикратних розведень досліджуваної рідини або суспензії (з більших розведень) по 1 $см^3$ переносять в стерильні чашки Петрі і заливають агаром розтопленим і остудженим до 45°С. Після інкубування підраховують число колоній, що виросли з обліком розведень, вираховують число життєздатних мікробів в одиниці об'єму дослід-жуваного об'єкту.

Виявлення санітарно-показникових мікробів є також другорядним показником біологічної контамінації оточуючого середовища патогенними мікроорганізмами.

Кількісний їх облік свідчить про ступінь вмісту санітарно-показникових мікробів, а відповідно і про ступінь забруднення, що дає можливість передбачити присутність тих або інших патогенних мікробів. Для кількісних аналізів застосовують дві групи методик: визначення титру і індексу.

Титр – це той найменший об'єм досліджуваного матеріалу (в $см^3$) або вагова кількість (в г) в якому виявлена хоча б одна особина санітарно-показникового мікроорганізму. Наприклад: для визначення титру кишкової палички у воді засівають декілька різних об'ємів 100, 10, 1, 0,1 $см^3$ в рідкі цукрові живильні середовища. Розмноження в них кишкових паличок реєструється за наявністю бродіння (розщеплення вуглеводу до кислоти або до кислоти і газу). Пересів на щільні диференціально-діагностичні середовища та ідентифікація колоній, які виросли, дозволяє відмітити об'єми, в яких присутня кишкова паличка. За допомогою таблиць держстандарту визначають колі-титр.

Індекс - це кількість особин санітарно-показникового мікроорганізму,

виявленого у певному об'ємі (кількості) досліджуваного об'єкту. Для води, молока, рідких продуктів – в 1дм^3 (л), для грунту і харчових продуктів – в 1 г. Індекс – величина зворотня титру і навпаки, можна проводити за формулою визначення титру = $\frac{1000}{\text{індекс}}$, індекс = $\frac{1000}{\text{титр}}$ (1000 см^3 – це 1 дм^3)
для грунту і харчових продуктів титр = $\frac{1}{\text{індекс}}$; індекс = $\frac{1}{\text{титр}}$

Індекс визначають шляхом застосування мембранних фільтрів або посівом розведень досліджуваних субстратів на щільні живильні середовища, на яких ведеться підрахунок колоній, які виросли.

При вивченні патогенних мікроорганізмів та їх токсинів прямий пошук патогенних мікробів в навколишньому середовищі використовується в тих випадках, коли є класичні методи виявлення малих кількостей патогенних мікробів та їх токсинів.

Патогенні мікроорганізми в навколишньому середовищі

Попадають в навколишнє середовище з виділеннями людини і тварин, хворих, носіїв, а також з трупами людей, які загинули від інфекційного захворювання. Забруднення мікробами води і грунту проходить в результаті попадання господарсько-фекальних стічних вод, побутових, з інфекційних лікарень, з різних підприємств, боєнь м'ясокомбінатів, фабрик з обробки шкір тварин.

Небезпека контамінації води водоймищ пов'язана з недостатнім механічним і біологічним очищенням стічних вод. Повинна бути висока епідеміологічна пильність у відношенні кишкових інфекцій, викликаних ешерихіями, сальмонелами, шигелами, холерними вібріонами, які можуть певний час зберігатися в навколишньому середовищі.

Серед факторів передачі кишкових інфекцій особливе місце займає вода, водні спалахи (епідемії) охоплюють велику кількість осіб. В розповсюдженні кишкових інфекцій беруть участь харчові продукти, які можуть бути заражені брудними руками бактеріоносіїв, що працюють на харчових підприємствах, мухами, гризунами.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ:

Борисов Л.Б. Медицинская микробиология, вирусология, иммунология. – М. Медицинское информационное агенство, 2007, 735 с.

Воробьев А.А. и др. Микробиология. – М. Медицина, 1999, 464 с.

ВоробьевА.А., Быков А.С. Атлас по мидицинской микробиологии, вирусологии и иммунологии. – М. МИА, 2003, 232 с.

Гудзь С.П., Перетятко Т.Б., Павлова Ю.О. Загальна вірусологія. Л.: Видавничий центр ЛНУ імені Івана Франка, 2010.

Климнюк С.І., Ситник І.О., Широбоков В.П. Практична мікробіологія: навчальний посібник. — Вінниця: Нова книга, 2018.

Климнюк С.І. та інші. Практична мікробіологія. – Т. Укрмедкнига, 2004, 438 с.

Люта В.А., Заговора Г.І. Основи мікробіології, вірусології та імунології. – К. Здоров'я, 2001, 278 с.

Люта В.А., Кононов О.В. Мікробіологія з технікою міробіологічних досліджень та основами імунології. – К. Здоров'я, 2006, 510 с.

Федорович У.М. Спеціальна мікробіологія, ч.1. – Л. Електронний посібник, 2016, 159 с.

Федорович У.М. Спеціальна мікробіологія, ч.2. – Л. Ахіл, 2001, 475 с.

Федорович У.М. Спеціальна мікробіологія, ч.3. – Л. Ахіл, 2008, 195 с.

Діючі накази з лабораторної діагностики інфекцій.

Банк тестів з дисципліни мікробіологія.