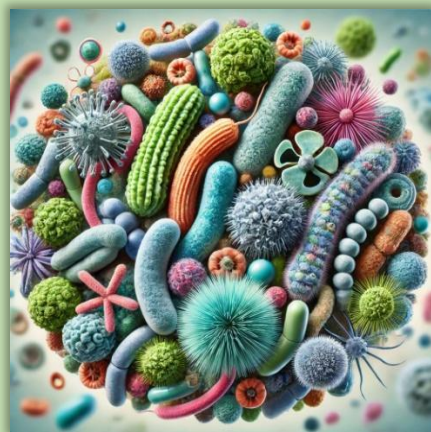
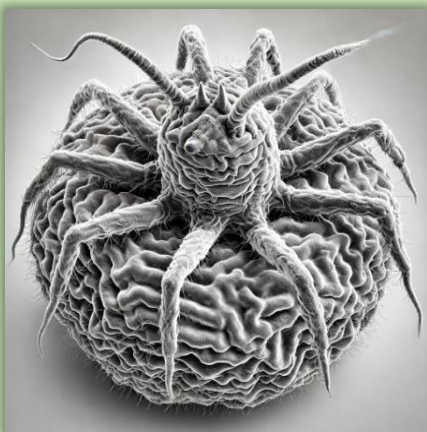
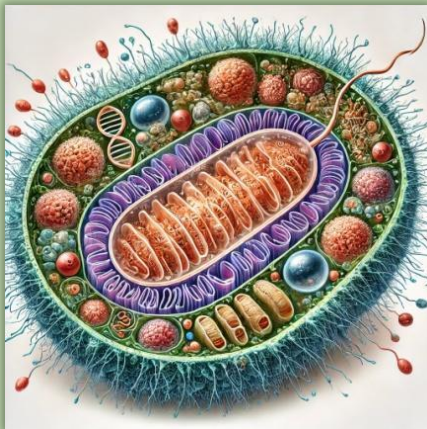


Сойка Л.Д., Федорович У.М., Менів Н.П., Вінярська М.С.

МІКРОБІОЛОГІЯ З ВІРУСОЛОГІЄЮ ТА ОСНОВАМИ ІМУНОЛОГІЇ

Загальна мікробіологія



Львів – 2025

УДК 616-094. 579.2

*Рекомендовано Методичною радою
КЗВО ЛОР «Львівська медична академія імені Андрея Крупинського»
як електронний навчальний посібник
Протокол № 4 від 11.03.2025 р.*

Рецензенти:

Корнійчук О.П. – мікробіолог, доктор медичних наук ФПДО ЛНМУ ім. Данила Галицького.

Федечко Й.М. – кандидат медичних наук, доцент КЗВО ЛОР «Львівська медична академія імені Андрея Крупинського».

Автори:

Сойка Лариса Дмитрівна – канд.хім.наук, доцент, проректор з навчальної роботи КЗВО ЛОР «Львівська медична академія ім. Андрея Крупинського».

Федорович Уляна Михайлівна – спеціаліст вищої категорії, викладач-методист, заслужений працівник освіти України, відмінник освіти України, завідувач кафедри Лабораторної медицини КЗВО ЛОР «Львівська медична академія ім. Андрея Крупинського».

Менів Наталія Павлівна – спеціаліст I категорії, викладач кафедри Лабораторної медицини.

Вінярська Марія Степанівна - спеціаліст I категорії, викладач кафедри Лабораторної медицини.

Сойка Л.Д., Федорович У.М., Менів Н.П., Вінярська М.С. Мікробіологія з вірусологією та основами імунології: посібник. Львів : КЗВО ЛОР «Львівська медична академія ім. Андрея Крупинського», 2025. 173 ст.

У посібнику «Мікробіологія з вірусологією та основами імунології» описані основні види мікроорганізмів (бактерії, віруси, гриби), їх взаємодія з організмом людини, механізми виникнення інфекційних захворювань, шляхи передачі збудників, методи діагностики, профілактики та терапії інфекційних хвороб.

Посібник включає: лекції, методичні рекомендації до практичних занять, завдання для самостійної позааудиторної роботи студента. Для активізації розумової діяльності здобувачам освіти в кінці кожного практичного заняття подано перелік питань для самоконтролю, тестові завдання та ситуаційні задачі. Для здобувачів медичних закладів вищої освіти.

УДК 616-094. 579.2

© Сойка Л.Д., Федорович У.М., Менів Н.П., Вінярська М.С., 2025

© КЗВО ЛОР «Львівська медична академія
ім. Андрея Крупинського»

ЗМІСТ

1	Передмова.....	4
2	Лекція 1. Вступ до мікробіології. Морфологія і фізіологія мікроорганізмів.....	5
3	Лекція 2. Поширення мікроорганізмів у природі. Вплив факторів довкілля на мікроорганізми.....	28
4	Лекція 3. Віруси бактерій (бактеріофаги). Генетика мікроорганізмів. Антибіотики. Хіміотерапія і хіміопрофілактика інфекційних хвороб.....	40
5	Лекція 4. Вчення про інфекцію.....	53
6	Лекція 5. Вчення про імунітет.....	60
7	Лекція 6. Специфічна імунопрофілактика та імунотерапія інфекційних хвороб. Вчення про алергію.....	76
8	Практичне заняття 1. Організація і обладнання бактеріологічної лабораторії. Мікроскопічний метод дослідження.....	89
9	Практичне заняття 2. Бактеріологічний метод дослідження.....	103
10	Практичне заняття 3. Дезінфекція. Стерилізація.....	122
11	Практичне заняття 4. Імунологічний метод дослідження. Дослідження імунного статусу людини. Експрес-методи діагностики.....	136
12	Практичне заняття 5. Методи алергодіагностики. Вакцини. Сироватки.....	149
13	Самостійна робота 1. Внесок вітчизняних вчених в розвиток медичної мікробіології, імунології, вірусології.....	160
14	Самостійна робота 2. Особливості забору, транспортування матеріалу при інфекційних захворюваннях.....	163
15	Самостійна робота 3. Мікроскопія мазків з різними морфологічними групами мікроорганізмів.....	165
16	Самостійна робота 4. Забір змивів з об'єктів довкілля, проб води, повітря.....	166
17	Самостійна робота 5. Аналіз антибіотикограм.....	169
18	Самостійна робота 6. Імуномодулятори.....	170
19	Література. Електронні ресурси	172

ПЕРЕДМОВА

Знання з мікробіології, вірусології та імунології є фундаментальним для медичних сестер/братів, оскільки допомагають їм забезпечувати якісний догляд, захищати пацієнтів від інфекцій і сприяти здоров'ю суспільства загалом.

Медичний персонал у догляді за пацієнтом чи виконанні маніпуляцій повинні оволодіти знаннями щодо різноманітності збудників інфекційних хвороб (бактерій, вірусів, грибів), дотримуватись правил інфекційного контролю, що відіграють ключову роль у розповсюдженні інфекції, що пов'язані з наданням медичної допомоги (ІПНМД) у закладах охорони здоров'я, бути ознайомленими з проблемою антибіотикорезистентності та причинах її виникнення, а також правилами проведення імунопрофілактики населенню, що викладені у даному посібнику.

Для ефективного освітнього процесу у даному електронному виданні зібрано текстові лекції, методичні рекомендації до практичних занять, завдання для самостійної позааудиторної роботи студента. Посібник укладено відповідно до типової та робочої навчальної програм з освітнього компонента «Мікробіологія з вірусологією з основами імунології».

Після кожного практичного заняття для кращого засвоєння знань та активізації розумової діяльності, здобувачам освіти пропонуються питання для самоконтролю, тестові завдання та ситуаційні задачі.

Посібник сприяє розвитку розумових здібностей, стимулює пам'ять і увагу, формує основу для професійної діяльності, допомагає глибше засвоїти освітній матеріал і може бути корисним помічником для здобуття знань і подальшого вивчення фахових освітніх компонентів.

Мета посібника:

- сприяння розвитку творчих здібностей та активізація розумової діяльності студентів;
- формування потреби безперервного самостійного поповнення знань;
- поглиблене вивчення дисципліни;
- самостійна робота, як результат морально-вольових зусиль особистості.

Завдання посібника:

- навчити студентів самостійно працювати з літературою;
- творчо сприймати навчальний матеріал і його осмислювати;
- прищепити навички щоденної самостійної роботи в одержанні та узагальненні знань.

ЛЕКЦІЯ №1

Тема: «ВСТУП ДО МІКРОБІОЛОГІЇ. МОРФОЛОГІЯ І ФІЗІОЛОГІЯ МІКРООРГАНІЗМІВ»

ПЛАН

1. Мета і завдання мікробіології. Історія розвитку.
2. Класифікація та номенклатура мікроорганізмів.
3. Морфологічна характеристика бактерій, грибів, спірохет, найпростіших, рикетсій, вірусів.
4. Фізіологія мікроорганізмів.
5. Інновації в мікробіології.

ЗМІСТ

1. Мета і завдання мікробіології. Історія розвитку

Світ мікроорганізмів дуже різноманітний, вони є скрізь: у воді, повітрі, ґрунті, харчових продуктах, в організмі людини, тварин.

Мікробіологія – (від грецького *micro*-малий, *bios*- життя, *logos*- вчення) – це наука про дуже дрібні, невидимі неозброєним оком живі істоти, названі мікроорганізмами. Вона вивчає закономірності їх життя і розвитку, а також зміни, які вони спричиняють в організмі людей, тварин, неживій природі.

Відповідно до потреб суспільства мікробіологія диференціювалась на: загальну, промислову, медичну, санітарну, сільськогосподарську, ветеринарну, космічну, морську. На основі мікробіології виникли самостійні наукові дисципліни, такі як: вірусологія, імунологія, мікологія, паразитологія, які мають власні об'єкти і методи дослідження.

Медична мікробіологія – вивчає мікроорганізми, які є збудниками інфекційних хвороб, ПНМД. Вивчає систематику, номенклатуру і класифікацію мікроорганізмів, їх морфологію, фізіологію, генетику, роль в етіології і патогенезі інфекційних захворювань. Розробляє методи їх лабораторної діагностики, специфічного лікування і профілактики.

Мікробіологія має спеціальні методи дослідження: мікроскопічний, мікробіологічний, біологічний, серологічний, молекулярно-генетичний.

Мета і завдання медичної мікробіології, вірусології та імунології: запобігання, зниження захворюваності і ліквідація інфекційних захворювань.

В практичній діяльності медичного фахівця необхідні знання з мікробіології, вірусології, імунології. Повинні мати чітке уявлення про світ мікроорганізмів, поширення їх в природі, про роль патогенних мікроорганізмів в розвитку інфекційного процесу і імунної відповіді; мати уявлення про патогенез та клініку інфекційних захворювань, особливості забору біологічного матеріалу на дослідження від пацієнта та його транспортування в лабораторію для дослідження, первинний посів матеріалу на поживні середовища, охорона праці під час роботи зі збудниками інфекційних хвороб.

Історичний нарис розвитку мікробіології

Мікробіологія, як і будь-яка інша наука, має свою історію.

Багато тисячоліть налічує історія людської культури. Вже у творіннях стародавніх цивілізацій – єгипетської, грецької, римської, китайської – знаходимо зародки біологічних наук, початки примітивних, але досить конкретних медичних знань.

Отже, справедливо вважають, що медицина така ж стара, як і саме людство. Мікробіологія ж є порівняно молодою наукою. Вона налічує понад 150 років.

Однак, людству були відомі процеси гниття і бродіння, ще задовго до відкриття мікроорганізмів. Ці процеси використовувались для виготовлення вина, кислого молока, кумису, хліба та інших продуктів.

На ранніх етапах становлення медицини лікарі та дослідники природи Гіпократ (460-377 рр. до

н.е.), Пліній (23-75 рр.н.е.), Гален (131-211 рр.н.е.) та інші висловлювали гіпотези про живу природу збудників інфекційних захворювань.

Авіцена (980-1037рр.н.е.) писав у "Каноні медицини" про те, що причиною чуми, віспи та інших хвороб є невидимі простим оком найдрібніші живі істоти, що передаються через воду та повітря.

З розвитком фізики, хімії та медицини в епоху Відродження і період промислової революції XVII - XVIII ст. у Західній Європі почали нагромаджуватися спостереження і наукові дослідження про сутність інфекційних хвороб.

На початку XVII ст. завдяки успіхам оптики дослідники відкрили раніше невідомий світ найдрібніших мікроорганізмів. В 1590 р. шліфувальники стекол Ганс і Захарій Янсени сконструювали із збільшувальних скелець прилад, що давав змогу бачити найдрібніші предмети.

В 1609-1610 рр. Г. Галілей виготовив перший простий мікроскоп.

У 1617-1619 рр. з'явився дволінзовий мікроскоп з опуклим об'єктивом і окуляром, винахідником якого, як вважають був фізик К. Дребель. Цей мікроскоп використовували для дослідження клітин рослинних і тваринних тканин, а також найдрібніших живих організмів.

В розвитку мікробіології розрізняють такі періоди: *морфологічний, фізіологічний, хіміотерапевтичний, імунологічний, вірусологічний, молекулярно-генетичний.*

Першим побачив і описав мікроорганізми **Антоній Левенгук** (1632-1723). Розглядаючи за допомогою лупи і мікроскопу різні настої, зубний наліт, випорожнення, він описав «живі звірятка». Він видав працю «Тасмниці природи, відкриті Антонієм Левенгуком». Він не тільки безперечно першим виявив мікроорганізми, а й дуже ретельно змалював їх. Відкриття А.Левенгука викликали інтерес у багатьох вчених і стали поштовхом до вивчення мікросвіту.

За глибоке вивчення чуми українського вченого **Данило Самойловича** (1724-1805) було обрано почесним членом багатьох західноєвропейських академій. Спираючись на багатий досвід боротьби з чумою, він дійшов до висновку, що для запобігання цьому захворюванню треба вводити в організм ослаблене «заразний початок». Щоб довести правильність свого припущення, він самовіддано здійснив дуже небезпечний дослід, прищепивши собі в 1771 р. заразний матеріал, взятий від людини, яка переохворіла на бубонну форму чуми.

Англійський лікар **Едвард Дженнер** (1749-1823) у 1796 р. довів, що прищеплення людям збудника коров'ячої віспи захищає їх від зараження натуральною віспою. Запропонований метод вакцинації озброїв медицину могутнім засобом для успішної боротьби з цим тяжким захворюванням.

З ім'ям геніального французького вченого, хіміка і мікробіолога **Луї Пастера** (1822-1895) пов'язані найважливіші відкриття в галузі мікробіології. Він довів ферментативну природу спиртового, молочнокислого і маслянокислого бродіння, виявив у деяких бактерій новий (анаеробний) тип дихання. Встановив, що гниття, а також гнійні захворювання в людини спричиняються діяльністю певних видів мікроорганізмів.

Велике значення мають праці Л. Пастера про хвороби вина, пива, шовковика та заходи боротьби з ними. Його дослідження започаткували застосування профілактичних щеплень. Він виготовив вакцини проти курячої холери, сибірки і сказу. Довів, що самовільного зародження живих істот не буває.

Праці Л.Пастера стали основою для розвитку медичної мікробіології. Учніми і послідовниками Л.Пастера були Е.Ру, А.Іерсен, Ж.Борде, А.Кальмет, Ш.Герет. У Пастерівському інституті в Парижі працювали І. Мечніков, С. Виноградський, М.Гамалія, А. Безредько та ін.

Джозеф Лістер (1827-1912) британський хірург, запровадив у хірургії принцип антисептики (знезаражування ран хімічними дезінфікуючими засобами).

Німецький вчений **Роберт Кох** (1834-1910) озброїв мікробіологію новими методами дослідження, ввів у практику лабораторної техніки густі живильні середовища (картопля, желатин, м'ясо-пептонний агар (МПА), анілінові фарби, імерсійну систему мікроскопа.

Завдяки удосконаленню техніки і методики мікробіологічних досліджень Р.Кох довів етіологію сибірки і холери, відкрив збудників туберкульозу, виготовив із туберкульозних бактерій туберкулін. За відкриття збудника туберкульозу нагороджений Нобелівською премією.

Успіхи медичної мікробіології у з'ясуванні етіології інфекційних захворювань зумовили необхідність вивчення захисних реакцій організму на дію інфекційних агентів. У розробку даного питання великий внесок зробив видатний вчений **Ілья Мечников** (1845-1916).

Класичні праці І. Мечникова лягли в основу вчення про фагоцитоз, також вивчав кошикову мікробіоту людини та її вплив на старіння. Саме завдяки йому йогурт став популярним у Європі. Вивчав збудника холери, туберкульозу, сифілісу та інших хвороб. Працював у видатних наукових центрах Європи, зокрема в Інституті Пастера в Парижі.

Вчення про фагоцитоз стало основою для розуміння сутності запалення. І. Мечников довів, що запалення є активною реакцією проти хвороботворних агентів. Він був організатором першої бактеріологічної станції в Одесі. Він створив велику школу мікробіологів (Г.М.Габричевський, А.М.Безредько, Л.О.Тарасевич, І.Г.Савченко, Д.К.Заболотний, Ф.Я.Чистович, М.Ф.Гамалія та ін).

Одночасно з І. Мечниковим механізм несприйнятливості до інфекційних захворювань вивчав німецький дослідник **Пауль Ерліх** (1854-1915), який створив теорію гуморального імунітету. За розробку вчення про імунітет І. Мечникову і П. Ерліху присуджено Нобелівську премію (1908).

Лев Семенович Ценковський (1822-1887) творчо використавши метод Пастера, розробив оригінальні вітчизняні сибіркові препарати (вакцини Ценковського), одержав високоякісну вакцину для профілактики сибірки. Вони швидко завоювали популярність і успішно застосовувались в Україні протягом 85 років, рятуючи отари овець та інших тварин від згубних епізоотій сибірки. Довів, що утворення при цукроварнях слизуватої маси зумовлене *Leuconostoc mesenteroides*, і розробив спосіб запобігання цьому шкідливому процесові при виробництві цукру.

Федір Леш (1840-1903) лікар, бактеріолог, паразитолог, професор Київського університету виявив амеби у випорожненнях хворого на дизентерію, ідентифікував як *Entamoeba coli* і *Entamoeba histolytica*.

Внесок українських вчених у розвиток мікробіології

При вивченні історії розвитку мікробіології велика увага надавалась ролі європейських вчених – мікробіологів.

Досягнення українських вчених або замовчувалися, або ж їх вважали російськими.

На межі XIX- XX століть в Україні формувались цілі школи мікробіологів (одеська, київська, харківська), які збагатили мікробіологічну науку важливими відкриттями.

Патріархом українських мікробіологів був І.І.Мечников.

Сергій Михайлович Виноградський (1856-1953) засновник сільськогосподарської мікробіології. Відкрив нітрофікуючі бактерії, вивчав їх значення в кругообігу азоту в природі. Виявив азотофіксуючі бактерії, сіркобактерії, залізобактерії. З'ясував їх роль в кругообізі речовин в природі.

Данило Кирилович Заболотний (1866-1929) – зробив цінний внесок своїми дослідженнями у вивченні чуми, холери та інших інфекційних хвороб. У 1893 р. разом з **Іваном Григоровичем Савченком** успішно провели героїчний дослід самозараження холерним вібрионом, після попередньої імунізації через рот вакциною з убитих вібрионів. Досліджував епідемії холери в Україні, малярію на Кавказі, дифтерію та дизентерію на Поділлі. У 1920 організував першу кафедру епідеміології в Одесі. Був засновником та президентом Академії Наук України (1928-1929). Організував інститут мікробіології та вірусології в Києві, який названо на його честь.

Микола Федорович Гамалія (1859-1949) заснував разом з Мечниковим в Одесі (1886) другу у світі бактеріологічну станцію. Відкрив парохолерний вібрион, дослідження присвячені вивченню інфекції та імунітету, мінливості бактерій, профілактиці холери, висипного тифу, натуральної віспи,

чуми та ін.

Георгій Михайлович Мінх (1857-1937), **Йосип Йосипович Мочутковський** (1870-1951) в дослідках на собі довели заразність поворотного і висипного тифів, дійшли правильного висновку, що ці хвороби передаються кровососними комахами.

Лев Олександрович Тарасевич (1872-1934) вивчав ефективність профілактичних щеплень проти туберкульозу, методи боротьби з висипним тифом та іншими захворюваннями.

Лев Олександрович Зільбер (1901-1966) відкрив вірус кліщового енцефеліту і розробив метод профілактики цього захворювання, дослідив механізм вірусної трансформації нормальних клітин у злоякісні.

Петро Федорович Здродовський (1864-1937) вивчав малярію, бруцельоз, менінгококову інфекцію, дифтерію, рикетсіози.

Новим етапом у формуванні мікробіології слід вважати розвиток генетики мікроорганізмів, в результаті чого було з'ясовано механізм обміну генетичним матеріалом у бактерій (Дж.Ледерберг, Г.Бідл, Е.Теймур та ін.).

Генетика бактерій і вірусів стала ключовою у виникненні молекулярної біології, найважливішим завданням, якої є вивчення атомно-молекулярної структури білка, нуклеїнових кислот, проявів життєдіяльності організмів у їх найпростішій елементарній формі на рівні молекул.

Сучасні напрями розвитку мікробіології та імунології

Магістральний шлях розвитку сучасної мікробіології та імунології – дослідження молекулярних основ життєдіяльності мікроорганізмів, їх взаємодії з макроорганізмом, клітинних і молекулярних механізмів імунітету. Одночасно досліджуються екологічні зв'язки мікроорганізмів у біосфері в цілому, у людських популяціях і в організмі людини. Актуальною залишається проблема вивчення етіології, патогенезу, лікування і профілактики хвороб, спричинених умовно-патогенними (опортуністичними) мікроорганізмами, зокрема збудниками ПНМД. Важливим напрямком є дослідження властивостей мікроорганізмів у біоплівках (біофільмах), вивчення сигнальних молекул, які забезпечують взаємодію між мікроорганізмами та мікроорганізмів з клітинами макроорганізмів. На основі цих досліджень у галузі *етіології хвороб людини* відкрито нові патогенні агенти – вірус імунодефіциту людини, атипової пневмонії (SARS), хвороби Лайма, хвороби «легіонерів». Доведено роль бактерії *Helicobacter pylori* у розвитку хвороб шлунка. Вивчається значення мікробних факторів у патогенезі атеросклерозу та інших хронічних хвороб. Розкрито природу пріонів (інфекційних агентів, що спричиняють деякі повільні вірусні інфекції).

Патогенез спричинених мікроорганізмами хвороб, зокрема дія мікробних токсинів, вивчається на клітинному і молекулярному рівнях. Досліджуються і механізми вірусного канцерогенезу, від яких залежить розвиток злоякісних пухлин.

У сфері діагностики мікробних процесів розроблено методи аналізу, що дають змогу виявляти мікроорганізми, компоненти мікробних клітин, токсини у нанограмових кількостях. Ці ж методи застосовують для виявлення імунокомпетентних клітин і специфічних антитіл (методики мічених антитіл, зокрема *імуноферментний та радіоімунний аналіз*). Нові діагностичні препарати створюються на основі *моноклональних антитіл*. Розроблено технології аналізу геному мікроорганізмів, нуклеотидних послідовностей нуклеїнових кислот, виявлення геному збудника або його окремих генів (полімеразна ланцюгова реакція).

Нове покоління препаратів для профілактики інфекційних хвороб створюється на основі *молекулярних, генно-інженерних та інженерно-векторних* вакцин. Мікробіологи беруть активну участь у пошуку й апробації нових антибіотиків і антимікробних синтетичних препаратів.

Мікробіологічні дослідження проводять у спеціально обладнаних лабораторіях, які мають відповідати вимогам Державних санітарних правил – Правила облаштування і безпеки роботи в лабораторіях мікробіологічного профілю. Право вести мікробіологічні дослідження надається

ліцензією МОЗ України.

За цільовим призначенням виділяють наукові лабораторії, в яких ведуть науково-дослідну роботу, але можуть вирішувати і практичні завдання.

У мікробіологічних лабораторіях проводять бактеріологічні, вірусологічні і серологічні дослідження біологічного матеріалу від пацієнтів, носіїв інфекцій та осіб, які працюють у системі охорони здоров'я, у торгівлі та закладах громадського харчування. Досліджують також мікробне забруднення довкілля, санітарно-бактеріологічний стан у лікарнях, дитячих закладах, на підприємствах харчової промисловості.

До мікробіологічних лабораторій усіх форм власності висувають вимоги, які унеможливають потрапляння патогенних мікроорганізмів за межі лабораторії. Лабораторії повинні мати відповідну ліцензію та бути акредитованими на виконання певного виду й об'єму досліджень. Для цього необхідна відповідно матеріально-технічна база й кваліфікований персонал.

Практичні мікробіологічні лабораторії працюють у складі:

Державної служби України з питань безпечності харчових продуктів і захисту прав споживачів (Держпродспоживслужба). Вони ведуть дослідження переважно з санітарної мікробіології;

- обласних, районних центрів контролю та профілактики хвороб МОЗ України;
- великих лікарень (клінічні діагностичні лабораторії, завданням яких є дослідження, які вирішують або допомагають вирішити питання діагностики захворювання);
- відділів лабораторій контролю якості лікарських препаратів і медичних товарів.

Подібні завдання вирішують приватні лабораторії, які працюють за ліцензією МОЗ України.

2. Класифікація та номенклатура мікроорганізмів

Сферою вивчення мікробіології є світ мікроскопічних і субмікроскопічних організмів, що належать до основних груп живого світу.

Усе живе поділяється на неклітинні та клітинні форми життя.

До неклітинних біологічних хвороботворних агентів належать віруси, віроїди, пріони (табл. 1).

Таблиця 1. Неклітинні хвороботворні агенти

Назва	Молекулярно-біологічна характеристика	Хвороби
Віруси	Нуклеопротейди, геном - одна чи декілька молекул РНК або ДНК	Більшість інфекційних хвороб людини
Віроїди	Кільцеві молекули РНК, білкова оболонка відсутня	Хвороби рослин
Пріони	Мутантні молекули білка (PrPs) клітин нервової системи, власного геному не мають	Хронічні дегенеративні хвороби нервової системи тварин і людини

Клітинні форми життя поділяються на 3 домени: бактерії, археї, еукаріоти (за систематикою Карла Воуза).

Одноклітинні організми, які мають диференційоване ядро, належать до еукаріотів.

Медична мікробіологія і паразитологія вивчає одноклітинні організми царства тварин (найпростіші), а мікологія (розділ мікробіології) вивчає мікроскопічні гриби.

З 1 січня 1980 р. діє класифікація за Берджі (Bergey's Manual of Systematic Bacteriology) — це система класифікації бактерій, розроблена на основі морфологічних, фізіологічних, біохімічних, а також молекулярних ознак. Вона є стандартом у бактеріології для ідентифікації та класифікації бактерій.

Основні принципи класифікації за Берджі:

1. Класифікація на рівні родини, роду та виду: бактерії поділяються на різні групи залежно від

їх морфологічних характеристик (форма, розмір клітин, структура клітинної стінки), а також від біохімічних властивостей (метаболізм, ферментація, здатність до дихання).

2. Детальне описання: для кожної групи бактерій наводяться детальні характеристики, включаючи фізіологічні властивості (наприклад, здатність до розщеплення певних цукрів), патогенність, антимікробну чутливість та інші ознаки.

3. Молекулярний підхід: останні видання включають молекулярні методи, зокрема аналіз генетичних послідовностей (16S рРНК), для уточнення родинних зв'язків між видами.

Класифікація за Берджі стала основним інструментом у бактеріології для визначення та класифікації нових видів бактерій і зручним довідником для дослідників.

Основною таксономічною (класифікаційною) одиницею світу бактерій є вид. Види об'єднані в роди. Видам надається бінарна (видова й родова) назва, наприклад *Escherichia coli* (кишкова паличка), *Staphylococcus aureus* (золотистий стафілокок) та ін.

У літературі родова назва позначається першою буквою (*E. coli*). Роди об'єднуються у родини, латинська назва родин має закінчення *-eae*, наприклад родина *Enterobacteriaceae*. А родини – у порядки (латинське закінчення *-es*), наприклад порядок *Enterobacteriales*, у окремих випадках – підпорядки (закінчення *-neae*). За останньою класифікацією виділено вищі таксономічні категорії – клас і тип.

Розділ – Клас – Порядок – Родина – Рід – Вид

В основі сучасної класифікації мікроорганізмів лежить розташування їх за таксономічними категоріями (таксонами) на основі схожості ознак.

Номенклатура – це система назв таксономічних категорій відповідно до міжнародних правил.

Основною номенклатурною одиницею є вид.

Вид – бактерій розглядають як сукупність популяцій, що мають спільні властивості:

1 - спільне походження;

2 - пристосованість до певного середовища життя;

3 - подібність обміну речовин та характеру міжвидових відношень;

4 - наявність подібного генетичного апарату, морфологічних та фізіологічних ознак.

Якщо при вивченні виділених бактерій виявляють відхилення від типових видових властивостей, то таку культуру розглядають як підвид.

Клон – це сукупність особин, що походять з однієї клітини.

Чиста культура – це мікроорганізми одного виду або підвиду.

Мішана культура – це суміш неоднорідних мікроорганізмів, виділених із природніх субстратів.

Штам – це чиста культура мікроорганізмів певного походження (тобто виділених з біологічного матеріалу від певного пацієнта, з певної місцевості тощо).

З практичного погляду важливим є поділ бактерій за будовою стінки клітини, зокрема структурою біополімеру пептидоглікану. До бактерій із тонкою стінкою, що містить один шар пептидоглікану, належать *грамнегативні протеобактерії* – *грацілікути*. Бактерії з багатошаровим пептидогліканом і товстою клітинною стінкою називають *грампозитивними*, або *фірмікутами*. В окремий клас прокаріотів виділені мікроорганізми, в яких клітинна стінка відсутня – *мікоплазми*.

У практиці зберігся традиційний поділ прокаріотів на такі основні групи: власне бактерії, мікоплазми, актиноміцети, спірохети, рикетсії і хламідії (табл. 2).

Таблиця 2. Характеристика основних груп прокариотів

<i>Назва</i>	<i>Характеристика</i>	<i>Патогенність</i>
Бактерії	Мають клітинну стінку, розмножуються на поживних середовищах поза організмом	Більшість прокариотичних збудників інфекційних хвороб є бактеріями
Мікоплазми	Клітинна стінка відсутня, мінімальні розміри, розмножуються на поживних середовищах	Спричиняють запальні процеси внутрішніх органів і слизових оболонок
Актиноміцети	Клітини видовженої, інколи ниткоподібної форми, можуть розгалужуватися	Спричиняють гнійно-запальні процеси
Спірохети	Клітини спіралеподібної форми, містять осьові фібрили	Спричиняють специфічні інфекційні хвороби, (лептоспіроз, бореліози, сифіліс)
Рикетсії	Дрібні клітини, що мають пептидогліканову стінку. Внутрішньоклітинні паразити. На середовищах поза організмом не розвиваються	Збудники висипного тифу, ендемічних тифів і гарячок
Хламідії	Розміри: на межі видимості в оптичний мікроскоп. Складний цикл розвитку. Внутрішньоклітинні паразити	Спричиняють захворювання слизових оболонок, очей, уrogenітальні інфекції, ураження внутрішніх органів

У медичній мікробіології велике значення має виявлення внутрішньовидових різновидів збудників – *варіантів*. Морфовари різняться за морфологічними властивостями. Біовари – за комплексом біологічних властивостей. Хемовари – за біохімічними властивостями. Серовари – за антигенними властивостями. Фаговари – за чутливістю до бактеріофагів.

Збудники інфекційних хвороб людини можуть мати неклітинну природу (віруси, пріони) або бути прокариотичними (бактерії) чи еукаріотичними клітинами (гриби, найпростіші). Класифікують мікроорганізми за загальнобіологічними принципами.

Метою мікробіологічних досліджень є встановлення виду збудника, що спричинив патологічний процес.

Хоч мікроорганізмів є дуже велика кількість і вони надзвичайно різноманітні, все-таки можна виявити спільні властивості:

1. Мікроскопічні розміри.
2. Велика швидкість розмноження
3. Висока біохімічна активність
4. Порівняно проста організація (але збережені всі універсальні закони живого організму – живлення, ріст, дихання, розмноження).
5. Дуже поширені в навколишньому середовищі.

3. Морфологічна характеристика бактерій, грибів, спірохет, найпростіших, рикетсій, вірусів

Бактерії – це одноклітинні організми, що не мають ядра.

Величина – вимірюється в мікрометрах (мкм). 1 мкм = 0,001 мм.

Розрізняють такі основні форми бактерій: кулясті (сферичні), або коки (від грец. *kokkos* - зерно); палички (циліндричні); звивисті (спіралеподібні); ниткоподібні.

Коки переважно кулястої форми (діаметром 1,0-1,5 мкм), однак є і бобоподібної, ланцетоподібної, еліпсоїдної. За характером взаємного розташування клітин, що утворюються після

поділу, коки поділяють на такі групи:

- *мікрококи* (від лат. *micros* – малий) діляться в одній площині, розташовуються поодиноці й хаотично. Це сапрофіти, патогенних для людини немає;
- *диплококи* (від лат. *diplos* – подвійний) діляться в одній площині з утворенням пар клітин, що мають бобоподібну (нейсерія гонореї) або ланцетоподібну (пневмокок) форму;
- *стрептококи* (від грец. *streptos* – ланцюжок) діляться в одній площині, але з поділом клітини зберігають між собою зв'язок, утворюючи різної довжини ланцюжки. Патогенні стрептококи спричиняють (у людей) скарлатину, ангіну, гнійні запалення. Стрептококи відіграють провідну роль у розвитку карієсу зубів;
- *стафілококи* (від лат. *staphyle* – гроно винограду) діляться в кількох площинах, а утворені клітини розташовуються скупченнями, що нагадують гроно винограду. Стафілококи спричиняють понад 100 різних захворювань людини;
- *тетракоки* (від лат. *tetra* – чотири) діляться у двох взаємно перпендикулярних площинах з утворенням тетрад. Патогенні для людини види трапляються дуже рідко;
- *сарцини* (від лат. *sarcina* – в'язка, пакет) діляться у трьох взаємно перпендикулярних площинах з утворенням пакетів з 8, 16, 32 і більше клітин. Найчастіше трапляються в повітрі. Серед них є умовно-патогенні представники.

Палички – бактерії циліндричної форми завдовжки від одного до кількох мікрометрів. Палички понад 3 мкм вважаються великими (бацили сибірки), 1,5 - 3 мкм – середніх розмірів (більшість збудників кишкових інфекцій), а менше ніж 1,5 мкм – короткими.

Діаметр паличок близько 1 мкм, тонкі – менше ніж 1 мкм (збудник туберкульозу), а товсті – понад 1 мкм (збудник газової гангрені). Форма може бути правильною циліндричною, з «обрізними» або із заокругленими кінцями. Деякі бактерії мають овоїдну форму (збудник чуми).

Залежно від взаємного розташування бактерій їх поділяють на: *монобактерії* - поодинокі і хаотично розташовані - більшість паличкоподібних форм; *диплобактерії* - розташовуються попарно; *стрепто* - бактерії і *стрептобацили* - ланцюжком. Вони мають такі групи:

- *бактерії*. Термін «бактерія» (від грец. *Bacteria* – паличка) використовують як для назви всього домену *Eubacteria*, так і для назви паличкоподібних прокариотів;
- *бацили* – аеробні спорові палички (від лат. *Bacillus* – паличка), наприклад *Bacillus anthracis* – збудники сибірки. Анаеробні спорові палички, які мають стовщення на одному з кінців, називаються *кlostридіями* (від грец. *Clostridie* – веретено), наприклад *Clostridium tetani* – збудник правця. А неспорові анаеробні палички із загостреними кінцями називаються *фузобактеріями* (від лат. *Fusus* – веретено). Вони спричиняють некротичні процеси в тканинах;
- *коринебактерії* мають булавоподібну форму зі стовщенням на кінці (*Corynebacterium diphtheriae* – збудник дифтерії).

Звивисті (спіралеподібні) бактерії. За кількістю і характером завитків, а також за діаметром клітин виділяють:

- *вібріони* (від грец. *Vibrio* – звиватись, згинатись), які мають один згин, що не перевищує чверті оберту спіралі (подібний на кому), патогенний вид – *Vibrio cholerae*;
- *спірили* (від грец. *speira* - завиток) - клітини з малою кількістю (2-3) завитків;
- *спірохети* – клітини які мають більше ніж три завитки різної величини та щільності;
- *гелікобактерії* - зігнуті палички, що нагадують дугу, по якій розміщується насіння соняшника (геліканта). *Helicobacter pylori* спричинює хвороби шлунка - гастрити і виразки;
- *кампілобактерії* мають подібну форму.

Ниткоподібні форми бактерій можуть утворювати паличкоподібні бактерії у разі порушення умов їх росту або регуляції клітинного поділу (мікобактерії, коринебактерії, рикетсії). Ниткоподібна форма (інколи з розгалуженнями) властива *актиноміцетам*.

Будова прокаріотичної клітини

До складу будь-якої бактерії входять: поверхневі структури, клітинна оболонка, цитоплазма.

Поверхневі структури бактерій – глікокалікс, капсули, джгутики, фімбрії, мікрівійки. Це видові характеристики бактерій, які використовують для ідентифікації мікроорганізмів.

Капсули оточують клітинну оболонку багатьох бактерій, зокрема і патогенних. Розрізняють *мікрокапсули* (виявляють тільки при електронній мікроскопії у вигляді нашарування мукополісахаридних фібрил) і *макрокапсули* (виявляють при світловій мікроскопії).

Капсула забезпечує адгезію (прилипання бактерій до тканин), захищає мікроорганізм від висихання, визначає антигенну специфічність й імуногенні властивості бактерій. Ця структура є важливим *фактором вірулентності* бактерій, запобігає фагоцитозу і дії антитіл. Експериментально встановлено, що капсульні різновиди бактерій вірулентніші, ніж безкапсульні цього ж виду. Наприклад, капсульний варіант палички сибірки спричинює тяжку хворобу у людей і тварин, а безкапсульний використовується як жива вакцина. Виявлення капсули має важливе значення для ідентифікації бактерій. Під час фарбування простими і складними методами (Бурі-Гінса) капсула, у зв'язку з її гелеподібною консистенцією, не затримує фарбу і виявляється у вигляді незабарвленої облямівки навколо забарвленого тіла мікроба.

Джгутики властиві багатьом бактеріям і забезпечують їхню рухливість. Часто їх довжина більша за клітину і сягає 10 - 15 мкм. Вони складаються зі спіралеподібної нитки білка флагеліну (здатного до скорочення), «гачка» і базального тіла, що містить стержень і 1-2 пари дисків, закріплених у цитоплазматичній мембрані. Ця структура є своєрідним «мотором», який забезпечує обертальні рухи джгутиків.

За характером розташування і кількістю джгутиків рухливі бактерії поділяють на *монотрихи* – з одним полярно розташованим джгутиком; *лофотрихи* – із пучком джгутиків на одному з полюсів; *амфітрихи* – із джгутиками на обох полюсах; *перитрихи* – із джгутиками по всій поверхні клітини.

Білки джгутиків мають специфічні антигенні властивості, які виявляють при видовій і внутрішньовидовій диференціації бактерій.

Джгутики через малу товщину (12-18 нм) не вдається розгледіти за звичайних способів мікроскопії живих бактерій. Це можна зробити лише в разі застосування складних методів фарбування, наприклад обробкою таніном і нітратом срібла. Їх розташування вивчають за допомогою електронної мікроскопії, а рухливість бактерій (як непряме підтвердження наявності джгутиків) виявляють *методом роздавленої і завислої краплі*.

Мікрівійки (війки, пілі, фімбрії) властиві переважно грамнегативним бактеріям. Вони складаються зі спеціальних білків (тлінів) і мають ниткоподібну структуру, завтовшки 3-2,5 нм і завдовжки до 12 мкм. На поверхні клітин їх може бути від десятка до кількох тисяч.

Війки поділяють на: пілі загального типу (звичайні, адгезивні), основна функція яких - прикріплення бактерій до субстрату, до тканин чи клітин макроорганізму; F-пілі кон'югативні – специфічні утворення, що беруть участь у передачі генетичної інформації при кон'югації, виявляються в клітинах, що містять F-фактор фертильності.

Клітинна оболонка більшості бактерій складається з клітинної стінки, цитоплазматичної мембрани. Деякі бактерії мають ще зовнішню мембрану як зовнішній шар клітинної стінки.

Клітинна стінка бактерій тонка, еластична і ригідна. Захищає бактерії від зовнішніх впливів, надає їм характерної форми, через неї відбувається транспорт поживних речовин і виділення метаболітів. На її поверхні містяться рецептори для бактеріофагів, бактеріоцинів і різних хімічних речовин. Клітинна стінка підтримує постійність внутрішнього середовища і витримує значний тиск ізсередини; бере участь у регуляції росту і поділу клітин; визначає антигенну характеристику бактерій та їх імунобіологічні властивості. Структура і склад елементів клітинної стінки визначають здатність сприймати барвники, тобто *тинкторіальні властивості* бактерій.

В основі одного з головних принципів диференціації бактерій – здатність сприймати і

затримувати в клітині комплекс генціанового фіолетового (генціанвіолету) з йодом або втрачати його після обробки спиртом. Цей принцип лежить в основі методу *фарбування за Грамом*. Ганс Крістіан Грам (1853-1938) – датський учений, який у 1884 р. запропонував метод фарбування бактерій послідовно кількома барвниками, у результаті чого одні бактерії забарвлюються у синьо-фіолетовий (грампозитивні), інші – у рожевий колір (грамнегативні). Здатність забарвлюватися за Грамом є настільки важливою диференційною ознакою бактерій, що обов'язково згадується за їх характеристики. Характер забарвлення бактерій за Грамом зумовлений особливостями структури й хімічного складу клітинної стінки.

У *грампозитивних* бактерій клітинна стінка переважно складається з пептидоглікану (муреїну), розміщеного у кілька шарів (30 - 70 % сухої маси клітинної стінки) і тейхоевих кислот.

У клітинній стінці *грамнегативних* бактерій міститься тільки один шар пептидоглікану (10 % сухої маси), відсутні тейхоеві кислоти. Зверху пептидогліканового шару – зовнішня мембрана, компонентами якої є фосфоліпіди, білки, полісахариди й ліпополісахариди (ЛПС). Ліпополісахарид клітинної стінки грамнегативних бактерій складається з полісахаридної основи, яка визначає антигенні властивості бактерій, а ліпідний компонент справляє токсичну дію на організм, тому ліпополісахарид називають ендотоксином.

Під час фарбування за Грамом у грампозитивних бактерій утворюється стійкий комплекс генціанвіолету і йоду, який міцно утримується структурами стінки й не змивається спиртом, тому вони забарвлюються в колір основного барвника – генціанвіолету (темно-фіолетовий). У грамнегативних бактерій генціанвіолет вимивається спиртом і вони забарвлюються у червоний колір додаткового барвника (фуксину).

Оскільки грампозитивні й грамнегативні бактерії належать до різних таксономічних груп (типів), їх загальнобіологічні властивості значно відрізняються. Одні з найважливіших (у лабораторному і клінічному аспектах) відмінностей показано у табл. 3. Відомі мікроорганізми класу *мікоплазм*, у яких клітинна стінка відсутня, а оболонку утворює тільки цитоплазматична мембрана. Однак у більшості видів бактерій, як грампозитивних, так і грамнегативних, відомі форми, що втратили стінку. Втрата стінки може бути тимчасовою і відновлюється з подальшим поділом клітин; такі форми називають *сферопластами*.

При стійкій втраті стінки утворюються *L-форми бактерій*. Ці форми проходять крізь бактеріальні фільтри, зберігають життєдіяльність, тривалий час можуть існувати в макроорганізмі і спричинювати патологічні процеси.

Втрата мікробної стінки може настати під дією антибіотиків, які порушують процеси синтезу клітинної стінки у бактерій – пеніцилінів, цефалоспоринів, а також ферменту лізоциму (мурамідази), що міститься у слині і є одним із основних факторів захисту ротової порожнини від бактерій. Внаслідок цього формуються L-форми, стійкі до таких антибіотиків.

Таблиця 3. Порівняльна характеристика грампозитивних і грамнегативних бактерій

Грампозитивні бактерії (фірмікути)	Грамнегативні бактерії (протеобактерії)
Клітинна стінка складається з багат шарового пептидоглікану, містить тейхоеві кислоти	Клітинна стінка складається з одношарового пептидоглікану, містить ліпополісахарид
Окремі види - бацили й клостридії - утворюють спори	Спори не утворюють
Окремі види продукують сильні специфічні токсини, що виділяються у зовнішнє середовище (екзотоксини)	Патогенна дія визначається ліпополісахаридним ендотоксином або білками, зв'язаними з клітиною
Продукують різноманітні гідролітичні ферменти, які виділяються назовні (екзоферменти)	Гідролітичні ферменти наявні у цитоплазматичному просторі
Переважають стійкі у зовнішньому середовищі, особливо спорові форми	У зовнішньому середовищі менш стійкі, є види, які поза організмом швидко гинуть
Чутливі до антибіотиків пеніцилінового ряду (вужького спектра дії)	Стійкі до природних пеніцилінів; чутливі до антибіотиків широкого спектра дії

Цитоплазматична мембрана (клітинна, або плазматична, мембрана – ЦПМ) є фізичним, осмотичним і метаболічним бар'єром між внутрішнім вмістом бактеріальної клітини і зовнішнім середовищем. Це життєво важлива структура будь-якої клітини.

У бактерій відсутній внутрішній цитоскелет – ендоплазматичний ретикулум, пластинчастий комплекс (апарат Гольджі), мітохондрії, а їх функції виконує ЦПМ.

ЦПМ має характерну для всіх біомембран будову. Складається з подвійного шару ліпідів, переважно фосfolіпідів. Білки ЦПМ можуть бути розміщені із зовнішньої сторони, пронизувати обидва ліпідні шари або локалізуватися на внутрішній стороні мембрани. ЦПМ характеризується вибірковою проникливістю, містить систему електронного транспорту бактерій, бере участь у процесах транспорту поживних речовин і метаболітів, окисно-відновних процесах, синтезі аденозинтрифосфату (АТФ), а також у поділі клітин. Унаслідок інвагінації ЦПМ у цитоплазмі формуються *мезосоми*, що у деяких бактерій беруть участь у поділі й спороутворенні.

Між ЦПМ і клітинною стінкою існує *периплазматичний простір* (добре виражений у грамнегативних бактерій) - порожнина, в яку виділяються гідролітичні ферменти. У ньому під впливом бактеріальних ферментів відбувається гідроліз макромолекул, а одержані продукти транспортуються через ЦПМ у цитоплазму.

Ядерний апарат. У бактеріальній клітині відсутня ядерна мембрана, ДНК сконцентрована в цитоплазмі у вигляді клубка, що називається *нуклеоїдом*. Нуклеоїд бактерій представлений подвійною спіральною кільцевою ковалентно замкненою суперспіралізованою молекулою ДНК, що не містить гістонів. ДНК прикріплена до ЦПМ в ініціальній точці, де починається розкручування молекули перед її подвоєнням.

Крім хромосоми в цитоплазмі бактерій можуть бути *плазмід*и – додаткові порівняно невеликі молекули ДНК (у вигляді позахромосомних елементів). Вони можуть визначати вірулентність, резистентність до антибіотиків, здатність до кон'югації тощо.

Цитоплазма бактерій – середовище, в якому відбуваються життєво важливі для бактеріальної клітини реакції; відмежована ЦПМ. Цитоплазма бактерій – складна колоїдна система, в якій містяться ДНК, РНК, рибосоми і запасні речовини (включення). На відміну від еукаріотів у прокаріотичних клітин немає внутрішніх мембранних структур, за винятком мезосом.

Рибосоми бактерій порівняно з рибосомами еукаріотичних клітин мають менші розміри й константу седиментації (70S). Складаються з двох субодиниць, які містять рибосомальну РНК і білки. Їх функція - синтез білка за участю матричних і транспортних РНК.

Багато антибіотиків, що належать до макролідів, аміноглікозидів, тетрациклінів, вибірково блокують функцію бактеріальних рибосом (стрептоміцин, тетрациклін, левоміцетин) у концентраціях, які не діють на рибосоми еукаріотичних клітин.

У бактеріальних клітинах можуть нагромаджуватися деякі продукти метаболізму, або *запасні речовини*, які при мікроскопічному дослідженні виявляються як додаткові внутрішньоклітинні структури – включення. Їх кількість залежить від виду бактерій і їх метаболічної активності. У вигляді гранул можуть нагромаджуватися полісахариди (крохмаль, глікоген, гранульоза), жири (тригліцериди), поліфосфати (волютин).

Наявність і розташування гранул волютину важливе для ідентифікації збудника дифтерії. Розроблені методи виявлення таких зерен, що ґрунтуються на їх метахроматичних властивостях - здатності забарвлюватися в інший колір.

Деякі роди бактерій (*Bacillus*, *Clostridium*) за несприятливих умов утворюють захисні форми – *спори*, стійкі до висушування, дії високих температур і хімічних речовин, у яких майже відсутні метаболічні процеси. У процесі спороутворення вони можуть розміщуватися в центрі або на одному з кінців бактеріальної клітини, надаючи їй певної форми. При мікроскопічному дослідженні виявляють центральні, субтермінальні або термінальні спори.

Спора містить ДНК бактерій, незначну кількість цитоплазми, оточена клітинною стінкою з

високим вмістом пептидоглікану і вкрита зовнішньою оболонкою, що складається з кератиноподібного білка і містить велику кількість кальцію дипіколінату.

За сприятливих умов (вологість, відповідна температура, наявність поживних речовин) спори проростають у вегетативні форми.

Для патогенних бактерій спороутворення має дуже важливе епідеміологічне значення. Зберігаючись у ґрунті впродовж багатьох років, спори мікробів сибірки, правця, газової гангрені з проникненням в організм людини чи тварини можуть спричинити хворобу.

Важливо знати, що при 100 °С спори не гинуть упродовж тривалого часу (до кільканадцяти хвилин). Для їх надійної інактивації застосовують дію температури 120 °С в атмосфері пари під тиском (автоклавування). Для знищення спор хімічними речовинами (дезінфекція) потрібно застосовувати відповідні засоби у достатніх концентраціях, указаних у характеристиці препарату.

Мікроскопічний метод належить до основних мікробіологічних методів. Його застосовують для вивчення морфології мікроорганізмів, а також як *метод мікробіологічної діагностики, тобто для виявлення збудника в біологічному матеріалі від пацієнта.*

У мікробіологічній практиці морфологію бактерій досліджують під час мікроскопії мазків, пофарбованих простими чи складними методами. При цьому беруть до уваги форму, розміри і взаєморозміщення клітин, деталі їх будови, тинкторіальні властивості.

Морфотинкторіальні властивості є одними з найважливіших критеріїв для розпізнавання (ідентифікації) бактерій.

4. Фізіологія мікроорганізмів

Фізіологія вивчає життєві функції мікроорганізмів: живлення, дихання, ріст і розмноження. В основі фізіологічних функцій лежить безперервний обмін речовин – метаболізм.

Регуляція процесів життєдіяльності мікробної клітини відбувається на рівні синтезу ферментів (індуковані ферменти), а також на рівні регуляції їхньої активності. Така регуляція здійснюється ключовими метаболітами (наприклад, АТФ) або кінцевими продуктами обміну.

Дослідження біохімічних процесів у бактерій має прикладне значення для мікробіологічних лабораторій і застосовується при біохімічній ідентифікації бактерій, тобто встановленні виду бактерій.

Анаболізм і катаболізм — це дві основні компоненти метаболізму, тобто сукупності хімічних процесів, що забезпечують життєдіяльність мікроорганізмів.

Анаболізм (пластичний обмін): це процеси синтезу складних молекул із простіших. Вимагає енергії, яка зазвичай постачається у формі АТФ (аденозинтрифосфату). Приклади: синтез білків із амінокислот, жирів із жирних кислот і глюкози, а також синтез ДНК і РНК. Анаболічні процеси сприяють росту, відновленню тканин і накопиченню запасів енергії;

Катаболізм (енергетичний обмін): це процеси розщеплення складних молекул на простіші. Зазвичай супроводжується вивільненням енергії, яка може бути використана для забезпечення функцій клітин. Приклади: розщеплення глюкози в процесі гліколізу, перетравлення білків до амінокислот, окислення жирів.

Хімічний склад мікроорганізмів

Основними структурними і функціональними макромолекулами бактеріальних клітин є білки, жири, вуглеводи й нуклеїнові кислоти, а також пептидоглікан клітинної стінки. **Вода**, що становить до 80 % загальної маси бактерій, переважно зв'язана з макромолекулами, утворюючи складні колоїдні системи цитоплазми, де відбуваються основні метаболічні процеси.

Білки, що становлять до 50 % сухої маси бактерій, є носіями найважливіших функцій клітини.

Як ферменти **білки** забезпечують здійснення практично всіх метаболічних і регуляторних процесів у клітині. У складі джгутиків вони виконують *рухову функцію*. Від поверхневих білків і

білкових структур війок залежить *адгезія* (специфічне прикріплення бактерій до тканин макроорганізмів). У багатьох патогенних бактерій виявлено *білки-токсини*. Білки є також специфічними мікробними антигенами (в організмі спричиняють утворення антитіл).

Нуклеїнові кислоти зумовлюють збереження, передачу і реалізацію генетичної інформації у бактеріальній клітині. За хімічною будовою це полімери нуклеотидів (аденіну, тиміну, гуаніну, цитозину, урацилу). Двоспіральна ДНК у вигляді нуклеопротеїду утворює нуклеоїд прокаріотів. До складу рибосом входить унікальна для кожного виду рибосомна РНК.

Ліпіди утворюють двошарові (біліпідні) біомембрани, у прокаріотів – ЦПМ. У кислотостійких мікобактерій (збудник туберкульозу) високомолекулярні воскоподібні ліпіди становлять до 40 % сухої маси бактерій. У грамнегативних бактерій ліпідний компонент ліпополісахариду клітинної стінки має токсичні властивості. Токсичними для організму є також високомолекулярні ліпіди туберкульозної палички – фтіонова і міколова кислоти.

Бактеріальні клітини містять прості **вуглеводи** – моносахариди, до складу яких входить п'ять або шість атомів вуглецю (гексози і пентози), дисахариди і полісахариди. Полісахарид є основою ліпополісахариду клітинної стінки грамнегативних бактерій, його специфічні вуглеводи зумовлюють антигенні властивості цих бактерій.

Живлення мікроорганізмів

Джерела енергії для мікроорганізмів і типи живлення. Для росту, розмноження і забезпечення конструктивного та енергетичного метаболізму бактеріальній клітині потрібні джерела енергії і речовин.

За способом одержання енергії мікроорганізми ділять на:

- фототрофи;
- хемотрофи:
 - хемолітотрофи (автотрофи);
 - хемоорганотрофи (гетеротрофи).

Фототрофи фіксують сонячну енергію за допомогою хлорофілу (ціанобактерії) або пігменту бактеріородопсину. Патогенних форм серед них нема, але вони мають велике екологічне значення. Розмножуючись у прісноводних водоймах (цвітіння води), збагачують воду киснем, але взимку, розкладаючись, спричиняють погіршення санітарно-гігієнічного стану води, внаслідок чого гинуть водні організми і виникають проблеми у системах водопостачання населення.

Хемотрофи одержують енергію за рахунок хімічних реакцій окиснення. Так, *хемолітотрофи* (від грец. *lithos* - камінь) – внаслідок окиснення відновлених сполук заліза (залізобактерії), сірки (сіркобактерії). Патогенних серед них немає.

Фототрофні і хемотрофні мікроорганізми часто згадуються як автотрофи, які для побудови органічних сполук використовують CO₂.

Хемоорганотрофи (гетеротрофи) для побудови власних компонентів використовують органічні сполуки середовища. Для більшості гетеротрофів достатньо енергії, одержаної за рахунок органічних сполук вуглецю (вуглеводів, органічних кислот та ін.), проте деякі потребують ще й органічних сполук азоту – амінокислот, попередників для синтезу нуклеїнових кислот, вітамінів. Так, *ауксотрофи* – мікроорганізми, які не розвиваються за відсутності певних речовин.

Серед гетеротрофів розрізняють також:

- *сапрофіти* (від грец. *sapros* - гнилий, бруд) - мікроорганізми, які для свого розвитку не потребують речовин від живих організмів, існують у довкіллі, а розмножуючись в організмі, йому не шкодять;
- *паразити* (від грец. *parasitos* - нахлібник, дармоїд), або паратрофи, потребують складних речовин і одержують їх завдяки макроорганізмам, з якими співіснують, часто шкодячи їм.

Тип живлення прокаріотичних мікроорганізмів вважають голофітним, якщо клітина вбирає

поживні речовини всією поверхнею тіла. А якщо організм має деякі органи і системи для поглинання поживних речовин, то це голозойний тип живлення.

Транспорт речовин у клітину

Прокаріотичні клітини засвоюють із позаклітинного простору переважно прості речовини. Деякі бактерії (наприклад, грампозитивні) виділяють назовні екзоферменти, які розщеплюють складні речовини до простіших сполук, що засвоюються клітиною. Відомо, що у грамнегативних бактерій таке розщеплення макромолекулярних речовин може відбуватися в периплазматичному просторі – між цитоплазматичною мембраною і клітинною стінкою.

Перенесення речовин (транспорт) у бактеріальну клітину відбувається такими способами:

- проста дифузія здійснюється в напрямку градієнта концентрації, тобто проникнення в клітину можливе, якщо поза клітиною концентрація речовини вища. Цей тип транспорту не потребує затрат енергії (так проникають у клітину вода і деякі йони);
- полегшена дифузія також йде в напрямку градієнта концентрації, не потребує затрат енергії, але відбувається з участю транспортних систем клітинних оболонок, зокрема білків пермеаз;
- активний транспорт – основний спосіб засвоєння речовин клітиною. Може відбуватися проти градієнта концентрації, потребує затрат енергії. Здійснюється з участю ферментних систем клітинної оболонки. У бактерій цей механізм переважає над іншими, що забезпечує їм можливість виживати в таких умовах, де концентрація поживних речовин незначна й інші форми життя не існують.

Обмін речовин у бактерій

Прокаріотичні клітини характеризуються дуже високим рівнем метаболічних процесів, в *E. coli* подвоєння біомаси клітин відбувається протягом 20-30 хв.

Ферменти бактерій

Усі процеси життєдіяльності бактеріальної клітини відбуваються з участю ферментних систем. Ферменти прискорюють швидкість реакції в тисячі разів.

Виділяють такі основні класи ферментів:

- оксидоредуктази – здійснюють транспорт електронів і забезпечують окисно-відновні процеси у клітині;
- трансферази – переносять різні функціональні хімічні групи;
- гідролази – переносять функціональні групи на молекулу води;
- ліази – приєднують хімічні групи за рахунок розриву подвійних зв'язків;
- ізомерази – переносять функціональні хімічні групи в межах однієї молекули;
- лігази – забезпечують утворення хімічних зв'язків C - C, C - S, C - O, C - N з участю АТФ.

Крім того, виділяють ендоферменти, які каталізують біохімічні процеси в клітині, та екзоферменти, що виділяються клітиною назовні (здійснюють гідроліз макромолекул зовні бактеріальної клітини, а утворені продукти розпаду засвоюються мікроорганізмами).

Розрізняють констутивні ферменти, які функціонують у клітині постійно, та індуковані, що синтезуються клітиною за потреби (наприклад, якщо в клітину проникає певна речовина, яка підлягає катаболізму).

Прикладом констутивних ферментів можуть бути пеніцилінази, що синтезуються бактеріальними клітинами, якщо вони контактують з пеніциліном.

У клітині ферменти об'єднані у функціональні комплекси, які послідовно здійснюють кілька взаємозв'язаних біохімічних процесів.

Деякі ферменти патогенних бактерій є факторами патогенності.

Мікробні ферменти застосовуються в наукових дослідженнях, у біотехнологічних процесах і в медицині.

Дихання мікроорганізмів

За відношенням до вільного кисню мікроби поділяють на 5 груп:

облігатні аероби розвиваються за наявності вільного кисню (мікобактерії туберкульозу, бордетели, бруцели); вони витримують концентрацію кисню таку (21 %) або більш високу, ніж в атмосферному повітрі, і мають чисто дихальний тип метаболізму;

облігатні анаероби розвиваються тільки за відсутності кисню (кlostридії, бактероїди). Для них характерний бродильний тип метаболізму. Кисень на анаероби діє згубно. Для лікування хвороб, які спричиняють облігатні анаероби, використовують барокамери, в які подають кисень під тиском 1—3 атм;

факультативні аероби розвиваються як за наявності кисню, концентрація якого дорівнює його концентрації в атмосферному повітрі, так і за його відсутності (ешерихії, сальмонели);

мікроаерофіли потребують зменшеної кількості кисню порівняно з його вмістом в атмосферному повітрі (актиноміцети, лептоспіри);

аеротолерантні – не потребують кисню, але можуть виживати і рости в його присутності.

У лабораторних умовах анаеробні мікроорганізми культивують у спеціальних приладах – анаеростатах. Анаеростати сконструйовані як герметичні металеві або пластикові посудини різного об'єму. Кисень у анаеростатах видаляють механічно (за допомогою вакуум-насоса) або використовують хімічні речовини, які активно зв'язують кисень. Для багатьох патогенних анаеробів необхідні складніші газові суміші, які зумовлюють відновні властивості атмосфери культивування (на відміну від окисних властивостей кисневмісної атмосфери). Тому для вирощування таких мікроорганізмів анаеростати заповнюють сумішшю інертних газів, що містить водень та інші гази. Сучасні системи для культивування анаеробів складаються зі спеціальних пластикових посудин, у які поміщають пакети з речовинами, що після зволоження виділяють окремі гази у необхідних концентраціях. Для культивування анаеробів використовують складні поживні середовища з відновними властивостями.

Деякі мікроорганізми потребують складнішого газового складу, зокрема наявності CO₂ (капнофільні умови). Їх називають капнічними організмами.

Умови культивування мікроорганізмів

Дослідження мікроорганізмів у лабораторних умовах передбачає їх вирощування - культивування. Основними умовами культивування в лабораторних умовах є:

- наявність відповідних **поживних середовищ**, які містили б усі необхідні поживні речовини і хімічні сполуки в доступній для мікробних клітин формі. Такі середовища готуються безпосередньо в лабораторіях з натуральних продуктів або з напівфабрикатів, що випускає мікробіологічна промисловість;
- наявність відповідного **газового складу атмосфери**, в якій культивують мікроорганізми;
- наявність **відповідної температури**. Для більшості мікроорганізмів температурний оптимум 37 °С;
- відсутність **шкідливих впливів**. Розмноження мікроорганізмів затримується дезінфекційними препаратами, що можуть бути в атмосфері термостата. Ріст деяких мікроорганізмів пригнічується під дією прямих сонячних променів;
- **час культивування**. Мікроорганізми починають розмножуватися за деякий час після внесення у середовище; так, видимі ознаки росту можуть з'являтися частіше за 18-24 год або кілька днів потому. Лише окремі види дають помітні ознаки росту через два й більше тижнів (збудник туберкульозу).

Вимоги до поживних середовищ

У середовищі мають бути всі *необхідні компоненти*, які забезпечують розмноження мікроорганізмів. Насамперед це органічні сполуки вуглецю (для хемоорганотрофів (гетеротрофів), а для багатьох патогенних мікроорганізмів - органічні сполуки азоту, зокрема амінокислоти і вітаміни. З неорганічних речовин до середовищ мають входити йони натрію, калію, кальцію, магнію, заліза, аніони Cl^- , SO_4^{2-} , PO_4^{3-} . Чимало мікроорганізмів потребує мікроелементів – марганцю, молібдену, цинку, міді, кобальту, нікелю, ванадію, бору. Деякі патогенні мікроорганізми потребують наявності в середовищі білків, компонентів крові та інших речовин. Середовища готують як водний розчин або гель. За недостатньої вологи (нижче 20 % води) бактерії не розвиваються.

Середовище має бути *стерильним*, тобто не містити жодних мікроорганізмів чи їхніх спор.

Середовище повинно мати *відповідну концентрацію водневих іонів* (рН). Для більшості мікроорганізмів оптимальне значення рН близьке до нейтрального - 7,2 - 7,4. При рН нижче 4,5 мікроорганізми, за винятком деяких грибів, не розвиваються. Лужне значення рН - 7,8 – є оптимальним для холерного вібріона.

Ізотонічність досягається додаванням до середовищ відповідної кількості хлориду натрію, близько 0,9 %. При високому осмотичному тиску мікроорганізми не розвиваються, хоча деякі з них малочутливі до відхилень осмотичного тиску від оптимальних значень і ця властивість використовується для створення вибіркового середовищ. При низькому осмотичному тиску життєдіяльність бактерій порушується аж до руйнування клітин, особливо тих, що не мають жорсткої стінки (мікоплазми).

Для аеробних мікроорганізмів відповідний окисно-відновний потенціал (характеризує окиснювальні чи відновні властивості середовища) має бути окисним, а для анаеробів – відновним. До окремих середовищ висуваються такі вимоги, як прозорість, певна консистенція та ін.

Типи поживних середовищ

У сучасних мікробіологічних лабораторіях переважно застосовують штучні поживні середовища, хоча для спеціальних цілей використовують природні середовища – згорнуту сироватку крові, молоко, картоплю.

Основні, або універсальні (прості), середовища. Основні середовища забезпечують культивування багатьох мікроорганізмів або є основою для інших середовищ.

Більшість середовищ, які застосовуються в мікробіологічних лабораторіях медичного профілю, готують з м'ясопептонного бульйону (МПБ); цей бульйон належить до рідких середовищ і готується із сухих напівфабрикатів. Робота мікробіологічної лабораторії неможлива без використання твердих, або щільних, середовищ. Їх готують на основі МПБ шляхом додавання гелеутворювача. Найчастіше обирають агар (полісахарид із морських водоростей), який у концентрації 1,5-2 % утворює щільний гель м'ясопептонного агару (МПА). З нижчою концентрацією агару отримують напіврідкі середовища. Також замість агару можна використовувати поліакриламідні гелі. Для окремих середовищ використовують желатину (м'ясопептонна желатина - МПЖ). Основна перевага щільних середовищ полягає в тому, що з невеликою дозою посіву на їх поверхні окремі бактеріальні клітини розмножуються ізольовано, утворюючи скупчення - колонії. Одержання ізольованих колоній на щільному поживному середовищі є обов'язковим етапом основного бактеріологічного методу – виділення чистої культури.

МПБ і МПА називають ще звичайними середовищами.

Спеціальні середовища. Їх застосовують для культивування мікроорганізмів, що не ростуть на звичайних середовищах. Для цього до МПБ чи МПА, або до іншої основи, додають окремі компоненти, отримуючи цукрові (глюкозні) середовища, кров'яні, сироваткові, білкові, картопляні, яєчні, гліцеринові та ін. Деякі зі спеціальних середовищ називають за іменем автора, що їх запропонував, - середовище Сабуро (для грибів), середовище Левенштейна (для туберкульозної

палички) та ін.

Диференціально-діагностичні середовища. Ця важлива група середовищ призначена для диференціації бактерій за певними біохімічними ознаками. Середовище такого типу містить субстрат, який змінюється певними бактеріями, а інші бактерії на нього не діють. Наприклад, середовище Ендо містить лактозу та індикатор - фуксин. Кишкова паличка розкладає лактозу з утворенням кислоти, у кислому середовищі фуксин забарвлює колонії в червоний колір. Колонії бактерій, що не розкладають лактозу (паличка черевного тифу), на цьому середовищі утворюють безбарвні колонії. Для біохімічної ідентифікації бактерій застосовують середовища з різними вуглеводами – лактозою, глюкозою, манітом, сахарозою та ін. Вони входять у так званий ряд Гіса (кольоровий, або строкатий, ряд), смужки API, ентеротести, тощо.

На сьогоднішній час в мікробіологічних лабораторіях широко використовують хромогенні поживні середовища. Принцип дії яких заснований на виявленні високоспецифічних ферментів у мікроорганізмів. Для виявлення унікального ферменту і, відповідно, ідентифікації мікроорганізму, до складу середовища вводять хромогенний субстрат - речовина, при розщепленні якого цим ферментом утворюються забарвлені і або флюоросціюючі продукти. В результаті колонія забарвлюється в певний колір або набуває здатності до флюоресценції при ультрафіолетовому опроміненні. Хромогенні середовища призначені для швидкого (протягом 24 год) виявлення в біологічному матеріалі цілого ряду мікроорганізмів, що мають велике значення для клінічної та санітарної мікробіології.

Селективні та елективні середовища. Селективними називають середовища, які містять речовини, що пригнічують ріст одних бактерій і не впливають на інші. На елективних середовищах певний вид бактерій зростає краще, ніж інші (наприклад, елективним середовищем для холерного вібріона є 1 % лужна пептонна вода). У наукових дослідженнях використовують мінімальні середовища, що містять строго визначені компоненти, необхідні для росту певного виду мікроорганізмів. З виключенням хоча б одного компонента ріст бактерій припиняється.

Транспортні середовища. У клінічній практиці часто виникає потреба транспортувати біологічний матеріал (взятий від пацієнта) до мікробіологічної лабораторії. Такі середовища мають забезпечити матеріал від забруднення сторонньою мікрофлорою, зберегти мікроорганізми впродовж певного часу, у них не повинна проявлятися антагоністична, чи конкурентна, дія між окремими видами мікроорганізмів. Найчастіше це напіврідкі чи рідкі середовища у спеціальних пробірках, флаконах, які герметично закриваються пластиковими чи гумовими корками.

Середовища для анаеробів. Ці середовища повинні мати відповідний окисно-відновний потенціал і речовини, що зв'язують кисень. У мікробіологічній практиці найчастіше застосовують середовища Кітта-Тароці, Вільсона-Блера, цукровий агар високим стовпчиком у пробірках, агар Шедлера, стерильне молоко.

Ріст і розмноження бактеріальних клітин

Поділ клітин. Окрема бактеріальна клітина збільшується в розмірах, нагромаджує достатній запас метаболітів, після чого ділиться. Поділ починається з подвоєння бактеріальної хромосоми. ДНК-полімерази синтезують комплементарну копію на матриці «материнської» ДНК. У місці поділу утворюється перегородка, а бактеріальна стінка частково руйнується. Після поділу нові клітини можуть зберігати зв'язок між собою, утворюючи скупчення у вигляді пакетів, грон, ланцюжків.

Ріст бактеріальної популяції. Мікроорганізми проявляють свої властивості як біологічні види, існуючи популяціями. У поживному середовищі бактеріальна популяція має певні стадії розвитку. Безпосередньо після посіву спостерігається затримка розмноження – *лаг-фаза*. Через деякий час бактерії починають ділитися – *фаза початкового прискорення*, яка переходить у *фазу логарифмічного росту*, коли кількість бактерій зростає в геометричній прогресії. Поступово швидкість розмноження зменшується. Настає *фаза сповільнення росту*, що переходить у

стаціонарну фазу максимуму. Далі бактерії починають відмирати – *фаза початку загибелі*, а потім їх кількість швидко зменшується – *фаза прискореної загибелі*. Настає *стаціонарна фаза мінімуму*, коли бактерії не розмножуються. Залежно від виду й умов культивування тривалість такої фази може бути різною – від десятків годин до тижнів чи місяців. Споріві культури можуть зберігатися роками.

Ознаки росту бактерій на середовищах, або культуральні властивості

Характерні особливості росту, або культуральні властивості, бактерій визначаються потребою в тих чи інших середовищах (зокрема, у спеціальних) і особливостями росту на них. У рідких середовищах бактерії ростуть у вигляді суспензії, середовище стає каламутним, на дні з'являється осад, він може бути гомогенним, зернистим, розміщуватися в центральній частині ввігнутого дна пробірки або на її боках. Інколи середовище залишається прозорим, а ознакою росту є осад. На поверхні середовища може утворюватися плівка різного вигляду і структури. З утворенням бактеріями пігменту середовище забарвлюється.

На щільних середовищах при значній дозі посіву виникає суцільний ріст у вигляді нальоту різної структури і кольору. При малій дозі посіву утворюються колонії (вважається, що ізольована колонія походить з однієї бактеріальної клітини). Морфологія колоній є важливою диференціальною ознакою бактерій. Колонію досліджують візуально – у прохідному і відбитому світлі. При цьому відмічають форму колонії, розміри, характер країв вони можуть бути рівними, хвилястими, зубчастими, з ниткоподібною структурою. Профіль колонії може бути пласким, випуклим, кулястим чи напівкулястим, з увігнутим чи випуклим центром, валикоподібним підвищенням по краях. Поверхня колонії на вигляд може бути гладкою, блискучою, шорсткою, зернистою, з концентричними колами, радіальною покресленістю. У прохідному світлі відмічають прозорість: колонії можуть бути прозорими, напівпрозорими чи непрозорими. Пігментовані бактерії утворюють забарвлені колонії жовтого, червоного чи білого кольорів. Водорозчинні пігменти дифундують у середовище довкола колонії. Докладно структуру колонії досліджують за допомогою бінокулярного мікроскопа, лупи чи при малому збільшенні мікроскопа.

Чисті культури мікроорганізмів. Методи виділення чистих культур

У медичній мікробіології часто завданням мікробіологічних досліджень є виділення чистої культури мікроорганізмів з матеріалу, взятого від хворого або із навколишнього середовища. Як правило, чисті культури виділяють з діагностичною метою (щоб виявити збудника і встановити його вид). Властивості мікроорганізмів вивчають, досліджуючи чисті культури, що вирощуються в лабораторних умовах.

Виділення чистих культур, або бактеріологічний (мікробіологічний) метод, є основним методом мікробіологічної діагностики. Для оцінювання санітарного стану об'єктів, зокрема в аптеках чи на фармацевтичних виробництвах, визначають наявність санітарно-показових мікроорганізмів, для чого й потрібно виділити чисті культури таких мікроорганізмів.

Часто у біологічному матеріалі, взятому від пацієнта або із зовнішнього середовища, може бути виявлено не один, а декілька видів мікроорганізмів. Виняток становлять рідини і матеріали, які в нормі є стерильними (кров, спинномозкова рідина тощо). Тому завданням мікробіологічної діагностики є виділення мікроорганізму – збудника хвороби.

Для виділення чистих культур застосовують: методи, засновані на *фізіологічних властивостях* мікроорганізмів (серед них – потреба в різних середовищах чи умовах культивування, чутливість до температури, хімічних речовин, рухливість); методи *механічного розділення біологічного матеріалу*, зокрема на поверхні щільного поживного середовища. Ці методи об'єднують, використовуючи різні типи селективних і диференціально-діагностичних середовищ.

Виділення чистих культур здійснюється у кілька етапів, основним з яких є *одержання ізольованих колоній*, з яких вирощується чиста культура. Досліджуючи властивості чистої культури,

встановлюють її вид (ідентифікація чистої культури). Основні критерії, за якими ідентифікують культури бактерій – морфотинкторіальні, культуральні, біохімічні та антигенні властивості. У медичній мікробіології ще токсигенність, патогенність для тварин, чутливість до антибіотиків і бактеріофагів.

Бактеріологічний метод дослідження. Метод виділення чистих культур у бактеріологічних лабораторіях

Бактеріологічний метод дослідження, або метод виділення чистих культур, називають «золотим стандартом» мікробіологічної діагностики. Виявлення патогенного збудника в біологічному матеріалі від пацієнта достовірно підтверджує діагноз, а виділення санітарно-показових мікроорганізмів дає змогу встановити факт мікробного забруднення об'єкта.

Дослідження виконується у кілька етапів, кожен з них має своє завдання. Класичне виділення чистої культури триває 4 дні, хоча цей термін може змінюватися залежно від культуральних властивостей мікроорганізмів, зокрема від швидкості росту.

Застосовують також прискорені методи виділення та ідентифікації чистих культур.

Перший день дослідження. **I етап** – *взяття матеріалу*. Завдання - зберегти збудника в матеріалі, не забруднити матеріал сторонньою мікрофлорою, вберегти себе й оточуючих від зараження.

Існують окремі правила взяття і транспортування матеріалу в лабораторію із скеруванням, в якому вказується вид біологічного матеріалу, час взяття, мета дослідження. За потреби роблять первинне оброблення матеріалу – подрібнення, гомогенізацію, розведення та ін., проводять мікроскопічне дослідження матеріалу – це дає змогу орієнтовно визначити наявність мікроорганізмів у матеріалі, їхню кількість, допомагає обрати середовища для посіву. Дослідження матеріалу продовжується і за негативного результату мікроскопічного дослідження.

II етап – *посів матеріалу на щільне поживне середовище*. Завдання – одержати ізольовані колонії. Якщо в матеріалі передбачається невелика кількість мікроорганізмів, то в перший день проводять додатковий етап – *посів на середовище збагачення*, як правило, у рідкі середовища: наприклад, кров засівають у цукровий бульйон. Згодом проводять пересів із середовища збагачення на щільне середовище, щоб отримати ізольовані колонії.

Другий день дослідження. **III етап** – *облік посівів, макро- і мікроскопічне дослідження колоній*. Завдання - встановити властивості колонії і перевірити її чистоту. При цьому чашку Петрі слід тримати на рівні очей на відстані приблизно 30 см, повернувши агаром до себе. У прохідному світлі визначають форму (правильна кругла, неправильна кругла, овальна), величину (великі – 4 мм і більше, середні – 4 мм, малі – до 2 мм і менше, точкові), характер країв (рівні, зазубрені, хвилясті – цю ознаку можна дослідити у біокулярному мікроскопі), прозорість (прозорі, напівпрозорі, ущільнені в центрі тощо). Потім чашку повертають доверху закривкою і, оглядаючи дещо з боку (у відбитому світлі), досліджують колір, наявність пігменту – білий, жовтий, золотистий, фіолетовий (водонерозчинний пігмент забарвлює тільки масу колонії, водорозчинний дифундує в середовище), структуру і характер поверхні (гладка S-форма - від англ. *Smooth* – гладкий, рівний, і шорстка R-форма – від англ. *rusk* - сухар, блискуча, волога, матова, рівна, опукла, з радіальними або концентричними лініями). Визначають консистенцію, доторкаючись до колонії стерильною бактеріологічною петлею.

Забирають частину колонії для виготовлення препарату-мазка, фарбують його за Грамом. При цьому визначають морфологію бактерій і перевіряють чистоту колоній (у мазку мають бути бактерії одного морфологічного типу, однакового розміру і однакового забарвлення за Грамом). Якщо в препараті виявлені інші бактерії, то така колонія подальшому дослідженню не підлягає.

IV етап – *пересів ізольованої колонії на похилий агар*. Завдання – отримати чисту культуру. Для пересіву, як правило, беруть залишок колонії, яку перевіряли на чистоту. Пересівати слід уважно,

щоб не торкнутись бактеріологічною петлею іншої колонії.

Третій день дослідження (облік посівів на похилому агарі). **V етап** – *макро- і мікроскопічне дослідження чистої культури*. Завдання – перевірити чистоту культури, вивчити морфологію клітин.

При макроскопічному дослідженні звертають увагу на однорідність росту (однакові колір і структура нальоту). При посіві штрихом на поверхні агару ріст має бути за ходом штриха і в зоні змочування конденсаційною водою. Поява росту поза штрихом може вказувати на стороннє забруднення. Далі фарбують за Грамом, перевіряють чистоту (однорідність, однотипність і однотинкторіальність культури), докладно вивчають морфологію клітин, застосовуючи методи для виявлення спор, капсул, включень, джгутиків (виявлення рухливості).

VI етап – *дослідження властивостей культури*. Завдання – ідентифікувати культуру. Чисту культуру пересівають на ряд Гіса або інші диференціально-діагностичні середовища для вивчення біохімічних властивостей культури: смужки АРІ, системи індикаторні паперові, ентеротести тощо. Ці дослідження є основними і проводяться майже з усіма виділеними культурами.

Для багатьох мікроорганізмів найважливішими критеріями для ідентифікації є антигенні властивості. Їх встановлюють за допомогою діагностичних сироваток, що містять антитіла проти виділеного мікроорганізму. За потреби встановлюють токсигенність культури і патогенність для тварин. Із практичних потреб дуже важливим є дослідження чутливості до антимікробних препаратів (антибіотикограма) і чутливості до бактеріофагів.

Четвертий день дослідження. **VII етап** – *облік посівів на диференціально-діагностичних середовищах і встановлення біохімічних властивостей культури, облік результатів інших досліджень*. Завдання - остаточно ідентифікувати культуру на основі комплексу властивостей.

Основні критерії ідентифікації чистих культур:

- *морфологічні і тинкторіальні властивості клітин*. Виявляються при мікроскопічному дослідженні препаратів, пофарбованих за Грамом та іншими методами.
- *культуральні властивості* - потреба в тих чи інших середовищах і характер росту на них. Виявляються при посіві на твердих (особливості колоній) і в рідких середовищах (осад, плівка, каламутність).

Біохімічні властивості. Виявляються при посіві на диференціально-діагностичні середовища.

Антигенні властивості. Виявляються за допомогою діагностичних сироваток з відомими антитілами.

Додаткові критерії для окремих видів - *токсигенність, патогенність для тварин*. Для внутрішньовидової диференціації встановлюють *чутливість до антибіотиків, бактеріоцинів і бактеріофагів*.

Слід зауважити, що тривалість досліджень у 4 дні є умовною. Для бактерій, що повільно ростуть, цей час може збільшуватися, і навпаки. Існують прийоми і методи, що дають змогу провести ідентифікацію бактерій вже на перших етапах досліджень, але остаточні висновки роблять на основі повного вивчення властивостей культур.

Виділення чистих культур анаеробів

Анаеробні мікроорганізми значно поширені в природі. В організмі людини більшість видів нормальної мікрофлори є анаеробами. Патогенні види анаеробів спричиняють тяжкі хвороби – правець, газову гангрену, ботулізм. Неспорові анаероби бактероїди – гнійні ураження ран, септичні стани.

Анаеробні бактерії використовують при деяких біотехнологічних процесах – для одержання вакцинних препаратів і біологічно активних речовин (ферментів, вітамінів).

Мікробіологічна діагностика анаеробних інфекцій складна. *Для культивування анаеробів потрібно створити анаеробні умови в середовищі (відновний редокс-потенціал) і відповідну (безкисневу) атмосферу*. Універсальним середовищем для культивування анаеробів є середовище

Кітта -Тароці, що містить глюкозний бульйон, шматочки печінки або фаршу (для зв'язування кисню повітря). Перед посівом це середовище нагрівають упродовж 10-30 хв (100 °С) у водяному нагрівачі, для видалення повітря швидко охолоджують, а після посіву матеріалу заливають стерильним вазеліном. Для культивування анаеробів використовують також середовище Вільсона-Блера на основі бісмут-сульфіт-агару (у ньому анаероби утворюють чорні колонії), середовище Шедлера, цукровий агар, кров'яний агар, а також молоко.

Анаеробні умови створюють різними способами. Найдосконалішим є використання анаеростатів - приладів, які дають змогу створити анаеробні умови шляхом відсмоктування повітря. У лабораторіях їх можна створити за допомогою хімічного поглинача кисню – лужного пірогалолу. Застосовують також біологічний метод (Фортнера), коли на одну половину чашки із середовищем засівають анаеробні бактерії, а на іншу – аероби. Чашку герметично закривають. Аероби поглинають кисень, після чого починають рости анаероби.

Для культивування багатьох анаеробів важливий особливий газовий склад, зокрема наявність водню і вуглекислоти. У сучасних мікроанаеростатах створюється оптимальний газовий склад за допомогою спеціальних пакетів, які під час зволоження виділяють певну кількість необхідних газів (системи «GasPac»). Деякі системи анаеростатів мають автоматизовану подачу водню з балонів, а також каталізатори, що забезпечують зв'язування вільного кисню воднем.

Для виділення анаеробів, особливо спорових, матеріал засівають у розплавлене агаризоване середовище при 45 °С. Ріст анаеробів можна отримати у високих стовпчиках агару, у трубках Віньяля-Вейона, в які засмоктують розплавлене середовище з посіяним матеріалом, під скляною пластинкою, покладеною на поверхню середовища в чашці Петрі.

Для виділення чистих культур анаеробних бактерій матеріал засівають, як правило, у середовище збагачення Кітта-Тароці. Колонії можна отримати також у трубках Віньяля-Вейона.

Біохімічні властивості культур анаеробів вивчають, засіваючи культури в середовища ряду Гіса, але при цьому створюють анаеробні умови (у пробірки заливають стерильне вазелінове масло). У сучасних лабораторіях використовують тестові системи для біохімічної ідентифікації анаеробних бактерій.

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, дріжджів і плісені. Метод є зручним, простим в роботі та 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.

Mini API – мікробіологічний аналізатор для ідентифікації мікроорганізмів.

Простий прилад зі стандартизованими готовими реактивами, які розподілені по смужках, спрощують правильне проведення і отримання якісного аналізу.

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 bioMerieux 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.

5. Інновації в мікробіології

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

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

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

Моніторинг навколишнього середовища. Сучасні методи відбору проб. Губки для відбору проб зразків: 3M 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 проб у важкодоступних місцях (грунту, вентиляційних систем, дослідження біоплівки, санітарно-гігієнічний контроль). Являє собою трубку, виготовлену із легкого і міцного алюмінію, яка дозволяє проводити відбір зразків 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 - пластиковий контейнер з кришкою Flip-Top з різними розчинами.

3M 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, ефективною сушки, стерилізації відходів, у відповідності з прямим призначенням стерилізації.

Біочіпи в медичній мікробіології — це мініатюрні пристрої, що використовуються для

швидкого виявлення, ідентифікації та аналізу мікроорганізмів. Вони працюють на основі біотехнологій, мікроелектроніки та мікрофлюїдики й мають величезний потенціал у діагностиці інфекційних захворювань.

Біочіп — це мікроскопічна пластина (зазвичай виготовлена з кремнію, скла або полімерів), на поверхні якої закріплені біологічні молекули (ДНК, антитіла, ферменти), здатні взаємодіяти зі специфічними мішенями (бактеріями, вірусами, токсинами тощо).

Використання в медичній мікробіології:

1. *Діагностика інфекцій*: швидке виявлення патогенів (бактерій, вірусів, грибів) у зразках крові, слини, сечі тощо. Ідентифікація збудників із високою точністю навіть при низьких концентраціях.

2. *Антибіотикорезистентність*: аналіз генів, що відповідають за стійкість до антибіотиків у бактерій. Визначення чутливості до конкретних препаратів.

3. *Епідеміологія*: моніторинг поширення інфекційних агентів у реальному часі.

Виявлення нових або мутованих штамів.

4. *Персоналізована медицина*: визначення індивідуальних ризиків розвитку інфекцій. Вибір оптимального лікування на основі аналізу генетичного матеріалу пацієнта.

Імунохемілюмінесцентний метод (ІХЛ) — це сучасний лабораторний метод аналізу, що базується на принципі взаємодії антигену та антитіла з використанням хемілюмінесцентного сигналу для виявлення й кількісного визначення біомолекул.

Цей метод широко використовується в медичній діагностиці, зокрема в мікробіології, для виявлення мікроорганізмів, їх антигенів, антитіл або інших маркерів інфекційних захворювань.

Мікробіологічні автоматичні аналізатори — це автоматизовані прилади, що використовуються для швидкого та точного визначення мікроорганізмів (ідентифікації) і їхньої чутливості до антимікробних препаратів.

Приклади аналізаторів: VITEK 2 (bioMérieux); BD Phoenixаналіз; MALDI Biotyper (Bruker).

Переваги: швидкість – результати за години, а не дні; точність - мінімізує людський фактор; масштабність – обробка великої кількості проб.

Ці системи є незамінними в клінічній діагностиці та епідеміологічному моніторингу.

ЛЕКЦІЯ №2

Тема: «ПОШИРЕННЯ МІКРООРГАНІЗМІВ У ПРИРОДІ. ВПЛИВ ФАКТОРІВ ДОВКІЛЛЯ НА МІКРООРГАНІЗМИ»

ПЛАН

1. Поширення мікробів у природі.
2. Мікробіота навколишнього середовища та людини.
3. Інфекційний контроль.
4. Вплив факторів навколишнього середовища на мікроорганізми.

ЗМІСТ

1. Поширення мікробів у природі

Мікроорганізми поширені всюди. Вони заселяють ґрунт, воду, повітря, рослини, організми тварин і людей – *екологічні середовища заселення мікроорганізмів*.

Виділяють вільноживучі та паразитуючі мікроорганізми. Усюди, де є джерела вуглецю, азоту, кисню і водню, обов'язково зустрічаються мікроорганізми, що розрізняються за своїми фізіологічними потребами і що займають відповідні *екологічні ніші*. Титанічна роль мікроорганізмів в кругообігу речовин в природі має виняткове значення для підтримки *динамічної рівноваги біосфери*.

Мікроорганізми в екологічних нішах співіснують у вигляді складних асоціацій – *біоценозів* з різними типами взаємостосунків, що кінець кінцем забезпечують співіснування численних видів прокариот і різних царств життя.

Всі типи взаємостосунків мікроорганізмів об'єднуються поняттям *симбіоз*. Він може бути *антогоністичним* і *синергетичним*.

2. Мікробіота навколишнього середовища та людини. Мікробіота ґрунту

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

В плодючих ґрунтах 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 неспоруючі, гриби, простіші, водорості, віруси*.

Мікробіота ґрунту поділяється на: постійну (аутохтонну) та випадкову (заносну, алохтонну) мікрофлору.

Процеси, які проходять у ґрунті

В ґрунті проходить *розкладання і мінералізація* тваринних і рослинних залишків, які попадають в ґрунт, 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 ґрунту.

Мікробіота води

Видовий склад мікрофлори води має багато спільного з мікрофлорою ґрунту. Крім цього, у воді є багато різних видів *вібріонів, спірил, 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 й 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.

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.

Мікробіота повітря

В повітрі мікроорганізми швидко гинуть від несприятливих умов: висихання, дії сонячної радіації, зміни температури, відсутності поживних речовин тощо. Постійна мікробіота, що довго зберігається – це спори грибів, бактерій, сарцини та 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 від забруднених предметів: стафілококи, стрептококи, стрептококи пневмонії, менінгококи, збудники дифтерії, коклюшу, туберкульозу, різні віруси.

Бактеріальний аерозоль — це суспензія дрібних частинок (крапель або твердих часток), що містять живі бактерії або їх компоненти, яка розповсюджується в повітрі.

Склад може включати бактерії, бактеріальні спори, токсини чи продукти їхньої життєдіяльності.

Розмір частинок зазвичай від 1 до 10 мкм, що дозволяє їм тривалий час залишатися в повітрі й проникати в дихальні шляхи.

Джерела: може утворюватися природно (кашель, чхання, ґрунт) або бути штучно створеним (наприклад, у лабораторіях чи промисловості).

Утворення бактеріального аерозолу: виділення під час чхання, кашлю, розмови (наприклад, при респіраторних інфекціях), розпилювання ґрунту або води (наприклад, *Legionella* у системах кондиціонування).

Значення в мікробіології:

1. Передача інфекцій: бактеріальний аерозоль є одним із основних шляхів поширення повітряно-крапельних інфекцій (туберкульоз, дифтерія).

2. Екологічні дослідження: аналіз атмосферних зразків для виявлення бактеріального складу повітря.

3. Лабораторна діагностика моделювання умов передачі бактеріальних інфекцій.

Профілактика: використання масок і респіраторів, ефективна вентиляція приміщень, стерилізація та дезінфекція в лабораторіях і медичних закладах.

Бактеріальний аерозоль має важливе значення для розуміння механізмів передачі інфекцій та боротьби з ними.

Фази бактеріального аерозолу:

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 пилю, які є в повітрі.

3. *Пильовий аерозоль* – також складається з підсохлих частин слини і сечі або частин пилю, які є в повітрі.

Охорона навколишнього середовища

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, бактерій групи кишкової палички (БГКП), ентерококи, золотистий стафілокок, протей.

На основі кількості санітарно-показникових мікробів вираховують коли-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.

Мікробіота тіла здорової людини

Мікробіота - 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.

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

Основні біотопи мікробіоти 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 облигатні анаероби.

Мікробіота новонароджених і дітей раннього віку

Внутрішньоутробно дитина стерильна. Формування кишкового мікробіоценозу 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 неспорутворюючих анаеробів – біфідобактерій, пропіонобактерій, пептококів, пептострептококів, бактероїдів і фузобактерій. Однак домінують аеробні бактерії – лактобацили, коки, дріжджові грибки.

Мікробіота шкіри

Видовий спектр мікробіота шкіри нараховує понад 300 різних видів мікроорганізмів.

Мікробіота шкіри людини — це складна екосистема мікроорганізмів, які населяють поверхню шкіри і відіграють важливу роль у підтримці її здоров'я та імунітету. Вона включає бактерії, гриби, віруси та навіть паразитів, і є динамічною системою, що залежить від віку, статі, стану здоров'я та зовнішніх факторів.

Медичне значення мікробіому шкіри

1. Основні мікроорганізми. Коменсальні бактерії: *Staphylococcus epidermidis* — захищає шкіру, виробляючи антимікробні пептиди; *Cutibacterium acnes* — бере участь у формуванні акне.

Бактерії: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, які викликають гнійні інфекції, імпетиго, абсцеси та флегмони.

Гриби: *Malassezia spp.* — асоціюється з себорейним дерматитом і лупою.

Віруси: НРV (вірус папіломи людини) викликає бородавки; герпесвіруси провокують герпетичні ураження.

2. Роль у патологіях. Дерматологічні захворювання: дисбаланс мікробіоти може сприяти розвитку акне, atopічного дерматиту, псоріазу. Інфекції ран: Мікробіота шкіри є джерелом збудників, що викликають післяопераційні ускладнення, наприклад, інфекції протезів. Імунологічні розлади: Порушення взаємодії між мікробами та імунною системою може призводити до

аутоімунних захворювань.

3. Фактори впливу. Антибіотики, антисептики й надмірна гігієна змінюють склад мікробіоти, підвищуючи ризик колонізації патогенами. Медичні процедури (катетери, імпланти) часто створюють «вхідні ворота» для патогенів.

4. Роль у терапії. Пребіотики та пробіотики: розглядаються як спосіб відновлення здорової мікробіоти шкіри. Цільова антибіотикотерапія: знання специфіки мікробіоти допомагає уникати дисбіозу та розвитку резистентності. Біоплівки: *Staphylococcus epidermidis* може створювати біоплівки на медичних пристроях, що ускладнює лікування.

Мікробіота шкіри має вагомe значення для медичних працівників, особливо під час проведення маніпуляцій пацієнтам, що сприяє передачі інфекцій, які передаються із наданням медичної допомоги.

Її склад особливо важливо враховувати при лікуванні хронічних і гострих шкірних захворювань.

Профілактика інфекцій, спричинених шкірною мікробіотою, є критично важливою в хірургії, дерматології та при догляді за пацієнтами з ослабленим імунітетом.

Мікробіота шкіри — не лише захисний бар'єр, а й потенційне джерело патогенів, що підкреслює її важливість у клінічній практиці.

Мікробіота слизової оболонки носа, носоглотки

Містяться стафілококи, стрептококи, диплококи, бактероїди, корінеформні бактерії, гемофільні палички, пептококи, лактобактерії, непатогенні нейсерії та інші мікроорганізми. Можуть зберігатися, не спричиняючи патологічного процесу, аденовіруси. Описано більше ніж 700 видів мікроорганізмів, що відносяться до різних таксономічних груп, і складають нормальну аутохтонну облігатну та факультативну мікробіоту 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*, *Bifidobacterium*, *Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Leptotrichia*). Часто зустрічаються *L.casei*, *B.melaninogenicus*, *B.gingivalis*, *L.bucalis*.

Мікробіота ротової порожнини

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

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

З грамнегативних знаходять вібріонів, маленьких грамнегативні паличок-бактероїдів, спірохет – *Spirochaeta buccalis* – велика груба спірохета з неправильними вигинами і *Spirochaeta dentium* – менша за розміром з завитками, які нагадують спірохету сифілісу.

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

Мікробіота 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 в'їчастим епітелієм або знищуються фагоцитами та іншими речовинами, що секретують клітини слизової оболонки – муцин, секреторний імуноглобулін А, лізоцим, інтерферон та інші гуморальні фактори і механізми неспецифічної резистентності організму людини.

Мікробіота кон'юнктиви ока

Трапляються непатогенні корінебактерії (дифтероїди), стафілококи, стрептококи, стрептококи пневмонії. Регуляція видового та кількісного складу мікроорганізмів кон'юнктиви здійснюється

слизною 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.

Мікробіота травного каналу

Зустрічаються кислотостійкі мікроорганізми: лактобацили, дріжджі, шлункові сарцини, грамнегативні бактерії.

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

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

В шлунку, не дивлячись на несприятливе середовище, є аутохтонна облигатна (*S.ventriculi*, *B.subtilis*, *Lactobacillus*) та факультативна, а також алохтонна мікробіота.

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 см^3 вмісту дванадцятипалого кишківника.

Мікробіота товстого кишківника

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

Мікробіота у маленьких дітей

Біфідобактерії – різновидності молочнокислих бактерій. При штучній лактації знаходять молочнокислі бактерії – *лактобацили*.

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

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

При гострих інфекційних захворюваннях, запаленні слизової оболонки кишківника виділяються основні представники – *гнилисні мікроорганізми*, стафілококи, гриби роду *Candida*. При захворюваннях травного каналу, антибіотикотерапії, лейкозах, онкологічних захворюваннях, радіоактивному опроміненні і променевої 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 кишечника, аж до дизбактеріозу.

Мікробіота сечостатевої системи

Порожнини сечового міхура і матки стерильні. Сечовивідний 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 зазначити кислотостійку паличку – *Bact.smegmae*, а в піхві – грампозитивну паличку – *Bact.Doderleini* (ця паличка є постійним жителем здорової жінки). Це тонка ацидофільна паличка. Сприятливі умови для неї – кисле середовище.

Забір біологічного матеріалу – мазок на мікробіоту з піхви (ступені чистоти вагіни)

Розрізняють чотири ступені чистоти піхвового вмісту: I та II ступені чистоти бувають у здорових жінок і характеризуються кислою реакцією (рН 4,0-5,5), вмістом молочнокислих бактерій (палички Дедерляйна), 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.

Мікробіота 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.

Гнотобіоти

Гнотобіоти (грец. Gnotos — відомий та грец. bios — життя) — тварини, вільні від мікроорганізмів, їх отримують і вирощують їх у стерильних умовах. Гнотобіотами також називають стерильних тварин, спеціально заражених визначеними видами мікроорганізмів.

Вперше ідея про можливість життя без мікробів була висловлена Л. Пастером в 1885, але лише у 40-х роках ХХ століття американські та японські вчені, розробивши повноцінні стерильні дієти і апаратуру, створили підхід для розвитку і розмноження безмікробних тварин. Використання гнотобіотів (морських свинок, мишей, кроликів та інших лабораторних тварин, а також поросят, телят, баранів) в різних областях біології та медицини призвело до формування та 60-х роках ХХ століття самостійного наукового напрямку — гнотобіології.

Знання особливостей життєдіяльності гнотобіотів важливе для вивчення формування імунітету, механізмів взаємодії паразита і організму господаря, фізіології травлення, інфекційних патологій і тому подібне. Дослідження гнотобіотів показали, що нормальна життєдіяльність тварин у природних умовах можлива лише за наявності в організмі нормальної мікрофлори. Гнотобіологічні методи використовують в клінічній медицині, мікробіології, імунології, вірусології, паразитології тощо, а також при випробуванні фармакологічних засобів і біологічних препаратів.

3. Профілактика інфекцій та інфекційний контроль

Профілактика інфекцій та інфекційний контроль (ППК) є невід'ємною частиною безпечного надання медичної допомоги.

Інфекційний контроль — це комплекс організаційних, профілактичних та протиепідемічних заходів, спрямованих на запобігання появі та поширенню інфекційних хвороб, пов'язаних із наданням медичної допомоги (ІПНМД), що базується на результатах епідеміологічного нагляду.

Профілактика інфекцій та інфекційний контроль має вирішальне значення для зведення до мінімуму передавання збудників інфекційних хвороб, а також для забезпечення готовності до спалахів і запобігання їм.

До основних компонентів ППК належать:

- адміністративний компонент;
- інженерний компонент;
- компонент засобів індивідуального захисту.

Ключові елементи системи профілактики інфекцій та інфекційного контролю:

- план дій щодо профілактики інфекцій та інфекційного контролю (створення комісії з інфекційного контролю, набір команди, затвердження і реалізація плану дій);
- програма покращення гігієни рук (відповідальна особа – координатор програми, члени

- команди - інструктори та спостерігачі);
- програма адміністрування антимікробних препаратів;
- епідеміологічний нагляд.

Дотримання гігієни рук медичними працівниками у закладах охорони здоров'я є одним з головних заходів щодо запобігання поширенню інфекційних хвороб, які пов'язані з наданням медичної допомоги та поширення збудників з антимікробною резистентністю. Контаміновані руки медичних працівників є фактором передавання мікроорганізмів всередині закладу і можуть бути причиною перехресного інфікування та спалахів інфекцій.

Гігієна рук — це спосіб очищення рук, який суттєво зменшує кількість потенційних патогенів (шкідливих мікроорганізмів) на руках і є найважливішим заходом для профілактики інфекційних хвороб, які пов'язані з наданням медичної допомоги. Це загальний термін, який застосовується до миття рук водою з милом, гігієнічної обробки рук та хірургічної обробки рук.

Гігієнічна обробка рук — обробка рук шляхом втирання антисептика для рук в шкіру рук.

Антисептик для рук — спиртовмісний дезінфекційний засіб (рідина, гель або піна), що застосовується для нанесення на шкіру рук з метою знищення мікроорганізмів.

Державні санітарно-протиепідемічні правила і норми щодо поводження з медичними відходами

Система охорони здоров'я продукує величезну кількість відходів, які можуть бути небезпечними. Неправильне поводження з медичними відходами ставить під загрозу громадське здоров'я як через прямий вплив, так і через загострення екологічної кризи. Адже високий рівень утворення відходів і низькі показники вторинного перероблення призвели до того, що в Україні до 90% медичних відходів потрапляють на сміттєзвалища.

У відповідь на ці виклики МОЗ України впроваджує законодавчі зміни у закладах охорони здоров'я до Державних санітарно-протиепідемічних правил і норм щодо поводження з медичними відходами.

Категорії відходів

Медичні відходи поділяються на такі категорії:

- категорія А – побутові відходи (безпечні відходи);
- категорія В – епідемічно (інфекційно) небезпечні відходи;
- категорія С – токсикологічно небезпечні відходи;
- категорія D – радіологічно небезпечні відходи.

Поводження з відходами:

1. Сортування відходів.

2. Нейтралізація або дезактивація відходів (за потреби).

Нейтралізація відходів — це сукупність методів, спрямованих на усунення токсичності відходів або її зниження до допустимих норм.

Дезактивація медичних відходів — це сукупність методів, спрямованих на видалення радіоактивних речовин з поверхні/середовища або зниження їхньої кількості до допустимих концентрацій фізичними чи хімічними засобами.

3. Збирання відходів.

Збирають відходи якомога ближче до місць їхнього утворення в окремі ємності (контейнери, мішки/пакети), що візуально чітко розрізняються за кольором та/або маркуванням.

У місцях первинного утворення відходів мають бути запасні ємності (контейнери, мішки/пакети) для збирання відходів. Змішувати відходи різних категорій не можна.

4. Маркування відходів.

Наповнені ємності (контейнери/мішки/пакети) первинного пакування щільно закривають, позначають біркою для маркування (за необхідності), поміщають у ємності

(контейнери/мішки/пакели) вторинного пакування для зберігання та/чи транспортування.

5. Перенесення відходів у корпусні/міжкорпусні (накопичувальні) місця тимчасового зберігання в межах закладу (за потреби).

Заборонено накопичувати, тимчасово зберігати, транспортувати, захоронювати небезпечні відходи (категорій В, С, D) разом з відходами категорії А.

6. Оброблення чи знешкодження відходів (за потреби й за наявності ліцензії у закладу).

7. Транспортування відходів до об'єктів поводження з відходами, окрім відходів категорії D, поводження з якими регулює законодавство України щодо поводження з радіоактивними відходами і нормами радіаційної безпеки.

Вивозять відходи лише за графіком, який розробляє відповідальна особа, погоджує з перевізником та суб'єктом господарювання, котрому передають відходи, і який затверджує керівник закладу.

На кожен з етапів системи поводження з відходами відповідальною особою розробляється спеціальна операційна процедура (СОП), що затверджується керівником закладу.

Працівники не допускаються до виконання робіт з відходами без проведених навчання, підготовки і перевірки знань (далі – навчання) щодо СОП, залежно від залученості (виконування працівниками процесів щодо поводження з відходами). Навчання обов'язково включає СОП щодо алгоритму дій у разі виникнення аварійних ситуацій.

Навчання проводиться планово мінімум один раз на рік і позапланово в разі потреби (наприклад, впровадження в закладі нового СОП, виникнення аварійної ситуації).

4. 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 (*psychros* – холод), які ростуть при низькій мінімальній температурі біля 0-10°C, оптимальна 10-20°C і максимальна 30°C.

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

Деякі з них викликають псування продуктів на холоді. Деякі патогенні бактерії, як приклад – збудник псевдотуберкульозу розмножується при температурі 4°C. А мікроорганізм *Serratia marcescens* при температурі 20-25°C утворює багато червоного пігменту – продігіозан, ніж при 37°C.

Мезофіли - ростуть при температурі від 20 до 40°C. Оптимум росту 37°C. Більшість патогенних мікроорганізмів відносяться до мезофілів.

Термофіли - розвиваються при температурі від 50 до 75°C. На дні океану в гарячих сульфідних водах живуть бактерії, які розвиваються при температурі 250-300°C і тиску 262 атм.

Термофіли живуть в гарячих джерелах, беруть участь в процесах самонагрівання перегною, зерна, сіна. Оскільки перегній найбільше багатий термофілами, їх розглядають як показники забруднення ґрунту.

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 °C, а бактеріальні спори – при -250 °C. Багато вірусів також добре зберігаються при низькій температурі - 70 °C, зберігаючи при цьому

інфекційні властивості. А тому їх можна довго зберігати в замороженому стані, в тому числі при температурі рідкого газу (- 173 °С).

Температурний фактор враховують при проведенні стерилізації. Вегетативні форми бактерій гинуть при температурі 60 °С через 20-30 хв; спори – під тиском пари в автоклаві при 120 °С.

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 й інші гинуть при висиханні впродовж декількох хвилин, інші бактерії (шигели, сальмонели, холерний вібріон) через декілька днів, треті (мікобактерії туберкульозу) витримують висушування понад 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 пов'язаний зневодненням 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 тимінових димерів 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, освітніх 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, 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 полістеролові 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 випромінювання, 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 дезінтегратори для руйнування мікробних клітин. Механізм дезінтеграційної 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 призводить 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 повне звільнення об'єктів навколишнього середовища від мікроорганізмів та їх спор.

Методи стерилізації:

- Фізичні – термічні, радіаційні й механічні.
- Хімічні – розчинами і газами, які можна пошкодити (ендоскопи, гумові вироби, полімерні, титанові сплави).
- Біологічні - антибіотики.

Фізичні методи стерилізації:

1. Прожарювання (фламбування) в полум'ї пальника.

2. Стерилізація сухим жаром або гарячим повітрям.

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

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 охолонути. Виймають сітку з інструментами за допомогою гачків. Беруть пінцетом або корцангом необхідні інструменти.

Автоклавування – дія пари під тиском. Стерилізація досягається дією пари, температура якої вища, ніж температура киплячої води в автоклаві. **Тест-реактиви стерилізації** під тиском: бензонафтол, який плавиться при 110°C , антипірін – при 113°C , резорпін і сірка – 119°C , бензойна

кислота – при 120°C.

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

При тиску 2 атм проводять знешкодження біологічного 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 карамелізуються, а стерилізують дробно текучою парою. Наприклад: прості середовища – МПА, МПБ стерилізують 20 хв при 120°C (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°C або в автоклаві при 112°C (0,5 атм) 10-15 хв. Різні рідини, прилади, які мають гумові шланги, корки, бактеріальні свічки і фільтри стерилізують 20 хв при 120°C (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 автоклавовання 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°C, антипирин – при 113°C, резорпін і сірка – 119°C, бензойна кислота – при 120°C.

Стерилізація текучою парою проводиться в автоклаві при відкритій кришці й відкритому випускному крані. Стерилізують 30-60 хв. Спори при цьому не гинуть. Стерилізують 3 дні підряд при 100°C по 30-60 хв. А тому вегетативні форми спор гинуть на 2 і 3 день. Такий метод отримав назву дробної стерилізації.

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

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

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

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

Хімічний метод стерилізації використовується для запобігати бактеріальному забрудненню поживних середовищ та імунобіологічних препаратів (вакцин і сироваток). До поживних середовищ додають хлороформ, толуол, ефір. При необхідності середовище нагрівають до 56°C і консервант випаровується.

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, провітрювання, 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. *Кисневоовмісні 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. *Солі важких металів* (срібла, ртуті, свинцю, міді, цинку, олова);
7. *Барвники* (брилянтовий зелений, ріванол);
8. *Гази* (озон, суміш оксиду етилену і броміду метилу, оксид етилену, оксид пропілену);
9. *Кислоти* (оксолінова, борна, бензойна, саліцилова), луги (аміак і його солі, натрію гідроксид, калію гідроксид) зневоднюють клітину.

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 гризунів, які є джерелом інфекції.

Вплив біологічних факторів

Симбіоз – взаємовигідне співжиття різних видів мікроорганізмів.

Мутуалізм – взаємовигідне співжиття двох організмів.

Коменсалізм – співжиття особин різних видів, при якому вигоду з симбіозу має один вид, не приносячи шкоди іншому.

Паразитизм (від грецького “*parasitos*”) – взаємовідношення, коли одні організми живляться за рахунок іншого, приносять йому шкоду.

Сапрофітізм – 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 мікроорганізмів під впливом іншого.

Антагонізм може розвиватися за джерело живлення: інтенсивно розвиваючись і знижуючи поживні речовини середовища, мікроорганізм-антагоніст пригнічує ріст інших мікроорганізмів.

ЛЕКЦІЯ №3

Тема: «ВІРУСИ БАКТЕРІЙ (БАКТЕРІОФАГИ). ГЕНЕТИКА МІКРООРГАНІЗМІВ. АНТИБІОТИКИ. ХІМІОТЕРАПІЯ І ХІМІОПРОФІЛАКТИКА ІНФЕКЦІЙНИХ ХВОРОБ»

ПЛАН

1. Генетичні методи мікробіологічної діагностики інфекційних хвороб.
2. Поняття про генотипову і фенотипову мінливість.
3. Бактеріофагія.
4. Антибіотики. Принципи раціональної антибіотикотерапії. EUCAST.
5. Хіміотерапевтичні препарати.

ЗМІСТ

1. Генетичні методи мікробіологічної діагностики інфекційних хвороб

Принципи генної інженерії. Одним із магістральних напрямів розвитку біологічної науки у ХХІ ст. є гена інженерія, в основі якої лежать методи пересадження генів від організмів одного виду в інші. Ці методи вперше розробили на моделях прокаріотичних клітин. Сьогодні гена інженерія використовує прокаріоти для створення медичних препаратів, які іншими способами отримати неможливо.

По-перше, у прокаріотичні клітини пересаджено гени людини, що кодують синтез гормонів – білків або поліпептидів (інсуліну, соматотропного гормону), а також інтерферону, який застосовується як імуномодулятор, противірусний і протипухлинний препарат. Одержано також генно-інженерні білки-регулятори – інтерлейкіни і цитокіни.

Методами генної інженерії можна отримати профілактичні і лікувальні препарати, а також препарати для діагностики мікробних хвороб, особливо вірусних.

По-друге, методом генної інженерії одержано білки деяких мікроорганізмів, які не вдається вирощувати в лабораторних умовах (віруси, найпростіші). А на їх основі – діагностичні і профілактичні препарати (вакцини), зокрема вакцину проти гепатиту В – Ендерікс вакцина.

Основою методів генодіагностики і геноідентифікації, які щоразу ширше застосовуються у медичній практиці, є *генетичні зонди*. Це фрагменти ДНК або РНК, які є комплементарними копіями до певних унікальних генів мікроорганізмів, які потрібно виявити чи ідентифікувати. У такі зонди вводять позначку – «мітку» (використовують радіоактивний ізотоп, люмінесцентний барвник або фермент). Внаслідок реакції між комплементарними послідовностями нуклеотидів зонд з'єднується з ДНК мікроорганізму, який виявляється.

Для геноідентифікації мікроорганізмів нині широко застосовують зонди РНК, які є комплементарними копіями специфічних локусів РНК 16S рибосом бактеріальних клітин. Ці зонди складаються з невеликої кількості нуклеотидів (18-30), тому їх називають *олігонуклеотидними* зондами. Тепер їх отримують синтетичним шляхом з використанням автоматичних приладів-синтезаторів.

Олігонуклеотидні зонди (праймери) є специфічними компонентами основного сучасного методу генодіагностики – *полімеразної ланцюгової реакції*.

Полімеразна ланцюгова реакція. Полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР, від англ. – *polimerase chain reaction*), яку розробили у 80-х рр. ХХ ст., внесла революційні зміни не тільки в методи діагностики інфекційних хвороб, а й в інші галузі біології й медицини. Принцип реакції полягає в багаторазовому копіюванні специфічної ділянки ДНК або окремого гена за допомогою ферменту ДНК-полімерази.

Для того, щоб виявити певний ген, варто знати структуру так званих кінцевих повторів – унікальних нуклеотидних послідовностей, які обмежують початок і кінець гена. Синтетичним

шляхом отримують олігонуклеотидні зонди - комплементарні копії кінцевих повторів, які здатні з'єднуватися з ними і утворювати двоспіральні структури ДНК. Для синтезу копій гена використовують термостабільну ДНК-полімераза (виділену з бактерій, що живуть у гарячих джерелах). На I етапі реакції олігонуклеотид - праймер, або стартер, утворює двоспіральну структуру з кінцевими повторами гена. Ця структура є стартовою точкою, з якої ДНК-полімераза приєднує, за правилами комплементарності, нуклеозидтрифосфати до ДНК, синтезуючи копію гена. Синтез припиняється на другому кінці гена, обмеженому двоспіральною структурою з участю праймера і кінцевого повтору. На II етапі реакційна суміш підігрівається до 94 °С, при якій відбувається перехід двоспіральної структури ДНК у дві односпіральні (денатурація). При охолодженні суміші до 54 °С знову в реакцію вступають праймери і ДНК-полімераза започатковує новий цикл синтезу. Кількість таких циклів сягає кількох десятків; таким чином одержують достатню кількість генного матеріалу, яку можна виявити аналітичними методами, зокрема за допомогою мічених генетичних зондів.

Полімеразна ланцюгова реакція за специфічністю і чутливістю не має рівних серед методів мікробіологічної діагностики. Вона використовується для виявлення слідових кількостей ДНК, тому застосовується для швидкої діагностики бактеріальних, вірусних, протозойних і грибкових захворювань, виявлення збудників хвороб у доквіллі, харчових продуктах і питній воді. На основі аналізу геномів встановлюється спорідненість між окремими видами мікроорганізмів, звідки розвивається природна класифікація світу мікроорганізмів.

Поза межами мікробіології ця реакція широко застосовується у судовій медицині, археології, палеонтології, систематиці.

Після кількох десятиліть експериментально-теоретичного вивчення встановили основні закономірності генетики мікроорганізмів, які заклали фундамент молекулярної генетики. У світі мікроорганізмів виявили мутаційні зміни і генетичні внутрішньовидові і міжвидові генетичні взаємодії, унаслідок яких змінюються клінічно важливі ознаки мікроорганізмів, такі, як антигенна структура, вірулентність, токсигенність, чутливість до антибіотиків. На сьогоднішньому етапі прикладна генетика мікроорганізмів розвивається у напрямку генно-інженерних досягнень, що формують основу для отримання нового покоління діагностичних і лікувально-профілактичних препаратів. Розроблені унікальні за специфічністю і чутливістю методи генодіагностики і геноідентифікації, які значно підвищили достовірність діагностичних методів.

2. Поняття про генотипову і фенотипову мінливість

Генетика мікроорганізмів вивчає процеси спадковості й мінливості. Особливістю генетики мікроорганізмів є те, що генетичні зміни, виникаючи на рівні клітини, проявляються на рівні мікробної популяції.

Генетичний матеріал бактерій оформлений у вигляді кільцевої хромосоми, що складається з двоспіральної нитки ДНК. Кожна спіраль формується з дезоксирибофосфатного «скелета» і нуклеотидів, які за правилами комплементарності з'єднують між собою дві нитки спіралі (цитозин з'єднується з гуаніном, тимін – з аденіном, тому співвідношення Ц:Т=Г:А стає для цього виду).

Гени бактерій. Геном бактерій організований як сукупність генів нуклеотидних послідовностей, які кодують певну ознаку. Геном бактерій гаплоїдний, тобто містить один набір генів, на відміну від диплоїдного геному еукаріотів, що містить гени у подвійному наборі.

За функціональними характеристиками розрізняють структурні гени, в яких триплетним кодом зашифрована послідовність амінокислот у молекулі білка, і регуляторні гени, продукти яких регулюють роботу гена, реагуючи на зміни метаболізму в клітині (регуляція кінцевим продуктом ферментативної реакції) або на появу в клітині нових метаболітів (регуляція синтезу адаптивних ферментів).

Реплікація. Реплікація (відтворення) геному бактеріальної клітини забезпечує точну передачу генетичної інформації від «материнської» до «дочірніх» клітин у процесі поділу. Процес реплікації

починається у визначеному місці бактеріальної хромосоми.

Транскрипція і трансляція. Генетична інформація в бактеріальній хромосомі подана *триплетним кодом*. Реалізація генетичної інформації розпочинається з транскрипції – синтезу інформаційної РНК (мРНК) на матриці ДНК за допомогою ферменту ДНК-залежної РНК-полімерази.

мРНК, що синтезується за правилом комплементарності, передає інформацію про синтез білка на рибосомі. На рибосомах здійснюється процес трансляції – синтезу білка.

Мутації. Генетичні явища, що виникають внаслідок змін генетичного коду, називають мутаціями. Найважливіші види мутацій:

- делеції – «випадання» одного або декількох нуклеотидів, а ті, що залишились, об'єднуються у нові триплети, які кодуєть синтез білка з іншим складом амінокислот;
- інерції – вставлення одного або декількох нуклеотидів з такими ж наслідками (зміною амінокислотних послідовностей у молекулі білка);
- транспозиції – зміна розміщення генетичного матеріалу в бактеріальній хромосомі.

У бактерій виявлено спеціальні генетичні елементи – інтегрони, що можуть вивільнятися з клітини, приєднувати генетичні елементи ззовні, наприклад зі зруйнованих мікроорганізмів, і знову включатися в клітину. У такий спосіб можуть передаватися важливі генетичні ознаки мікроорганізмів, наприклад стійкість до антибіотиків.

Окрім того, за ступенем вираженості розрізняють:

- точкові мутації – змінюють один нуклеотид;
- поширеніші мутації – змінюють багато нуклеотидів чи гени;
- змістовні мутації – ведуть до виражених змін гено- і фенотипу;
- беззмістовні – відсутні видимі зміни;
- природні мутації – виникають при дії на бактеріальні клітини фізичних або хімічних мутагенів або внаслідок помилок під час процесів транскрипції;
- штучні мутації – в експериментальних умовах їх спричиняють дією мутагенів для вивчення генетичних процесів або для одержання мікробних мутантів, які відрізняються деякими властивостями, наприклад, є сильними продуцентами біологічно активних речовин.

Клінічне значення мутацій полягає в тому, що їх наслідком стає зміна таких клінічно важливих властивостей мікроба, як токсигенність, чутливість до антибіотиків, антигенна структура.

Модифікації. Модифікації – неспадкова мінливість, що виникає під впливом факторів навколишнього середовища і не діє на генетичний апарат (наприклад, L-форми бактерій).

Однією з форм генетичних змін є *дисоціація* – виникнення в популяції мікроорганізмів особин, що відрізняються зовнішнім виглядом і структурою колонії – S- та R-форми. S-форми колонії – круглі, вологі, з блискучою гладкою поверхнею. R-форми – з нерівними краями, хвилеподібною поверхнею. S-форми вірулентніші, з типовою морфологією, біохімічно активні, виділяються переважно в гострому періоді хвороби.

Відомі O- і H-модифікації. O-форми не мають джгутиків і утворюють ізольовані колонії, H-форми – джгутикові, на агарі дають «повзучий» ріст у вигляді нальоту.

Генетичні взаємодії у бактерій

Кон'югація. Дослідження, проведені в середині ХХ ст., показали, що між бактеріальними клітинами відбувається обмін генетичним матеріалом. Цей обмін відбувається між клітинами, які містять фактор фертильності F⁺; вони виступають як донори генетичного матеріалу для F- клітин, які є реципієнтами. Таке явище, за аналогією до подібного процесу в еукаріотів, називають кон'югацією. Процес кон'югації здійснюється з участю війок 2-го типу – білкових ниткоподібних структур на поверхні клітин.

Дослідження генетичних змін при кон'югації дало змогу скласти генетичні карти мікроорганізмів, тобто встановити послідовність розміщення генів у хромосомі.

Трансформація. В умовах генетичних експериментів показано, що ДНК, виділена з бактерій, які мають характерну ознаку (наприклад, капсулоутворення), передає цю ознаку іншим бактеріями, в яких ця властивість була відсутня. Передача генетичних ознак за допомогою виділеної з клітин ДНК називається трансформацією. Клітини, які сприймають «чужу» ДНК, називають компетентними.

Явище трансформації виявлено і в природних умовах. Установлено, що ДНК зі зруйнованих бактерій може частково включатися в інші бактерії, причому в них з'являються нові генетичні ознаки. У цьому процесі беруть участь спеціальні генетичні елементи бактеріальних клітин *інтегрони*. Наприклад, гени із бактерій, стійких до антибактерійних препаратів, завдяки трансформації можуть передаватися іншим бактеріям, що сприяє поширенню резистентних штамів у природних умовах і в організмі людини.

Трансдукція. Явище трансдукції полягає в передачі генетичної інформації у прокаріотичних клітин унаслідок інфікування їх помірним бактеріофагом.

Бактеріофаги – це віруси бактерій, які розмножуються у бактеріальній клітині, спричиняючи її лізис. Існують помірні бактеріофаги, які у процесі взаємодії з клітиною здатні включати у свій геном фрагменти геному клітини і передавати їх іншій клітині.

Транспозиція і транспозони. У геномі прокаріотів існують «рухомі» генетичні елементи – транспозони, здатні змінювати місце локалізації у бактеріальній хромосомі. Їх ще називають «генами, що стрибають». Вони можуть кодувати структуру деяких ферментів, змінюючи біохімічні властивості бактерій, антигенну структуру, токсиноутворення, чутливість до антимікробних препаратів. Транспозони можуть включатися у плазмиди або, навпаки, з плазмід у бактеріальну хромосому чи в геном помірного бактеріофага.

Рекомбінація. Під час передачі генетичного матеріалу за одним із описаних вище механізмів настає рекомбінація між геномом бактерії реципієнта і переданого генетичного матеріалу. Гомологічна рекомбінація відбувається між фрагментами ДНК, що характеризуються високим ступенем гомологічності (однакової послідовності нуклеотидів).

А негомологічна рекомбінація – між фрагментами ДНК, що різняться за нуклеотидними послідовностями.

У процесах рекомбінації беруть участь спеціальні системи ферментів – рестриктази, ендонуклеази, лігази.

Плазмиди. Важливими факторами генетичної мінливості є плазмиди. Плазмиди – це позахромосомні генетичні елементи, властиві прокаріотичним клітинам, зокрема грампозитивним і грамотрицативним бактеріям. Плазмиди утворені двоспіральними кільцевими молекулами ДНК масою 1 - 200 кД (кілодальтон). Одна клітина може містити багато різних плазмід, а одна плазміда може бути наявною в одній або кількох копіях, проте їхня кількість не є постійною.

Характерні ознаки: 1) не мають власної системи синтезу білка; 2) не здатні до росту і бінарного поділу; 3) розмножуються шляхом самореплікації геному; 4) є внутрішньоклітинними структурами, які інколи розглядаються як внутрішньоклітинні паразити.

Плазмиди несуть гени, що не є обов'язковими для клітини-хазяїна, але надають бактеріям додаткові властивості. У бактерій різних видів виявлені: R-плазмиди – несуть гени, які відповідають за множинну резистентність до антимікробних препаратів; F-плазміда, або статевий фактор – визначає здатність бактерій до кон'югації й утворення статевих пілей; Ent-плазмиди, що детермінують продукцію ентеротоксину тощо.

Плазмиди можуть визначати вірулентність бактерій (наприклад, збудників чуми, правця), контролювати синтез антибіотикоподібних речовин-бактеріоцинів, детермінованих плазмідами бактеріоциногенії.

Кон'югаційні плазмиди можуть передаватися від однієї клітини до іншої під час кон'югації. Вони великі за розміром, кодуєть 10-12 різних генів, що є учасниками кон'югації (трансферні гени).

Некон'югаційні плазмиди малі за розміром, не мають трансферних генів, однак можуть

передаватися з клітини у клітину, включаючись у кон'югаційні плазмід.

Плазмід можна виділити з клітин і знову ввести їх в інші бактеріальні клітини. Така властивість плазмід дає змогу використовувати їх як вектори в генній інженерії.

Від плазмід залежить чимало ознак бактерій, які мають клінічне значення:

- стійкість до антибіотиків (множинна резистентність), яка залежить від R-плазмід;
- стійкість до дезінфекційних препаратів, що містять ртуть і срібло, завдяки дії ферментів редуктаз;
- продукція бактеріоцинів – білків, токсичних для інших видів бактерій;
- продукція бактеріями білкових екзотоксинів, які часто мають вирішальне значення у патогенезі хвороб;
- утворення поверхневих ниткоподібних структур (пілі, війки), від яких залежать адгезивні властивості – здатність бактерій адсорбуватися на клітинах слизової оболонки макроорганізму.

Плазмід є зручною моделлю для експериментів зі штучною реконструкцією генетичного матеріалу, широко використовуються в генній інженерії для отримання рекомбінантних штамів бактерій.

3. Бактеріофагія

Бактеріофаги – віруси бактерій, що здатні руйнувати тільки живі бактеріальні клітини шляхом репродукції в них та їх лізисом (розчиненням). Відкриття явища бактеріофагії пов'язане з іменем канадського вченого Ф. д'Ереля (1917 р.), який виявив ефект лізису дизентерійних бактерій.

Фаги розрізняють за морфологією, хімічною будовою, типом нуклеїнової кислоти, характером взаємодії з клітиною. Вони мають велике поширення в природі – їх знаходять у воді, ґрунті, стічних водах, у матеріалі від хворих й інших біосубстратах.

Морфологія. Структуру фага вивчають за допомогою електронної мікроскопії. Більшість фагів мають форму сперматозоїда, їх розміри становлять від 20 до 800 нм. Вони складаються з витягнутої голівки, комірця, хвостового відростка і базальної пластинки з короткими остями, від яких відходять фібрили. Голівка фага ікосаедричної (двадцятигранної) форми, всередині міститься нуклеїнова кислота (ДНК або РНК), яка оточена білковою оболонкою. Хвостовий відросток фага складається з порожнистого циліндричного стержня, оточеного чохликом, який здатний скорочуватися.

Взаємодія фага з бактеріальною клітиною

Типи взаємодії. Існують вірулентні й помірні фаги. Вірулентні спричиняють інфекцію із синтезом нових фагових часток, яка завершується лізисом бактеріальних клітин. ДНК помірних фагів включається в хромосому бактерій і передається з їх поділом необмеженій кількості бактерій. Такий тип взаємодії фага з клітиною називають **лізогенією**, а бактерії, які містять в геномі фагову ДНК (профаг) – **лізогенними**.

Взаємодія бактеріофага з бактеріальною клітиною відбувається у кілька фаз:

- *Адсорбція фага на клітині* здійснюється внаслідок взаємодії термінальних пластинок і фібрил з відповідними рецепторами клітини.
- *Проникнення в клітину.* Під дією ферменту бактеріофага (лізоциму) розчиняється стінка бактеріальної клітини, чохлик фага скорочується і в клітину проникає фагова нуклеїнова кислота.
- *Екліпс-фаза* (фаза «затемнення»). Відбувається синтез ферментів, які забезпечують репродукцію фага.
- *Репродукція фага.* Під час цієї фази синтезуються фагові білки і нуклеїнові кислоти.
- *Формування і вихід фагів* з клітини.

Один літичний цикл продовжується 30-50 хв.

Видимі ознаки фагової інфекції бактеріальних культур

Репродукція вірулентного фага в клітинах бульйонної бактеріальної культури супроводжується лізисом і просвітлінням середовища. Якщо бактерії засіяні на щільному середовищі суцільним шаром (газоном), то фаги, що вивільнилися після лізису первинно-інфікованої клітини, спричинюють лізис сусідніх клітин, утворюючи стерильні плями – бляшки. За кількістю таких бляшок встановлюють інфікувальну дозу – титр бактеріофага.

Методи титрування бактеріофага. Титром бактеріофага називають його *максимальне розведення*, при якому бактеріофаг здатний лізувати гомологічну мікробну культуру або кількість фагових часток у певному об'ємі середовища. Титр визначають для контролю технологічного процесу під час виготовлення або зберігання препаратів бактеріофагів.

Специфічність бактеріофагів. Фаговари бактерій

Більшість фагів характеризується видоспецифічністю щодо бактерій. Але є фаги, здатні руйнувати лише окремі варіанти одного і того ж виду бактерій.

Варіант бактерій, чутливий до певних типів бактеріофагів, називають фаговаром.

Фаготипування – визначення фаговарів певного виду бактерій – проводять з метою внутрішньовидової диференціації бактеріальних культур.

Практичне використання бактеріофагів

Бактеріофаги використовують для фагодіагностики, фагопрофілактики, фаготерапії.

Фагодіагностика. Бактеріофаги використовують для ідентифікації чистих культур бактерій, для фаготипування. Діагностичне значення має виявлення бактеріофагів у довкіллі чи у біологічному матеріалі від пацієнта.

Ідентифікація чистих культур бактерій. За допомогою відомих діагностичних фагів ідентифікують виділені культури мікроорганізмів. Наприклад, якщо виділена культура лізується холерним бактеріофагом, то вона ідентифікується як холерний вібріон.

Відомо, що бактеріальні культури, які походять з одного джерела, чутливі до тих самих фагів, тобто мають однаковий фаготип. Фаготипування має велике епідеміологічне значення у встановленні джерела і шляхів поширення інфекції. Наприклад, якщо під час спалаху кишкової інфекції у хворих виділено однаковий фаговар збудника, це вказує на одне джерело інфекції. Якщо такий самий фаговар збудника виявлено у носія, то це достовірно вказує на джерело інфекції.

Для фагоідентифікації і фаготипування використовують стандартні набори діагностичних фагів. Досліджувану культуру засівають на щільне поживне середовище в чашці Петрі і на поверхню посіву в певному порядку наносять різні бактеріофаги. За добу відмічають, які з фагів викликали лізис культури (утворення бляшок). Як правило, штам чутливий до кількох бактеріофагів стандартного набору.

Фаготерапія і фагопрофілактика. Фаги застосовують для лікування і профілактики інфекційних захворювань. Їхня лікувальна дія ґрунтується на здатності викликати лізис бактерій. Нині фаготерапія з успіхом застосовується для лікування інфекцій, спричинених антибіотикорезистентними бактеріями. З метою профілактики препарати бактеріофага призначають особам, яким загрожує зараження (контактним). Умовою успішного лікування бактеріофагами є встановлення чутливості бактерій до фагових препаратів. За специфічністю дії розрізняють полівалентні, моновалентні та типові фаги.

Налагоджено виробництво черевнотифозного, дизентерійного, стафілококового, стрептококового, клебсієльозного, піогенного фагів, коліфагів. Готовий препарат бактеріофага має вигляд прозорої рідини жовтого відтінку. Помутніння препарату вказує на його непридатність. Рідкі препарати бактеріофага недостатньо стійкі для зберігання. Тому тепер налагоджено випуск препаратів – бактеріофагів у сухому вигляді. Застосовують бактеріофаги переважно місцево – для

оброблення ран чи відкритих порожнин тіла або перорально. Хоча є препарати для парентерального введення.

Помірні фаги використовують у генній інженерії і біотехнології як вектор для отримання рекомбінантних ДНК, за допомогою яких потрібні гени включають у ДНК бактерій.

Бактеріофаги, що за біологічною природою є вірусами бактерій, тобто абсолютними внутрішньоклітинними паразитами прокаріотів, мають один тип нуклеїнової кислоти (ДНК або РНК) і розмножуються способом диз'юнктивної репродукції. Типові бактеріофаги складаються з білкової голівки, що містить нуклеїнову кислоту, здатного до скорочення хвостика, який забезпечує введення геному фага в клітину, і апарата для розпізнавання рецепторів чутливих клітин. За вірулентним типом взаємодії після проникнення фагової нуклеїнової кислоти в бактерію відбувається синтез компонентів фага, утворення нових фагів та вихід їх із клітини. Відбувається лізис бактерій, видимими проявами якого є стерильні плями в разі газонного посіву бактерій на щільному середовищі. Помірні фаги інтегрують свій геном у геном клітини, цей геном репродукується з поділом бактерій (лізогенні культури). Помірні фаги можуть переходити у вірулентні і спричиняти лізис клітин (лізогенна конверсія). Завдяки високій специфічності бактеріофаги використовують для фагоідентифікації й фаготипування бактерій. Існують лікарсько-профілактичні препарати бактеріофагів. Помірні фаги використовують як вектори генетичного матеріалу.

4. Антибіотики. Принципи раціональної антибіотикотерапії. EUCAST

Антибіотики – речовини мікробного, тваринного, рослинного походження або їх синтетичні чи напівсинтетичні аналоги, які вибірково пригнічують життєдіяльність мікроорганізмів. Теоретично основою для одержання антибіотиків було вивчення явища антагонізму серед мікроорганізмів. Спроби використати антагоністичну дію мікробів для боротьби з патогенними мікроорганізмами робились неодноразово, проте отримання ефективного препарату (пеніциліну) пов'язане з іменем англійського мікробіолога Александра Флемінга. Завдяки застосуванню антибіотиків надзвичайно зросла ефективність лікування багатьох інфекційних хвороб, що сприяє зниженню показника смертності й продовження тривалості життя людей.

Класифікація антибіотиків

Сучасна класифікація антибіотиків ґрунтується на їхній хімічній структурі. З практичного погляду, варто знати їхній розподіл за походженням, спектром і механізмом дії.

Бета-лактамі антибіотики – пеніциліни (бензилпеніциліни, біцилін 5, аугменти, амоксиклав та ін), цефалоспорини (цефотаксим, цефтріаксон, цефіксим, цефепім та ін.), карбапенеми (тієнами) і монобактами. Основний механізм дії – блокада синтезу компонентів мікробної стінки. Малотоксичні.

Аміноглікозиди (мономіцин, канаміцин, гентаміцин, тобраміцин, амікацин, сизоміцин, стрептоміцин). Мають широкий спектр дії, особливо на грамнегативні бактерії. Механізм дії – блокада синтезу білка завдяки зв'язуванню антибіотика з рибосомами бактеріальної клітини. Порівняно токсичні, переважно діють на слуховий нерв (ототоксичність).

Тетрацикліни. Антибіотики широкого спектра дії, антибактеріальна активність пов'язана з порушенням роботи рибосом. Природні – тетрациклін, окситетрациклін. Напівсинтетичні – міноциклін, метациклін, доксициклін. Тетрацикліни відкладаються в емалі і можуть порушити розвиток зубів у дітей.

Макроліди і лінкозаміни. Діють переважно на грампозитивні бактерії, грамнегативні коки, мікоплазми, спірохети, хламідії. Природні макроліди - еритроміцин. Напівсинтетичні - кларитроміцин, спіроміцин, азитроміцин, мідекаміцин. Лінкозаміни - лінкоміцин, кліндаміцин. За спектром дії близькі до макролідів. Діють на анаеробні неспорівні бактерії. Добре проникають у кістки. При тривалому застосуванні лінкоміцину можливий розвиток дисбактеріозу з тяжким

ураженням кишок, спричинений споровими анаеробами.

Рифампіцини. Антибіотики цієї групи блокують РНК-полімеразу, добре діють на кислотостійкі бактерії і застосовуються для лікування туберкульозу (рифадин, бенаміцин). Активні й щодо стафілококів, нейсерій.

Глікопептиди (ванкоміцин, тейкопланін). Антибіотики цієї групи діють на синтез бактеріальної стінки, до них чутливі бактерії, полірезистентні до антибіотиків (стафілококи).

Полієни (ністатин, амфотерицин В, леворин, натаміцин). Діють на цитоплазматичну мембрану, проявляють активність щодо грибів.

Поліміксини (поліміксин В, поліміксин Е). Впливають на цитоплазматичну мембрану бактерій, діють переважно на грамнегативні бактерії. Токсичні. Застосовують у випадках тяжкої інфекції, спричиненої грамнегативними бактеріями, резистентними до антибіотиків інших груп.

Антибіотики, що не увійшли до названих груп. Хлорамфенікол (левоміцетин) має широкий спектр дії щодо грампозитивних і грамнегативних бактерій. Фосфоміцин діє переважно на грампозитивні бактерії.

Слід зауважити, що фармакологічні назви антибіотиків мають чимало синонімів. Так, для ампіциліну відомо понад 60 назв. Тому при ознайомленні варто насамперед звертати увагу, до якої групи він належить; це дає змогу оцінити його ефективність і правильно вибрати препарат.

Класифікація антибіотиків за походженням

Основними продуцентами антибіотиків є *актиноміцети, гриби, бактерії*.

Більшість антибіотиків, які застосовують у практиці, одержані з актиноміцетів, виділених із ґрунту. До них належать цефалоспорини, аміноглікозиди, макроліди, тетрацикліни та ін.

З грибів – пеніцилін, гризеофульвін; отримано антибіотичні речовини з базидіоміцетів та аскоміцетів - термофілін, лензитин, хетомін.

Бактерії продукують чимало речовин з антибіотичними властивостями - піоціанін, віскозин, диплоцин, коліформін, поліміксини, колістатин, проте в лікарську практику увійшли лише поліміксини, бацитрацини.

Антибіотичні речовини продукуються *нижчими рослинами* (лишайниками, водоростями): уснінова кислота, хлорелін. *Вищі рослини* продукують антимікробні речовини, які мають назву *фітонцидів*. Проте вони малостабільні і, попри багаторічні зусилля вчених, не одержано препаратів фітонцидів, які за ефективністю могли б конкурувати з антибіотиками іншого походження. У практиці як засоби місцевої антимікробної дії застосовують препарати з евкаліпта (хлорофіліпт), звіробою (іманін, новоіманін - отримані в Київському інституті мікробіології АН України), часнику (аліцин), шавлії (сальвін). Відомі також фітопрепарати з антимікробною активністю – рафанін, пізатин, фазеолін.

Антимікробну дію мають деякі речовини *тваринного походження*, зокрема фермент лізоцим: для місцевого лікування лізоцим одержують з білка курячого яйця. З тканин риб – екмолін. Противірусну активність мають білки інтерферони. Як лікарський противірусний препарат для місцевого використання застосовують людський лейкоцитарний інтерферон, для парентерального введення використовують генно-інженерні препарати інтерферонів.

Напівсинтетичні антибіотики. Основний напрям одержання нових антибіотиків на сьогодні – хімічна модифікація природних молекул антибіотиків. При цьому отримують препарати ширшого спектра дії, менш токсичні, стійкі до мікробних ферментів, з кращими фармакодинамічними показниками.

Класифікація антибіотиків за спектром антимікробної активності

У практиці прийнято вживати термін «антибіотики вузького спектра дії» для препаратів, що діють переважно на грампозитивні бактерії, нейсерії, спірохети: природні пеніциліни,

цефалоспорини і покоління, макроліди, глікопептиди, лінкоміцин, новобіоцин, макроліди. Антибіотики широкого спектра дії активні щодо грампозитивних і грамнегативних бактерій, рикетсій. До них належать напівсинтетичні пеніциліни, цефалоспорини II - IV поколінь, тетрацикліни, хлорамфенікол. Аміноглікозиди й поліміксини діють переважно на грамнегативні бактерії.

Антибіотики, які застосовують для лікування хвороб, спричинених певними видами та групами мікроорганізмів, належать до таких груп:

- протигрибкові антибіотики – ністатин, леворин, гризеофульвін, амфотерицин В;
- антибіотики, що діють на кислотостійкі бактерії, застосовують для лікування туберкульозу: стрептоміцин, рифампіцин, канаміцин, віоміцин, циклосерин. Для лікування прокази – рифампіцин;
- антибіотики, стійкі до стафілококових пеніциліназ: оксоцилін, клоксацилін, диклоксацилін, флуклоксацилін. Полірезистентні штами стафілококів чутливі до ванкоміцину;
- антибіотики, які застосовують для лікування інфекцій, спричинених синьогнійною паличкою: карбоксіпеніциліни (карбеніцилін, тікарцилін), уреїдопеніциліни (азлоцилін, піперацилін, мезлоцилін), аміноглікозиди (тобраміцин).

Найактивнішими серед них є азлоцилін і піперацилін, цефалоспорини III-IV покоління – цефтазидим і цефіпром;

- антибіотики, що діють на грамнегативні неспоріві анаероби (бактероїди): цефокситин, карбапанеми (тієнами);
- протипухлинні антибіотики.

Деякі антибіотики, особливо ті, що порушують синтез нуклеїнових кислот, крім антибактеріальної активності мають здатність пригнічувати поділ злоякісних клітин. Через значну токсичність їх не застосовують для лікування мікробних інфекцій, використовують як засіб лікування пухлин. До них належать олівоміцин, рубоміцин, саркоміцин та ін.

Класифікація антибіотиків за механізмом дії

Бактерицидні антибіотики спричиняють загибель мікробної клітини, бактериостатичні – припиняють поділ клітин. Часто характер дії антибіотика залежить від концентрації: у високих дозах антибіотик вбиває бактерії, у низьких – припиняє їх поділ.

До бактерицидних належать: а) антибіотики, що інгібують синтез клітинної стінки – бета-лактами (пеніциліни, карбапенеми, монобактами, цефалоспорини), глікопептиди; б) антибіотики, що порушують функції цитоплазматичної мембрани – поліміксини, циклосерин, протигрибкові антибіотики (полієни).

До бактериостатичних належать:

а) антибіотики, що вибірково пригнічують синтез нуклеїнових кислот – гризеофульвін, рифампіцини, протипухлинні антибіотики;

б) антибіотики, що пригнічують синтез білка – макроліди, тетрацикліни, лінкозаміни, фузидини, аміноглікозиди.

Деякі антибіотики пригнічують синтез попередників нуклеїнових кислот – пуринів і піримідинів, блокують процеси окисного фосфорилування (синтез АТФ).

Принципи раціональної антибіотикотерапії

1. Визначення чутливості збудника до антибіотиків.
2. Вибір найбільш активного і найменш токсичного препарату.
3. Визначення оптимальних доз і методів введення антибіотиків в організм пацієнта для створення в рідинах і тканинах терапевтичної концентрації.
4. Своєчасний початок лікування і продовження його до повного закріплення терапевтичного

ефекту.

5. Врахування можливості побічної дії антибіотиків.
6. Комбінація антибіотиків між собою або з іншими препаратами для підсилення антибактеріального ефекту.
7. Тривалість курсу антибіотикотерапії.

Побічна дія антибіотиків

1. Алергічні стани.
2. Дизбактеріоз.
3. Токсична дія.
4. Тератогенна дія (на розвиток плода).
5. Ендотоксичний шок.

Європейський комітет з тестування чутливості до антимікробних препаратів - EUCAST

В Україні визначення та оцінка чутливості збудників до протимікробних препаратів здійснюється відповідно до рекомендацій Європейського комітету з тестування чутливості до антимікробних препаратів (EUCAST).

Комітет **EUCAST** розробив практичні рекомендації для визначення специфічних механізмів антимікробної резистентності, що мають клінічне та/або епідеміологічне значення. Цей документ розроблений головним чином для щоденного використання в клінічних лабораторіях та не включає технічні процедури по ідентифікації механізмів резистентності на молекулярному рівні для референтних або спеціалізованих лабораторій.

Рекомендації містять визначення механізму або специфічної резистентності, пояснення клінічної та/або санітарно-гігієнічної потреби у визначенні механізму або специфічної резистентності, стислий опис рекомендованих методів визначення. Потреба в ідентифікації механізму резистентності та її рівень, необхідний для охорони громадського здоров'я або інфекційного контролю, може відрізнятися географічно та у часі залежно від переважання та різноманітності різних механізмів резистентності. Рекомендації були розроблені шляхом проведення пошуку літератури в мережі PubMed та засновані на клінічних багатоцентрових дослідженнях або численних одноцентрових дослідженнях.

Доки визначення цих механізмів може стосуватися інфекційного контролю та охорони громадського здоров'я, воно може бути непотрібним у клінічних цілях. Сучасні підходи до визначення чутливості основних збудників інфекційних захворювань до антибіотиків базуються на глибоких наукових дослідженнях та ретельному аналізі клінічних випадків.

Стійкість мікроорганізмів до антибіотиків

Розрізняють два типи стійкості мікроорганізмів до антибіотиків: **природну** і **набуту**.

Природна стійкість є видовою ознакою. Властива всім представникам цього виду і не залежить від первинного контакту з відповідним антибіотиком. Така резистентність пов'язана з неможливістю контакту антибіотика з мішенню, що залежить від слабкої проникності клітинної стінки і цитоплазматичної мембрани, або пов'язана з відсутністю біохімічних процесів чи ферментів, на які діє певний антибіотик.

Набута стійкість виникає в окремих представників цього виду бактерій як результат змін її геному. Частина генетичних змін пов'язана з мутаціями в генах бактеріальної хромосоми. У результаті бактерія перестає бути мішенню для антибіотика внаслідок зміни біохімічних процесів або тому, що антибіотик не може досягнути мішені. Бактерії стають стійкими до антибіотика також завдяки отриманню додаткових генів від R-плазмід та інтронів. Антибіотикорезистентні бактерії витісняють антибіотикочутливі й стають джерелами формування клонів і популяцій бактерій, які

забезпечують епідеміологічне поширення збудника.

Первинну резистентність бактерій спостерігають до початку застосування антибактеріальних препаратів. Вторинна виникає або підвищується в процесі лікування антибактеріальними препаратами.

Біохімічні механізми формування резистентності:

- руйнування молекули антибіотика;
- модифікація структури молекули антибіотика;
- зміна структури чутливих до дії антибіотиків мішеней;
- формування бактеріями іншого шляху метаболізму для біосинтезу білка-мішені або для інших речовин, використання антибіотика як субстрату в біохімічних процесах з розвитком антибіотикозалежних штамів;
- формування шляхів швидкого виведення антибіотика з бактеріальної клітини (ефлюкс).

Ступінь чутливості мікроорганізмів до антибіотиків

У медичній практиці мікроорганізми за чутливістю поділяють на такі групи:

1. Чутливі мікроорганізми. Для досягнення антимікробного лікарського ефекту достатньо звичайних доз антибіотиків.
2. Мікроорганізми середньої чутливості – лише підвищені дози антибіотиків можуть забезпечити лікувальний ефект.
3. Помірно стійкі мікроорганізми – лікувальний ефект забезпечується тільки за умови високої концентрації препарату у вогнищі або введення його безпосередньо у вогнище.
4. Стійкі мікроорганізми – не можна розраховувати на лікувальний ефект певних антибіотиків.

Методи дослідження чутливості до антибіотиків

Дифузний метод:

1. Дифузія із розчинів.
2. Метод індикаторних дисків. На чашки Петрі зі щільним середовищем засівають досліджувану культуру. Після посіву на агар накладають диски з фільтрувального паперу, які містять різні антибіотики в певних кількостях (10-30 мкг). Після інкубації визначають розміри зон затримки росту. Високочутливими до антибіотика вважають мікроорганізми, які формують під його дією зони затримки росту, що перевищують 25 мм, чутливими – 15-25 мм, малочутливими – 11-15 мм.

Метод серійних розведень у рідких та на щільних середовищах.

Дає змогу встановити мінімальну пригнічувальну концентрацію препарату для виділеного збудника. Метод досить трудомісткий, але дає змогу розрахувати дозу препарату, встановити антибіотикочутливість анаеробів.

Прискорені методи. На практиці прискорені методи визначення чутливості мікроорганізмів до антибіотиків та інших хіміотерапевтичних засобів здійснюють за допомогою автоматичних систем мікробіологічного дослідження (VITEK®2 Compact, MS2, Qantum 2, Sceptor та ін).

5. Хіміотерапевтичні препарати

Хіміопрепарати — це хімічні речовини, які вибірково діють на збудників інфекційних та паразитарних хвороб і нетоксичні для організму хворого. Більшість хіміотерапевтичних препаратів створюють шляхом синтезу. При цьому головна задача полягає в тому, щоб препарат був максимально ефективним для пацієнтів і мінімально органотропним, токсичним. Ці принципи отримали розвиток у класичних працях німецького вченого П. Ерліха. Він синтезував перші хіміотерапевтичні препарати — сальварсан і неосальварсан — похідні арсену (миш'яку) і застосував їх для лікування сифілісу, а також сформулював поняття про терапевтичний індекс для оцінки якості лікувальних препаратів.

Терапевтичний індекс — це відношення максимальної дози, що переноситься хворим (*Dosis toleranta* — DT), до мінімальної лікувальної дози (*Dosis curativa* — DC). Показник терапевтичного індексу не повинен бути менше ніж 3 (DT:DC >3).

За ефектом протимікробної дії хіміотерапевтичні препарати поділяють на **бактерицидні й бактериостатичні**.

Принципи класифікації. За походженням хіміотерапевтичні препарати можуть бути неорганічними і органічними сполуками. У медичній практиці здавна використовували препарати миш'яку, ртуті, вісмуту, сурми, які виявилися ефективними для лікування хвороб протозойної і спірохетозної етіології. Новим етапом у розвитку хіміотерапії був синтез у 1932 році сульфаніламідних препаратів. Ці препарати виявилися ефективними у лікуванні хвороб бактеріальної етіології.

В основу класифікації хіміотерапевтичних препаратів покладено їх хімічну структуру, а також спрямованість дії на певну групу мікроорганізмів.

Сульфаніламідні препарати проявляють бактериостатичну дію. Механізм її ґрунтується на конкурентному антагонізмі сульфаніламідної кислоти, яка є основою для синтезу сульфаніламідних засобів, і параамінобензойної кислоти, що необхідна для життєдіяльності мікроорганізмів. Внаслідок цього порушуються метаболічні процеси в мікробних клітинах, що призводить до затримки їх росту і розмноження. У медичній практиці широко використовують сульфадимезин, сульфадиметоксин, уросульфан, фталазол, бісептол, сульфатин, інгаліпт. Ці препарати виявилися активними щодо стрептококів, стафілококів, нейсерій, ентеробактерій, коринебактерій, бацил, збудників холери, бруцельозу, трахоми тощо.

Похідні нітрофурану використовують як антисептики (фурацилін) і як хіміотерапевтичні засоби (фуразолідон, фурадонін). Вони ефективні у лікуванні хвороб, спричинених грампозитивними, грамнегативними бактеріями (збудниками дизентерії, черевного тифу), рикетсіями, найпростішими (трихомонадами, лямбліями).

Похідні 8-оксихіноліну (хініюфон, ентеросептол, нітросолін — 5НОК) використовують як антисептичні й хіміотерапевтичні препарати. Вони активні проти ентеробактерій, дизентерійної амеби, трихомонад

Протитуберкульозні препарати (ізоніазид, етамбутол, етіонамід, протіонамід, піразинамід) гальмують ріст і розмноження лише мікобактерій туберкульозу (деякі) і збудників лепри.

Протиспірохетозні засоби (бійохінол, бісроверол — препарати вісмуту) проникають через оболонку спірохет і блокують сульфгідрильні групи ферментів, що призводить до порушення метаболізму і загибелі спірохет. Застосовуються для лікування сифілісу.

Противірусні засоби пригнічують розмноження деяких вірусів. Оксолін, бонафтон використовують для лікування хвороб очей, шкіри, слизової оболонки носа ротавірусної етіології, а також для профілактики грипу. Ремантадин, мідантан, амізон, антигрипін використовують для профілактики і раннього лікування грипу. Ідоксуридин (керемід), пенцикловір, фамцикловір, валацикловір, герпевір (ацикловір) використовують для лікування простого герпесу, оперізувального лишая. Гропрінозин (ізопрінозин) порушує реплікацію ДНК і РНК вірусів, їх застосовують для лікування хвороб, спричинених вірусами герпесу, грипу, парагрипу, кору, вітряної віспи. Циклоферон застосовують для лікування герпесу, грипу та інших ГРВІ, затяжних форм гепатиту В і С, цитомегаловірусної інфекції, хламідіозів. Делавірдин, азидотимідин, іфавіренц, нель-фіновір, ритонавір є інгібіторами зворотної транскриптази, тому їх використовують у лікуванні ВІЛ-інфекції. Проходять клінічне випробування препарати віреад, Т-20. їх дія спрямована на запобігання проникненню вірусу ВІЛ-інфекції в клітини імунної системи.

Противпротозойні засоби: хлорохін, хінін, акрихін активні проти малярійних плазмодіїв; еметин, хініюфон, ентеросептол, метронідазол (метрозол), хлорохін — проти дизентерійної амеби; метронідазол, трихомонацид, тинідазол — проти трихомонад; со-люсурмін, хінгамін, акрихін,

амінохінол — проти лейшманій; метронідазол, тинідазол, амінохінол, фуразолідон — проти лямблій.

Протимікозні засоби: клотрисал використовують для лікування рубромікозу, мікроспорії, епідермофітії; мікогель, нітрофунгін, мікосептин, клотримазол — для лікування хвороб, спричинених дерматоміцетами, грибами роду *Candida*; орунгал активний при мікозах шкіри, нігтів.

Хіміопрепарати можуть негативно впливати на макроорганізм: порушувати процеси метаболізму, проявляти токсичну дію, спричинювати алергію, автоімунні хвороби, уражати клітини макроорганізму. Тому під час використання хіміотерапевтичних препаратів слід чітко дотримуватись інструкції щодо їх застосування.

ЛЕКЦІЯ №4

Тема: «ВЧЕННЯ ПРО ІНФЕКЦІЮ»

ПЛАН

1. Інфекція та інфекційний процес.
2. Поняття про патогенність, вірулентність, токсигенність, специфічність, органотропність.
3. Поширення інфекційного агента в організмі.
4. Види і форми інфекцій.
5. Експериментальний метод діагностики.

ЗМІСТ

1. Інфекція та інфекційний процес

Інфекція, або зараження – проникнення патогенного мікроорганізму в макроорганізм, внаслідок чого розвивається прихований або виражений інфекційний процес, тобто взаємодія патогенного мікроорганізму з організмом людини.

Під терміном «інфекція» розуміють сукупність біологічних процесів, що відбуваються в макроорганізмі при проникненні в нього патогенних або умовно-патогенних агентів незалежно від того, спричинить це розвиток явного або прихованого патологічного процесу, або приведе до тимчасового носійства збудника або тривалого персистування збудника.

Інфекційний процес – це взаємодія сприйнятливою людського організму і патогенного мікроорганізму в певних умовах навколишнього і соціального середовища, крайнім проявом якого є *інфекційне захворювання*.

Інфекційні хвороби мають певні особливості:

- наявність інфекційного агента (живого збудника);
- контагіозність (заразність) схильність до масового поширення;
- циклічність перебігу;
- наявність імунної відповіді.

Резервуари інфекції – це той біоценоз, у якому збудник існує як біологічний вид. *Антропонозні інфекції*, або антропонози – це інфекційні хвороби, збудники яких циркулюють тільки серед людей. До них належать дизентерія, епідемічний висипний тиф, сифіліс.

Збудники *зоонозних інфекцій* циркулюють серед тварин, від яких заражається людина (бруцельоз, туляремія), але здебільшого такі інфекції від людини до людини не передаються. Хоча існують хвороби, резервуаром яких є тварини, але інфікована людина може стати джерелом інфекції (такі інфекції називають *антропозоонозними*, серед них чума). Для зоонозних інфекцій характерна природна вогнищевість, або осередок інфекції, тобто територія, на якій вони циркулюють серед окремих видів тварин.

Збудники *сапронозних інфекцій* існують у довкіллі, звідки може заразитися людина; для їх існування зараження людини чи тварини не є обов'язковим. Прикладом сапронозної інфекції може бути легіонельоз, збудник якого розмножується у вентиляційних системах і кондиціонерах.

Джерелом інфекції може бути хвора людина чи тварина або носій, у якого ознаки хвороби відсутні, але він виділяє збудника.

Механізм передачі – це сукупність шляхів і факторів, завдяки яким підтримується циркуляція збудника в певному резервуарі.

При *фекально-оральному механізмі* збудник із фекаліями виділяється у навколишнє середовище, а потім з водою, харчовими продуктами або через забруднені руки проникає в організм людини.

За таким механізмом передаються збудники кишкових інфекцій – дизентерії, черевного тифу, холери. Збудники цих інфекцій певний час виживають у довкіллі, зокрема у воді, ґрунті або у

харчових продуктах.

Для фекально-орального механізму характерні такі шляхи поширення інфекцій:

- *водний* – збудник передається через питну воду і воду відкритих водоймищ під час використання в гігієнічних чи господарських цілях, тобто фактором передачі тут є вода;
- *аліментарний* – збудник потрапляє в харчові продукти, за певних умов розмножується в них, нагромаджуючись у концентраціях, достатніх для зараження людини. Найчастіше факторами передачі є продукти, які не підлягають термічній обробці або пройшли недостатню теплову обробку під час приготування;
- *контактно-побутовий* – фактором передачі найчастіше є забруднені руки, з яких збудник потрапляє у продукти або безпосередньо до рота (фактор «брудних рук»).

У разі недотримання санітарно-гігієнічних правил фактором передачі можуть бути й мухи, що є пасивними переносниками збудника.

При *аерогенному механізмі передачі* інфекційний агент може передаватися *повітряно-крапельним* шляхом з аерозолями, які створюються при кашлі, чханні, розмові. Так передаються збудники гострих респіраторних інфекцій, дифтерії, коклюшу.

Повітряно-пиловий шлях реалізується, коли слизові аерозолі, що містять мікроорганізми, осідають, висихають, але в такому пилу збудник зберігає інфекційні властивості й через повітря може потрапити в організм людини. Наприклад, збудник туберкульозу може виживати так упродовж багатьох тижнів. В умовах медичних закладів такими шляхами можуть передаватися збудники госпітальних інфекцій.

При *трансмисивному механізмі* збудник передається через членистоногих переносників – комах, кліщів. Умовою успішної передачі є розмноження збудника в організмі переносника. Трансмисивним механізмом передаються як антропонозні інфекції, наприклад малярія, так і зоонозні – кліщовий енцефаліт, тропічні вірусні лихоманки. Слід зазначити, що в англomовній літературі й в багатьох перекладених виданнях трансмісивними називають усі заразні хвороби, що не є зовсім точним.

При *контактному механізмі* розрізняють *прямий контакт* – укус (сказ), статевий акт (СНІД, сифіліс, гонорея). Різновидом прямого контакту є трансплацентарна передача інфекції від матері до плода. Так може передатися сифіліс, токсоплазмоз, рубівірусна інфекція (краснуха), герпетична інфекція. Інфікування новонародженого може відбутися і через родові шляхи матері під час пологів.

Непрямий контакт здійснюється через інфіковані предмети, що проникають через шкіру чи слизові оболонки при пораненні (ранова інфекція). Непрямим контактом у лікарняних умовах можуть передаватися окремі хвороби через недостатньо простерилізовані інструменти.

Останніми роками обґрунтовується наявність *вертикального механізму* передачі інфекції, за якими інфекційний агент або його геном передається через статеві клітини. Вважають, що так передаються онкогенні ретровіруси, які можуть спричиняти злоякісні пухлини.

2. Поняття про патогенність, вірулентність, токсигенність, специфічність, органотропність

Патогенність – це потенційна здатність певних видів мікроорганізмів спричиняти інфекційний процес. Є видовою ознакою хвороботворних мікроорганізмів.

Більшість патогенних мікроорганізмів характеризуються специфічністю дії, органотропністю, вірулентністю та токсигенністю.

Специфічність дії – це здатність даного виду механізмів викликати певне інфекційне захворювання.

Органотропність – це здатність певних мікроорганізмів паразитувати на певних органах і тканинах і викликати патологічні процеси.

Вірулентність – це ступінь патогенності певної культури. Може змінюватися під впливом

факторів навколишнього середовища. Її можна підсилювати або послаблювати.

Для характеристики патогенних мікроорганізмів використовують такі одиниці вірулентності:

DLm (dosis letalis minima) - найменша доза збудника, яка спричиняє за певний термін загибель 80% лабораторних тварин;

DCI (Dosis certe letalis) - доза, яка призводить до загибелі 100% тварин взятих для досліду;

DI (dosis letalis media) - доза, що вбиває половину заражених тварин.

ID (інфікуюча доза) - певна кількість патогенних бактерій, що може спричинити інфекційне захворювання.

Фактори патогенності: до основних факторів патогенності мікроорганізмів відносять *токсинутворення, адгезивність, колонізацію, інвазійність.*

Токсинутворення – це здатність мікроорганізмів продукувати токсичні речовини. За характером утворення токсину поділяються на екзо- і ендотоксини.

До екзотоксинів відносяться токсини, що продукуються збудниками ботулізму, правцю, газової анаеробної інфекції, дифтерії і ін. Вони різко токсичні, діють на організм в малих дозах, мають вибіркочну дію, білкової природи, при парентеральному їх введенні утворюється анатоксин, що здатний нейтралізувати дію того самого токсину, термолабільні.

Ендотоксини міцно зв'язані з тілом мікробної клітини, термостабільні, ліпополісахаридопротеїновий комплекс, менш токсичні, виділяються при гибелі мікроорганізмів, викликають явища загальної інтоксикації: підвищення температури, головний біль, розлади ЦНС, дихання, кровообігу.

Адгезивність - це властивість мікроорганізмів фіксуватися на поверхні відповідних клітин організму хазяїна, чутливих до даного мікроорганізму. Зумовлена наявністю органел-адгезинів (фімбрії, пілі, війки) та з другої сторони - наявністю рецепторів макроорганізму, які здатні вступати в взаємозв'язки з мікробною клітиною.

Колонізація - подібна до адгезії.

Характерна для ешерихій і зумовлює їх прикріплення до епітеліальних клітин стінки кишок. Відбувається за рахунок поверхневих білкових антигенів, зв'язаних з фімбріями (синтез яких генетичне детермінований) – це здатність прикріплюватися і розмножуватися в місці проникнення.

Инвазійність – зумовлена факторами розповсюдження, які детермінуються бактеріальними генами, високо активні, діють в малих дозах, мають властивості ферментів - ферментів агресії, що переборюють захисні пристосування організму. До них належить:

- *гіалуронідаза* – розщеплює гіалуронову кислоту, основну речовину сполучної тканини; тим самим сприяє проникненню мікробів в тканини;
- *нейрамінідаза* – відщеплює нейрамінову кислоту від глікопротеїдів, глікопептидів, полісахаридів, що входять до складу тканин і таким чином вони стають більш проникними;
- *фібринолізин* – розчиняють фібрин, сприяючи поширенню мікроорганізмів;
- *колагеназа* – руйнує колаген і сприяє поширенню *S.perfringens* і ін.;
- *коагулаза* – сприяє зсіданню плазми крові;
- *лейкоцидини* – руйнують поліморфноядерні лейкоцити;
- *лецитиназа* – розчиняє лецитин оболонки клітин;
- *декарбоксілаза* та ін.

Капсулоутворення - захищає мікроорганізми від фагоцитозу.

Наявність Vi-антигену – антигену вірулентності.

3. Поширення інфекційного агента в організмі

Патогенний мікроорганізм може викликати в місці проникнення (у воротах інфекції) місцевий процес і поширюватися через лімфатичні судини (лімфогенно), через кров (гематогенно). З проникненням бактерій у кров, виникає **бактеріємія**. Вона характерна для багатьох інфекцій,

зокрема для черевного тифу, менінгококової інфекції. Бактеріємія може перейти в **сепсис** – тяжке захворювання, при якому збудник розмножується у крові та уражає різні органи **септикопемія**. Сепсис може розвинутися внаслідок генералізації стафілококової або стрептококової інфекції ран. При вірусних інфекціях часто розвивається стан вірусемії, коли віруси проникають у кров (грип, кір, ВІЛ-інфекція).

Внаслідок циркуляції в крові екзотоксину (дифтерія, правець) розвивається **токсинемія**, при циркуляції в крові ендотоксину розвивається **токсемія**. Токсемія часто розвивається в разі масового потрапляння в кров грамнегативних мікроорганізмів, під час руйнування клітин яких виділяється ендотоксин. У цьому разі розвивається бактеріальний або токсико-септичний шок (менінгококова інфекція).

За кількістю видів збудника розрізняють моноінфекцію і змішану інфекцію.

Моноінфекцію спричинює один вид збудника (черевний тиф, дизентерія).

Змішану інфекцію (мікст-інфекцію) — одночасно декілька збудників. Такі інфекції мають тяжкий перебіг. До мікст-інфекцій відносять респіраторні хвороби, які спричиняють бактерії, віруси, мікоплазми в різних асоціаціях. Часто мікст-інфекції спостерігаються при внутрішньолікарняних хірургічних інфекціях, компонентами яких можуть бути гноєтворні коки, ентеробактерії, синьогнійна паличка, бактероїди.

Вхідними воротами інфекції можуть бути шкіра, дихальні шляхи, органи травлення, зокрема ротова порожнина, сечові та статеві органи. За деяких інфекцій сама ймовірність зараження і специфічність інфекційної хвороби залежить від того, чи проник мікроорганізм у відповідні ворота. Наприклад, клінічна картина бактеріальної дизентерії розвивається тільки з проникненням збудника через рот у кишки. Однак існують інфекції, за яких проникнення збудника відбувається через різні ворота, і в таких випадках клінічні прояви хвороби відрізнятимуться.

4. Види та форми інфекцій

Існують такі форми інфекції:

- *гостра інфекція* перебігає з вираженими клінічними проявами визначений час. При затяжній формі тривалість хвороби продовжується порівняно з типовим перебігом. При *хронічній формі* організм не звільняється від інфекції тривалий час, інколи пожиттєво, клінічні прояви слабо виражені, можливі періодичні загострення. При латентній (персистуючій) інфекції клінічні прояви хвороби не відмічаються, проте можна виявити лабораторні показники, що вказують на наявність в організмі інфекційного агента;

- *рецидив* – повторне захворювання без нового зараження;
- *реінфекція* – повторне зараження тим самим видом збудника;
- *суперінфекція* – додаткове зараження іншим видом збудника на тлі якоїсь інфекції;
- *мікст-інфекція* – змішана інфекція при одночасному зараженні двома або більше збудниками;

- *автоінфекція* – хвороба, викликана збудником, що постійно перебуває в організмі хворого.

Мікробоносійство може розвиватися у здорових осіб, які контактували з хворими на дифтерію, менінгіт, поліомієліт тощо або носіями відповідних патогенних мікробів (здорове носійство). Залежно від тривалості розрізняють гостре (менше ніж 3 міс), хронічне (понад 3 міс) і транзиторне (короткочасне, збудник не приживається в зараженому організмі і швидко покидає його) мікробоносійство.

За ступенем прояву клінічних симптомів хвороби розрізняють маніфестну і безсимптомну форми. Маніфестна інфекційна хвороба проявляється комплексом симптомів. Вона може бути типовою (проявляються всі характерні для даної інфекції клінічні ознаки) і атиповою (деякі характерні клінічні ознаки не проявляються). Наприклад, при атиповій формі висипного тифу може бути відсутній висип на шкірі. Причиною атиповості можуть бути слабкі патогенні властивості

збудника, висока резистентність макроорганізму, ефективне антимікробне лікування або все разом.

Безсимптомна форма інфекційного процесу характеризується відсутністю клінічних ознак хвороби.

Періоди інфекційної хвороби

Періоди інфекційної хвороби добре виражені при гострих інфекційних хворобах.

Періоди інфекційного процесу:

I - інкубаційний період;

II - продромальний період;

III - основних проявів захворювання;

IV - згасання симптомів і одужання (летальність, бактеріоносійство).

Інкубаційний - від моменту зараження до перших проявів хвороби. Триває від кількох до кількох днів. *Короткий* інкубаційний період характерний для дизентерії, гонореї, дифтерії. *Середній* інкубаційний період (тривалістю 1-3 тижні) характерний для черевного тифу, кору, коклюшу. При *тривалому* інкубаційному періоді перші ознаки хвороби з'являються за декілька тижнів (сказ), місяців (гепатит В) або й років (проказа).

Продромальний - період перших неспецифічних проявів хвороби – підвищення температури, порушення самопочуття, біль у м'язах, загальна слабкість. При гострих інфекціях триває від кількох годин до кількох днів.

Період виражених клінічних явищ і симптомів, характерних для кожної хвороби, триває від кількох днів до кількох тижнів. На основі таких симптомів лікарі-клініцисти ставлять діагноз інфекційної хвороби.

Період згасання й одужання (реконвалесценції) також може тривати різний час – від кількох днів до тижнів і місяців.

Наслідки інфекційної хвороби: повне одужання, рецидив, перехід у хронічну форму, формування носійства і смерть (може настати у будь-якому періоді).

Слід зазначити, що під впливом антимікробного лікування тривалість періодів і вираженість клінічних явищ значно змінюються.

Інфекційні хвороби мають тенденцію до епідемічного поширення. До епідемічного процесу належать джерело інфекції, механізми передачі, наявність сприйнятливих до інфекційного агента людей.

Епідемія - поширення інфекційної хвороби серед людей.

Ендемія – постійний рівень поширення інфекційної хвороби на окремій території. Ендемічна захворюваність часто пов'язана з наявністю природного вогнища інфекції.

Пандемія – поширення епідемічної хвороби на великі території, часто в масштабах усієї земної кулі. Поширення інфекційної хвороби серед тварин правильно називати епізоотією.

Спорадична захворюваність - окремі поодинокі випадки захворювань, що не мають зв'язку між собою.

Поняття про інфекції пов'язані із наданням медичної допомоги (ПНМД)

Інфекції пов'язані із наданням медичної допомоги (внутрішньолікарняні інфекції) – будь-яке клінічно розпізнане інфекційне захворювання, що виникло у хворого під час його лікування або процесу обстеження в лікарняному закладі після 48 годин перебування в стаціонарі за умови відсутності ознак хвороби на момент надходження в стаціонар та якщо він не перебував в інкубаційному періоді; або розвинулось безпосередньо після виписки з лікарні. Також це будь-яке інфекційне захворювання співробітника лікарні, що розвинулось внаслідок його роботи в цьому закладі незалежно від часу появи симптомів захворювання.

За останні десятиліття проблему ПНМД пов'язують і з іншою не менш важливою загрозою

людству — антимікробною резистентністю (АМР). За даними досліджень, щонайменше 75% випадків ПНМД спричинені мікроорганізмами з АМР. Нагадаємо, що у світі, за оцінками ВООЗ, до 2050 року резистентні до антимікробних лікарських засобів мікроорганізми можуть призводити до смерті 10 мільйонів людей на рік.

Причин виникнення і зростання випадків ПНМД багато, але найголовніші з них такі:

- формування і селекція "госпітальних штамів" мікроорганізмів, що мають високу вірулентність і множинну стійкість до лікарських препаратів;
- нераціональне проведення антимікробної хіміотерапії і відсутність контролю за циркуляцією резистентних штамів;
- значна частота носійства патогенної мікробіоти, серед медичного персоналу вона сягає понад 40 % (частіше це стафілокок);
- створення великих лікувальних комплексів, скупченість хворих у стаціонарах і поліклініках;
- збільшення кількості інструментальних втручань у макроорганізм: бронхоскопія, цистоскопія (від грец. kystis — сечовий міхур і skopeo — оглядати), гастроскопія (від грец. gaster — шлунок і skopeo), інтубація (від лат. in — всередину і tuba — труба, тобто введення трубки в гортань, трахею). Вважають, що 30 % інструментальних втручань проводять безпідставно, перспективним є розроблення неінвазивних методів дослідження крові і тканин (запровадження спектроскопії), а також безголкових методів введення вакцин;
- порушення правил асептики й антисептики;
- збільшення кількості осіб з імунодефіцитним станом.

Збудниками ПНМД можуть бути бактерії: стафілококи, стрептококи, синьогнійна паличка, ентеробактерії (ешерихії, сальмонели, шигели, ієрсинії), кампілобактерії, легіонели, клостридії, мікоплазми, хламідії, мікобактерії, бордетели; віруси: гепатиту, грипу й інших ГРВІ, кору, краснухи; найпростіші: пневмоцисти, криптоспоридії; гриби: роду *Candida*, аспергіли.

Джерелами ПНМД є пацієнти, відвідувачі, персонал медичного закладу; факторами передачі — контаміновані медичні інструменти, лікувальні розчини, медичні препарати, матеріали, предмети і поверхні лікувальних приміщень, вода, їжа, повітря. Шляхи передачі ПНМД різні: повітряно-краплинний, повітряно-пиловий, аліментарний, прямий і непрямий контакт, трансфузійний, вертикальний. Крім екзогенної внутрішньолікарняна інфекція часто виникає як ендогенна інфекція. Особливістю ПНМД є те, що її спричиняють умовно-патогенні або слабопатогенні мікроорганізми у людей зі зниженою імунореактивністю (імунодефіцитним станом), тому клінічна картина їх дуже різноманітна і неспецифічна. Враховуючи клінічну картину, спосіб зараження та місце локалізації патологічного процесу, ПНМД ділять на декілька груп: сепсис, бактеріємія, гнійно-запальні інфекції, ранові й опікові, захворювання дихальних шляхів, урогенітальні, гострі кишкові захворювання, посттрансфузійні та хвороби, пов'язані з тривалою антибіотикотерапією.

5. Експериментальний метод у мікробіології

Під цим методом у мікробіології розуміють відтворення (моделювання) інфекційного процесу на експериментальних тваринах. Його застосовують для вивчення етіології і патогенезу інфекційних хвороб, для первинної апробації антимікробних засобів (вакцин, сироваток, антибіотиків, хіміопрепаратів).

У практичній мікробіології — для діагностики: біологічним матеріалом від пацієнта чи із зовнішнього середовища заражають тварин, а потім виявляють у них збудника або характерні ознаки хвороби. Метод застосовують, якщо збудник не культивується на середовищах, якщо зараження тварини є чутливішим (порівняно з іншими) методом. Під час вивчення хвороб лікарських рослин інфекційний процес відтворюють на відповідних рослинах.

Експериментальні тварини і способи зараження. У мікробіологічних експериментах найчастіше використовують лабораторних тварин, яких спеціально розводять у віваріях. У віваріях

важливо суворо дотримуватися правил, щоб уникнути хвороб серед тварин, унеможливити зараження персоналу, передачу інфекцій за межі віварію. Інфікують тварин і працюють з ними в окремих ізольованих приміщеннях.

Найчастіше мікробіологічні дослідження проводять на лабораторних породах мишей (білі миші), інколи на лінійних тваринах (тварини, виведені шляхом близькоспорідненого схрещування протягом багатьох поколінь; вони мають однаковий генотип і фенотип). Часом інфікують новонароджених тварин, зокрема для виділення вірусів. Крім мишей використовують також морських свинок, кроликів, сирійських хом'ячків, щурів. Спеціально обладнані лабораторії можуть експериментувати з мавпами.

Правила роботи з тваринами вимагають гуманної поведінки, виключення експериментів, що завдають тваринам болю чи невиправданого травмування.

Тварин інфікують перорально, вводячи матеріал у шлунок спеціальним зондом, інтраназально – шляхом закапування в носові ходи, нашкірно. При парентеральному зараженні матеріал вводять у порожнину очеревини – інтраперитонеально, підшкірно, внутрішньом'язово чи внутрішньовенно. В окремих випадках тварин заражають у мозок, на рогівку ока, в кон'юнктиву ока – інтратестикулярно. Надалі за тваринами спостерігають, загибель у перші години після зараження спричинює травмування. Зазвичай гинуть дрібні тварини. У великих розвивається клінічна картина хвороби. Трупи тварин, що загинули від інфекції, досліджують за деякими правилами. При розтині відмічають патологічні зміни в різних органах. Проводять мікроскопічне дослідження мазків з крові та органів, роблять посіви для виділення збудника. Дослідження проводять з дотриманням правил безпеки, трупи тварин спалюють у лабораторних крематоріях.

ЛЕКЦІЯ №5

Тема: «ВЧЕННЯ ПРО ІМУНІТЕТ»

ПЛАН

1. Вчення про імунітет.
2. Фактори імунітету.
3. Антигени. Антитіла.
4. Імунологічні методи дослідження.
5. Патологія імунної системи.

ЗМІСТ

1. Вчення про імунітет

Імунітет (від лат. *immunitas* — звільнення) — це спосіб захисту організму від інших тіл і речовин, які несуть на собі ознаку генетично чужої інформації.

Основна функція імунної системи спрямована на виявлення змін у внутрішньому середовищі організму і на їх усунення, тобто на збереження власної біологічної індивідуальності та сталості внутрішнього середовища організму — гомеостазу (від грец. *homoios* — однаковий і *stasis* — стан).

Наука, що вивчає молекулярні, клітинні та загальнофізіологічні закономірності імунітету, називається **імунологією**.

У сучасній імунології виділяють декілька напрямів. Інфекційна імунологія вивчає механізми самозахисту макроорганізму від інфекційних хвороб. Неінфекційна імунологія вивчає проблеми алергії (підвищеної чутливості макроорганізму до антигену), імунодефіциту (імунологічної недостатності), автоімунних хвороб (ураження клітин і тканин свого організму), а також трансплантації (імунологічної несумісності тканин та шляхи її подолання), імуногенетики (механізми успадкування антигенів і генетичного контролю за імунною відповіддю), імуногематології (гемолітичні хвороби новонароджених, гемолітичні автоімунні та медикаментозні анемії, резус-конфлікт у вагітних та явища, пов'язані з переливанням крові), імуноонкології та ін.

Імунологія вивчає закономірності самозахисту організму у широкому розумінні його прояву — це системи неспецифічного самозахисту (фактори природної неспецифічної резистентності) і системи специфічного самозахисту (імунітет). В обох випадках реакції захисту здійснюються як гуморальними, так і клітинними механізмами.

2. Фактори імунітету

Фактори природної неспецифічної резистентності — це генетично зумовлені механізми, які діють проти будь-якого патогену і спрямовані на відновлення порушень нормального стану організму. До них належать: анатомо-фізіологічні, гуморальні, клітинні фактори і біологічні механізми самозахисту геному.

Анатомо-фізіологічні фактори — це шкіра, слизові оболонки, нормальна мікробіота, лімфатична система, кисле середовище шлунка, підвищення температури тіла, системи виділення тощо.

Шкіра і слизові оболонки забезпечують механічний, хімічний та біологічний самозахист організму.

Шкіра є бар'єром для мікроорганізмів. Злущування епітелію сприяє видаленню мікробів. Чиста шкіра має бактерицидні властивості.

Слизові оболонки носа, порожнини рота, травного каналу, сечових і статевих органів, а також кон'юнктива перешкоджають проникненню мікробів у внутрішнє середовище макроорганізму. Крім того, слиз адсорбує, вимиває і видалає різні мікроби, а ворсинки миготливого епітелію адсорбують їх

і виштовхують разом із слизом (механічний захист). У слині, сльозах, носовому секреті, тканинних соках міститься фермент лізоцим, здатний руйнувати пептидоглікан клітинної стінки мікроорганізмів, що призводить до їх загибелі (хімічний захист).

Нормальна мікробіота шкіри та слизових оболонок перебуває у стані антагонізму з патогенною мікрофлорою і пригнічує її розмноження (біологічний захист).

В організмі людини є близько 1000 лімфатичних вузлів різних розмірів. Лімфатичні судини пронизують тканини всього організму. Якщо мікроби проникли через шкіру і слизові оболонки, вони потрапляють у лімфу, заносяться у лімфатичні вузли і там знищуються.

Кисле середовище шлунка (у нормі рН 0,9-2,0) призводить до загибелі більшості мікроорганізмів.

Підвищення температури тіла сприяє прискоренню кровообігу та посиленню обмінних процесів. Температура 38-39 °С є оптимальною для активації макрофагів, утворення інтерферону, а у мікроорганізмів, у тому числі і вірусів, за такої температури пригнічуються процеси розмноження.

Функція системи виділення активується під дією мікробів та їхніх токсинів, унаслідок чого розвиваються блювання, діарея, посилюються потовиділення, сльозовиділення, сечовиділення, прискорюється дихання, з'являються нежить, кашель, чхання. Все це сприяє механічному видаленню мікробів з макроорганізму.

Гуморальні фактори містяться у рідинах макроорганізму (від лат. humor — рідина): сироватці крові, сечі, слині, спинномозковій рідині, тканинних рідинах, секретах слизових оболонок.

Сироватка крові містить розчинні речовини, які згубно діють на мікроорганізми: комплемент, пропердин, бета-лізини, ікс-лізини, еритрин, плакіни, лейкоїни, цитокіни, лізоцим тощо.

Система комплементу (від лат. complementum — додаток) — це складний комплекс білків сироватки крові (10 % загальної кількості). Комплемент складається із декількох компонентів (їх понад 26, але найважливішими є 9), які позначаються латинською літерою С і арабськими цифрами (С1, С2... С9), а їх субкомпоненти — маленькими латинськими літерами (С3а, С3b). В умовах фізіологічної норми ці компоненти перебувають у неактивному стані. У разі потрапляння антигену ці компоненти активуються, взаємодіють між собою, перетворюючись на каскад ферментів.

Система комплементу спричинює запалення, активує макрофаги, зумовлює лізис (розчинення) бактерій та інших клітин.

Комплемент термолабільний, він руйнується за температури 56 °С протягом 30 хв.

Пропердин (від лат. pro і perderé — підготовка до руйнування) — це білок глобулін сироватки крові, який бере участь у підготовці бактерій до руйнування, активує комплемент і фагоцитоз. Активується пропердин за наявності грамнегативних бактерій, іонів магнію.

Бета-лізини — термолабільні речовини, які згубно діють на грампозитивні мікроби.

Ікс-лізини — термостабільні речовини, які згубно діють на грамнегативні мікроби.

Еритрин виділяють з еритроцитів тварин. Він згубно діє на дифтерійну паличку та деякі інші мікроорганізми.

Лейкіни — термостабільні білки, виділені з лейкоцитів, бактерицидно діють на грампозитивні мікроорганізми.

Плакіни подібні до лейкоїнів, їх виділяють із тромбоцитів.

Лізоцим — фермент, виділений із секретів слизових оболонок і крові, здатний руйнувати клітинну стінку (пептидоглікан) бактерій.

С-реактивний білок — білок гострої фази запалення — вивільняється з різних тканин організму під час запальних процесів, тому кількість його зростає у крові хворих із запальними, некротичними і злоякісними процесами.

Сеча, простатична рідина, екстракти тканин містять біологічно активні речовини, що згубно діють на мікроорганізми.

Цитокіни — це комплекс біологічно активних речовин, що утворюються внаслідок активації

бактеріями макрофагів і лімфоцитів. До них відносять інтерлейкіни, фактор некрозу пухлин, інтерферони та ін.

Інтерлейкіни (їх відомо близько 20) активують фагоцити, лімфоцити, сприяють утворенню антитіл.

Фактор некрозу пухлин (ФНП) згубно діє на пухлинні клітини.

Інтерферони — це глікопротеїди, які утворюються в клітинах макроорганізму під дією різних патогенів. Вони активують імунітет, виявляють протимікробну, протипухлинну дію (зумовлюють у макроорганізмі понад 100 ефектів). Розрізняють три типи інтерферонів: альфа-, бета- і гамма-інтерферон.

Альфа-інтерферон — лейкоцитарний, у нього більш виражена противірусна дія, ніж протипухлинна; бета-інтерферон — фібробластний, має більш виражену протипухлинну дію, ніж противірусну; гамма-інтерферон — лімфоцитарний (іmunний), має виражені імуномодулюючі властивості (стимулює макрофаги).

Особливістю інтерферонів є те, що вони проявляють активність у клітинах того виду тварин, з якого вони отримані, тому для лікування людей може бути використаний тільки людський інтерферон. Для виробництва однієї лікувальної дози інтерферону треба використати 200 дм³ крові. Нині людський інтерферон виробляють за методом генної інженерії. Противірусну дію інтерферонів пояснюють тим, що вони блокують синтез вірусних білків. Інтерферони ефективні до зараження або до початку реплікації вірусу.

Клітинні фактори здатні поглинати антиген і перетравлювати його або вбивати чужорідну клітину. До них належать фагоцити (від грец. *phagos* — той, що поглинає, і *kytos* — клітина) і лімфоцити.

Фагоцити здатні поглинати будь-які чужорідні частинки: бактерії, віруси, найпростіші, комплекси антиген — антитіло, зруйновані клітини, тканини тощо.

Фагоцитарні властивості проявляють мікрофаги, моноцити крові й макрофаги.

Мікрофаги — це зернисті поліморфноядерні лейкоцити крові та лімфи (нейтрофіли, еозинофіли, базофіли), вони здатні поглинати частинки більші за 0,5 мкм, і не здатні поглинати віруси.

Моноцити крові становлять 3-7 % циркулюючих лейкоцитів. Всі мононуклеарні фагоцити утворюються із клітин-попередників (промоноцитів), які зароджуються у кістковому мозку. Промоноцити перетворюються на моноцити і виходять у кров, де циркулюють не довше 2 діб. Надалі моноцити проникають через стінки капілярів у тканини, збільшуються у розмірі та перетворюються на тканинні макрофаги. Вони здатні поглинати будь-які чужорідні часточки, в тому числі і віруси, — остеокласти, у нервовій тканині — мікрогліальні клітини.

Процес фагоцитозу включає 5 етапів:

- хемотаксис (макрофаг рухається у бік чужорідної часточки);
- адсорбція (макрофаг адсорбує її на своїй поверхні);
- утворення фагосоми (часточка занурюється в клітину макрофага, поки не зіллється краї клітинної оболонки);
- утворення фаголізосоми (макрофагальні лізосоми підходять до оболонки фагосоми і розчиняють її; внаслідок цього фагосома зливається з лізосомами і ферменти лізосом виділяються у фаголізосому);
- процесинг (перетравлення чужорідного агента). Внаслідок процесингу мікроби гинуть, а їхні антигени переходять на мембрану фагоцита. Потім фагоцит представляє цей антиген лімфоцитам (антигенпрезентуюча клітина).

Так запускається ланцюг іmunних реакцій, які призводять до розмноження сенсibiliзованих лімфоцитів, синтезу антитіл, клітин іmunної пам'яті, активації системи комплементу, розвитку запалення.

Фагоцитоз, який закінчується процесингом чужорідного агента, називається завершеним.

Деякі мікроорганізми здатні захищатися від дії фагоцитів. Так, віруси грипу, збудники туберкульозу, токсоплазмозу, потрапляючи у фагосому, гальмують її злиття з лізосомами. Оболонка капсульних форм бактерій не чутлива до дії ферментів, а рикетсії проникають із фагосоми в цитоплазму та уникають контакту з ферментами. У таких випадках процесинг не відбувається, тому мікроорганізми розмножуються у фагоциті, а фагоцити інколи навіть гинуть. Такий фагоцитоз називається незавершеним. У разі незавершеного фагоцитозу мікроби фагоцитами розносяться по організму.

На поверхні зрілих *макрофагів* (фагоцитів) розміщені різноманітні рецептори до антитіл, комплементу, інтерферонів, антигенів мікробів, молекул головного комплексу гістосумісності. Ці речовини сполучаються з макрофагами та активують їх.

Запалення — це основний фактор неспецифічного захисту, в розвитку якого основну роль відіграють клітини, в тому числі й фагоцити. У разі порушення цілості тканин організму будь-яким фактором (хвороботворним мікробом, хімічним, фізичним) розвивається запальний процес. При цьому з мастоцитів (тканинних базофілів), які розселені по всьому організму, виділяються біологічно активні речовини (гістамін, брадикінін, серотонін, лейкотрієни тощо), які підвищують проникність стінок капілярів. Внаслідок цього із судин у зону запалення проникають мікрофаги та ексудат, що містить комплемент, фібриноген, антитіла, лейкоцити та інші речовини. Накопичення ексудату зумовлює утворення набряку. Фагоцити утворюють вал навколо вогнища запалення, фібриноген перетворюється на фібрин і закриває міжклітинні простори. Зменшення швидкості кровотоку призводить до утворення мікротромбів, підвищення густини крові. Усе це перешкоджає поширенню мікробів за межі вогнища запалення. У цьому вогнищі виникають несприятливі умови для розмноження мікробів: ацидоз (кисле середовище), гіпоксія (недостатність кисню), місцева гіпертермія (підвищення температури). Крім того, мікроби гинуть під дією макрофагів, антитіл і комплементу. Запалення характеризується певними ознаками: набряк, гіперемія, гіпертермія, біль. Запальні процеси можуть виникнути у будь-якій тканині.

Лімфоцити, що зумовлюють неспецифічний захист організму, називають цитотоксичними і природними кілерами.

Цитотоксичні лімфоцити здатні розпізнавати за допомогою макрофагів та знищувати будь-який чужорідний агент: віруси, мутантні клітини.

Природні кілери — НК-клітини (від англ. natural — природний і killer — убивця) здатні самостійно (без допомоги макрофагів) розпізнавати та знищувати різні варіанти пухлинних клітин.

Механізм кілерної дії лімфоцитів полягає у тому, що під час контакту з чужорідною клітиною вони виділяють особливий білок — перфорин (від лат. *perforo* — пробиваю), який за наявності іонів кальцію швидко полімеризується і утворює канал у мембрані чужорідної клітини — завдають летального удару. Через цей канал заходить вода, клітина набухає і лопається.

Біологічний механізм самозахисту геному

Природна неспецифічна резистентність існує не тільки на рівні організму, а і на рівні клітини, де вона спрямована на захист генома. Цей самозахист здійснює сам геном шляхом самовиправлення різних порушень у структурі ДНК і припинення функціонування в клітині чужорідного геному.

Таким чином, взаємодія анатомо-фізіологічних, гуморальних, клітинних факторів забезпечує знищення генетично чужорідних агентів (мікробів, мутантних клітин). Разом із тим ці фактори є основою для формування набутого імунітету. Так утворюється єдина найбільш ефективна система самозахисту організму.

Види імунітету

За походженням розрізняють два види імунітету: **природжений** і **набутий**, який може бути природним і штучним, а кожний з них — активним і пасивним.

Природжений (видовий, спадковий) імунітет — це видова генетично зумовлена несприйнятливості (резистентність) макроорганізму до чужорідного агента. Видовий імунітет проявляється в тому, що люди не хворіють на чуму собак, на холеру курей, а тварини не хворіють на дизентерію, черевний тиф, гонорею. Видова несприйнятливості забезпечується сукупністю механізмів, характерних для певного виду тварин. Збудники інфекції, потрапляючи у несприйнятливий для них макроорганізм, не розмножуються в ньому через несприятливі умови (температуру, рН середовища, біохімічні процеси) або не мають рецепторів до клітин цього організму. Внаслідок цього мікроби гинуть або виводяться з організму без змін. Видовий імунітет зумовлений факторами неспецифічної резистентності, але його не можна повністю ототожнювати з природною неспецифічною резистентністю.

Набутий імунітет формується у процесі індивідуального розвитку макроорганізму і характеризується високою специфічністю.

Набутий природний активний імунітет виникає після перенесеної маніфестної чи інапарантної інфекції (постінфекційний). Він може бути стійким і нестійким, тривати від декількох років до кінця життя організму.

Набутий природний пасивний імунітет передається від матері до дитини через плаценту та з грудним молоком (материнський імунітет). Він нетривалий, зберігається до 5-6-місячного віку дитини і захищає не від усіх інфекцій (наприклад, він не захищає від грипу, туберкульозу).

Штучний активний імунітет формується через 1-2 тиж після введення вакцин (поствакцинальний) і зберігається протягом декількох років (після введення черевнотифозної вакцини — 1 рік, вакцини проти кору — 5-8 років, вакцини проти гепатиту А - 20 років).

Штучний пасивний імунітет формується одразу після введення сироваток або імуноглобулінів (постсироватковий) і зберігається протягом 4-6 тиж.

За місцем прояву імунітет буває **загальним** і **місцевим**. При більшості інфекцій формується загальний імунітет. Місцевий імунітет — це несприйнятливості до інфекцій чутливої тканини, де локалізується збудник. Він формується при кишкових і респіраторних інфекціях.

За спрямованістю проти певного патогену розрізняють антибактеріальний, антитоксичний, противірусний, протигрибковий, протипаразитарний, протипухлинний, трансплантаційний імунітет.

Залежно від періоду звільнення макроорганізму від патогенних мікробів розрізняють стерильний і нестерильний імунітет. Стерильний імунітет формується у організмі, який звільнився від патогенних мікроорганізмів. Він захищає від реінфекції. Нестерильний (інфекційний) імунітет формується за наявності патогенних мікроорганізмів у макроорганізмі (туберкульоз) і захищає від суперінфекції.

Імунна система. Центральні та периферичні органи імунної системи

Органом імунітету є лімфоїдна тканина, яка утворює **лімфоїдну систему**. Її особливість полягає в тому, що вона не існує як єдиний анатомічний орган, а розселена по всьому організму. Клітини імунної системи здатні мігрувати (від лат. *migrans* — той, хто переселяється) із крові в лімфу і навпаки, а також у будь-яку тканину організму, що забезпечує реалізацію функції імунного контролю. Загальна маса лімфоїдної тканини (імунної системи) у людини становить 1,5-2 кг, а кількість лімфоїдних клітин — $1 \cdot 10^{12}$.

Органи імунної системи поділяють на дві групи: **центральні** (первинні) і **периферичні** (вторинні).

До центральних органів імунної системи відносять кістковий мозок і загруднинну залозу (тимус).

Кістковий мозок — це орган, у якому постійно утворюються клітини — попередники (стовбурові клітини) кровотворної та імунної систем.

Загруднинна залоза (тимус) — це орган, у якому відбувається антигеннезалежне дозрівання Т-

лімфоцитів і їх субкласів. Структура імунної системи людини У птахів центральним органом імунної системи є сумка Фабриціуса — бурса (від лат. *bursa* — сумка), де дозрівають лімфоцити незалежно від антигену. Ці лімфоцити були названі В-лімфоцитами (дозрівають у бурсі). В організмі людини бурси немає, аналогічні лімфоцити дозрівають у кістковому мозку і за аналогією також називаються В-лімфоцитами. У період ембріонального розвитку людини функцію центрального органу імунітету виконує печінка, але після народження дитини стовбурові клітини переміщуються у кістковий мозок.

До периферичних органів імунної системи відносять селезінку, апендикс, лімфатичні вузли, а також лімфоїдні утворення, які розміщені у слизових оболонках різних органів. У периферичних лімфоїдних органах є дві зони: тимусзалежна і тимуснезалежна. У тимусзалежній зоні оселяються Т-лімфоцити, що залишили тимус. У тимуснезалежній зоні розміщуються В-лімфоцити, які покинули кістковий мозок. У периферичних лімфоїдних органах перебувають Т- і В-лімфоцити у «замороженому» стані. За відсутності антигену вони через деякий час гинуть, а в разі зустрічі з антигеном піддаються проліферації (поділу) і диференціації. Цей етап дозрівання Т- і В-лімфоцитів називають антигензалежним.

3. Антигени. Антитіла

Антигени, їх властивості

Усі форми імунної відповіді індукуються антигенами.

Антигени (від грец. *anti* — проти і *genes* — той, що народжує) — це генетично чужі речовини природного або синтетичного походження, які в разі проникнення в організм спричиняють утворення сенсibilізованих лімфоцитів і синтез специфічних антитіл. Антигени характеризуються двома властивостями: антигенністю і специфічністю.

Антигенність — це здатність антигенів стимулювати утворення специфічних антитіл і розмноження сенсibilізованих лімфоцитів.

Специфічність — це здатність антигену взаємодіяти тільки з тими антитілами і сенсibilізованими лімфоцитами, які утворилися під його впливом.

Антигенами можуть бути речовини будь-якого походження: органічного (мікробного, рослинного, тваринного) і неорганічного (дезінфектанти, лікарські речовини тощо). Антигени можуть надходити в організм ззовні (через шкіру, слизові оболонки, в тому числі травного тракту, носоглотки, верхніх дихальних шляхів) — це екзогенні антигени. Вони також можуть утворюватися у внутрішньому середовищі організму внаслідок зміни нормальних клітин і тканин під впливом мікробів, ліків, фізичних факторів (опіків, обмороження) — це ендогенні антигени, або автоантигени.

За хімічним складом антигенами можуть бути: білки, полісахариди, денатуровані нуклеїнові кислоти та їх комплекси (глікопротеїди, нуклеопропротеїди). Ліпіди в основному не проявляють антигенні властивості, винятком є кардіоліпін (антиген м'язів серця). Ліпіди здатні посилювати антигенність інших речовин, тому їх використовують як ад'юванти (від англ. *adjuvant* — помічник).

Антигенність речовин залежить від молекулярної маси, чужорідності, тривалості перебування в організмі (тривалості персистенції), способу введення в організм, а також дози.

Молекула антигену складається з неактивної частини і активної групи. Роль неактивної частини — молекули-носія, або шлепера (від нім. *schlepper* — провідник) — виконують високомолекулярні речовини: білки, полісахариди та їх комплекси. Молекула-носії сприяє проникненню антигену у внутрішнє середовище макроорганізму і встановлює контакт з клітинами лімфоїдної системи. За допомогою активних груп (активної ділянки молекули) антиген прикріплюється до специфічного антитіла або сенсibilізованого лімфоцита. Ці групи називають детермінантами, або епітопами. їх кількість може бути різною (3-20 і більше), вони зумовлюють валентність антигену.

За здатністю проявляти антигенні властивості всі антигени поділяють на *повноцінні* і *неповноцінні*.

Повноцінні антигени характеризуються двома властивостями — антигенністю і специфічністю.

Неповноцінні антигени, або гаптени (від грец. *hapto* — прикріплювати) мають тільки другу властивість, тобто специфічність. Гаптени — це низькомолекулярні речовини органічного і неорганічного (йод, бром) походження, які не здатні самостійно стимулювати утворення антитіл і розмноження сенсibiliзованих лімфоцитів. Цієї властивості вони набувають після прикріплення до молекули-носія.

За специфічністю розрізняють антигени видові, групові, типові, гетероантигени, автоантигени тощо.

Видові антигени однакові на макромолекулах одного виду мікробів, рослин, тварин. Їх визначення дає змогу відокремити один вид організмів від інших.

Внутрішньовидові антигени мікроорганізмів визначають їх належність до певних груп і типів.

Групові антигени однакові в окремих груп мікроорганізмів, які належать до одного виду.

Типові антигени розміщені на клітинах певного штаму мікроорганізмів одного виду і визначають сероваріант мікроорганізмів.

Ізоантигени, або алоантигени виявляють на клітинах певних груп людей, тварин, які належать до одного виду. Так, на еритроцитах людей виявлено понад 80 алоантигенів. У клінічній практиці враховують антигени А і В, за наявності яких виділяють чотири групи крові: 0 (нульова, не містить алоантигенів), А (містить алоантиген А), В (містить алоантиген В), АВ (містить алоантигени А і В), відповідно I, II, III і IV групи; а також резус-фактор, за наявності якого виділяють дві групи крові — Rh⁺ і Rh⁻ (резус-позитивну і резус-негативну).

На всіх клітинах людського організму є антигени, які об'єднують у систему головного комплексу гістосумісності. Оскільки вперше вони були виявлені на лейкоцитах, їх називають лейкоцитарними — HLA (від англ. *human leucocyte antigens*). Антигени гістосумісності враховують під час трансплантації, тому їх ще називають трансплантаційними. Вони беруть участь у формуванні всіх видів імунітету: протимікробного, протипухлинного, трансплантаційного.

Визначення антигенів гістосумісності насамперед проводять у разі пересадження органів і тканин (враховуються також антигени еритроцитів). Чим більше вони збігаються у донора і реципієнта, тим краще приживається трансплантат. Тому створюються банки даних, де містяться дані про генотипи трансплантаційних антигенів у осіб, які потребують пересадки органів чи тканин.

Гетероантигени — однакові антигени у людей, тварин і мікробів. Ці антигени ще називають перехреснореагуючими. Біологічне значення їх полягає у тому, що імунна система людини розпізнає їх не зразу і не утворює захисних антитіл. Наводяться дані, що особи з II групою крові не виробляють антитіл проти вірусу натуральної віспи через подібність антигену цього вірусу і еритроцитів, а люди з I групою крові через цю причину не виробляють антитіл проти збудника чуми. Тому в минулому від віспи більше постраждали люди з II групою крові, а від чуми — з I групою крові.

З іншого боку, коли імунна система розпізнає гетероантигени, вона відповідає і на «чужі» і на «свої» (схожі на чужі) антигени, що призводить до розвитку **автоімунних хвороб**.

Автоантигени — це речовини, які спричиняють імунну відповідь у своєму організмі. До них відносять «забар'єрні» антигени. Це речовини чи тканини, які протягом життя за нормальних умов не контактують з імунною системою організму (кришталік ока, мозок, сперматозоїди, щитоподібна залоза, клітини шкіри, печінки, нирок і інших тканин). У разі руйнування цих органів чи тканин автоантигени вивільнюються і зумовлюють імунну відповідь, внаслідок чого пошкоджуються ті органи і тканини, з яких виділяються автоантигени.

Автоантигени також можуть виникати із нормальних клітин під впливом опіку, обмороження, ультрафіолетового чи радіоактивного опромінення, бактерій, вірусів, ліків. Всі ці фактори здатні порушувати видову специфічність власних антигенів.

Автоантигени призводять до розвитку автоімунних хвороб.

Мікробні клітини мають складну хімічну будову, тому являють собою комплекс різних антигенів. Антигенні властивості мають капсула, джгутики, клітинна стінка, інші структури клітини, а також продукти метаболізму мікробів, у тому числі токсини і ферменти.

У медичній мікробіології враховують:

- соматичні, або **О**-антигени;
- джгутикові, або **Н**-антигени;
- поверхневі, або капсульні, **К**-антигени.
- **Vi**-антиген вірулентності (притаманний збудникові черевного тифу).

Соматичні антигени — це полісахаридоліпопротеїдні комплекси (у грамнегативних бактерій це полісахариди, що входять до складу ліпополісахариду клітинної стінки). Вони термостабільні, витримують нагрівання до температури 80-100°C. Різні вуглеводи, що входять до складу О-антигену, виконують функцію епітопів (антигенних детермінант).

Капсульні антигени розміщені більш поверхнево, ніж О-антигени, — у поверхневій частині клітинної стінки або у капсулі. К-антигени неоднорідні й поділяються на окремі компоненти: А, В, L, М і Vi, серед яких компоненти А і М термостабільні, а компоненти L, В і Vi — термолабільні.

Джгутикові антигени мають білкову природу, термолабільні, руйнуються за температури 60-80 °С.

Залежно від особливостей структури антигенів визначають вид мікроорганізму, серогрупу, сероваріант.

Протективні (від лат. protector — той, що захищає) антигени не є компонентами мікробної клітини. Вони утворюються внаслідок контакту патогенних мікробів з живими тканинами макроорганізму.

Деякі мікробні антигени мають властивості суперантигенів (від лат. super— понад) — антигенів, які надмірно активують імунну систему макроорганізму. Вони не зазнають процесингу, а безпосередньо взаємодіють з Т-лімфоцитами і активують їх. Т-лімфоцити починають швидко розмножуватися і продукувати інтерлейкіни. Надмірна кількість інтерлейкінів призводить до отруєння організму, навіть — до токсичного шоку, а активація Т-лімфоцитів, які розпізнають свій антиген (у нормі їх дуже мало, їх проліферація пригнічується), призводить до автоімунних хвороб. Крім того, суперантигени здатні активувати і сприяти розмноженню неспецифічних для них Т-лімфоцитів. Таке надмірне розмноження Т-лімфоцитів призводить до виснаження імунної системи (імунодефіцитного стану).

Специфічні фактори імунітету

Специфічна резистентність (імунітет) забезпечується захисними механізмами організму, які спрямовані проти конкретного чужорідного агента. Вони поділяються на клітинні (сенсibiliзовані Т- і В-лімфоцити) і гуморальні (антитіла).

Клітинні фактори імунітету забезпечують захист від інфекцій, збудник яких розмножується внутрішньоклітинно (вірусна інфекція, бруцельоз, туляремія, туберкульоз тощо), а також розпізнають і знищують мутантні (пухлинні) клітини, відторгнення трансплантату. Клітини, які здатні специфічно розпізнавати антиген і відповідати на нього імунною реакцією, називають імунокомпетентними (від лат. immunitas і competens — відповідний).

До клітинних факторів імунітету відносять Т- і В-лімфоцити. Вони різняться за структурою і функціями своїх антигенрозпізнавальних рецепторів, а також за тим, яку роль вони відіграють у формуванні імунітету. Дозрівання Т-лімфоцитів проходить два етапи: антигеннезалежний і антигензалежний. Антигеннезалежний етап відбувається в загруднинній залозі.

У Т-лімфоцитів формуються Т-клітинні антигенрозпізнавальні рецептори (ТАГРР), які здатні розпізнавати свої і чужі антигени, а також диференціювальні рецептори — кластери диференціації CD. Набір різних CD на поверхні окремої клітини складає її фенотип. У загруднинній залозі з

тимоцитів із фенотипом CD4+CD8+ утворюються дві субпопуляції: Т-хелпери (Тх, від англ. help — помічник) із фенотипом CD4+ і Т-кілери/супресори (Тк/с, від англ. killer — убивця, лат. suppressio — пригнічення) — із фенотипом CD8+ (значок "+" означає наявність маркера). CD8+-лімфоцити називають Т-кілерами/супресорами, оскільки цей субклон Т-лімфоцитів може диференціюватися в Т-кілери (вбивають чужорідні клітини) або в Т-супресори (пригнічують імунну відповідь) залежно від потреб організму. Вони належать до імунорегуляторних клітин, від співвідношення їх кількості залежить сила імунної відповіді. Це співвідношення генетично зумовлене у кожної людини, але вважають, що в середньому кількість Т-хелперів має бути в 1,5-3,5 раза більшою за кількість Т-кілерів/супресорів. Це співвідношення називають імунорегуляторним індексом.

Після цього Т-лімфоцити виходять у кров і розселяються у Т-залежних зонах периферичних органів імунної системи, де відбувається антигензалежне дозрівання. Після розпізнавання антигенів відповідний Т-лімфоцит зазнає проліферації (поділу), внаслідок чого з одного Т-лімфоцита утворюється клон клітин, які мають таку саму специфічність, що і вихідний Т-лімфоцит.

Під час антигензалежної диференціації Т-лімфоцитів (Тл) утворюються також Т-лімфоцити імунної пам'яті, які зберігають пам'ять про антиген, що спричинив їх активацію. У разі повторного потрапляння цього антигену клітини імунної пам'яті швидко активуються і запускають механізм імунної відповіді.

Дозрівання В-лімфоцитів також проходить два етапи: антигенезалежний і антигензалежний. Антигенезалежний етап проходить у кістковому мозку. Зрілий В-лімфоцит має два антигенрозпізнавальних рецептори (ВАГРР), представлених IgA з однаковими активними центрами.

Щодня приблизно $5 \cdot 10^7$ зрілих В-лімфоцитів (Вл) виходять із кісткового мозку у кров і розселяються у периферичних органах імунної системи, де перебувають у стані спокою до зустрічі з антигеном.

Антигензалежний етап дозрівання В-лімфоцитів супроводжується їх активацією, проліферацією і диференціацією.

Активованій В-лімфоцит прискорено багаторазово ділиться (8-10 разів). Частина В-лімфоцитів (1 %) припиняє поділ і утворює клон клітин імунної пам'яті (близько 1000 з 1 вихідної). Тривалість їх життя становить десятки років. Друга частина В-лімфоцитів перетворюється на плазматичні клітини, в яких ядро ущільнюється, а об'єм цитоплазми та кількість рибосом збільшується. Серед білків, які виробляє ця клітина, 90-96 % є антитілами до того антигену, який спричинив активацію В-лімфоцитів. Так утворюються антитіла однієї специфічності. Всього в організмі людини існує генетично зумовлена можливість утворення не менше ніж 10^8 клонів антитілоутворюючих клітин, також може синтезуватися така сама кількість різних за специфічністю антитіл, практично проти будь-якого антигену.

Плазматичні клітини продукують антитіла протягом декількох днів, а потім гинуть. В-клітини імунної пам'яті роками зберігають пам'ять про антиген і в разі його повторного потрапляння вони швидко активуються і продукують антитіла IgG.

Гуморальні фактори імунітету забезпечують захист організму від інфекцій, при яких патоген (збудник чи токсин) знаходиться позаклітинно. До них належать антитіла.

Антитіла — це складні білки сироватки крові, які виробляються у відповідь на антиген, що проникає в організм, і специфічно взаємодіють з ним.

Під час електрофорезу антитіла мігрують у складі білків крові гамма-глобулінів, тому їх також назвали гамма-глобулінами. За міжнародною класифікацією їх називають імуноглобулінами і позначають символом Ig. Сьогодні відомо 5 основних класів імуноглобулінів.

Процес утворення антитіл залежить від дози, способу, а також від кратності введення антигену.

Імунна відповідь — це комплексна реакція імунної системи організму на чужорідні речовини (антигени), що можуть бути патогенами (бактеріями, вірусами, грибами) або токсинами. Її головна мета — виявити, нейтралізувати та знищити загрозу, а також забезпечити захист організму в

майбутньому.

Первинна і вторинна імунна відповідь відображають реакцію імунної системи на перший та повторний контакт із тим самим антигеном.

Первинна імунна відповідь – це реакція організму на перше потрапляння антигену.

Характеризується повільним початком. На вироблення специфічних антитіл потрібно кілька днів або тижнів (5–10 днів). Спостерігається низька інтенсивність – кількість антитіл (особливо IgM) відносно невелика.

Етапи:

1. Розпізнавання антигену.
2. Активація лімфоцитів (Т- та В-клітин).
3. Вироблення антитіл В-лімфоцитами.
4. Формування клітин пам'яті:

Після першого контакту утворюються В- і Т-клітини пам'яті, які «запам'ятовують» антиген.

Вторинна імунна відповідь – це реакція на повторний контакт із тим самим антигеном. Характеризується швидким початком. Завдяки клітинам пам'яті антитіла починають вироблятися вже через 1–3 дні. Спостерігається висока інтенсивність – кількість антитіл значно більша, а їх якість вища (особливо IgG). Реакція триває довше, забезпечуючи кращий захист. Антитіла більш специфічно зв'язуються з антигенами, імунна відповідь є сильнішою.

Таблиця 4. Порівняння первинної та вторинної імунної відповіді

Характеристика	Первинна відповідь	Вторинна відповідь
Час реакції	Повільна (5-10 днів)	Швидка (1-3 дні)
Антитіла	Переважно Ig M	Переважно Ig G
Інтенсивність	Низька	Висока
Клітини пам'яті	Формуються	Активуються
Тривалість захисту	Короткотривала	Довготривала

Це пояснює, чому вакцини часто потребують повторних доз (бустерів), щоб стимулювати потужну вторинну імунну відповідь.

За хімічним складом імуноглобуліни — це глікопротеїди, які різняться між собою за молекулярною масою, вмістом вуглеводів, складом поліпептидних ланцюгів, здатністю активувати комплемент та іншими характеристиками.

Основні мономерні структури молекул всіх класів імуноглобулінів ідентичні за будовою. Вони складаються з 2 важких H-ланцюгів (від англ. heavy — важкий) і 2 легких L-ланцюгів (від англ. light — легкий). Усі 4 ланцюги з'єднані між собою дисульфідними зв'язками. Легкі та важкі ланцюги складаються із субодиниць завдовжки 100-110 амінокислотних залишків, їх називають доменами. Легкі ланцюги включають 2 домени: один варіабельний і один константний. Важкі ланцюги складаються з 4 доменів (у IgE — із 5): одного варіабельного і 3-4 константних.

Після оброблення папаїном молекула імуноглобуліну розпадається на 3 фрагменти. Два з них складаються з легкого і важкого ланцюгів і позначаються Fab1 і Fab2 (від англ. fragment antigen binding — фрагмент, що зв'язує антиген). Кожен з них має один активний центр, яким він зв'язує відповідний антиген. Активний центр утворений одним доменом легкого і одним доменом важкого ланцюга, він варіабельний і визначає антитільну специфічність молекули імуноглобулінів. Найбільш специфічними є IgG, менш специфічні IgA і ще менше — IgM. Специфічність зумовлена первинною послідовністю розміщення амінокислотних залишків. Цим забезпечується різноманітність спектра специфічності антитіл.

Кількість активних центрів у молекулі імуноглобуліну визначає його валентність. IgG як

мономери — двовалентні; IgM як пентамери — 10-валентні. Це повні антитіла. Але бувають випадки, коли у молекулі імуноглобуліну один активний центр блокується (причина невідома). Такі антитіла одновалентні й називаються неповними. Вони не здатні самостійно дати видиму реакцію з антигеном.

Третій фрагмент складається тільки з 2 важких ланцюгів і позначається Fc (від англ. fragment crystalline — фрагмент, що кристалізується), його інколи називають константним (від лат. constans — постійний). У Fc-фрагменті імуноглобуліну розміщені рецептори, відповідальні за фіксацію на лімфоцитах, фагоцитах та інших клітинах, а також рецептори, що відповідають за зв'язування з компонентом С1 комплементу, транспорт через плаценту.

Ділянка важкого ланцюга між СН1 і СН2 називається шарнірною. У кожного класу імуноглобулінів вона має своєрідну будову.

Мономер імуноглобуліну має вигляд рогатки з шарніром. Шарнір визначає гнучкість Fab-фрагментів від 0 до 180 °С, що полегшує з'єднання активного центру з антигенними детермінантами.

Авідність — це міцність зв'язку між антигеном і антитілом, вона залежить від валентності антитіла. Повні антитіла мають більш виражену авідність, неповні — слабшу. Найбільша авідність у IgM (він пентамер, має 10 валентностей).

Афінність залежить від збігання просторової конфігурації активного центру імуноглобуліну і конфігурації антигенної детермінанти. Вона визначається міжмолекулярними силами притягання і відштовхування, які виникають під час взаємодії антитіл з антигенами. Найвища афінність у IgM.

Класи імуноглобулінів

IgG становлять 70-80 % загальної кількості імуноглобулінів людського організму. Вони вільно проникають через стінки капілярів і рівномірно розміщені в тканинах організму, в тому числі й в крові. У 100 см³ сироватки крові їх міститься 800-1860 мг. Утворюються через 6-7 днів під час первинної імунної відповіді, більш інтенсивно, з перших днів — під час вторинної імунної відповіді. Період напіврозпаду і виведення їх з організму становить 25-35 днів. Не руйнуються у разі нагрівання до 56 °С, мають молекулярну масу 150-160 кД. Вони нейтралізують віруси і токсини.

Високий вміст IgG до одного антигену вказує на період реконвалесценції. Це єдиний клас імуноглобулінів, що проникають через плаценту і зумовлюють природний пасивний імунітет плода. Після народження дитини кількість материнських зменшується і зовсім зникає через 3-6 міс. Натомість починають синтезуватися власні антитіла, паралельно утворюються клітини імунної пам'яті, внаслідок чого формується тривалий активний імунітет.

IgM становлять 6-13 % загальної кількості імуноглобулінів. Не проникають через оболонки (в тому числі й плаценту), тому знаходяться в основному в кровоносних судинах. У 100 см³ сироватки крові їх міститься 50-190 (до 280) мг. Вони першими синтезуються в організмі плода (на 8-10-му тижні), а також після проникнення антигену під час первинної імунної відповіді. Вони живуть недовго, період напіврозпаду і виведення з організму становить 9-11 днів. Високий вміст IgM до одного антигену в сироватці крові новонародженої дитини свідчить про внутрішньоутробну інфекцію, а високий вміст у сироватці крові хворого — про наявність гострої інфекції.

IgA становлять 6-13 % загальної кількості імуноглобулінів. Близько 15 % їх міститься у сироватці крові. Вони мономери і називаються сироватковими імуноглобулінами класу А (IgA). 85 % їх міститься в слизових оболонках. У 100 мл сироватки крові їх міститься 140-480 мг. Секреторні IgA містяться в слині, слюзах, поті, жовчі, простатичній рідині, бронхіальному, носовому, вагінальному секреті, в амніотичній рідині, у тонкій кишці, молозиві (у молозиві найбільше — 150 мг у 100 см³ молозива), вони забезпечують місцевий імунітет усіх слизових оболонок. Основна їх біологічна функція полягає у захисті слизових оболонок від інфекційних агентів: вони перешкоджають адгезії збудників, у тому числі вірусів, на слизових оболонках, а також утворюють імунні комплекси, що зумовлює нейтралізацію збудників. Це має виключно велике значення, адже площа слизових

оболонок — декілька сотень квадратних метрів.

IgE становлять 0,002 % загальної кількості імуноглобулінів. У 100 см³ сироватки крові їх міститься 0,01-0,04 мг. Переважна більшість їх міститься в шкірі, лімфоїдній тканині дихальних шляхів, кишок і слизових оболонок. IgE зумовлюють місцевий імунітет проти різних збудників інфекцій, а особливо проти гельмінтів (від грец. *helmins* — глист). IgE не мають рецепторів до комплементу, тому не зв'язують його. Ці імуноглобуліни беруть участь у алергійних реакціях, тому їх називають *реагінами*. Їх концентрація зростає при бронхіальній астмі, екземі, полінозах, алергійному риніті.

IgD становлять 1 % загальної кількості імуноглобулінів. У 100 см³ крові їх міститься 0,3-40 мг, період виведення з організму становить 2-3 дні. IgD разом із IgM є рецепторами зрілих В-лімфоцитів, які формуються ще в ембріональний період. За будовою молекули схожі на IgG, але не зв'язують комплемент, не проникають через плаценту; містяться в крові, спинномозковій рідині. Збільшення титру IgD спостерігається при аутоімунних (системному вовчаку, ревматизмі), алергійних хворобах, дифтерії, під час вагітності; були виявлені також IgD проти пеніциліну, інсуліну. Біологічна роль IgD остаточно не з'ясована.

4. Імунологічні методи дослідження

Реакції імунітету — це реакції між антигенами й антитілами або між антигенами і сенсibilізованими лімфоцитами. Ці реакції можуть відбуватися в живому організмі (*in vivo*) і зумовлювати імунний стан; вони також можуть відбуватися поза організмом (*in vitro*) у лабораторних умовах.

Реакції імунітету мають дві властивості: високу чутливість і специфічність. Завдяки високій чутливості можна виявити антиген або антитіло навіть у разі їх незначної кількості в досліджуваному матеріалі, а завдяки високій специфічності можна відрізнити навіть схожі між собою антигени.

На основі цього реакції імунітету знайшли широке застосування в інфекційній і неінфекційній імунології, мікробіології, генетиці, молекулярній біології, онкології та інших галузях науки.

Залежно від типу імунної відповіді реакції імунітету поділяють на дві групи: реакції з участю антитіл і реакції з участю сенсibilізованих лімфоцитів.

Реакції між антигенами й антитілами називають гуморальними (від лат. *humor* — рідина), або серологічними (від лат. *serum* — сироватка). Це пов'язано з тим, що в реакціях беруть участь антитіла (імуноглобуліни) сироватки крові.

Реакції між антигенами і сенсibilізованими лімфоцитами називають клітинними.

В обох групах можна виділити основні реакції та їх варіанти. Серед серологічних до основних відносять реакції: аглютинації, преципітації, зв'язування комплементу, цитолізу, нейтралізації, імунофлуоресценції. Серед клітинних до основних відносять реакції: туберкулінового типу (шкірні), бласттрансформації лімфоцитів, розеткоутворення, гальмування міграції макрофагів. Клітинні реакції частіше використовують для виявлення алергійного (в тому числі при інфекційних хворобах) й імунодефіцитного станів.

Серологічні (імунологічні) реакції — це реакції між антигенами й антитілами. Вони відбуваються у дві фази.

I фаза — специфічна, під час якої утворюється комплекс антиген—антитіло (АГ—АТ). Цей комплекс невидимий, але він набуває чутливості до неспецифічних компонентів реакції (електролітів, фагоцитів, комплементу).

II фаза — неспецифічна. Утворений комплекс взаємодіє з неспецифічними компонентами реакції, що супроводжується видимими змінами: склеюванням, розчиненням, утворенням осаду.

Реакції називають за кінцевим результатом, а кінцевий результат реакції залежить від фізико-хімічних властивостей антигену і умов середовища.

У реакції аглютинації антигеном є бактеріальні клітини або еритроцити, перебіг реакції

відбувається за наявності електролітів.

Реакція *гемаглютинації* імунного прилипання – аглютинація еритроцитів. Реакція ґрунтується на тому, що комплекс антиген — антитіло за наявності комплементу здатний адсорбуватися на еритроцитах і спричинювати їх склеювання. Віруси можуть спричинити аглютинації еритроцитів. Реакцію застосовують для діагностики вірусного гепатиту А.

Також до реакцій гемаглютинації відносять реакцію гальмування гемаглютинації (РГГА), реакцію прямої гемаглютинації (РПГА), реакцію агрегат-гемаглютинації (РАГА), реакцію непрямой гемаглютинації (РНГА), реакція Кумбса.

Реакція *коагутинації* — варіант реакції пасивної аглютинації. У цій реакції використовують антитільний діагностикум.

У *реакції преципітації* антигеном є окремі молекули (білки, полісахариди, вони можуть бути як повноцінними антигенами, так і гаптенами), тому як антигени використовують екстракти органів і тканин, лізати культур мікроорганізмів. Перебіг реакції відбувається за наявності електролітів.

У *реакції імунного лізису* (цитолізу) антигеном є клітини: у реакції бактеріолізу — бактерії, гемолізу — еритроцити, цитолізу — інші клітини. Ці реакції відбуваються обов'язково за наявності комплементу.

У *реакції зв'язування комплементу* антигеном є клітини й окремі молекули (повноцінні антигени і гаптени). Реакції відбуваються за наявності комплементу.

Реакції *нейтралізації* спрямовані на нейтралізацію токсинів або вірусів за наявності електролітів.

Реакція *імобілізації трепонем* (РІТ). Живі трепонеми (збудники сифілісу) за наявності специфічних антитіл і комплементу стають нерухливими.

Реакція *гемолізу* є складовою частиною РЗК. Суть її полягає в тому, що гемолітична сироватка здатна спричинювати лізис еритроцитів тільки за наявності комплементу.

Реакція *імуноферментного аналізу* (ІФА). При ІФА відбувається взаємодія антигену з антитілом, яке хімічно зв'язане з ферментом пероксидазою хрому або фосфатазою. Утворений комплекс антиген — антитіло виявляє ферментативну активність і розщеплює відповідний субстрат, що супроводжується зміною забарвлення. Інтенсивність забарвлення залежить від кількості антитіл, або антигенів у сироватці крові.

Реакції *нейтралізації* (РН). В їх основу покладена здатність антитіл специфічно нейтралізувати біологічну активність збудника або його токсинів в організмі тварин, курячих ембріонах і культурі клітин, а також у реакції гемаглютинації. Особливо широко їх використовують для серологічної діагностики вірусних хвороб та ідентифікації вірусів.

У лабораторній практиці серологічні реакції найчастіше використовують для діагностики інфекційних хвороб. При цьому проводять виявлення антитіл або антигенів у сироватці крові хворого — **серологічна діагностика**, або визначають вид і тип збудника, виділеного з організму, — **серологічна ідентифікація** збудника.

5. Патологія імунної системи

Патологія імунної системи охоплює широкий спектр порушень, які впливають на її функціонування. Вона може проявлятися як:

Імунодефіцити (первинні або вторинні) – це порушення імунної відповіді, що клінічно проявляється втратою або зниженням опірності організму до інфекцій або зниженням протидії розвитку пухлин

Вроджені імунодефіцити зумовлені генетичними дефектами, що проявляються порушенням лейкопоезу (лейкоцитопоезу), функцій тимуса (загруднинної залози), кісткового мозку, лімфатичної системи. Існують такі типи вроджених імунодефіцитів:

- ізольовані дефекти В-системи імунітету. Супроводжуються відсутністю або різким

зниженням імуноглобулінів. Клінічно проявляються з раннього дитячого віку як схильність до бактеріальних інфекцій. Для лікування таких імунодефіцитів використовують препарати імуноглобулінів;

- ізольовані дефекти Т-системи імунітету. Супроводжуються тяжкими симптомами порушень функції прищитоподібних залоз, вадами розвитку. У хворих виражена схильність до грибкових і вірусних інфекцій, у них розвиваються злоякісні пухлини. Таким пацієнтам пересаджують тимус, але операція не дає стійкого ефекту;

- комбіновані дефекти імунітету – синдроми Луї-Бара, Віскотта - Олдріча. Супроводжуються вродженими вадами розвитку, тяжкими інфекціями. Такі діти помирають у ранньому віці.

Набуті імунодефіцити. Імунодепресанти. Стани, що супроводжуються зниженням функції імунної системи, можуть розвиватися внаслідок дії фізичних, хімічних і біологічних факторів. Тимчасовий імунодефіцит здатен виникати при масивній втраті імунокомпетентних клітин після кровотечі. Для лікування тяжких автоімунних станів, коли власні імунокомпетентні клітини спричиняють патологічний процес, застосовують операцію дренажу грудної лімфатичної протоки з метою видалення з організму лімфоцитів.

Фізичні фактори. Імунодепресивну дію справляють γ -, рентгенівські й ультрафіолетові промені, короткохвильові електромагнітні випромінювання. Найсильнішим імунодепресантом є іонізаційне випромінювання. При гострому опроміненні різко порушується антибактеріальний імунітет, розвиваються інфекції, спричинені власною мікрофлорою. При хронічному опроміненні порушується функція Т-системи імунітету, що проявляється активацією латентних вірусних інфекцій, розвитком злоякісних пухлин.

Хімічні речовини. Хімічні речовини докільця, проникаючи в організм, можуть спричинити імунодепресивну дію. Пригнічення імунітету можуть викликати сполуки важких металів та органічні речовини, що застосовують у промисловості, сільському господарстві, побуті. Вираженими імунодепресантами є ароматичні вуглеводи й отримані на їх основі барвники, пластмаси, пестициди та ін.

Медикаментозні препарати. Чимало медикаментів різних фармакологічних груп можуть спричинити пригнічення імунітету. Це, зокрема, кортикостероїди, саліцилати, деякі антибіотики (циклоспорин А). Для окремих препаратів імунодепресивна дія є основною. До них належать антиметаболіти (азотіоприн, аметоприн, 6-меркаптопурин), цитостатики (циклофосфамід, хлорамбутол), інгібітори комплементу (гепарин, γ -амінокапронова кислота), антилімфоцитарні сироватки, мефолан, деполімеризувальні препарати (пеніциламін, меркаптопіридоксин).

Біологічні імунодепресанти. Імунодепресія може розвиватися при інвазіях глистами, хворобах, викликаних грибами і найпростішими. Найбільш виражену імунодепресивну дію мають віруси. Гострі інфекції, спричинені вірусами кору, грипу, ентеровірусами, супроводжуються лейкопенією. Герпесвіруси вибірково стимулюють деякі субпопуляції, що призводить до порушення регуляції імунної відповіді й розвитку алергійних станів. Пряму імунодепресивну дію мають віруси, здатні розмножуватися у лімфоцитах – ретровіруси, зокрема вірус імунодефіциту людини.

Препарати, які застосовують для цілеспрямованого впливу на імунну систему, можна віднести до імуномодуляторів, імунокоректорів, імуностимуляторів та імунодепресантів.

Імуномодулятори – лікарські засоби, що мають імунотропну активність, які в терапевтичних дозах відновлюють функції імунної системи (ефективний імунний захист).

Імунокоректори – засоби та впливи (у тому числі й лікарські), що мають імунотропність, які нормалізують конкретні порушення імунної системи (компоненти або субкомпоненти Т-клітинного імунітету, В-клітинного імунітету, фагоцитозу, комплементу). Таким чином, імунокоректори – це імуномодулятори «точкової» дії.

Імуностимулятори – засоби, що підсилюють імунну відповідь (лікарські препарати, харчові добавки, ад'юванти й інші різні агенти біологічної або хімічної природи, що стимулюють імунні

процеси).

Імунодепресанти – засоби, що пригнічують імунну відповідь (лікарські препарати, що мають імуноотропну або неспецифічну дію й інші різні агенти біологічної чи хімічної природи, що пригнічують імунні процеси).

Оцінювання імунного статусу організму

Імунний статус – сукупність механізмів неспецифічного захисту та імунологічних реакцій, які визначають стан імунітету організму. Оцінювання імунного статусу належить до найважливіших лабораторних досліджень, які дають змогу встановити наявність імунодепресії, її характер і правильно обрати засоби корекції.

Оцінювання факторів неспецифічної резистентності

Стан неспецифічної резистентності організму можна оцінити на основі таких показників:

- активність фагоцитозу визначається за фагоцитарним числом - середньою кількістю клітин тестового об'єкта (бактерії, дріжджі, що захоплені одним фагоцитом). Визначають також біохімічну активність фагоцитів, наприклад за відновленням реагенту тетразолієвого синього (NST-тест);
- рівень комплементу. Визначають дозу в мілілітрах, яка забезпечує 100 % або 50 % лізис еритроцитів у реакції гемолізу. Сучасні методи оцінювання системи комплементу дають змогу визначити його окремі фракції, зокрема С3;
- титр лізоциму визначають у сироватці крові або в інших рідинах за розведенням, яке забезпечує лізис тестової культури бактерій.

За допомогою сучасних імунологічних методів можна оцінити кількість цитокінів - інтерлейкінів, інтерферону та ін.

Оцінювання стану імунної системи

Стан імунної системи можна оцінити на основі загального аналізу крові: значне зменшення кількості лейкоцитів (лейкопенія) вказує на імунодепресію. В імунологічних лабораторіях визначають кількість Т і В-лімфоцитів у реакціях розеткоутворення. Глибші дослідження імунного статусу передбачають визначення субпопуляцій Т-лімфоцитів, а також співвідношень між ними. Функціональну активність Т-системи імунітету оцінюють у реакції бласттрансформації. Стан В-системи імунітету визначають на основі показників загального рівня імуноглобулінів та їх окремих класів - IgM, IgG, IgA.

З практичного погляду виділяють **тести I рівня** – вони дають орієнтовну характеристику імунної системи – прості, доступні, достатньо інформативні. Комплекс методів цього рівня містить визначення:

- абсолютної кількості лімфоцитів;
- кількості Т- і В-лімфоцитів (розеткоутворення);
- класів сироваткових імуноглобулінів;
- фагоцитарної активності нейтрофілів периферійної крові.

Тести II рівня складніші, дають детальну характеристику порушень у системі імунного гомеостазу. До них належать:

- реакція бласттрансформації лімфоцитів (РБТЛ);
- визначення субпопуляцій лімфоцитів;
- NST-тест;
- визначення рівня циркулювальних імунних комплексів;
- визначення рівня природних антитіл;
- визначення титру комплементу;
- визначення кількості інтерлейкінів.

ЛЕКЦІЯ №6

Тема: «СПЕЦИФІЧНА ІМУНОПРОФІЛАКТИКА ТА ІМУНОТЕРАПІЯ ІНФЕКЦІЙНИХ ХВОРОБ. ВЧЕННЯ ПРО АЛЕРГІЮ»

ПЛАН

1. Вакцини. Сучасна класифікація вакцин.
2. Показання до проведення профілактичних щеплень.
3. Сироватки. Лікувально-профілактичні та діагностичні сироватки.
4. Алергія та її прояви.

ЗМІСТ

1. Вакцини. Сучасна класифікація вакцин

Специфічна імунопрофілактика та імунотерапія інфекційних хвороб – це застосування біологічних препаратів, дія яких спрямована проти певних збудників. До цих препаратів відносять вакцини, анатоксини, сироватки, імуноглобуліни, бактеріофаги, інтерферони.

Імунопрофілактика - це система заходів для запобігання, обмеження поширення, а також ліквідації інфекційних хвороб шляхом проведення профілактичних щеплень називається специфічною. Введення препаратів для створення штучного імунітету називається **імунізацією**.

Усі препарати, які використовуються для активної імунопрофілактики поділяються на три групи:

1. Препарати для *активної імунізації* (вакцини, анатоксини);
2. Препарати для *пасивної імунізації* (сироватки та імуноглобуліни);
3. Препарати для *екстреної профілактики й превентивного лікування* – деякі вакцини (антирабічна – проти сказу), анатоксини (проти правцевий), бактеріофаги, інтерферони.

Термін «вакцина» походить від противіспяного препарату, виготовленого Е. Дженнером із вірусу, який спричиняє віспу у корів (vaccina- коров'яча).

Вакцини – антигенні препарати, створені із мікроорганізмів, їх антигенів, токсинів, використовуються для активної імунізації людей і тварин з профілактичною (вакцинопрофілактика) або з лікувальною (вакцинотерапія) метою.

Сьогодні вакцини використовують також для профілактики та терапії пухлин, алергій, вторинних імунодефіцитів, деяких соматичних захворювань.

Вакцини — це препарати для створення штучного активного імунітету.

Вакцини умовно можна поділити на чотири покоління

Перше покоління – це вакцини з цілих мікроорганізмів. Вони поділяються на живі вакцини та інактивовані вакцини, отримані з цільних мікроорганізмів.

Вакцини другого покоління одержують з очищених антигенних компонентів мікроорганізмів. До цього покоління належать хімічні вакцини, при виготовленні яких антигенні комплекси вилучаються з мікробів хімічним шляхом (у вірусів вони називаються субодиночними – вилучають субодиночні вірусні білки). Близькими до хімічних вакцин є анатоксини, отримані з екзотоксинів збудників.

До третього покоління належать генно-інженерні або рекомбінантні вакцини. Генно-інженерні вакцини поділяють на вакцини очищених рекомбінантних антигенів і живі векторні вакцини – коли потрібний ген, що відповідає за синтез певного проективного антигену, вводять у живий вектор (наприклад, непатогенний вірус), який розмножується у вакцинованому організмі.

Вакцини четвертого покоління – це вакцини, які сьогодні тільки входять у практику, конструюються на основі новітніх технологій і наукових знань. До таких вакцин належать синтетичні вакцини, ліпосомальні та мікрокапсулярні вакцини, мукозальні вакцини, антиідіотипові

вакцини, ДНК- і РНК- вакцини, а також так звані «істівні вакцини», отримані з трансгенних рослин.

Живі (атенуйовані) вакцини виготовляють із живих атенуйованих (ослаблених) штамів бактерій або вірусів. Від вихідних штамів вони відрізняються зниженою вірулентністю (ступінь патогенності), але зберігають високу імуногенність (здатність викликати імунну відповідь). Вакцинні штами зберігають властивості розмножуватися в організмі, спричинюючи прихований інфекційний процес — вакцинну інфекцію, яка приводить до вироблення специфічного імунітету. Для виготовлення живих вакцин використовують методи спрямованої зміни властивостей мікроорганізмів. Загальним є тривале культивування збудника поза чутливим організмом. Для прискорення процесу мінливості використовують різні фактори впливу. Так, Л. Пастер і Л.С. Ценковський для отримання вакцини проти сибірки культивували збудника за підвищеної температури (42°C), А. Кальметт і К. Герен для отримання вакцини БЦЖ 13 років культивували збудника туберкульозу на середовищі з жовцю. Інколи культура спонтанно втрачає патогенність. Так був отриманий чумний вакцинний штам EV, бруцельозний вакцинний штам № 19, а також вакцинний штам СТИ-1, який М.М. Гінсбург використав для отримання вакцини проти сибірки. Під час виготовлення вакцинних штамів вірусів проводять тривалий пасаж (від франц. passage — перехід) на тваринах того виду, який не є природним хазяїном даного вірусу. Так, антирабічну вакцину готують із фіксованого вірусу (*virus fixe*), отриманого Л. Пастером із вуличного вірусу сказу внаслідок багаторазового його пасажу через мозок кролика. Унаслідок цього різко зросла його вірулентність для кролика і знизилася — для інших тварин і людей. Тепер вакцинні штами вірусів культивують на курячих ембріонах, у культурі тканин, на тваринах (антирабічну вакцину отримують внаслідок культивування вірусу сказу на вівцях і сисунцях білих щурів), на диплоїдних клітинах людини. Іноді використовують рекомбінантні штами вірусів, отримані під час рекомбінації антигенів вірулентного і авірулентного штамів.

До живих належать вакцини проти туберкульозу (БЦЖ), туляремії, поліомієліту, кору, грипу, епідемічного паротиту, краснухи, бруцельозу, сибірки, чуми, Ку-гарячки. Вони можуть містити один вид мікроорганізмів або декілька. Вакцина "Тримовакс" (Франція) містить ліофілізовані живі атенуйовані віруси проти кору, епідемічного паротиту, краснухи. Живі вакцини високоімуногенні, вводяться одноразово. Винятком є поліомієлітна вакцина, повторна вакцинація якою пов'язана з введенням штамів різних типів. Імунітет зберігається тривалий час (проти туляремії — 10 років, проти кору — 5-8 років). Недоліком живих вакцин є їх відносно низька стійкість. Більш тривалий термін зберігання мають живі ліофілізовані вакцини.

Убиті вакцини (інактивовані корпускулярні) є штамами бактерій або вірусів, що інактивовані фізичними методами (нагріванням, ультрафіолетовим чи гамма-випромінюванням) або хімічними речовинами (формаліном, фенолом, спиртом, ацетоном, водню пероксидом). Для виготовлення убитих вакцин використовують високопатогенні, повноцінні у антигенному відношенні штами відповідних мікробів. Але внаслідок денатурації антигенів вони зазвичай менш імуногенні, ніж живі, тому їх необхідно вводити багаторазово (2-3 рази). Перевагою інактивованих вакцин є стабільність під час зберігання, безпечність, швидкість і простота виготовлення. До убитих вакцин відносять черевнотифозну, гонококову, холерну, лептоспірозну, антирабічну, проти кліщового енцефаліту, коклюшу.

Інактивована вакцина CoronaVac для екстреного застосування при проти COVID-19.

Недоліком всіх корпускулярних вакцин (живих і вбитих) є те, що вони крім антигенів-імуногенів містять багато інших антигенів, а це створює додаткове навантаження на імунну систему. Ідеальним було б виготовлення вакцин тільки з антигенів-імуногенів. З цим пов'язаний пошук інших методів виготовлення вакцин.

Хімічні вакцини (інактивовані субодичні) містять не цільні клітини бактерій або віріонів, а окремі найбільш імуногенні компоненти мікробної клітини (субклітинні) чи віріону (субвіріонні або субодичні). Їх отримують шляхом екстракції імунізуючих фракцій з убитої культури (хімічна

черевнотифозна вакцина) або екстракцією протективних антигенів, що накопичуються в організмі тварин, а також у спеціальних поживних середовищах за відповідного режиму культивування (вакцина проти сибірки). Хімічні вакцини використовують для профілактики черевного тифу (ТИФІМ Vi), яка містить очищений Vi-полісахарид сальмонел тифу; проти менінгіту — ("Менінго А+С"), яка містить очищений полісахарид нейсерій менінгіту груп А і С. До субодиночних вакцин належить вакцина проти грипу «Іф-лувак», яка містить антигени 2 штамів вірусу грипу А і 1 штаму вірусу грипу В.

Анатоксини виготовляють із екзотоксинів бактерій, знешкоджених формаліном і термічним обробленням (38-40 °С протягом 3-4 тиж), очищених і концентрованих. Анатоксини вводять багаторазово. Під дією анатоксинів формується антитоксичний імунітет, який нейтралізує екзотоксин і не діє на збудника інфекції. Використовують дифтерійний, правцевий, холерний, стафілококовий, ботулінічний, гангренозний анатоксини. Хімічні вакцини і анатоксини низькомолекулярні, тому швидко виводяться з організму і проявляють слабку антигенність (імуногенність). Для підвищення імуногенності до них додають ад'юванти — алюмінію гідроксид або інший адсорбент (від лат. ad — на і sorbeo — поглинаю). Такі вакцини називають *адсорбованими* (адсорбована коклюшно-дифтерійно-правцева вакцина — АКДП). Крім того, адсорбування деяких хімічних вакцин (наприклад, черевнотифозної) знижує її високу реактогенність.

Вакцини III покоління

Генно-інженерні вакцини виготовляють із непатогенних мікроорганізмів (дріжджів, кишкової палички), у геном яких перенесено ген, що кодує синтез антигенів-імуногенів. Останні використовують для виготовлення вакцин. Ці вакцини називають *рекомбінантними*. Прикладом рекомбінантної вакцини є Н-В-VAX II — вакцина проти гепатиту В. Вона містить поверхневий антиген вірусу гепатиту В (HBsAg), адсорбований на гідроксиді алюмінію. Для її виготовлення була використана культура дріжджів, у клітину яких внесено ген, що кодує синтез HBsAg. Також вакцина для профілактики менінгококової інфекції «Бексеро», отримують з використанням клітин *E.coli* з рекомбінантною ДНК технологією. Проводяться наукові роботи щодо отримання таких вакцин проти сказу, сифілісу, холери, стрептокової інфекції, дифтерії.

Векторні вакцини.

У таких вакцинах використовують вектор – живий, непатогенний для людини вірус. У його геном вмонтовують гени іншого патогенного вірусу, які кодують синтез протективних антигенів і зумовлюють розвиток імунітету. Вакцина проти лихоманки Ебола. Вакцини проти COVID-19: Janssen - містить ослаблений аденовірус, який несе гени для вироблення спайкових білків SARS-CoV-2, вакцина AstraZeneca (вектором є модифікований аденовірус).

Вакцини IV покоління

Новим типом вакцин, використаних для профілактики Covid-19 є препарати на основі інформаційної РНК, котра кодує синтез особливого білка вірусу, на який в організмі виробляються захисні антитіла. Коли вакцинна РНК потрапляє в клітину, клітинні механізми синтезу білків продукують закодований в РНК білок. Цей білок діє як антиген: його виявляє імунна система організму і навчається на цьому білку — в організмі формується імунітет. Надалі, при потраплянні в організм патогена, імунна система пізнає його по вже відомому білку і знищує інфекцію, не даючи розвинути захворюванню (м РНК-вакцини виробництва Pfizer-BioNTech та Moderna).

Форма випуску вакцин

Залежно від того, проти якої кількості інфекційних хвороб можна сформувати штучний імунітет, розрізняють: **моновакцини, дивакцини, полівакцини** тощо.

А залежно від кількості серологічних типів або різновидностей одного виду мікроба, який входить до складу вакцини, розрізняють **моновалентні й полівалентні вакцини**. Так, полівалентну моновакцину проти поліомієліту готують із 3 типів вірусу поліомієліту: I, II, III. До моновакцин

відносять вакцину проти краснухи — "Ервевакс" (Бельгія), кліщового енцефаліту — "Енцекур" (Німеччина). До полівакцин — "Пріорикс" (Бельгія) — проти кору, краснухи, епідемічного паротиту.

Полівакцини, що містять вбиті мікроби або їх антигени й анатоксини, називають *асоційованими*, або комбінованими, вакцинами. До асоційованих полівакцин відносять: АКДП (адсорбовану коклюшно-дифтерійно-правцеву вакцину). Дослідження показали, що одночасне введення антигенів різних збудників не призводить до пригнічення імунної відповіді до якогось із антигенів. Перевагою полівакцин є контроль за більшою кількістю інфекцій при меншій кількості щеплень, що дає змогу зменшити кількість відвідувань медичних закладів, спростити календар щеплень, знизити фінансові витрати на вакцинацію внаслідок зменшення витрат на транспортування, зберігання і введення препаратів.

Автовакцини — це вакцини, які готують з мікробів, що виділені з організму хворого. Їх виготовляють у бактеріологічних лабораторіях і використовують для лікування цього ж хворого з хронічним або в'ялим перебігом інфекції. Використання автовакцин базується на тому, що їх введення спричиняє загострення хвороби і стимулює захисні реакції організму. Це полегшує діагностику і сприяє одужанню. Автовакцини використовують при інфекціях, збудниками яких є стафілококи, клебсієли, синьогнійна паличка.

2. Показання до проведення профілактичних щеплень

Принципи виготовлення вакцин

Існує єдина система випробування і застосування вакцин. Вона передбачає: одержання вакцинного штаму, виготовлення достатньої кількості препарату, експериментальну перевірку його на стерильність, токсичність, реактогенність, імуногенність на тваринах, оцінку його ефективності на обмеженому контингенті людей, вивчення ефективності при масовому застосуванні.

Вакцини виготовляють на спеціальних біофабриках, в інститутах вакцин і сироваток, а також у лабораторіях науково-дослідних закладів. Готові препарати розливають в ампули або флакони. Випускають вакцини здебільшого у ліофілізованому стані (так вони довше зберігають свої імуногенні властивості), деякі вакцини — у рідкому стані. Виготовлені вакцини підлягають державному контролю. Вони проходять апробацію на тваринах і в обмеженій кількості на людях. Імунологічну ефективність їх оцінюють за допомогою серологічних реакцій і шкірних алергійних проб у людей, яким було зроблено щеплення. Якість вакцин контролюють відповідні органи інститутів виробників і державні органи. Технологію виробництва, контроль і методи використання вакцин регламентує Комітет з питань імунологічних препаратів МОЗ України. Вакцини мають бути ефективними, імуногенними, нешкідливими і стандартними. Зберігати вакцини слід відповідно до інструкції про застосування вакцини. Більшість вакцин зберігають за температури від 2 до 8°C, заморожування не допускається. Лише деякі вакцини проти вірусних інфекцій (кору, поліомієліту) зберігають за температури -20°C, але це повинно бути зазначено в інструкції. Під час транспортування також слід дотримуватись "холодового ланцюга".

Методи вакцинації. Ревакцинація

Вакцини вводять в організм нашкірно, підшкірно, внутрішньошкірно, внутрішньом'язово, перорально (через рот), інгаляційно (від лат. *inhalo* — вдихаю), безголково (використовують спеціальні ін'єктори), внутрішньовенно.

Введення вакцин в організм називається вакцинацією. Вакцинацію проводять планово відповідно до національного календаря профілактичних щеплень (в Україні — проти 10 інфекцій), а також позапланово — рекомендовані щеплення та щеплення за епідеміологічними показаннями і на ендемічних територіях (проти туляремії, сибірки, лептоспірозу тощо). Повторне введення вакцин називають ревакцинацією. Вакцинацію і ревакцинацію проводять згідно з інструкцією про застосування вакцини, враховуючи медичні протипоказання.

Протипоказаннями до введення усіх вакцин і анатоксинів є тяжкі ускладнення від попередньої дози у вигляді анафілактичного шоку або алергії на будь-який компонент вакцини, прогресуючі захворювання нервової системи, гідроцефалія, епілепсія, анемія з рівнем гемоглобіну, нижчим за 80 г/дм³. Протипоказаннями до введення живих вакцин є природжені комбіновані імунодефіцитні стани, первинна гіпогаммаглобулінемія, злоякісні новоутворення, СНІД, вагітність. Ефективність вакцинації залежить від виду і якості вакцини, правильності її зберігання, введення, дозування, дотримання терміну ревакцинації, а також стану здоров'я людей, що підлягають вакцинації (повноцінне харчування, здоровий спосіб життя підвищують ефективність вакцинації).

Введення вакцин супроводжується побічними реакціями, а іноді й ускладненнями.

Розрізняють місцеві й загальні реакції організму на вакцинацію.

Місцеві реакції проявляються гіперемією, набряком, свербіжем, болісністю, ущільненням шкіри, гіпертермією у місці введення, збільшенням регіонарних лімфатичних вузлів, а при інгаляційній, пероральній імунізації — катаром верхніх дихальних шляхів, кон'юнктивітом. Ці реакції виникають через 1-2 дні після щеплення, а зникають через декілька днів (2-7) або місяців.

Виражена місцева реакція після наскірного введення вакцини свідчить про ефективність вакцинації.

Загальні реакції проявляються підвищенням температури тіла до 38,5 °С і вище, нездужанням, висипанням, загальною слабкістю, головним болем, запамороченням, болем у суглобах, животі, нудотою, відсутністю апетиту, апатією, сонливістю, дратівливістю. Ці реакції зникають через 2-3 дні, інколи — через 12 днів.

Чіткого взаємозв'язку між інтенсивністю місцевої і загальної реакції немає. Допустимий ступінь реактогенності препарату зазначений в інструкції.

Ускладнення можуть бути наслідком антигенного перевантаження – (особливо у перші роки життя дитини), алергізації організму, розвитку аутоімунних хвороб, нехтуванням протипоказаннями. Особливо небезпечні ускладнення виникають за наявності імунодефіцитного стану.

Ускладнення проявляються місцевими (абсцес, гнійний лімфаденіт) і загальними реакціями (енцефалопатія, менінгіт, судоми, сепсис, синдром токсичного шоку тощо).

З метою запобігання небажаним наслідкам перед вакцинацією проводять медичний огляд дітей і термометрію, а після введення вакцин діти повинні перебувати під наглядом лікаря 1-1,5 год, а також відвідати лікаря через 1-2 доби.

Вакцини використовують для активної профілактики інфекційних хвороб — вакцинопрофілактики і для лікування інфекцій з хронічним і в'ялим перебігом (гонококова, хімічна бруцельозна вакцина) — вакцинотерапії.

Вакцинопрофілактика (від лат. vaccina і грец. prophylaktikos — охоронний) — це метод запобігання поширенню інфекційних хвороб, заснований на введенні в організм вакцин.

Вакцинотерапія (від лат. vaccina і грец. therapeia — лікування) — це метод лікування, оснований на введенні в організм вакцини з метою активної стимуляції специфічного імунітету і підвищення активності захисних механізмів неспецифічного захисту. Для лікування використовують убиті вакцини або хімічні, що мають високу імуногенність і мінімальну алергізуючу і токсичну активність. Їх використовують у комплексі з іншими лікувальними препаратами.

Оцінювання придатності вакцин для використання

При одержанні вакцин варто перевірити збереження їх фізичних властивостей: кольору, консистенції, прозорості, а також цілість ампул і флаконів.

Дотримання належних умов зберігання і транспортування вакцин необхідні для збереження їхньої якості та ефективності. Вакцини є чутливими до температури, тому вкрай важливим є дотримання «холодового ланцюга». В середньому для більшості вакцин температура зберігання становить від 2 до 8°С.

Якщо закритий флакон з вакциною зберігається за температури, яка вища за належну, вакцина не стає шкідливою. Але це може вплинути на її ефективність. В такому випадку щеплення може не формувати захист від хвороби.

Щоби контролювати ці показники, на флаконі з вакциною є спеціальні термоіндикатори.

Оцінювання придатності вакцин для використання, включає такі ключові аспекти:

1. Контроль якості вакцин.

Перевірка терміну придатності вакцини перед використанням.

Проведення ШК-тесту (швидкого індикатора якості), якщо це передбачено інструкцією. Це допомагає оцінити стабільність вакцини.

2. Дотримання «холодового ланцюга».

Контроль зберігання вакцин у холодильниках при температурі 2–8 °С або відповідно до вимог конкретної вакцини. Перевірка температурних індикаторів на флаконах або контейнерах для виявлення можливих порушень. Забезпечення транспортування вакцин з використанням термоконтейнерів.

3. Правила підготовки до вакцинації.

Використання стерильних інструментів та дотримання правил асептики. Перед використанням вакцини перевірка її фізичних властивостей (відсутність осаду, зміна кольору тощо). Реєстрація партії вакцини та умов її зберігання в документації.

4. Оцінка стану пацієнта.

Перед вакцинацією сестра повинна опитати пацієнта на предмет протипоказань (наприклад, алергій або гострих захворювань). Надання інформації про можливі побічні реакції.

5. Ведення документації.

Фіксація даних про введену вакцину (назва, партія, дата введення) в медичній карті пацієнта. У разі побічних реакцій - своєчасне повідомлення лікаря та відповідних органів.

6. Моніторинг стану вакцини після відкриття флакону.

Застосування вакцини відповідно до часу придатності після відкриття. Утилізація невикористаних вакцин згідно з інструкціями. Дотримання цих правил гарантує безпечність і ефективність вакцинації.

3. Сироватки. Лікувально-профілактичні та діагностичні сироватки

Сироватки — це препарати, які містять специфічні антитіла (імуноглобуліни), їх називають імунними.

За призначенням сироватки бувають діагностичними і лікувально-профілактичними.

Діагностичні імунні сироватки використовують для виявлення мікробних антигенів — збудника або його токсинів. Визначення виду чи типу збудника або токсину лежить в основі серологічної ідентифікації мікробів, визначення мікробних антигенів у біологічному матеріалі — в основі серологічної діагностики інфекційних хвороб.

Лікувально-профілактичні сироватки використовують для специфічного лікування і специфічної профілактики інфекційних хвороб. Вони створюють штучний пасивний імунітет.

За спрямованістю дії сироватки розрізняють:

- антитоксичні (проти дифтерійна, протиправцева, протиботулінічна, протигангренозна);
- антибактеріальні (проти збудника сибірки, лептоспірозу, чуми);
- антивірусні (проти грипу).

За походженням сироватки можуть бути гомологічними (вироблені із крові людей) і гетерологічними (виготовлені із крові тварин).

В Україні для лікування та екстреної профілактики використовують антитоксичні сироватки: протигангренозну, протиправцеву, протиботулінічні, протидифтерійну. Їх виробляють із крові коней і великої рогатої худоби, які попередньо імунізовані анатоксинами та екзотоксинами відповідних

збудників. Це гетерологічні антитоксичні сироватки. Крім антитоксичних виготовляють антибактеріальні сироватки також із крові коней, волів, гіперімунізованих відповідними убитими бактеріями або їх антигенами, але вони не знайшли широкого застосування. Анतिретиккулярну цитотоксичну нативну сироватку виготовляють з крові коней, гіперімунізованих антигеном, із клітин селезінки і кісткового мозку людини. Її використовують для лікування хвороб, спричинених зниженням імунологічної реактивності (хронічні запальні процеси, в тому числі роگیвки ока, виразкова хвороба шлунка і дванадцятипалої кишки, атеросклероз мозкових оболонок, ішемічна хвороба серця, гормонозалежні та інші хвороби).

Після виготовлення сироватки розливають в ампули, на яких зазначають назву сироватки, об'єм і концентрацію антитіл.

Сироватки контролюють на стерильність, апірогенність, активність та фізичні властивості (колір, прозорість, відсутність осаду).

Активність сироватки (концентрацію антитіл) визначають у міжнародних одиницях (МО) або в антитоксичних одиницях (АО). Одна МО або одна АО для кожного виду сироватки визначається порізному. За 1 АО протидифтерійної сироватки беруть ту найменшу її кількість, яка нейтралізує 100 летальних доз дифтерійного екзотоксину для морської свинки вагою 250 г.

Сироватки вводять глибоко підшкірно, внутрішньом'язово у зовнішню поверхню стегна або у сідницю, внутрішньовенно. Протиправцеву сироватку можна вводити у спинномозковий канал (згідно з інструкцією щодо застосування сироватки). Захисні антитіла зберігаються в організмі до 4-6 тиж. Перед введенням сироватку підігривають на водяній бані до температури 37 °С. Після введення сироватки можливі алергійні реакції негайного (одразу або через декілька годин) і уповільненого типу (ранні — на 2-6-у добу або віддаленого типу — на 2-му тижні після введення і пізніше).

Для запобігання виникненню анафілактичного шоку сироватку вводять за методикою Безредки. Для цього спочатку вводять невелику кількість сироватки для визначення чутливості організму до чужорідного білка: 0,1 см³ сироватки, розведеної у співвідношенні 1:100, вводять внутрішньошкірно у долонну поверхню передпліччя. Якщо через 20 хв на місці введення не виникає інфільтрат, а у хворого — неприємне відчуття, вводять 0,1 см³ концентрованої сироватки підшкірно у ділянку середньої третини плеча. У разі негативної реакції через 30-45 хв вводять всю призначену дозу за методом, зазначеним у інструкції. У разі позитивної шкірної проби сироватку розводять і вводять під наглядом лікаря поступово, починаючи з 0,5 см³ через кожні 20-30 хв, з кожним разом збільшуючи дозу (відповідно до інструкції). Після введення сироватки у будь-якому разі хворий повинен залишатися під наглядом лікаря не менше ніж 1 год через можливість виникнення анафілактичного шоку.

Замість нативних сироваток останнім часом виготовляють очищені імуноглобуліни.

Імуноглобуліни (раніше ці препарати називали гамма-глобуліни) — це імунологічно активна білкова фракція сироватки або плазми крові, очищена та концентрована. Якщо вони виготовлені з людської крові, то їх перевіряють на вміст антитіл до ВІЛ, вірусу гепатиту С та HBsAg (антиген вірусу гепатиту В). Із крові донорів або плацентарної крові породіль виготовляють імуноглобулін людини нормальний (для замісної терапії при імунодефіцитних станах, а також для профілактики гепатиту А, грипу, кору, коклюшу, поліомієліту та менінгококової інфекції, підвищення резистентності організму в період реконвалесценції після гострих інфекцій з тяжким перебігом); гістаглобулін, імуноглобулін людини протиалергійний (для лікування алергійних хвороб, а гістаглобулін — ще і для лікування інфекційних і неінфекційних хвороб); імуноглобулін людини протигриповий (для профілактики грипу, гепатиту А, кору, коклюшу, поліомієліту та менінгококової інфекції, а також для лікування гіпо- і агаммаглобулінемії, хронічної пневмонії, для підвищення резистентності організму в період одужання після гострих інфекцій і хвороб з тяжким перебігом); сандоглобулін (Швейцарія) — для замісної терапії при гіпо- і агаммаглобулінемії, для лікування лімфолейкозів, СНІДу у дітей; також використовують під час трансплантації кісткового мозку, при

тяжких формах бактеріальних та вірусних інфекцій; антистафілококовий імуноглобулін — для лікування хвороб стафілокової етіології у дітей та дорослих.

Із сироватки крові кози отримують антирабічний імуноглобулін. Його застосовують у комбінації з антирабічною вакциною для профілактики сказу при тяжких укусах сказаними або підозрілими на сказ тваринами.

Виділяють імуноглобуліни широкого спектра дії — імуноглобулін людини нормальний, гістаглобулін, імуноглобулін протигриповий; і специфічні — вузького спектра дії — імуноглобулін антистафілококовий, антирабічний.

Імуноглобуліни вводять внутрішньом'язово або внутрішньовенно (як зазначено в інструкції). Як більш концентровані й очищені від сторонніх домішок, порівняно з нативними сироватками, імуноглобуліни більш ефективні і дають менше ускладнень. Але гетерологічний імуноглобулін вводять також за методикою Безредки, а після його введення хворий повинен перебувати під наглядом лікаря не менше ніж 1 год. Після введення гомологічного імуноглобуліну необхідне перебування під наглядом лікаря упродовж 20-30 хв.

Імуноглобуліни і сироватки зберігають за температури 4 °С. Відповідно до національних вимог і рекомендацій Всесвітня організація охорони здоров'я (ВООЗ) використовують біологічні препарати вітчизняного та іноземного виробництва, які мають сертифікат реєстрації в Україні.

Під час застосування всіх імунобіологічних препаратів слід чітко дотримуватись інструкцій щодо їх транспортування, зберігання і застосування. Препарати, які транспортували або зберігали з порушенням зазначених в інструкції умов, знищують.

Імунобіологічні препарати треба використовувати до зазначеного терміну придатності.

Використання імунобіологічних препаратів після закінчення терміну придатності неприпустиме!

Поняття про моноклональні антитіла

Імунні сироватки навіть за максимального очищення містять антитіла до різних детермінант антигену, який був використаний для імунізації (тварини чи людини). Ці сироватки містять антитіла різних класів (IgM, IgG) із різним ступенем афінності, а також неспецифічні антитіла. Тому імунні сироватки є сумішшю моноклональних антитіл.

Моноклональні антитіла — це антитіла, які утворюються з одного клону В-лімфоцитів, тому належать до одного класу, одного підкласу, однієї афінності і спрямовані проти однієї антигенної детермінанти.

Для отримання моноклональних антитіл використовують гібридоми.

Гібридоми — це клітини, утворені шляхом злиття (гібридизації) нормальних сенсibiliзованих В-лімфоцитів (вони спроможні продукувати антитіла) і пухлинних клітин (вони здатні безмежно довго розмножуватися *in vitro*). Після імунізації тварини з її селезінки відбирають В-лімфоцити, відповідальні за синтез антитіл проти однієї детермінанти, і отримують з них гібридоми. Одну клітину гібридому вміщують у рідке поживне середовище, де з неї утворюється клон гібридом, які продукують антитіла лише однієї специфічності. З цього середовища і виділяють моноклональні антитіла.

Моноклональні антитіла використовують для ідентифікації антигенів, у тому числі мікроорганізмів, для лікування злоякісних пухлин, пригнічення Т-лімфоцитів, що здатні відторгнути трансплантат, а також як вакцини.

4. Алергія та її прояви

Алергія (від лат. *alios* — інший і *ergon* — дія) — це стан підвищеної чутливості організму до генетично чужорідних агентів (антигенів).

Кількість людей з алергійним станом невпинно зростає і сягає близько 20 %. За прогнозами

ВООЗ, якщо ХХ ст. було століттям серцево-судинних захворювань, то ХХІ ст. стане століттям алергії. Різке підвищення алергійних захворювань пов'язане зі збільшенням алергенного навантаження на людський організм. Цьому сприяють: забруднення довкілля, нераціональне харчування, неадекватна лікувальна терапія, безконтрольне використання антибіотиків, стреси, малорухливий спосіб життя, зміна клімату, широке використання синтетичних матеріалів, утримання в квартирах тварин, птахів та ін.

Речовини, які здатні зумовити алергійний стан, називають **алергенами**.

За походженням алергени поділяють на декілька груп:

- алергени рослинного походження: пилок дерев, трав'янистих рослин, спори грибів і дріжджів;
- побутові алергени: домашній пил, кліщі домашнього пилу, пральні порошки;
- алергени тваринного походження: шерсть, лупа, пір'я;
- косметичні засоби;
- промислові алергени;
- лікарські засоби: антибіотики, лікувальні сироватки (протидифтерійна, протиправцева), лідокаїн, новокаїн, вакцини, виготовлені з курячих ембріонів (проти кору, епідемічного паротиту), та ін.;
- харчові продукти: коров'яче молоко, яйця, риба, помідори, гриби, горіхи;
- мікроби, їх токсини і продукти розпаду мікробних клітин.

Введення алергену, що призводить до формування підвищеної чутливості, називають **сенсibiliзацією** (від лат. *sensibilis* — чутливий), а організм з підвищеною чутливістю — **сенсibiliзованим**.

Стан підвищеної чутливості називають «гіперчутливість» (ГЧ) (від лат. *hyper* — над, вище).

Гіперчутливість виявляється під час повторного введення алергену і проявляється певною алергійною реакцією.

Алергійна реакція — це комплекс симптомів, що виникає в сенсibiliзованому організмі під час повторного введення алергену.

У розвитку алергійної реакції виділяють три стадії:

- імунологічну;
- патохімічну;
- патофізіологічну.

Імунологічна стадія — це сенсibiliзація. Вона формується під час першого контакту організму з алергеном.

Первинна доза алергену називається *сенсibiliзувальною*. В основі сенсibiliзації лежать ті самі механізми, що і в основі імунізації: під впливом алергену синтезуються антитіла (IgE, IgM, IgG) і розмножуються сенсibiliзовані лімфоцити (Т- і В-лімфоцити). Виявити антитіла можна через 2—3 тиж (це час, протягом якого утворюються антитіла і «просочують» тканини), а сенсibiliзовані лімфоцити — через декілька місяців і навіть років у разі повторного введення алергену. Повторна доза алергену називається *вирішальною*.

Патохімічна стадія розвивається під час взаємодії антитіл або сенсibiliзованих лімфоцитів з алергеном. Фіксація утвореного комплексу на мембранах базофілів крові і тканинних базофілів призводить до вивільнення біологічно активних речовин (гістаміну, серотоніну й ін.), а також активації індукторів запалення (комплементу, макрофагів).

Патофізіологічна стадія (феноменологічна) проявляється внаслідок виникнення функціональних і структурних змін в органах і тканинах, що супроводжується певними симптомами хвороби. Ці симптоми проявляються по-різному і залежать від алергену і характеру імунної перебудови організму.

Алергійні реакції різноманітні за швидкістю прояву, тяжкістю перебігу і здатні розвиватися у

будь-яких тканинах організму.

Реакції гіперчутливості розділяють на дві групи: істинно алергійні й псевдоалергійні.

У розвитку істинно алергійних реакцій виділяють всі три стадії, тобто в основі цих реакцій лежать імунологічні процеси.

У розвитку псевдоалергійних реакцій імунологічна стадія відсутня. Ці реакції розвиваються внаслідок потрапляння в організм надлишку гістаміну з харчовими продуктами (сир, картопля, шоколад) або продуктами, які сприяють вивільненню гістаміну (білок риби), а також внаслідок утворення гістаміноподібних речовин мікрофлорою кишечника (при дисбактеріозах) або у пацієнтів з хворобою печінкою, коли порушується процес знешкодження гістаміну.

До псевдоалергійних реакцій призводять також барвники, консерванти, ароматизатори харчових продуктів. Прояви псевдоалергійних реакцій схожі на алергійні (астма, риніт, кропивниця, набряки).

Істинно алергійні реакції ділять на дві групи: реакції гіперчутливості негайного типу (ГНТ) і реакції гіперчутливості уповільненого типу (ГУТ).

До **реакцій гіперчутливості негайного типу** були віднесені: анафілаксія, феномен Артюса—Сахарова, сироваткова хвороба, атипії (бронхіальна астма, поліноз, кропивниця).

До реакцій **гіперчутливості уповільненого типу** — інфекційна алергія, контактні дерматити, лікарська алергія, реакції на трансплантат. Між реакціями гіперчутливості негайного та уповільненого типів є суттєва різниця

Клінічні прояви алергійних реакцій залежать від імунних механізмів, які лежать в їх основі.

Всі реакції гіперчутливості на чотири типи: анафілактичний, цитотоксичний, хвороби розчинних імунних комплексів і клітинний.

Перших три типи гіперчутливості відносять до реакцій гіперчутливості негайного типу. В основі їх імунного механізму лежать реакції антиген — антитіло. Четвертий тип належить до реакцій гіперчутливості уповільненого типу. В основі його імунного механізму лежать реакції антиген — Т-лімфоцити.

Належність алергійних реакцій до певного типу визначається:

- локалізацією процесу; класом антитіл, що взаємодіють з алергеном;
- видом ефektorних клітин, які беруть участь у процесі;
- типом тканин, які ушкоджуються внаслідок гіперчутливості.

I тип — анафілактичний, зумовлений антитілами класу IgE. Ці імуноглобуліни мають довші Fc-фрагменти, ніж всі інші імуноглобуліни, і здатні фіксуватися на мембранах базофілів крові і тканинних базофілах. У разі повторного введення алергену відбувається утворення комплексу антиген — антитіло на поверхні мембрани цих клітин. IgE не здатні фіксувати комплемент (не мають відповідних рецепторів), тому запалення не розвивається. Але приєднання антигену спричиняє зміну положення Fc-фрагмента IgE в мембрані клітин. Ці зміни призводять до вивільнення з клітин біологічно активних речовин, їх понад 30, але найважливішими серед них є такі: гістамін, серотонін, брадикінін, лейкотрієни. Унаслідок дії цих речовин на непосмуговані м'язи різних систем та органів розвиваються місцеві реакції — атонії або системні — анафілактичний шок. У нормі концентрація IgE в сироватці крові коливається від 0,1 до 0,4 мг/дм³. У осіб, схильних до алергійних реакцій, спостерігається високий рівень (у 3-4 рази більший за норму) циркулюючих IgE і більш високий вміст еозинофілів.

II тип — цитотоксичний, зумовлений IgM IgG, і які взаємодіють з автоантигенами, фіксованими на мембранах клітин організму (нирок, шкіри, легень, трансплантата, еритроцитів). IgM та IgG у комплексі з антигеном фіксують комплемент, що призводить до руйнування відповідних клітин організму. Деякі лікарські препарати також здатні спричинювати цитотоксичні реакції. Так, пеніцилін, фенацетин, хінідин як гаптени здатні прикріплюватися до мембрани еритроцитів, внаслідок чого утворюються автоантигени. Проти цих автоантигенів в організмі виробляються

автоантитіла. Утворення комплексу антиген — антитіло на поверхні еритроцитів, який фіксує комплемент, призводить до гемолізу, наслідком якого є гемолітична анемія. Хінін здатний прикріплюватися до мембрани тромбоцитів, що призводить до тромбоцитопенії (від тромбоцити і грец. *penia* — нестача), наслідком якої є кровотеча. Цей імунний механізм також спричиняє гемоліз під час переливання крові, яка не сумісна за групою або резус-фактором, відторгнення трансплантату, гемолітичну хворобу новонародженого.

III тип — хвороби розчинних імунних комплексів. Комплекси антиген — антитіло, що утворюються під час гуморальної імунної відповіді, як правило — це комплекси антигену з IgM і IgG, їх ще називають циркулюючі імунні комплекси (ЦІК). В нормі вони швидко і ефективно елімінуються (від лат. *elimino* — виносити за поріг, видаляти). При високій концентрації цих комплексів настає їх преципітація і накопичення в тканинах. Які не мають ніякого відношення до джерела антигену. Ці комплекси активують комплемент, макрофаги тканин, в яких накопичилися, внаслідок чого вивільняються біологічно активні речовини й розвивається запалення. Це накопичення може бути у фільтраційному апараті при ураженні нирок (гломерулонефрит), у синовіальних оболонках суглобів — ревматоїдний артрит, на стінках кровоносних судин — васкуліт (якщо він відбувається у кровоносних судинах серця, розвивається міокардит).

Розчинні імунні комплекси можуть утворюватися внаслідок інфекційної хвороби (дифтерія, гепатит В, менінгококова інфекція, шигельоз), введення лікарських препаратів (сироваткова хвороба, феномен Артюса-Сахарова). Імунні комплекси пригнічують активність Т-супресорів, що призводить до хронізації процесу і замісного склерозу (від грец. *sklerosis* — затвердіння) уражених органів.

IV тип — клітинний. Ці реакції відбуваються без участі антитіл, між антигеном, фіксованим на клітині-мішені, і сенсibilізованими Т-лімфоцитами. Активовані (сенсibilізовані) Т-лімфоцити виділяють велику кількість лімфокінів (інтерлейкінів), що призводить до виникнення запалення. Цей імунний механізм лежить в основі контактних дерматитів і інфекційної алергії. При контактних дерматитах ушкоджуються клітини шкіри, на яких адсорбуються хімічні речовини, в тому числі дезінфектанти, лікарські препарати. При інфекційній алергії ушкоджуються клітини, інфіковані вірусами, грибами, бактеріями. Цей тип гіперчутливості ще називають туберкуліновим. При будь-якій алергійній реакції зазвичай проявляється не один тип імунологічних механізмів. Так, при анафілактичних реакціях проявляється механізм I і III типів, при автоімунних захворюваннях — II і IV типів, а при лікарській алергії проявляються механізми всіх чотирьох типів.

Анафілаксія (від грец. *ana* — проти і *aphylaxia* — захист, тобто беззахисність) — це стан гіперчутливості негайного типу, який проявляється у вигляді шоку або близького до нього стану. Антигени, що спричиняють анафілаксію, називають анафілактогенами. Якщо тварині вперше ввести невелику кількість кінської сироватки (сенсibilізувальна доза) підшкірно (обов'язково парентерально, щоб не ушкодити антиген), то протягом 2 тижнів у її організмі відбудеться сенсibilізація до білків цієї сироватки. Такий вид сенсibilізації називається активною сенсibilізацією. Повторне введення цього антигену (вирішальна доза) проводять внутрішньовенно. При цьому свинка стає неспокійною, шерсть піднімається, вона падає на бік, у неї з'являються судоми, виділяються кал, сеча, дихання частішає і в стані вдиху свинка помирає. Таку реакцію організму на повторне введення антигену (анафілактогену) було названо **анафілактичним шоком**. Якщо сироватку крові сенсibilізованої тварини ввести в організм здорової тварини того самого виду, то вона буде реагувати на вирішальну дозу, так само як і сенсibilізована, але через коротший термін — 1-2 доби. Такий вид сенсibilізації називається *пасивною сенсibilізацією*.

В організмі людини анафілактичний шок може розвинути при внутрішньом'язовому чи внутрішньовенному введенні лікувальних сироваток, гетерологічного імуноглобуліну, розчину антибіотиків (пеніцилінового ряду) та інших лікарських препаратів (новокаїну, лідокаїну).

Клінічна картина анафілактичного шоку характеризується швидким і миттєвим початком. Хворі неспокійні, налякані, скаржаться на запаморочення, головний біль, оніміння губ, язика,

обличчя, свербіж, стиснення за грудниною, біль у животі. У хворого розвивається гіперемія, яка змінюється побліднінням шкіри, акроціанозом (від грец. *kyanos* — темно-синій); з'являється холодний піт, дихання і пульс стають частими, різко знижується артеріальний тиск, можливі знепритомнення, судоми. Без надання невідкладної медичної допомоги такий стан може закінчитися летально. Для запобігання виникненню анафілактичного шоку необхідно вводити сироватку й гетерологічні імуноглобуліни за методикою Безредки. Розвитку анафілактичного шоку також можна запобігти за допомогою антигістамінних лікарських препаратів (піпольфен, димедрол, тавегіл), застосуванням наркозу та введенням кальцію хлориду для ущільнення судинної стінки. Якщо вирішальну дозу антигену вводити підшкірно невеликими дозами, але часто — через кожні 15 хв, настає десенсибілізація, тобто усувається підвищена чутливість, або гіпосенсибілізація — знижується підвищена чутливість. У разі введення вирішальної дози внутрішньовенно після десенсибілізації анафілактичний шок не розвивається. Стан десенсибілізації нетривалий, він зникає через 1-2 тиж, але дає можливість ввести ліки або лікувальну сироватку гіперсенсибілізованій особі. Такий вид десенсибілізації називається гострою десенсибілізацією. Більш тривалу (хронічну десенсибілізацію, або гіпосенсибілізацію) проводять за певними схемами. Суть методики полягає в тому, що пацієнту спочатку 1 раз на тиждень двічі на добу вводять алерген, потім для підтримання наявності алергену ін'єкції проводять щотижня 1 раз на добу, потім 1 раз у 2 тиж. Термін проведення десенсибілізації триває 3-5 років. Розроблені і більш прискорені схеми, при яких термін десенсибілізації триває 4-6 міс. Механізм тривалої десенсибілізації ґрунтується на тому, що під впливом антигену утворюються неповні IgC, які блокують антиген і не допускають його взаємодії з IgE.

Анафілактична реакція може проявлятися місцево, якщо вирішальну дозу алергену (анафілактогену) ввести внутрішньошкірно. Це місцева анафілаксія (за визначенням Артюса), або **феномен Артюса-Сахарова**. Через 1-2 год після введення вирішальної дози антигену з'являються геморагії (від грец. *haima* — кров і *rhagnumi* — прорвати, тобто крововиливи), запалення, а через 12-24 год утворюється інфільтрат; пізніше настає некроз (від грец. *nekrosis* — змертвіння) тканин. Цей феномен використовують для виявлення алергійного стану шляхом проведення внутрішньошкірних проб. Артюс на основі свого дослідження зробив висновок про те, що для запобігання запаленню і некрозу тканин не можна робити ін'єкції лікарських препаратів в одне і те саме місце.

Сироваткова хвороба виникла одночасно із застосуванням лікувальних сироваток при інфекційних захворюваннях (дифтерія, правець). Після введення гетерологічної сироватки (раніше лікувальні сироватки виготовляли з крові імунізованих коней) синдром сироваткової хвороби проявляється через 8-10 або навіть 14 діб. Механізм сироваткової хвороби полягає в тому, що білкові антигени лікувальної сироватки в перші дні після введення поступово виводяться з організму. Але на 7-14-у добу, коли проти них накопичуються антитіла, їх залишається ще досить для утворення комплексу антиген — антитіло з надлишком антигенів або антитіл, що і призводить до розвитку таких симптомів: лихоманка, температура тіла 38-39 °C, біль у суглобах, збільшення лімфоїдних органів (селезінки, лімфатичних вузлів), висип на шкірі (за типом кропивниці), свербіж. Поступово ці симптоми зникають. Якщо лікувальну сироватку ввести в організм сенсibilізованої особи, то реакція проявляється негайно у вигляді анафілактичного шоку. Враховуючи таку побічну дію сироватки, намагаються цільну сироватку замінити на її глобулінову фракцію, а також перейти на виробництво гомологічних (виробляти з людської крові) імунологічних препаратів. Сироваткову хворобу ще називають генералізованою реакцією Артюса, тому за механізмом її можна віднести до I, III, IV типів алергійних реакцій.)

Атопії (від грец. *a* — не, без і *topos* — місце) — вид місцевої анафілаксії, яка виникає в тих органах і тканинах, де відбулася фіксація антитіл. Залежно від місця локалізації процесу і клінічних проявів розрізняють декілька форм атопічних реакцій: поліноз (сінна лихоманка), бронхіальна астма, алергійний риніт, кропивниця, шлунково-кишкові розлади.

Поліноз має сезонний характер, розвивається навесні й влітку в пору цвітіння рослин. Внаслідок вдихання пилку рослин або спор грибів виникають кон'юнктивіт, свербіж в очах, нежить, кашель, головний біль, напади задухи, набряк слизової оболонки носа, що може призвести до втрати нюху. Загострення спостерігається в суху жарку вітряну погоду, коли в повітрі накопичується багато рослинного пилку.

Неінфекційний (алергійний) риніт проявляється незалежно від пори року. Його прояви виражені слабше, ніж при полінозі, але неухвалене ставлення хворого до свого стану може призвести до розвитку бронхіальної астми. Головні симптоми риніту — закладений ніс, чхання (10-30 разів за один напад), водянисті виділення з носа (ринорея).

Бронхіальна астма — це комплекс симптомів, серед яких найголовнішим є напад задухи, спазматичного кашлю, що є наслідком спазму непосмугованих м'язів, а також надлишком слизу, що продукується у бронхах, набряку слизової оболонки бронхів. Бронхіальна астма проявляється незалежно від пори року. Напади бронхіальної астми спричиняють різні алергени і можуть спровокувати неспецифічні фактори: тютюновий дим, холодне повітря, туман, лак для волосся, сильні емоції, промислові та транспортні викиди й інші забруднення повітря.

Кропивниця проявляється висипом на шкірі, сильним свербіжем. Ще тяжчий перебіг має атопічний дерматит (атопічна екзема дитячого віку): почервоніння шкіри, свербіж, злущення епітелію, пухирці. Вона виникає на будь-яких ділянках тіла після вживання деяких харчових продуктів (молоко, яйця, риба, гриби), ліків або у разі контакту з хімічними речовинами. Кропивницю можуть спричинювати і фізичні фактори: сонце, холод, зміни атмосферного тиску.

До особливих форм кропивниці належить **набряк Квінке**. Процес поширюється насамперед на обличчя і супроводжується набряком губ, повік («щілиноподібні очі»), слизових оболонок, є відчуття печіння, але свербіж відсутній. Набряк Квінке стає небезпечним для життя, якщо процес поширюється на слизові оболонки рота і горла. Набряк язика і задньої стінки глотки утруднюють проходження повітря, що може призвести до асфіксії (від грец. *asphyxia* — відсутність пульсу), тобто задушення.

Для запобігання атопічним реакціям найбільш ефективним є уникнення контакту з алергеном. У розвитку атопічних реакцій головна роль належить спадковості. Якщо на атопічні захворювання страждає один із батьків, то ймовірність наслідування становить 30%, якщо страждають обоє батьків — 60 %.

Інфекційна алергія виникає під впливом багатьох збудників інфекційних хвороб і продуктів їх життєдіяльності: при туберкульозі, бруцельозі, туляремії, сибірці, токсоплазмозі, мікозах тощо. Цей тип гіперчутливості зумовлений сенсibiliзованими Т-лімфоцитами. Специфічність цих реакцій використовують для діагностики інфекційних хвороб. При цьому алерген вводять підшкірно (за Кохом), внутрішньошкірно (за Манту) або нашкірно (за Пірке). Як алерген використовують фільтрат бульйонної культури (туберкулін), лізат бульйонної культури (актинолізат) чи завесь убитих бактерій (тулярин, бруцелін). У разі наявності гіперчутливості на місці введеного алергену виникає місцева реакція — інфільтрат, гіперемія, біль. Іноді виникає і загальна реакція: слабкість, німіч, загострення інфекційного процесу.

Найчастіше діагностичні алергійні реакції проводять за Манту. Такий метод діагностики називається алергійним.

Контактні дерматити — це алергійні захворювання шкіри, які можна віднести до IV типу алергічних реакцій. На відміну від атопічного дерматиту, їх спричиняють тільки фактори зовнішнього середовища. Вони розвиваються внаслідок тривалого контакту з різними алергенами, які можна об'єднати в 4 групи: лікарські препарати (антибіотики у вигляді мазі); косметичні засоби; фактори одягу (залишки пральних порошків, гудзики, гачки, блискавки, шкіра, полімери, ювелірні прикраси); професійні фактори (барвники, чорнило, клей, цемент, дерево екзотичних порід та ін.). Як неповноцінні антигени (гаптени) вони з'єднуються з білками шкіри і слизових оболонок і

перетворюються на повноцінні. Прояви хвороби можуть бути різними від почервоніння до запалення і некрозу (екзематозний дерматит).

Лікарська алергія — ускладнення медикаментозної терапії. Клінічні прояви її дуже різноманітні. Алергійні реакції можуть проявлятися негайно: бронхоспазм, гостра кропивниця, набряк Квінке, анафілактичний шок; та у вигляді уповільнених реакцій: контактний дерматит, алергійний васкуліт (від лат. vasculum — судинка) — запалення стінок дрібних кровоносних судин, сироваткова хвороба. Серед ліків, які найчастіше є причиною алергії, можна виокремити похідні піразолону і нітрофурану, вітаміни групи В, поліглюкін, новокаїн тощо.

Алергодіагностика – це комплекс досліджень, спрямованих на підтвердження стану алергії й виявлення причин її розвитку.

До методів алергодіагностики відносяться алергологічний анамнез, алергологічні проби (шкірні, провокаційні, елімінаційні) і алергодіагностику *in vitro*.

Алергологічний анамнез передбачає виявлення скарг, характерних для алергічних хвороб, встановлення алергічних захворювань в минулому в пацієнта або в його родичів, виявлення реакції на введення медикаментів, вплив клімату, погоди, фізіологічного стану організму та ін. Дає можливість виявлення наявності алергічного захворювання у пацієнта і окреслити коло алергенів, що його викликають.

Алергічні проби *in vivo*:

Шкірні алергічні проби передбачають внутрішньошкірне чи нашкірне введення алергенів. Для постановки внутрішньошкірних проб необхідна доза алергену вводиться в об'ємі від 0,05 до 0,1 мл.

Обов'язково вводиться контрольна рідина (розчинник для алергену).

Реакція негайного типу проявляється через 10-15 хвилин після введення з утворенням запального елемента типу кропивниці й зникає через 3-4 години.

Алергічна реакція, що перебігає з утворенням імунних комплексів, проявляється через 3-4 години і зникає через 24 години. Такі реакції характерні для багатьох бактеріальних та грибкових алергенів.

Реакції повільного типу проявляються почервонінням та інфільтрацією шкіри через 24-48 годин після введення алергенів.

При нашкірному (аплікаційному) способі постановки проби алерген наноситься на непошкоджену або злегка скарифіковану шкіру.

Провокаційні проби використовуються в тих випадках, коли результати алергологічного анамнезу не співпадають з результатами діагностичних шкірних проб. Вони ґрунтуються на штучному викликанні симптомів алергічного захворювання. При цьому вводиться мінімальна доза алергену різними методами: назально, орально, в кон'юнктиву.

Елімінаційні проби передбачають виключення передбачуваних алергенів з навколишнього оточення, одягу, їжі пацієнта, усунення професійних чинників. Їх ставлять для діагностики харчових алергій.

Алергодіагностика *in vitro*: передбачає виявлення специфічних антитіл, що належать до Ig E, або виявлення сенсibiliзованих клітин.

Точним і достовірним методом визначення Ig є радіоімунний метод, який ділиться на конкурентний і неконкурентний.

ПРАКТИЧНЕ ЗАНЯТТЯ №1

Тема: «ОРГАНІЗАЦІЯ І ОБЛАДНАННЯ БАКТЕРІОЛОГІЧНОЇ ЛАБОРАТОРІЇ. МІКРОСКОПІЧНИЙ МЕТОД ДОСЛІДЖЕННЯ»

Актуальність теми: бактеріологічні лабораторії, враховуючи їхню специфіку, потенційно можуть становити загрозу для довкілля та здоров'я населення. Тому важливо забезпечити суворий контроль за дотриманням вимог нормативних документів щодо їх розташування, організації роботи та оснащення, включно з лабораторним обладнанням, посудом і апаратурою. Мікроскопічний метод діагностики інфекційних захворювань базується на виявленні збудників у біологічному матеріалі за допомогою мікроскопії та їх ідентифікації шляхом аналізу морфологічних і тинкторіальних характеристик. Цей підхід є ключовим для підтвердження діагнозу таких захворювань, як сифіліс, гонорея, лептоспіроз, поворотний тиф тощо. Крім того, він дозволяє орієнтовно діагностувати захворювання, такі як дифтерія, правець і анаеробні інфекції, що сприяє швидкому реагуванню та належному лікуванню.

Мета: ознайомитися з організацією та обладнанням бактеріологічної (мікробіологічної) лабораторії. Оволодіти правилами поведінки та технікою безпеки, будовою мікроскопа, імерсійною системою мікроскопування. Навчитись виготовляти мазки-препарати, фарбувати їх простим і складним методами, закріпити навичка мікроскопії; визначати морфотинкторіальні властивості мікроорганізмів.

Матеріальне забезпечення: таблиця-схема бактеріологічної лабораторії, інструкції з техніки безпеки, мікроскопи, імерсійне масло, мазки-препарати, мікробна культура (агарова, бульйонна), предметні скла, ізотонічний розчин, піпетки, бактеріологічні петлі, метиленова синька або основний фуксин, фарби за методом Грама, мікроскопи, імерсійне масло, мазки – препарати. Таблиці «Метод Грама», «Основні форм бактерій», «Особливості будови грамдодатніх та грамвід'ємних бактерій», «Фарбування спор і капсул», таблиці.

Конкретні цілі:

знати:	вміти:
• структуру та обладнання бактеріологічної лабораторії;	• застосовувати правила роботи та техніки безпеки в бактеріологічній лабораторії;
• правила поведінки та техніки безпеки в мікробіологічній лабораторії;	• організовувати робоче місце;
• будову мікроскопа, правила мікроскопії;	• мікроскопувати мазки препарати в імерсійній системі;
• етапи виготовлення мазка-препарата;	• виготовляти мазки - препарати з бульйонної та агарової культур;
• морфологію і будову бактеріальної клітини;	• фарбувати мазки простим та складним методами;
• хімічний склад бактеріальної клітини;	• дотримуватись вимог охорони праці в галузі, техніки безпеки, особистої гігієни, інфекційного контролю, чинних наказів МОЗ України під час роботи з біологічним матеріалом, деззасобами. Дотримання техніки безпеки згідно чинного наказу «Про режим роботи з патогенними мікроорганізмами».
• мікроскопічний метод дослідження та його значення.	

ЗМІСТ ЗАНЯТТЯ

Мікробіологічні (бактеріологічні) лабораторії організовуються при лікарнях, поліклініках, санітарно-епідеміологічних станціях, науково-дослідних інститутах, навчальних закладах медичного профілю (медичний університет, коледж, училище), підприємствах харчової промисловості (пивзавод, молокозавод, дріжджовий завод...) і інших

Мікробіологічна (бактеріологічна) лабораторія організовує і проводить роботу відповідно до організаційної та нормативної документації затвердженої МОЗ України, Держстандартом та правилами внутрішнього розпорядку; бере участь у здійсненні Державного санітарного нагляду згідно закону України про забезпечення санітарного та епідеміологічного добробуту населення.

Розрізняють бактеріологічні, вірусологічні, імунологічні, спеціалізовані лабораторії, які застосовують для діагностики інфекційних захворювань.

Мета і завдання медичної мікробіології, вірусології, імунології – запобігання, зниження захворюваності й ліквідація інфекційних хвороб.

Завдання медичної мікробіологічної (бактеріологічної) лабораторії – діагностика інфекційних хвороб.

З цією метою виділяють збудника, проводять його ідентифікацію, визначають імунну відповідь організму на проникнення мікроорганізмів (серологічна діагностика), виявляють носіїв патогенних мікроорганізмів, визначають чутливість виділеної культури до антибіотиків та хіміопрепаратів - для правильної й раціональної терапії.

Режим роботи бактеріологічної лабораторії залежить від ступеня небезпеки зараження для осіб, які працюють з хвороботворними мікроорганізмами або матеріалом, що їх містить.

До складу сучасної бактеріологічної лабораторії повинні входити такі приміщення:

реєстратура,	кухня,
гардероб,	автоклава,
лаборантські кімнати,	стерилізаційна,
бокс з передбокеником,	підсобні приміщення
кімната для миття посуду,	віварій.

Обладнання мікробіологічної лабораторії залежить від рівня досліджень. Для повсякденної роботи лабораторія повинна бути обладнана біологічними імерсійними мікроскопами, повинна мати термостати, обладнання для стерилізації (автоклави, сушильні шафи, згортувачі), рН-метр, дистильатор, центрифуги, технічні, аналітичні електронні ваги, апаратуру для фільтрування, водяні бані.

Набір інструментів: бактеріологічні петлі, шпатель, голки, пінцети.

Лабораторний посуд: пробірки, колби, чашки Петрі, флакони, пастерівські піпетки, градуйовані піпетки, мірні циліндри, ступки і т.д.

Лабораторія повинна мати необхідні поживні середовища, хімічні реактиви, діагностичні сироватки, стандартні діагностикуми, дезінфікуючі розчини, спирт і інші лабораторні матеріали; документацію: а) інструктивні матеріали – накази, методичні вказівки, державні стандарти; б) журнали реєстрації; в) бланки.



Необхідний лабораторний посуд для роботи в бактеріологічній лабораторії

Приміщення лабораторій повинно бути обладнане бактерицидними лампами.

Всі співробітники лабораторії повинні мати постійне робоче місце.

Робоче місце повинно бути забезпечене достатнім природним і штучним освітленням.

Стіл і стільці повинні легко дезінфікуватись.

На робочому місці повинно бути **ПОСТІЙНО**:

- ємкості з дезрозчином для дезінфекції робочого столу;
- ємкості з дезрозчином для дезінфекції рук;
- посуд з ватними кульками;
- пальник;
- штатив в якому знаходяться: бактеріологічна петля, пінцет, ножиці, шпатель, пастерівська піпетка.

Персонал мікробіологічних лабораторій забезпечується халатами, шапочками, марлевими масками, фартухами, нарукавниками, гумовими рукавицями, протичумними костюмами для індивідуального захисту.

В процесі мікробіологічних досліджень працівник повинен дотримуватись санітарно-епідеміологічного режиму, який виключає внутрішньолабораторне зараження.

Робота в лабораторії дозволяється тільки в медичних халатах, шапочках та змінному взутті, які захищають від можливого попадання на одяг заразного матеріалу.

В лабораторії **категорично** забороняється вживати їжу, воду, курити.

У випадках попадання заразного матеріалу на робочий стіл, підлогу, одяг потрібно негайно та ретельно обробити це місце дезінфікуючим розчином. Використані під час роботи предметні скла, піпетки, тампони тощо занурюються у дезінфікуючий розчин.

Залишати робоче місце в кінці заняття у взірцевому стані.



Робоче місце лаборанта

ПРАВИЛА ТЕХНІКИ БЕЗПЕКИ

- весь матеріал, який поступає в бактеріологічну лабораторію **завжди вважають інфікованим!**
- при поступленні досліджуваного матеріалу реєструють в спеціальному журналі й маркують;
- при розпаковуванні біологічного матеріалу необхідно дотримуватись обережності; банки ззовні обтирають дезінфікуючим розчином і ставлять на підноси, а не просто на стіл;
- переливати досліджуваного матеріалу з одного посуду в інший необхідно над дезінфікуючим розчином. Якщо необхідно застосувати піпетку, то відсмоктування здійснюють за допомогою гумової груші, яку одягають на піпетку;
- при попаданні досліджуваного матеріалу на поверхню лабораторних меблів, її обробляють дезінфікуючим розчином, який знаходиться на робочому місці;
- руки обробляють дезінфікуючим розчином, який знаходиться біля умивальника, а потім ретельно миють з милом;
- про випадки аварії з посудом, який містить заразний матеріал, необхідно терміново повідомити завідувача лабораторії або його заступника. Негайно знезаразити забруднені поверхні, одяг, предмети, частини тіла;
- в кінці робочого дня досліджуваного матеріалу, який підлягає подальшому дослідженню поміщають в термостат, який пломбують;
- при зберіганні в лабораторії патогенних культур, їх реєструють в спеціальному журналі, вказують кількість культур, дату їх поступлення, пересіву, знищення;
- відпрацьований матеріал після реєстрації в журналі поміщають в спеціальні баки, які пломбують і передають для знезараження (автоклавуванням), після чого проводять прибирання робочого місця;
- в кінці робочого дня проводять вологе прибирання приміщень бактеріологічної лабораторії з використанням дезінфікуючих розчинів.

Мікроскоп – це точний оптичний прилад, який потребує бережливого відношення. Не можна торкатися пальцями рук поверхні лінз, дзеркала, світлофільтрів. Порох витирають з поверхні лінз чистою, сухою полотняною тканиною, при необхідності тканину можна змочити хімічно чистим бензином, ефіром або спеціальною сумішшю для очищення оптики. Не можна самостійно розкручувати і розбирати об'єктиви. Після закінчення роботи з мікроскопом, необхідно зняти залишки імерсійного масла з фронтальної лінзи об'єктива, після чого опустити конденсор, тубус, накрити мікроскоп чохлом і поставити в захищене місце

Мікроскоп складається з **механічної** та **оптичної** систем.

До механічної системи входять:

штатив (основа, тубусотримач),	гвинт для опускання конденсора,
предметний столик,	макрогвинт,
тубус,	мікрогвинт.
револьвер,	

До оптичної системи входять:

окуляр,
конденсор,
об'єктиви (сухі та імерсійні),
дзеркало (плоске та ввігнуте).

Окуляри можуть мати такі збільшення: x5; x7; x10; x15.

Об'єктиви бувають сухі (x8; x10; x20; x 40) та імерсійні (x90).



Рис. Будова мікроскопа.

Загальне збільшення мікроскопа дорівнює добутку збільшення об'єктиву на збільшення окуляру.

Роздільна здатність мікроскопа – здатність розрізняти окремо дві близько розміщені точки. Від роздільної здатності мікроскопа залежить якість і чіткість зображення.

Особливістю імерсійних об'єктивів є те, що між фронтальною лінзою і препаратом поміщають імерсійну рідину, яка має показник заломлення приблизно такий, як скло.

В мікробіологічних лабораторіях використовують різноманітні види мікроскопій.

Мікроскопія в темному полі зору використовується з метою дослідження рухливості бактерій, виявлення патогенних спірохет - збудників сифілісу, поворотного тифу, лептоспірозу.

Темнопольний мікроскоп відрізняється від звичайного способом освітлення. У звичайному мікроскопі об'єкт досліджується при світлі, яке проходить через лінзу конденсора, а в темнопольному - при боковому освітленні.

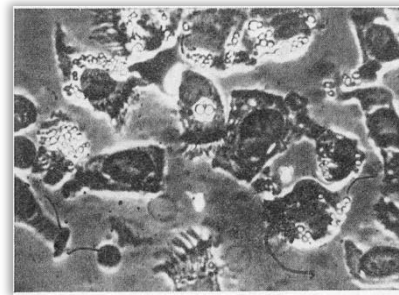
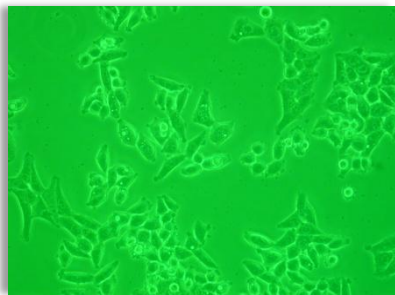
Щоб отримати бокове освітлення, звичайний конденсор Аббе замінюють спеціальним параболоїдом – конденсором, у якому центральна частина нижньої лінзи затемнена, а бокова поверхня дзеркальна, в результаті чого утворюється темне поле зору. Яскраві бокові промені відбиваючись від дзеркальної поверхні, фокусуються в площині об'єкта, але в очі мікроскопіста не потрапляють. В окуляр проникають лише ті промені, які відбиваються від самого об'єкта. Отже, на темному полі зору будуть видимі яскраві об'єкти (мікроби).

Темнопольний мікроскоп дає змогу розглядати об'єкти розміром 0,02-0,04 мкм, тобто значно менші, ніж під світловим мікроскопом, але не можна вивчити внутрішню структуру мікроорганізмів.



Фазово-контрастна і аноптральна мікроскопії. Засновані на тому, що оптична довжина світла влюбій речовині залежить від показника заломлення. Цю властивість застосовують з метою збільшення контрастності зображення прозорих об'єктів, якими є мікроорганізми, тобто для вивчення деталей їх внутрішньої будови. Полягає в тому, що живі клітини (бактерії), слабо поглинаючи світло, все ж таки здатні змінювати фазу проникаючих променів. У різних ділянках клітини товщина, щільність, а отже, й показники заломлення світла будуть неоднакові. Ці різниці у фазах ні орган зору, ні фотоплівка не помічають. Але їх можна зробити видимими за допомогою фазово-контрастного пристрою. При роботі з останнім об'єкти виглядають темнішими (позитивний фазовий контраст) або світлішими (негативний контраст) у порівнянні з оточуючим фоном.

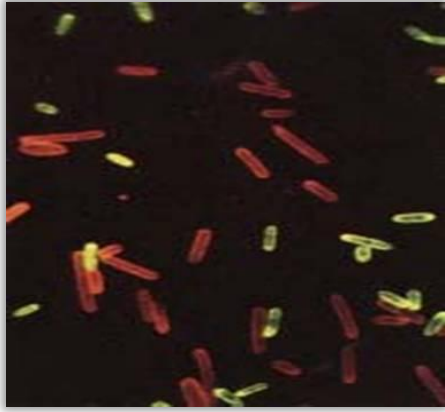
Фазово-контрастна мікроскопія не збільшує роздільної здатності, але дозволяє виявити нові деталі внутрішньої структури бактеріальної клітини, дослідити окремі стадії її розвитку, поділ, вплив різноманітних хіміотерапевтичних препаратів. Вона має й деякі недоліки: навколо об'єктів виникають світлі ореоли.



Чіткіше зображення малоконтрастних живих мікроорганізмів (вірусів) досягається за допомогою аноптрального мікроскопа. Однією з важливих деталей цього мікроскопа є лінза об'єктива, яка розташована поблизу її верхнього отвору і на яку нанесено шар кіптяви або міді, які поглинають не менше 10% світла, в результаті чого фон поля зору стає коричневим, а об'єкти, які мікроскопують, набувають різних відтінків – від білого до золотисто-коричневого.

Люмінесцентна (флуоресцентна) мікроскопія застосована на властивості деяких клітин і барвників світитися при попаданні на них ультрафіолетових і інших променів з короткою довжиною хвилі світла. Метод люмінесцентної мікроскопії набагато чутливіший порівняно з іншими мікроскопічними дослідженнями. Він дозволяє виявити в матеріалі таку малу кількість збудника, яку іншими методами не знаходять.

Люмінесцентну мікроскопію використовують для виявлення антигенів і антитіл (метод імунофлуоресценції).



Люмінесцентний мікроскоп

Люмінесцентні мікроскопи такі ж як світлові, з яскравим джерелом світла і набором світлофільтрів, які виділяють частину спектра з короткою хвилею світла, що збуджує люмінесценцію. Між дзеркалом мікроскопа і дзеркалом світла встановлюється синьо-фіолетовий світлофільтр (УФС – 3, ФС – 1 та ін.)

На окуляр натягають жовтий світлофільтр (ЖС – 3 або ЖС – 18)

Розрізняють власну (первинну) і наведену (вторинну) флюоресценцію. Оскільки більшість мікробів не мають власної флюоресценції, вони обробляються барвниками, які здатні флюоресціювати (вторинна люмінесценція).

Для цього використовують такі флюорохроми:

- аурамін (для обробки мікобактерій туберкульозу);
- акредин жовтий (гонококи);
- корифосфін (коринебактерії дифтерії);
- флюоресцеїн ізотіоціанат (для мічених антитіл).

Мазок для люмінесцентної мікроскопії готують звичайним способом, фіксуючи в ацетоні 5-10 хв. і наносять на нього флюорохром на 20-30 хв.

Готовий препарат 15-20 хв. промивають поточною водою, покривають покривним склом і мікроскопують.

Електронна мікроскопія. Застосовується в мікробіології і вірусології для вивчення деталей будови бактерій і вірусів. Електронний мікроскоп – високовольтний вакуумний прилад, у якому збільшене зображення отримують за допомогою потоку електронів. Він має високу роздільну здатність і може давати збільшення від 20 тис до 50 млн разів. За принципом дії розрізняють просвічуючі (трансмисивні), скануючі (растрові) й комбіновані мікроскопи.

В електронному мікроскопі замість світла застосовується потік електронів в безповітряному середовищі, на шляху якого знаходиться анод. Джерелом електронів є електронна пушка (вольфрамова нитка, яка розжарюється до 2500-2900 °С). Роль лінз виконує кругове електромагнітне поле. Пучки електронів, проходячи через досліджуваний об'єкт, відхиляються під різними кутами залежно від неоднакової товщини й щільності препарату. Це забезпечує контрастність зображення.

В електронному мікроскопі замість предметних скелець застосовують дуже тоненькі плівки-підкладки, які незначно поглинають електрони. На них наносять очищений матеріал, від якого після випаровування залишається тонкий шар.

Висушений препарат встановлюють для мікроскопії.

Для визначення деталей структури бактерій чи вірусів застосовують метод напилення або негативного контрастування. Контраст-препарат виготовляють за допомогою електроннощільних

речовин: напиленням важкими металами, обробка препаратів фосфорно-вольфрамовою кислотою, ураніацетатом і ін. При дослідженні таких препаратів деталі їх структури проявляються контрастно і рельєфно.

Широко також використовують ультратонкі зрізи клітин, бактерій і вірусів, що дає змогу вивчити їх структуру на субклітинному і молекулярному рівнях.

Сучасна українська і іноземна промисловість випускає багато моделей електронних мікроскопів, які мають величезні можливості для вивчення мікроскопічного світу.

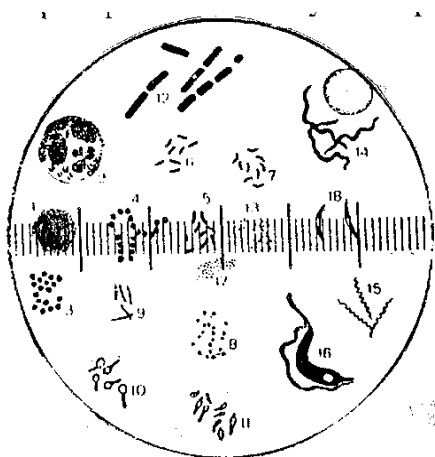


Електронний мікроскоп

Визначення величини мікроорганізмів методом порівняння.

Користуючись імерсійною системою мікроскопа розглянути препарат-мазок із суміші крові з бактеріями.

Мікроскопічна картина: поряд з форменими елементами крові еритроцитами, лейкоцитами) видно забарвлені мікроорганізми.



Порівняльні розміри мікроорганізмів з діаметром еритроцитів (діаметр еритроцитів - 7,5 мкм). Величина мікроорганізмів вимірюється мкм (1 мм= 10 мкм).

Мікроскопічний метод дослідження належить до основних мікробіологічних методів; він дає можливість за допомогою оптичних приладів - мікроскопів визначити розміри, форму (**морфологічні** властивості), відношення до фарби (**тинкторіальні** властивості), рухливість, кількість мікроорганізмів, їх розміщення.

Морфотинкторіальні властивості є одними з найважливіших критеріїв для розпізнавання (ідентифікації) бактерій. Дослідження складається з приготування препаратів (нативних або

забарвлених простим чи складними методами) з досліджуваного матеріалу та їх мікроскопії. Перевагами мікроскопічного методу є його простота, швидкість, економічність. Як правило, цей метод є орієнтовним. Основним він вважається при деяких протозойних інфекціях (малярія, амебіаз та інш.), важливим при гострій формі гонореї, поворотному тифі.

Етапи виготовлення мазка-препарата

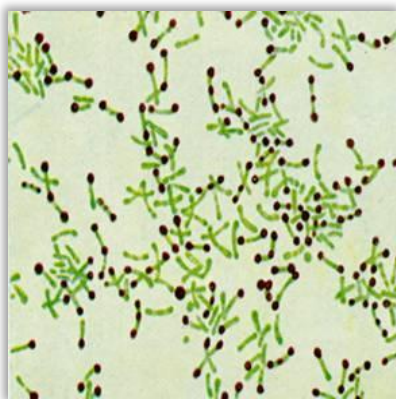
- 1) нанесення матеріалу на предметне скло
- 2) висушування (на повітрі)
- 3) фіксація (здійснюється фізичним або хімічним способами).

Фізичним способом фіксують мазки з мікробної культури (проводячи предметне скло з мазком у верхній частині полум'я спиртівки 3 рази впродовж 6 секунд).

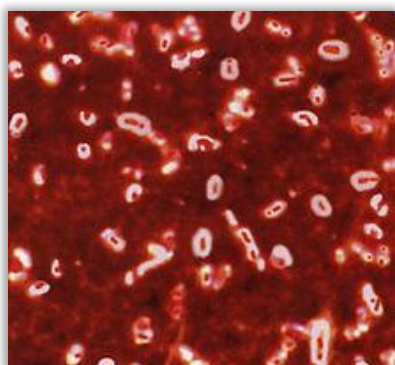
Хімічним способом фіксують мазки з крові, тканин, мазки - відбитки. Їх обробляють однією з фіксуючих рідин:

- а) метиловий спирт - 5 хв.
 - б) етиловий спирт - 10 хв.
 - г) суміш Нікіфорова - 10-15 хв.
- 4) фарбування мазка.

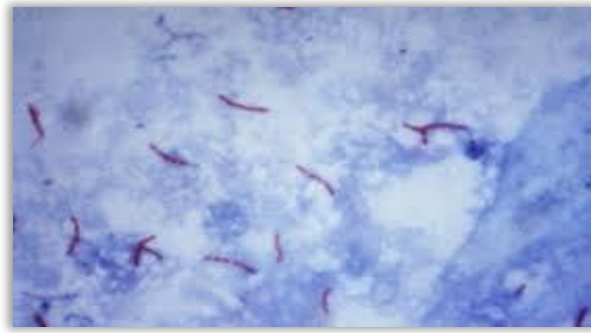
Методи фарбування поділяються **на прості (орієнтовні) та складні (диференційні)**. За допомогою простого методу можна визначити морфологію мікроорганізмів, їх кількість. За допомогою складних методів виявляють хімічні й структурні особливості бактеріальної клітини (метод Грама, метод Нейсера, метод Ціль-Нільсена та інші).



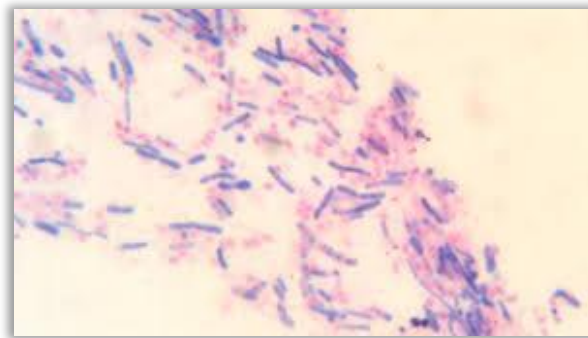
Методом Нейсера. Забарвлення метакроматичних зерен (зерен волютину). Відмінність у хімічному складі метакроматичних зерен і протоплазми зумовлює різне ставлення їх до фарб. При забарвленні складним методом метакроматичні зерна забарвлюються однією фарбою, а протоплазма – іншою.



Метод Бурі-Гінса використовується для виявлення капсул бактерій. Мікроскопічна картина: на темному фоні препарату капсула не зафарбована, тіло мікробної клітини яскраво-червоного кольору.

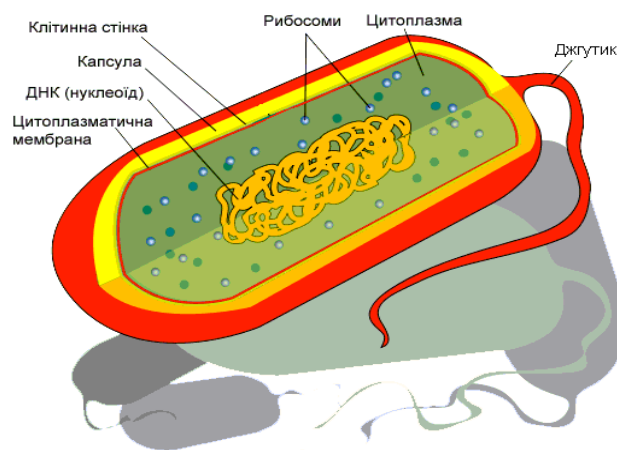


Метод Ціль-Нільсена. Застосовується для кислото-, лугостійких бактерій. Мікроскопічна картина: кислотостійкі бактерії зафарбовуються в червоний колір, а не кислотостійкі бактерії, а також елементи тканини і лейкоцити під дією кислоти стають безбарвними і набувають блакитного кольору.



Метод Ожешка – для виявлення спор. Мікроскопічна картина: спори зафарбовуються в червоний колір, а вегетативні тіла мікробних клітин - у синій.

Будова бактеріальної клітини



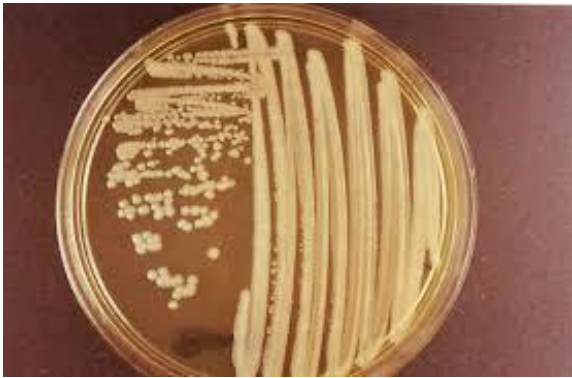
ЗАВДАННЯ ДЛЯ ПРАКТИЧНОЇ РОБОТИ

1. Виготовлення мазка з агарової культури.
2. Виготовлення мазка з бульйонної культури.
3. Забарвлення мазка простим методом. Промікрископувати.
4. Забарвлення мазка за методом Грама. Промікрископувати.
5. Ознайомитися з дотриманням вимог охорони праці в галузі, технікою безпеки, інфекційного контролю, чинних наказів МОЗ України під час роботи з біологічним матеріалом; дотриманням техніки безпеки згідно чинного наказу «Про режим роботи з патогенними мікроорганізмами».

ХІД ВИКОНАННЯ ПРАКТИЧНОГО ЗАНЯТТЯ

1. Виготовлення мазка з агарової культури:

- обезжирити предметне скло;
- нанести пастерівською піпеткою краплю фізіологічного розчину;
- прожарити в полум'ї пальника бактеріологічну петлю;
- остудити бакпетлю до внутрішньої стінки чашки Петрі;
- забрати частинку ізольованої колонії;
- внести забрану колонію в краплю ізотонічного розчину і розтерти у вигляді 10 коп. монети;
- висушити на повітрі;
- зафіксувати.



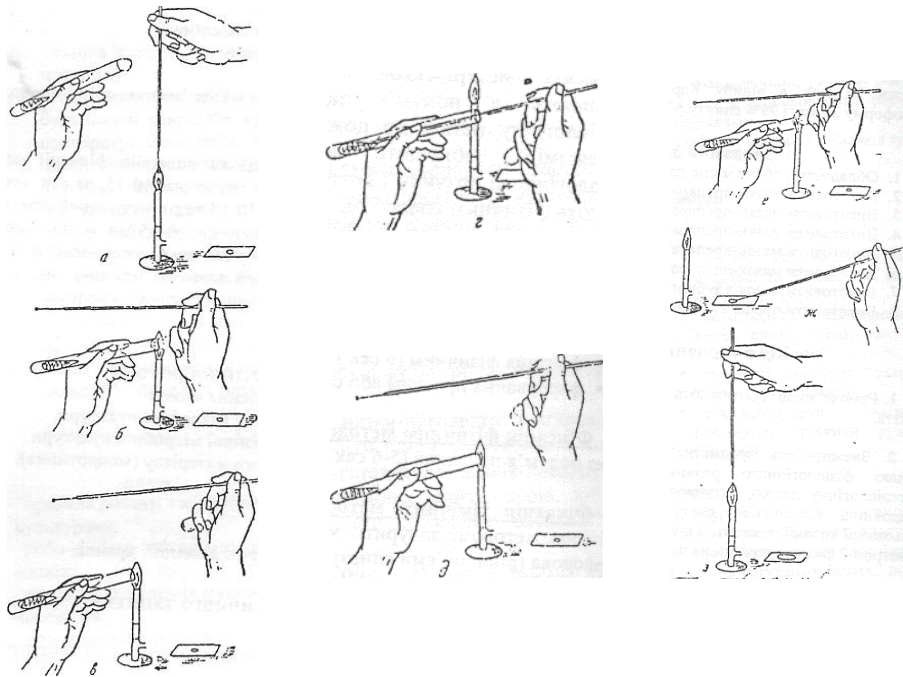
Агарова культура



Бульйонна культура

2. Виготовлення мазка з бульйонної культури:

- обезжирити предметне скло;
- нанести пастерівською піпеткою краплю бульйонної культури;
- прожарити і остудити бактеріологічну петлю;
- розтерти бакпетлею краплю бульйонної культури на предметному склі;
- висушити на повітрі;
- зафіксувати.

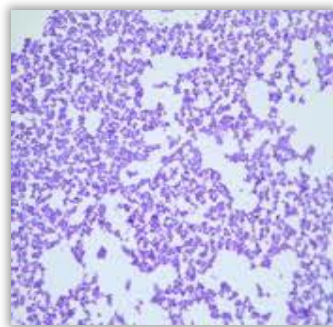


3. Забарвлення мазка простим методом. Промікроскопувати.

При простому методі фарбування використовують лише одну фарбу, яку наносять на виготовлений, зафіксований мазок:

- а) метиленова синька Лефлера на 3-5 хв.,
- б) водно-спиртовий розчин фуксину на 1-2 хв.
- Після експозиції фарбу змивають водою.
- Висушують мазок за допомогою фільтрувального паперу.
- Мікроскопують за допомогою імерсійної системи.

Мікроскопічна картина: усі бактерії зафарбовуються в один колір (залежно від фарбника) на білому фоні.



4. Забарвлення мазка за методом Грама. Промікроскопувати.

Алгоритм виконання:

- нанести на зафіксований препарат папірець за Синьовим;
- капнути на нього декілька крапель води, щоб розпустилася фарба (кристалічний фіолетовий);
- експозиція 1-2 хв;
- зняти папірець за допомогою пінцета;
- нанести розчин Люголя до почорніння (1-хв.), після чого реактив злити;
- нанести 96% спирт для знебарвлення (30-60 сек.);
- промити препарат водою;
- дофарбувати фуксином Пфейфера (3 хв.);

- промити водою; висушити;
- мікроскопувати з імерсійною системою.

Мікроскопічна картина: грам-позитивні бактерії зафарбовуються в фіолетовий колір (колір основної фарби), а грам-негативні бактерії – в рожевий колір (колір додаткової фарби).

Характеристика клітинної стінки

	Грам-позитивні	Грам-негативні
Товщина	20-60 нм	10-20 нм
Ліпіди	1-1,6 %	2-22,6%
Пептидоглікан	40-90%	5-10%
Тейхоева кислота	+	-

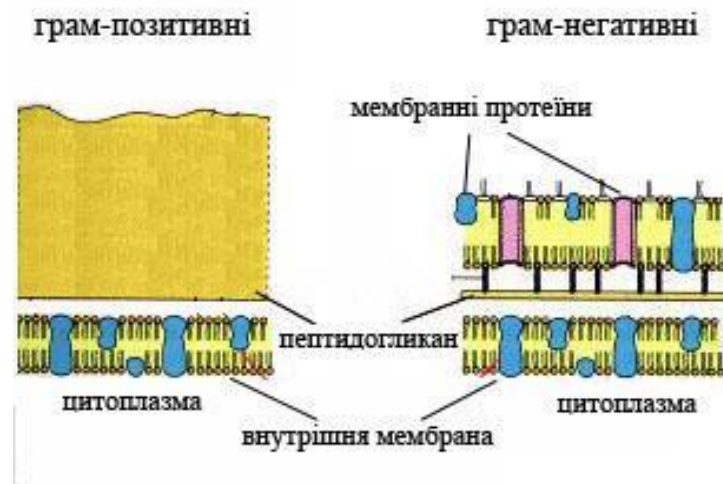
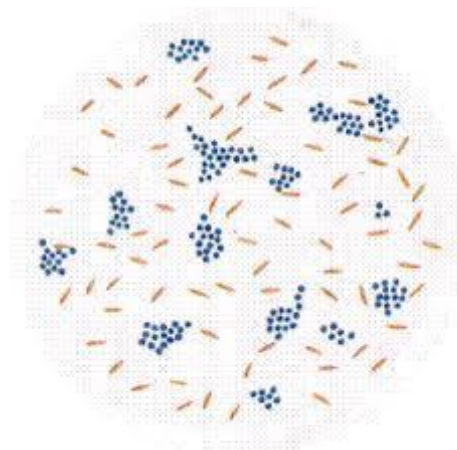
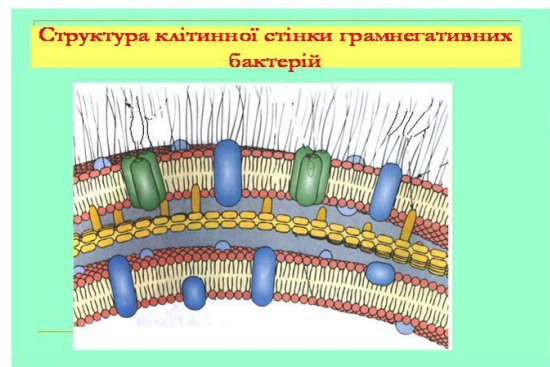
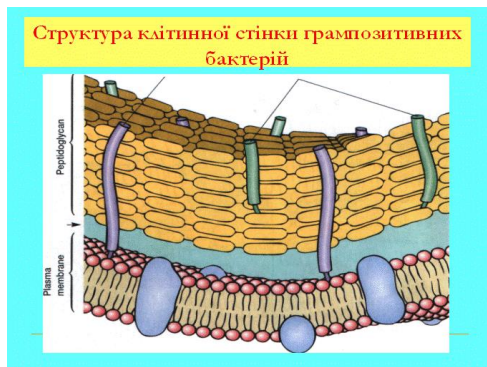


Схема будови грам-позитивних і грам-негативних бактерій



Забарвлення за методом Грама стафілококів і холерного вібріона

5. Ознайомитися з дотриманням вимог охорони праці в галузі, технікою безпеки, інфекційного контролю, чинних наказів МОЗ України під час роботи з біологічним матеріалом; дотриманням техніки безпеки згідно чинного наказу «Про режим роботи з патогенними мікроорганізмами».

ПИТАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ

1. Чому під час роботи з мікробними культурами та біоматеріалом необхідно працювати біля полум'я пальника?
2. Для чого проводять знежирення предметного скла?
3. Чому так важливо дотримуватись послідовності у виготовленні мазків-препаратів?
4. В чому полягають фізичний і хімічний методи фіксації?
5. Чому для виготовлення мазка з харкотиння необхідно використати два предметних скла?
6. Чому для мікроскопії “завислої” та “роздавленої” крапель використовують темнопольну мікроскопію?
7. Для чого використовують фарбування простим методом?
8. Чим відрізняються складні методи фарбування?
9. Чим відрізняються клітинні стінки Грам+ та Грам- бактерій?

ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ

- 1. Є різні методи дослідження біологічних рідин. Один із них мікроскопічний. Для чого його застосовують у мікробіології?*
 - A. Виділення чистих культур мікроорганізмів
 - B. Виявлення антитіл в сироватці пацієнта
 - C. Виявлення мікроорганізмів в живильному середовищі
 - D. Вивчення морфологічних і тинкторіальних властивостей мікроорганізмів
 - E. Вивчення антигенних властивостей
- 2. Лаборант при дослідженні патологічного матеріалу виготовив мазок «роздавлена» капля. З якою метою виготовляють даний мазок?*
 - A. Розпізнавання форм мікроорганізмів
 - B. Визначення кількості мікробів
 - C. Визначення відношення до фарб бактерій
 - D. Виявлення рухливості мікроорганізмів
 - E. Розташування бактерій
- 3. В бактеріологічній лабораторії при виготовленні мазків-препаратів одним із обов'язкових етапів є фіксація. Для чого її проводять?*
 - A. Вбиття та закріплення мікроорганізмів на склі
 - B. Виявлення антитіл в сироватці пацієнта
 - C. Знищення супутньої мікрофлори
 - D. Для кращого сприйняття фарби бактеріями
 - E. Виділення чистих культур мікроорганізмів
- 4. В мікробіології при використанні мікроскопічного методу дослідження вивчають тинкторіальні властивості мікроорганізмів. В чому суть вивчення цих властивостей?*
 - A. Відношення до температури повітря
 - B. Відношення до освітлення

- C. Відношення до барвників
- D. Здатність фіксуватись на предметному склі
- E. Форми, розміри, розміщення

5. Одним із складних методів фарбування мазків є метод Грама. При даному фарбуванні додатковою фарбою є:

- A. Метиленовий синій
- B. Брильянтовий зелений
- C. Туш
- D. Фуксин Пфейфера
- E. Розчин Люголю

6. У мікроскопічному методі дослідження використовують різноманітні методи фарбування мазків. З якою метою фарбують мазки простим методом?

- A. Для визначення кількості, форм і розміщення бактерій
- B. Для виявлення слизистого шару бактерій
- C. Для виявлення включень мікроорганізмів
- D. Для виявлення тейхоєвих кислот у бактерій
- E. Для виявлення спорових форм бактерій

7. Вивчаючи у світловому мікроскопі мазок, зафарбований за Грамом, виготовлений із виділень карбункула хворого з підозрою на шкірну форму сибірки, були виявлені палички фіолетового кольору, з обрубаними кінцями, розташовані ланцюжками, оточені спільною капсулою. Як називається цей вид мікробіологічної діагностики інфекційної хвороби?

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

8. В пофарбованих за Грамом мазках, виготовлених із спинномозкової рідини хворого на менінгіт, виявлено розсеві клітини бобоподібної форми, розташовані парами. Які властивості вивчають використовуючи метод Грама?

- A. Культуральні
- B. Тинкторіальні
- C. Біохімічні
- D. Серологічні
- E. Ферментативні

9. В лабораторній діагностиці багатьох інфекційних захворювань використовують метод забарвлення за Грамом. Які структури мікробної клітини відповідають за здатність сприймати барвник?

- A. Клітинна стінка
- B. Цитоплазматична мембрана
- C. Мезосоми
- D. Капсула
- E. Плазмід

10. З блювотних мас пацієнта на харчову токсикоінфекцію виділена культура стафілокока, що належать до грампозитивних бактерій. Якого кольору набувають клітини стафілокока при фарбуванні за Грамом?

- A. Жовтого
- B. Фіолетового
- C. Рожевого
- D. Блакитного
- E. Коричневого

СИТУАЦІЙНІ ЗАДАЧІ

1. При фарбуванні за Грамом студенту на третьому етапі необхідно використати речовину, яка б викликала знебарвлення грамнегативних бактерій і не змінила б колір у грампозитивних? Який це інгредієнт?
2. В лабораторії особливо небезпечних інфекцій із матеріалу, підозрілого на наявність спор сибірки, було необхідно виготовити мазки і пофарбувати їх спеціальним методом, що може виявити спори. Який метод використали? Яка мікроскопічна картина при даному методі фарбування?
4. У пацієнта на лепроматозну форму лепри для контролю рецидиву інфекції було взято мазки-відбитки зі слизової оболонки носа, зафіксовано і пофарбовано за методом Ціля-Нільсена. Яку властивість збудника використовують для його виявлення за допомогою цього метода? Опишіть мікроскопічну картину фарбування за даним методом.
5. Пацієнт з підозрою на озену провели мікроскопічне дослідження виділень з носа з метою виявлення збудника. Яким методом фарбування доцільно скористатись, якщо збуднику притаманне капсулоутворення? Яка мікроскопічна картина при даному методі фарбування?
6. В інфекційну клініку госпіталізовано дівчинку з високою температурою, зі скаргами на біль у горлі та загальну слабкість. Лікар запідозрив дифтерію і дав вказівку взяти матеріал із зіву для мікроскопічного дослідження. За яким методом доцільно пофарбувати мазок, якщо збудник дифтерії містить зерна волютину? Опишіть мікроскопічну картину.

ПРАКТИЧНЕ ЗАНЯТТЯ №2

Тема: «БАКТЕРІОЛОГІЧНИЙ МЕТОД ДОСЛІДЖЕННЯ»

Актуальність теми: бактеріологічні дослідження – це сукупність методик, спрямована на встановлення причини інфекційного захворювання, шляхом виділення мікроорганізмів з біологічного матеріалу людини (кров, сеча, мокрота, спинномозкова рідина та ін.) Бактеріологічний метод є одним із найважливіших інструментів у виявленні патогенних мікроорганізмів, визначенні їх чутливості до антибіотиків та моніторингу ефективності лікування. Знання основ бактеріологічного методу дозволяє ефективно співпрацювати з лабораторіями, дотримуватися санітарно-епідеміологічних норм і забезпечувати безпечне середовище для пацієнтів і персоналу.

Мета: оволодіти етапами виготовлення, вимогами до поживних середовищ та методикою виготовлення основних, спеціальних, диференціально-діагностичних середовищ, проводити посів біологічного матеріалу на поживні середовища.

Матеріальне забезпечення: пептон, агар-агар, натрій хлорид, лабораторний посуд (флакони, пробірки, чашки Петрі), ваги з різноважками, поживний агар (МПА), МПБ (у флаконах), сухий поживний агар; глюкоза, лактоза, сахароза, маніт, мальтоза (сухий порошок), кров; сироватка, поживні середовища (Ендо, Левіна, Плоскирева, ВСА, Гіса), фільтри, лійки, дистильована вода; таблиця “Поживні середовища”.

Конкретні цілі:

знати:	вміти:
<ul style="list-style-type: none">фізіологію мікроорганізмів (живлення, дихання, ріст, розмноження, ферментативну діяльність);	<ul style="list-style-type: none">проводити посів біологічного матеріалу на живильні середовища;
<ul style="list-style-type: none">особливості взяття, транспортування біологічного матеріалу для бактеріологічного дослідження;	<ul style="list-style-type: none">дотримуватись вимог охорони праці в галузі, техніки безпеки, особистої гігієни, інфекційного контролю, чинних наказів МОЗ України під час роботи з біологічним матеріалом, деззасобами. Дотримання техніки безпеки згідно чинного наказу «Про режим роботи з патогенними мікроорганізмами».
<ul style="list-style-type: none">вимоги до живильних середовищ; їх класифікацію, характеристику; застосування в практиці;	
<ul style="list-style-type: none">культуральні властивості мікроорганізмів;	
<ul style="list-style-type: none">біохімічні властивості мікроорганізмів;	
<ul style="list-style-type: none">суть бактеріологічного методу дослідження, його етапи.	

ЗМІСТ ЗАНЯТТЯ

Бактеріологічний метод дослідження, або метод виділення чистих культур, називають «золотим стандартом» мікробіологічної діагностики. Виявлення патогенного збудника в матеріалі від пацієнта достовірно підтверджує діагноз, а виділення санітарно - показових мікроорганізмів дає змогу встановити факт мікробного забруднення об'єкта.

Дослідження виконується у кілька етапів:

I етап – взяття матеріалу.

Завдання – зберегти збудника в матеріалі, не забруднити матеріал сторонньою мікробіотою, вберегти себе й оточуючих від зараження.

II етап – посів матеріалу на щільне поживне середовище.

Завдання – одержати ізольовані колонії. Якщо в матеріалі передбачається невелика кількість мікроорганізмів, то в перший день проводять додатковий етап – посів на середовище збагачення, як правило, у рідкі середовища.

III етап – облік посівів, макро- і мікроскопічне дослідження колоній.

Завдання – встановити властивості колонії і перевірити її чистоту.

IV етап – пересів ізольованої колонії на похилий агар.

Завдання – отримати чисту культуру.

V етап – макро- і мікроскопічне дослідження чистої культури.

Завдання – перевірити чистоту культури, вивчити морфологію клітин.

VI етап - дослідження властивостей культури.

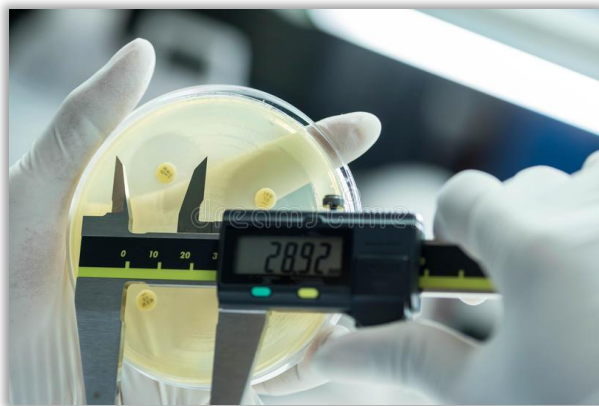
Завдання – ідентифікувати культуру.

VII етап - облік посівів на диференціально-діагностичних середовищах і встановлення біохімічних властивостей культури, облік інших досліджень.

Завдання – кінцево ідентифікувати культуру на основі комплексу властивостей.

Основні критерії ідентифікації чистих культур:

- Морфологічні й тинкторіальні властивості клітин. Виявляють при мікроскопічному дослідженні препаратів, пофарбованих за Грамом та іншими методами.
- Культуральні властивості.
- Біохімічні властивості. Виявляють при посіві на диференціально-діагностичних середовищах.
- Антигенні властивості. Виявляють за допомогою діагностичних сироваток з відомими антитілами.
- Додаткові критерії для окремих видів - токсигенність, патогенність для тварин; чутливість до антибіотиків, бактеріоцинів і бактеріофагів.



Вимірювання затримки росту бактерій навколо антибіотичного диску

В лабораторних умовах бактерії вирощують на живильних середовищах.

Живильні середовища повинні легко засвоюватись, містити певний склад азотистих речовин, вуглеводів, вітамінів, відповідною концентрацією солей, ізотонічними, буферними, стерильними, мати оптимальну в'язкість і певний окисно-відновний потенціал, відповідне рН, прозорими.

Живильні середовища класифікують:

а) за призначенням:

Універсальні - для культивування більшості патогенних і непатогенних бактерій (МПА, МПБ).

Спеціальні - для культивування бактерій, які не ростуть на універсальних середовищах (кров'яний агар, сироватковий агар, сироватковий бульйон).

Вибіркові (елективні) - середовища на яких добре розвиваються певні види бактерій і погано

або зовсім не ростуть інші види (лужна пептонна вода, лужний пептонний агар, жовчний бульйон).

Диференціально-діагностичні - для диференціації одних видів бактерій від інших за ферментативними властивостями (Ендо, Левіна, Гісса, Олькеницького).

Хромогенні середовища призначені для швидкого (протягом 24 год) виявлення в біологічному матеріалі цілого ряду мікроорганізмів, що мають велике значення для клінічної та санітарної мікробіології. Принцип дії яких заснований на виявленні високоспецифічних ферментів у мікроорганізмів.

Консервуючі середовища - призначені для первинного посіву та транспортування досліджуваного матеріалу (гліцерінова суміш, гіпертонічний розчин хлористого натрію).

б) за складом:

прості (МПБ, МПА)

складні (цукровий бульйон, сироватковий агар, кров'яний агар);

в) за консистенцією:

рідкі (МПБ, пептонна вода, цукровий б-н),

напіврідкі (напіврідкий МПА) та

щільні (МПА, кров'яний агар, ЖСА) живильні середовища.

Агар-агар - твердий волокнистий матеріал, який добувають з деяких видів водоростей, у водних розчинах він утворює густий гель (студенець). Агар-агар складається з 70 -75% полісахаридів, 2-3% білків та інших азотовмісних речовин, 2-4% золи. Він надає щільності живильному середовищу.



Желатин – білок тваринного походження, який використовують для ущільнення поживних середовищ.

г) за походженням (натуральні і синтетичні).

Для культивування мікроорганізмів необхідні такі умови: відповідна температура (37⁰С), волога, достатня аерація, час (18-24 год). Культивують мікроорганізми в термостатах.

Культуральні властивості – це характер росту мікроорганізмів на живильних середовищах.

Посуд для виготовлення середовищ не повинен містити сторонніх речовин, наприклад, лугів, кислот, окисів заліза. Краще варити в скляному або емальованому посуді. Великі кількості варять в спеціальних котлах.

Перед варінням посуд ретельно миють, полощуть та висушують.

Увага! Посуд в якому виготовляють середовища не можна використовувати з іншою метою, наприклад для зберігання хімічних реактивів, або дезінфікуючих розчинів – навіть сліди цих речовин діють згубно на мікроби.

Етапи виготовлення середовищ:

1-варіння

2-встановлення рН

3-освітлення

4-фільтрація

5-розлив

6-стерилізація

7-контроль

В мікробіологічних лабораторіях використовують середовища виготовленні промисловістю. Вони можуть бути у вигляді порошку або рідини. Виготовляють їх згідно інструкції яка додається до поживного середовища.

Також на сьогоднішньому етапі у практичній діяльності мікробіологічних лабораторій використовуються готові розлиті в чашки Петрі поживні середовища.

ЗАВДАННЯ ДЛЯ ПРАКТИЧНОЇ РОБОТИ

1. Ознайомитись з особливостями взяття біологічного матеріалу для бактеріологічного дослідження.
2. Вивчити характеристику живильних середовищ, їх застосування в практиці:
 - а) рідких - МПБ, цукровий бульйон
 - б) щільних - МПА, Ендо, кров'яний агар
 - в) напіврідкими
3. Вивчити культуральні властивості мікроорганізмів (характер росту на живильних середовищах). Охарактеризувати ріст мікроорганізмів на рідких і щільних живильних середовищах, замалювати.
4. Ознайомитись з ферментативними властивостями мікроорганізмів (за допомогою демонстраційних посівів та таблиць).
5. Провести посіви на поживні середовища
 - а) петлею
 - б) шпателем
 - в) тампоном
6. Розібрати за допомогою таблиць етапи бактеріологічного методу дослідження.
7. Ознайомитись з дотриманням вимог охорони праці в галузі, технікою безпеки, інфекційного контролю, чинних наказів МОЗ України під час роботи з біологічним матеріалом, при роботі з електроапаратурою.

ХІД ВИКОНАННЯ ПРАКТИЧНОГО ЗАНЯТТЯ

1. Ознайомитись з особливостями взяття біологічного матеріалу для бактеріологічного дослідження.

Першим етапом мікробіологічної діагностики є взяття матеріалу для дослідження, вибір якого визначається патогенезом і клінікою інфекційного захворювання. Відбирати біологічний матеріал потрібно до початку антибіотикотерапії. Якщо пацієнт приймає антибіотик, то забір матеріалу проводять перед введенням чергової дози антибіотика. Слід уникати контамінації! З поверхні шкіри пацієнта, рук персоналу, одягу, повітря... Контаминати – це сапрофітна мікробіота – мікроорганізми, які швидко будуть рости і можуть зіпсувати зразок. Бактеріолог за великою кількістю мікробів не зможе виділити збудника.

Посуд для забору матеріалу медична сестра/брат отримують від лабораторії. Для бактеріологічного дослідження контейнери мають бути стерильні. Слід звертати увагу чи зазначено виробником, що стерильно!

Термін доставлення біологічного матеріалу – не більше 2 годин. В організмі людини бактеріям завжди комфортніше. Фаза адаптації бактерій триває до 2 годин. В цей період вони не можуть активно розмножуватись, але й активно не гинуть і що найголовніше не буде змінюватись співвідношення мікроорганізмів (наприклад, важливо коли забираємо біологічний матеріал з мигдаликів).

2 год – золотий час коли зразок буде максимально відображати, що коїться з пацієнтом. Затримка в часі дасть хибний результат. Іноді допускається нетривале зберігання матеріалу в регламентованих умовах. Досліджуваний матеріал супроводжується скеруванням, в якому

обов'язково вказують час взяття, характер матеріалу, його джерело і точно формулюється мета дослідження.

Матеріалом для дослідження у медичній мікробіології служать різні біологічні рідини та інші матеріали, взяті з організму (кров, гній, сеча, мокротиння, ліквор, випорожнення, блювотні маси, промивні води та ін.), і тканини – біопсія від живого або аутопсія від трупа. У деяких випадках на дослідження беруть об'єкти навколишнього середовища: повітря, воду, харчові продукти, змиви та ін.

При взятті матеріалу для мікробіологічного дослідження необхідно дотримуватись наступних правил:

- вид матеріалу визначається клінічною картиною захворювання, тобто він повинен відповідати локалізації передбачуваного збудника на даному етапі патогенезу хвороби;
- кількість матеріалу повинна бути достатньою для проведення дослідження і його повторення у разі потреби;
- матеріал беруть по можливості у початковому періоді хвороби, оскільки саме в цей період збудники виділяються частіше, їх більше, вони мають типову локалізацію;
- взяття матеріалу повинно здійснюватися до початку антимікробної хіміотерапії або через певний проміжок часу після вживання антибактеріального препарату, необхідний для виведення останнього з організму: матеріал беруть безпосередньо з вогнища інфекції або досліджують відповідні рідини, що виділяються (гній, сеча, жовч);
- матеріал беруть у момент найбільшого вмісту в ньому збудника;
- необхідно виключити можливість контамінації матеріалу нормофлорою хворого і мікробами навколишнього середовища, для чого матеріал беруть в асептичних умовах при адекватному доступі до осередку інфекції;
- слід попередити можливість потрапляння у матеріал антимікробних препаратів, дезінфектантів, антисептиків, антибіотиків.

Будь-який матеріал, що надходить на дослідження до лабораторії, розглядається як потенційно небезпечний. Доставка проб до лабораторії здійснюється кваліфікованим персоналом із дотриманням вимог нормативної документації у спеціальних контейнерах (металевому або пластиковому футлярі, боксі тощо), стійких до автоклавування та дії дезінфектантів, на дно яких укладається серветка з матеріалу, що адсорбує.

Важливим етапом дослідження є здійснення пакування біологічного матеріалу для транспортування в лабораторію. Здійснюють тришарове пакування: 1 шар – пробірка (помістили матеріал в пробірку, закрили, антисептиком обробили), 2 шар - пакуємо в спеціальний контейнер, пакет, який буде захищати від биття, **РІДИНИ ТРАНСПОРТУЄМО У ВЕРТИКАЛЬНОМУ ПОЛОЖЕННІ**, 3 шар – пакет чи контейнер поміщаємо в контейнер для транспортування.

При транспортуванні на далекі відстані, а також для вірусологічних і серологічних досліджень контейнери з біологічним матеріалом доставляються в сумках холодильниках (термоконтейнерах). Рідкі матеріали (зразки сироваток) повинні бути у флаконах, пробірках, герметично закритих гумовими корками, або у пробірках типу “Епендорф”.



Фекалії для досліджень, у тому числі при масових обстеженнях, доставляють у скляному або пластиковому посуді з кришками, що загвинчуються або щільно закриваються, упаковані в контейнери.

Ємності з матеріалом повинні бути промарковані відповідно до скерування. Скерування на дослідження упаковують окремо. Забороняється обгортати їх навколо ємності з досліджуванним матеріалом, вкладати у контейнер чи бокс. Направлення зберігаються в **лабораторії протягом терміну, визначеного нормативною документацією.**



Транспортне поживне середовище з тампонами

Кров

- Відбір зразків крові здійснюють як мінімум з двох ділянок
- Підготовка флаконів з поживними середовищами
- Місце – джгут – рукавички – дезінфекція від центру до периферії в 2 етапи
- **Не проводіть пальпацію вени в місці венепункції після проведеної обробки!**
- Відібрати необхідну кількість крові (1:10, 1:5)
- Замінити голку, випустити повітря та негайно внести кров у флакони (в першу чергу для анаеробів!)
- Ретельно сколихнути флакони для запобігання утворенню згустків
- У разі відсутності можливості негайно відправити відібрані зразки до лабораторії **НЕ зберігати в холодильнику!**

Мінімальна кількість крові на 1 зразок:

дорослі 10 мл

діти 2-5 мл

новонароджені 1-2 мл

Основні правила при заборі крові на мікробіологічне дослідження

2. Вивчити характеристику живильних середовищ, їх застосування в практиці:

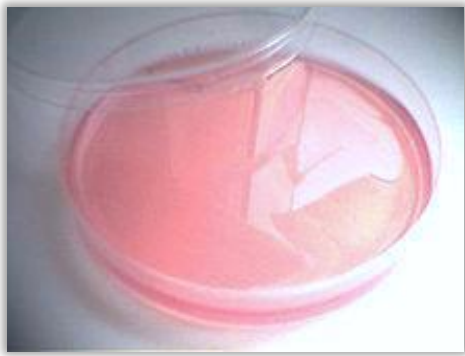
- а) рідких - МПБ, цукровий бульйон
- б) щільних - МПА, Ендо, кров'яний агар
- в) напіврідкими



Средовище МПБ



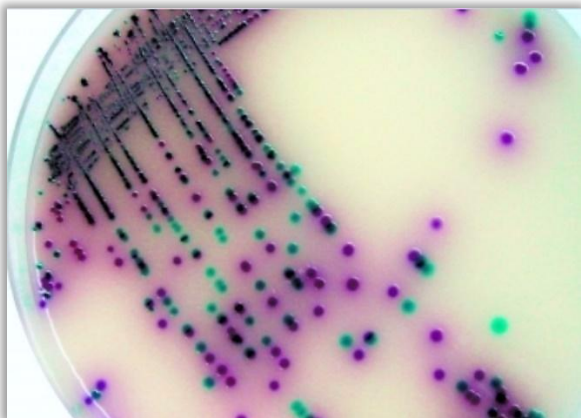
Кров'яний агар



Середовище Ендо



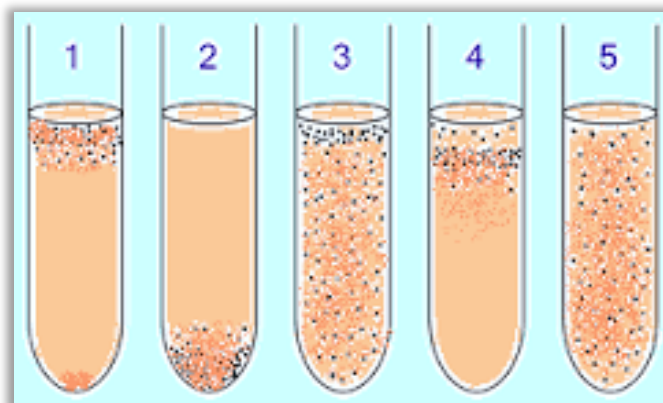
Середовище Олькеницького



*Хромогенне поживне середовище з
ростом мікроорганізмів*

3. Вивчити культуральні властивості мікроорганізмів (характер росту на живильних середовищах). Охарактеризувати ріст мікроорганізмів на рідких і щільних живильних середовищах, замалювати.

На рідких поживних середовищах мікроорганізми ростуть поверхнево, придонно, у вигляді помутніння, пристінково, або їх комбінаціями.



1, 4 поверхневий ріст - характеризується ніжною плівкою:

- плівка тонка, безколірна, яка зникає при збовтуванні пробірки, характерна для аерофілів;
- плівка волога, товста, добре видно неозброєним оком, в'язкої, слизової консистенції, прилипає до петлі й тягнеться за нею;
- плівка щільна, суха, зовнішнім виглядом нагадує кусочки шкіри, знімається повністю у вигляді круглого диска, який відповідає діаметру пробірки;

- плівка щільна, суха, із зморщеною, а іноді бородавчатою поверхнею, краї прикріплені до стінок посудини (пробірки), при збовтуванні рідини або доторкуванні бакпетлі розбивається на кусочки, які проникають в глибину рідини;

2 - *придонний ріст*: утворення осаду на дні пробірки (малий осад, великий осад, кришкоподібний, гомогенний, волокнистий, за консистенцією в'язкий, слизовий, крихкий або пастоподібний), середовище над осадом прозоре або мутне, колір залежить від пігменту (сіро-білий або жовтий, якщо не утворює пігменту);

3, 5 *рівномірне помутніння* – характерне для факультативних анаеробів.

Також існує пристінковий ріст: по стінках пробірки, середовище прозоре, лопаті знімаються легко або важко.

Ріст в напіврідкому агарі:

- рухливі – ростуть по всій товщині поживного середовища – дифузно.

- нерухомі – за ходом уколу.

Ріст бактерій на щільному живильному середовищі залежить від методу посіву. Мікроорганізми можуть утворювати суцільний ріст (протей) або ізольовані колонії.

Колонія – це видиме скупчення мікроорганізмів одного виду, що формується в результаті розмноження однієї мікробної клітини.

Колонію характеризують за такими ознаками:

- за величиною – точкові (менше 1 мм), дрібні (1-2 мм), середні (2-4 мм), великі (4-6 мм і більше);

- за формою – круглі, овальні, ризоїдні;

- за характером контуру краю – фестончастий, хвилястий, зубчастий, рівний;

- за рельєфом – плоскі, злегка випуклі, колонія з вдавленим центром, колонія з піднятим центром; кратероподібний рельєф колонії;

- за поверхнею – гладка, шорхувата (S- і R-форми колоній);

- за кольором – різний: білі, жовті, червоні, чорні);

- за структурою (за допомогою біноклярного мікроскопа):

a) гіалінові – безколірні, прозорі, без видимої визначеної структури;

b) зернисті – дрібно і грубозернисті, залежно від величини зерен;

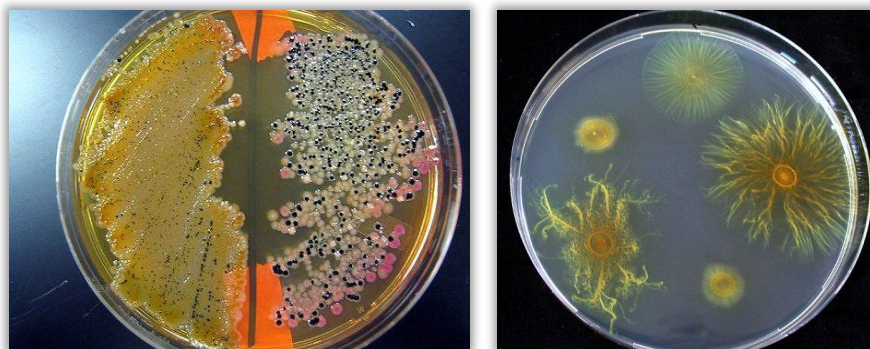
c) ниткоподібні або волокнисті, довгі густо переплетені нитки в товщині колонії;

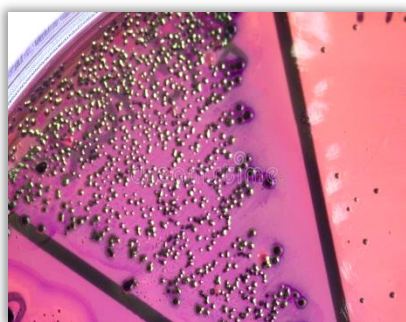
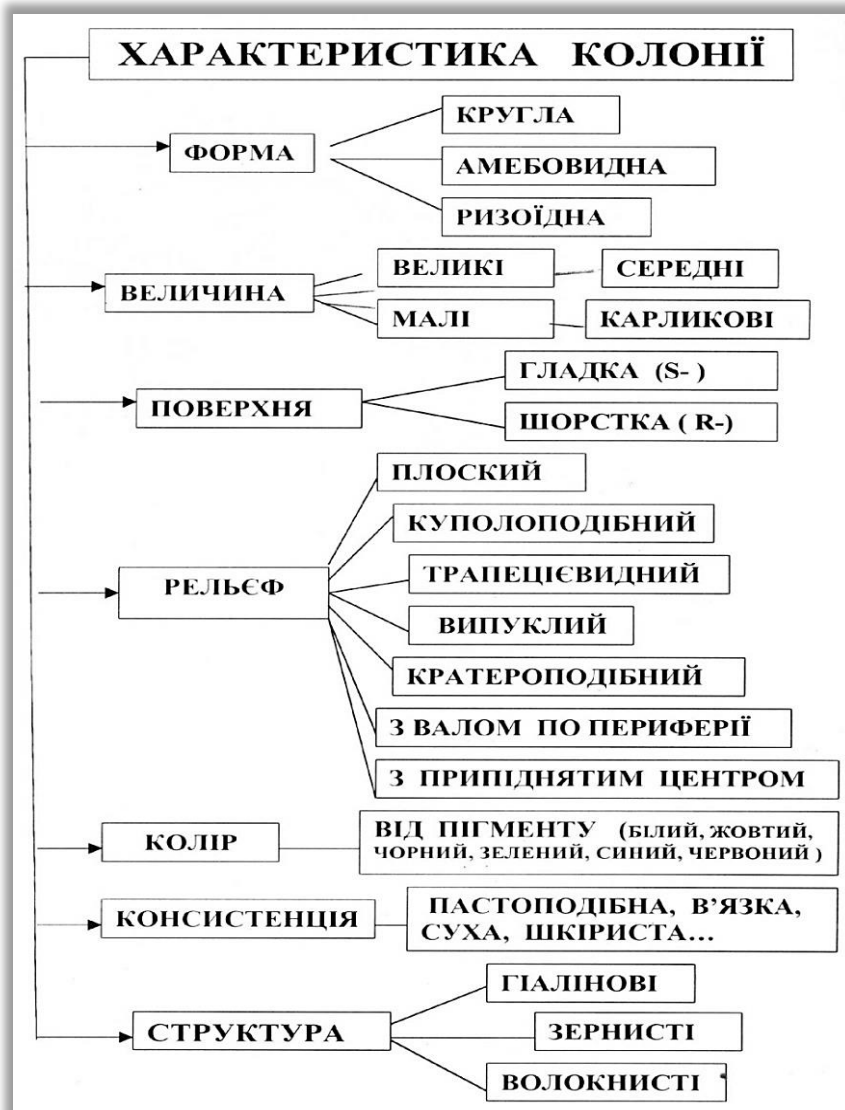
- за консистенцією (визначається дотиком до колонії бак петлею):

a) пастоподібні, які знімаються з поверхні поживного середовища;

b) в'язкі, шкірясті, які знімаються з поживного середовища у вигляді плівки, яка відповідає величині й формі колонії;

c) крихкі, сухі, які розсипаються при доторкуванні петлею.





Край і структуру визначають за допомогою бінокулярного мікроскопа:

- включити пальник;
- поставити чашку на столик бінокулярного мікроскопа;
- відкрити кришку;
- дати характеристику колоній.

4. Ознайомитись з ферментативними властивостями мікроорганізмів (за допомогою демонстраційних посівів та таблиць).

Біохімічні властивості (ферментативні) - залежать від наявності ферментів обміну в бактеріальній клітині. За допомогою ферментативної активності мікроорганізмів встановлюють видову, типову приналежність виділеної культури мікроорганізмів.

Розщеплення вуглеводів (цукролітичні властивості). Кінцевим продуктом розщеплення

вуглеводів є кислота (1) або кислота і газ (2), вивчають на таких живильних середовищах: ряд Гіса, Ендо, Олькеніцького та ін.

Зміна кольору живильного середовища свідчить про утворення кислоти, а наявність пухирців в середовищах з агаром або накопичення його в «поплавках» на рідких живильних середовищах свідчить про утворення газу.

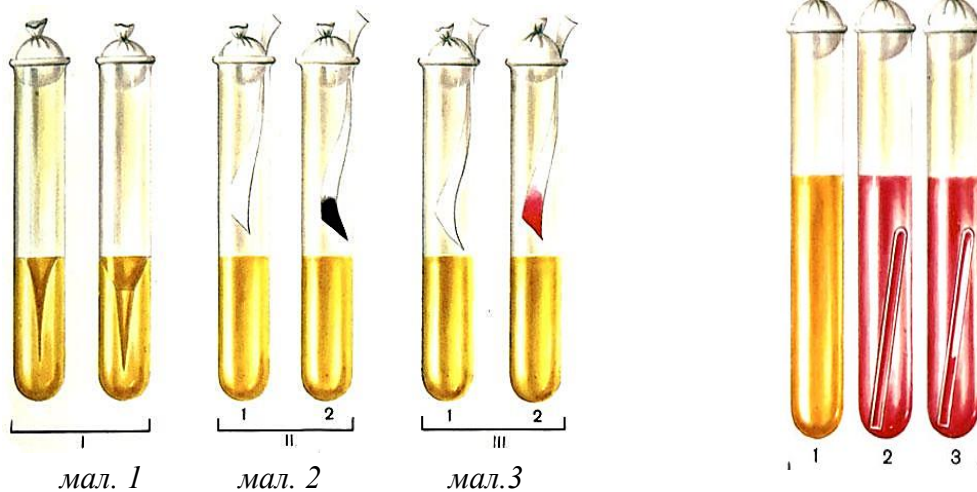
Протеолітичні властивості - здатність розщеплювати білки, поліпептиди вивчають на середовищах з желатином, молоком, сироваткою, пептоном.

Кінцевими продуктами розщеплення білків можуть бути: **індол, сірководень, аміак**.

Для виявлення індолу в пробірку з МПБ з засіяною мікробною культурою під корок поміщають індикаторний папірець просочений шавлевою кислотою, його почервоніння свідчить про розщеплення білків до індолу (мал. 3).

Для виявлення сірководню під корок поміщають індикаторний папірець просочений 20% розчином ацетату свинцю і гідрокарбонатом натрію, почорніння папірця свідчить про утворення сірководню (проходить утворення сульфату свинцю) (мал. 2).

Аміак викликає посиніння лакмусового папірця.



При рості мікробів на желатиновому середовищі, вони ферментують желатин і середовище розріджується, за характером розрідження визначають вид мікробів (мал. 1).

Гемолітичні властивості - здатність руйнувати еритроцити (вивчають на середовищах з кров'ю). Рідкі середовища стають прозорими, а на щільних навколо колонії з'являється прозора зона.

При утворенні метгемоглобіну спостерігається зелена зона.





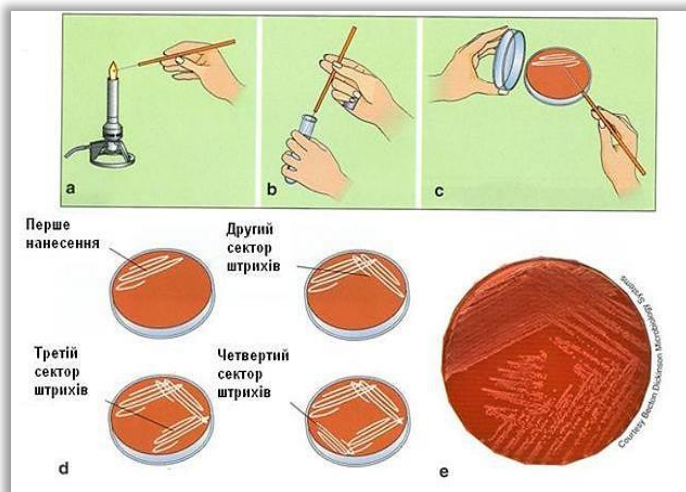
5. Провести посіви на поживні середовища

- а) петлею
- б) шпателем
- в) тампоном

“Техніка посіву з пробірки на чашку Петрі”

Під час посіву ДОТРИМУВАТИСЬ ЗАХОДІВ БЕЗПЕКИ!

- взяти пробірку в ліву руку і надати їй похиленого положення корком в сторону правої руки;
- прожарити бактеріологічну петлю;
- зняти корок мізинцем правої руки;
- обпалити краї пробірок над полум'ям пальника;
- ввести петлю в пробірку з матеріалом і остудити її, доторкнувшись до її внутрішньої стінки;
- забрати матеріал бактеріологічною петлею;
- обпалити краї пробірки і закрити її корком і поставити в штатив;
- зняти кришку чашки Петрі лівою рукою;
- провести посів біологічного матеріалу штрихами по поверхні щільного живильного середовища;
- закрити чашку Петрі;
- прожарити петлю (простерилізувати);
- поставити бакпетлю в штатив.



“Посів з пробірки в пробірку”

- взяти в ліву руку між великим і вказівним пальцями пробірки так, щоб краї обох пробірок (з живильним середовищем і матеріалом) були на одному рівні, а їх основи поверх кисті;
- в праву руку взяти бакпетлю;
- прожарити бакпетлю в полум'ї пальника;
- виймати корки мізинцем і краєм долоні правої руки (плавно);

- обпалити краї обох пробірок;
- ввести прожарену петлю в пробірку з матеріалом, охолодити до стінки пробірки;
- набрати невелику кількість матеріалу;
- обережно перенести матеріал в пробірку з живильним середовищем;
- прожарити бактеріологічну петлю (для стерилізації);
- обпалити краї пробірок, закрити корками;
- прожарити в полум'ї пальника бактеріологічну петлю.

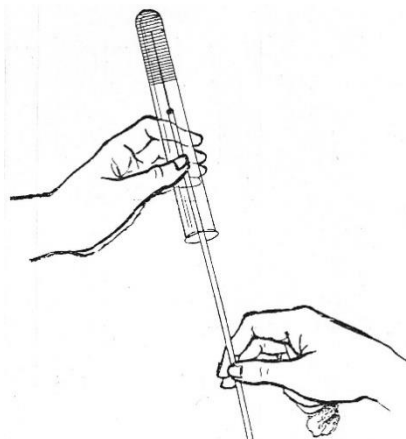
“Посів шпателем”

- Внести матеріал на поверхню живильного середовища в чашці Петрі за допомогою пастерівської піпетки або бактеріологічної петлі;
- прожарити бактеріологічний шпатель в полум'ї пальника;
- остудити шпатель до внутрішньої поверхні кришки чашки Петрі;
- розтерти матеріал шпателем (круговими рухами) до того часу, поки шпатель не перестане вільно ковзати по поверхні живильного середовища;
- закрити чашку Петрі з посівом;
- прожарити бактеріологічну петлю.



“Посів уколом”

- забрати посівний матеріал бакголкою або бакпелею (колонія, чиста культура);
- проколоти стовпчик напіврідкого живильного середовища до дна пробірки;
- прожарити бактеріологічну петлю (або бакголку) в полум'ї пальника;
- закрити корком пробірку

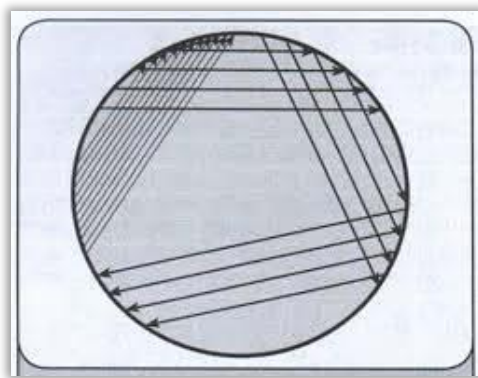


“Посів на скошений агар”

- забрати за допомогою бакпетлі частинку колонії;
- розтерти матеріал по скошеній поверхні середовища зигзагоподібними рухами знизу до верху починаючи від границі конденсату;
- закрити корком пробірку;

“Посів тампоном“

- забрати слиз із зіву стерильним ватним тампоном;
- внести тампон на стерильне живильне середовище в чашці Петрі;
- втерти матеріал на обмеженій ділянці (2 x 1 см) обертаючи тампон всіх сторін;
- розсіяти матеріал тим же тампоном по всій поверхні живильного середовища (круговими рухами або штриховими рухами);
- тампон занурюють в дезрозчин; проводять написи на чашці зі сторони дна;
- поміщають чашку в термостат вверх дном.



6. Розібрати за допомогою таблиць етапи бактеріологічного методу дослідження.

7. Ознайомитись з дотриманням вимог охорони праці в галузі, технікою безпеки, інфекційного контролю, чинних наказів МОЗ України під час роботи з біологічним матеріалом, при роботі з електроапаратурою.

Поводження з медичними відходами

(згідно наказу МОЗ України № 325 від 07.08.2015р.)

Медичні відходи - відходи, що утворюються внаслідок медичного обслуговування у закладах, які в установленому порядку отримали ліцензію на провадження господарської діяльності з медичної практики (крім підприємств з виробництва фармацевтичної продукції та медичних відходів, що утворюються у побуті). Небезпека відходів - фізичні, хімічні, біологічні та інші властивості відходів, що створюють або можуть створити небезпеку для навколишнього природного середовища і здоров'я людини.

Приміщення для поводження з відходами - відповідне місце у закладі, де здійснюються приймання, знезараження або дезактивація відходів, тимчасове зберігання (накопичення) відходів, мийка та дезінфекція стійок-візків, контейнерів та іншого обладнання, що застосовується для переміщення відходів.

Категорії відходів

Медичні відходи поділяються на такі категорії:

- категорія А - епідемічно безпечні медичні відходи;
- категорія В - епідемічно небезпечні медичні відходи;
- категорія С - токсикологічно небезпечні медичні відходи;

категорія D - радіологічно небезпечні медичні відходи.

Загальні вимоги до організації системи поводження з відходами

Система поводження з відходами складається з таких етапів:

- збирання та сортування відходів;
- маркування відходів;
- знезараження (дезінфекція) відходів;
- транспортування і перенесення відходів у корпусні/міжкорпусні (накопичувальні) контейнери в межах закладу, де вони утворюються;
- утилізація відходів (тих, що можуть підлягати утилізації);
- захоронення відходів (лише для відходів категорії А).

Поводження з відходами у закладах повинно відбуватися відповідно до типової схеми поводження з відходами.

Медичні відходи, що становлять небезпеку для здоров'я людини, не можуть накопичуватися, тимчасово зберігатися, транспортуватися, знищуватися разом з іншими відходами.

Збирання відходів проводиться якомога ближче до місць їх утворення в окремі ємності, що візуально чітко розрізняються за кольором та/або маркуванням.

У місцях первинного утворення відходів повинні бути запасні ємності (пакети або контейнери) для збирання відходів.

Наповнені пакети або контейнери після первинного збирання герметизуються, позначаються біркою для маркування, переміщуються в накопичувальні контейнери, що закриваються кришкою.

Пакет з відходами категорій В і С, що пройшов дезінфекцію, має містити маркування щодо категорії відходів, дати проведення дезінфекції, виду дезінфекції, відповідальної особи, що здійснювала дезінфекцію для медичних відходів.

Змішування відходів різних категорій не допускається.

СИСТЕМА маркування медичних відходів

Вид відходів	Маркування ємності	Вид ємності
Медичні відходи категорії В	Напис для маркування: «Особливо небезпечно»	Міцний, герметичний пластиковий одноразовий пакет або контейнер, придатний для обробки автоклавом
Медичні відходи категорії В (органічні відходи хворих: тканини, органи тощо)	Напис для маркування: «Особливо небезпечно»	Пластиковий одноразовий герметичний пакет або контейнер
Медичні відходи категорії В (гострі предмети)	Напис для маркування: «Небезпечно, гострі предмети»	Одноразові, стійкі до проколу контейнери (за винятком скляних)
Медичні відходи категорії С (хімічні й фармацевтичні відходи)	Напис для маркування: «Небезпечно»	Герметичний пластиковий одноразовий пакет або контейнер
Медичні відходи категорії С (цитотоксичні відходи)	Напис для маркування: «Особливо небезпечно»	Одноразові тверді герметичні контейнери
Медичні відходи категорії D (радіоактивні відходи)	Маркування та пакування згідно з вимогами чинного законодавства України щодо поводження з радіоактивними речовинами	

ПИТАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ

1. Для чого використовують агар-агар?
2. Чому живильні середовища повинні бути поживними?

3. Охарактеризувати бактеріологічний метод дослідження, його значення в лабораторній практиці.
4. Чому бактеріологічна петля перед проведенням посіву стерилізується?
5. Для чого при проведенні посівів застосовують шпатель?
6. Чому на рідких середовищах бактерії можуть рости кількома способами?
7. Для якої групи мікробів характерний ріст придонно?
8. Чому колонії набувають різних забарвлень?

ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ

1. *Мясо-пептонний агар одне з універсальних середовищ. Яке середовище можна отримати додавши до МПА кров?*

- A. Спеціальне
- B. Диференціально-діагностичне
- C. Консервуюче
- D. Вибіркове
- E. Елективне

2. *При виготовленні щільних живильних середовищ необхідним компонентом є агар-агар. Для чого його додають у середовища?*

- A. Для розрідження
- B. Для ущільнення
- C. Для стерильності
- D. Для забарвлення
- E. Для поживності

3. *Усі живильні середовища повинні мати відповідне рН. Яке значення рН є оптимальним для більшості мікроорганізмів?*

- A. рН 5,4-5,6
- B. рН 6,4-6,6
- C. рН 6,8-7,0
- D. рН 7,0-7,2
- E. рН 7,4-7,6

4. *На рідких живильних середовищах бактерії ростуть кількома способами. Який ріст характерний для факультативних аеробів?*

- A. Придонний
- B. Поверхневий
- C. Пристінковий
- D. У вигляді дифузного помутніння
- E. Комбіновано

5. *Лаборантом з біологічного матеріалу була виділена чиста культура мікроорганізмів. Як перевірити чистоту культури?*

- A. Провести пересів на скошений агар
- B. Промікроскопувати виділену культуру
- C. Виявити протеолітичні властивості
- D. Виявити гемолітичні властивості
- E. Провести пересів на МПБ

6. Внаслідок несвоєчасного лікування пульпіту в пацієнта розвинувся остеомиєліт нижньої щелепи. Яке дослідження дозволяє виявити збудника та підібрати ефективний препарат для лікування хворого?

- A. Виявлення антигенів збудника
- B. Виявлення специфічних антитіл
- C. Мікроскопічне дослідження пунктату
- D. Виділення чистої культури
- E. Комплексні серологічні дослідження

7. Для дослідження виділеної чистої культури стрептококів лаборант використав кров'яний агар. Це середовище:

- A. Є диференційно-діагностичним середовищем
- B. Дуже рідко використовується в лабораторній діагностиці
- C. Виявляє гемолітичну активність бактерій
- D. Пригнічує ріст бактерій
- E. Є синтетичним поживним середовищем

8. Які середовища слід застосовувати для виділення чистої культури збудника із матеріалу, що містить декілька видів бактерій?

- A. Елективні
- B. Універсальні
- C. Диференційно-діагностичні
- D. Середовища на основі м'ясо-пептонного агару
- E. Середовища на основі м'ясо-пептонного бульйону.

9. Для культивування аеробів використовують:

- A. Апарат Аристовського
- B. Свічі Омелянського
- C. Термостат
- D. Ексикатор
- E. Анаеростат

10. В інфекційне відділення лікарні госпіталізовано пацієнта зі скаргами на нудоту, рідкі випорожнення зі слизом. Лікар запідозрив бактеріальну дизентерію. Який метод лабораторної діагностики найдоцільніше призначити для підтвердження діагнозу?

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

СИТУАЦІЙНІ ЗАДАЧІ

1. Після дослідження колоній що вирости на пластинчатому агарі, починають виділяти чисту культуру збудника. На яке середовище відбувається пересів ізольованої колонії?
2. При посіві випорожнень хворого на черевний тиф на середовище Ендо вирости колонії різного розміру та забарвлення – великі малинового кольору та безбарвні середнього розміру. До якої групи за призначенням належить це середовище? Чому?

3. При бактеріологічному дослідженні випорожнень хворого з підозрою на паратиф, виділена культура збудника, якого не можна ідентифікувати, визначаючи тільки цукролітичні ферменти. Визначення яких ферментів необхідно ще провести? Які кінцеві продукти можуть утворитися в результаті даних ферментативних властивостей?
4. При бактеріологічному дослідженні крові хворого була виділена культура стафілокока. На яке середовище необхідно провести посів, для виявлення гемолітичних властивостей стафілокока? Опишіть гемолітичні властивості на живильному середовищі.
5. Після інкубації в анаеростаті посіву гомогената некротизованої тканини на кров'яному агарі Цейслера через 48 годин вирости шорсткі великі плоскі колонії, що мають тенденцію до повзучого росту. Які властивості виділених мікроорганізмів вказані в завданні? Обґрунтуйте відповідь.

ПРАКТИЧНЕ ЗАНЯТТЯ №3

Тема: «ДЕЗІНФЕКЦІЯ. СТЕРИЛІЗАЦІЯ»

Актуальність теми: зумовлена необхідністю ефективної боротьби з інфекційними захворюваннями, які спричиняються мікроорганізмами. Одним із важливих напрямів протидії поширенню інфекцій є переривання механізмів та шляхів передачі збудників. У цьому ключову роль відіграють дезінфекція та стерилізація – заходи, спрямовані на знищення мікроорганізмів у зовнішньому середовищі. Правильне та своєчасне проведення цих процедур дозволяє зменшити ризик інфікування та забезпечити безпечні умови для пацієнтів і медичного персоналу.

Мета: вивчити методи стерилізації, конструкцію апаратури для стерилізації, правила роботи з апаратурою, особливості механічної стерилізації, підготовка лабораторного посуду до стерилізації. Ознайомитись з хімічними речовинами, які використовуються для дезінфекції, вивчити їх фізичні властивості, навчитися виготовляти з них дезрозчини, проводити дезінфекцію робочого місця, піпеток, біологічного матеріалу та проводити гігієну рук.

Матеріальне забезпечення: апаратура: автоклав, сушильна шафа, мембранні фільтри, стерилізатор; таблиці. Деззасоби, дистильована вода, ваги з різноважками, капсулатурки, пінцети, ємкості з темного скла, лабораторний посуд, емальований посуд, плитка газова, таблиці.

Конкретні цілі:

знати:	вміти:
<ul style="list-style-type: none">вплив фізичних, хімічних і біологічних факторів на мікроорганізми;	<ul style="list-style-type: none">виготовляти і застосовувати на практиці дезінфікуючі розчини;
<ul style="list-style-type: none">стерилізація, види стерилізації;	<ul style="list-style-type: none">проводити дезінфекцію біологічного матеріалу, робочого місця;
<ul style="list-style-type: none">дезінфекція способи, методи;	<ul style="list-style-type: none">проводити гігієну рук;
<ul style="list-style-type: none">асептика, антисептика.	<ul style="list-style-type: none">готувати лабораторний посуд, живильних середовищ до стерилізації;
	<ul style="list-style-type: none">працювати з апаратурою для стерилізації;
	<ul style="list-style-type: none">дотримуватись вимог охорони праці в галузі, технікою безпеки, інфекційного контролю, чинних наказів МОЗ України під час роботи з біологічним матеріалом, при роботі з електроапаратурою.

ЗМІСТ ЗАНЯТТЯ

Дезінфекція (знезаражування) – це сукупність способів, за допомогою яких проводиться знищення збудників інфекційних хвороб на заражених об'єктах зовнішнього середовища або на поверхні людського тіла. Хімічні речовини, які використовують для дезінфекції називають дезінфікуючими.

Основні групи дезінфектантів:

1. Галогеномісні речовини (галогенові препарати), які містять хлор, бром або йод: пантоцид, неопантоцид, гіпохлорит натрію, дезам, хлордезин, сульфохлорантин.

2. Кисневомісні 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).

6. **Солі важких металів** (срібла, ртуті, свинцю, міді, цинку, олова).

7. **Барвники** (брильянтовий зелений, ріванол).

8. **Гази** (озон, суміш оксиду етилену і броміду метилу, оксид етилену, оксид пропілену).

9. **Кислоти** (оксолінова, борна, бензойна, саліцилова), луги (аміак і його солі, натрію гідроксид, калію гідроксид) зневоднюють клітину.

Дезінфікуюча дія хлорвмісних речовин заснована на розщепленні їх молекул з виділенням хлору і кисню, які діють бактерицидно.

Найчастіше застосовують такі дезінфікуючі розчини:

1. Дезодерм (засіб спиртовий дезінфекційний) – для гігієнічної обробки рук;

2. Бланідак Актив Ензим, Бланідак 300 – для дезінфекції робочого місця відпрацьованих піпеток, предметних стекол тощо;

3. Бланідак Актив Ензим – для дезінфекції відпрацьованого біологічного матеріалу інфікованого споровими формами мікроорганізмів;

4. Бланідак Актив Ензим, Бланідак 300 – для дезінфекції біологічного матеріалу (випорожнення, гній, сеча, харкотиння);

5. Бланідак Актив Ензим, Бланідак 300, Сурфаніос, Дез ТАБ – для дезінфекції поверхонь (підлога, столи, дверні ручки, панелі, умивальники і т.д.).

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

Антисептика – комплекс заходів, які направлені на знищення мікроорганізмів в рані, в цілому організмі або на об'єктах зовнішнього середовища з використанням різних хімічних речовин, що знезаражують.

Стерилізація – це повне знищення мікроорганізмів, їх вегетативних і спорових форм.

Способи стерилізації:

1. Фізичний:

а) прожарювання у вогні – бактеріологічні петлі, голки, шпатель, предметні та покривні стекла;

б) кип'ятіння – шприци, інструментарій, скляний і металевий посуд та інше. При даному способі гинуть вегетативні форми бактерій, віруси, але спори бацил, клостридій, грибів зберігаються;

в) стерилізація сухим жаром – чашки Петрі, пробірки, піпетки, вата, марля (обгорнуті папером) при температурі 160-170 °С протягом 45-60 хв;

г) парою під тиском – лабораторний посуд, перев'язувальний та хірургічний матеріал, живильні середовища, які не містять нативного білка та вуглеводів, досліджуваний матеріал. Стерилізують при температурі 120 °С протягом 15-20 хв;

д) УФ-промені – використовують для стерилізації повітря закритих приміщень (операційних, перев'язувальних, боксів і т.д.), а також води і молока;

ж) ультразвук – для стерилізації харчових продуктів.

2. Хімічний (використання різноманітних антисептиків).

3. Біологічний (застосування антибіотиків).

В лабораторній практиці застосовують фізичні способи стерилізації. Вибір методу стерилізації зумовлений особливостями матеріалу, який підлягає стерилізації, його фізичними і хімічними властивостями.

Інфекційний контроль – визначається як комплекс ефективних організаційних, профілактичних та протиепідемічних заходів, спрямованих на запобігання виникнення та поширенню інфекційних хвороб, пов'язаних із наданням медичної допомоги (ПНМД), що базується на результатах епідеміологічної діагностики. В цьому визначенні відображено принципову відмінність стратегії боротьби з ПНМД на основі визнаної у багатьох країнах системи інфекційного

контролю від чинної дотепер в Україні стратегії, що регулює заходи, які передбачено у раніше розроблених нормативних документах.

Невід'ємною частиною інфекційного контролю є також мікробіологічний моніторинг. Для динамічного спостереження за структурою і рівнем стійкості мікроорганізмів до антимікробних препаратів рекомендована комп'ютерна програма WHONET, яка отримала схвальну оцінку. Остання версія WHONET використовується в Західній та Східній Європі, США, Канаді, країнах Азії; а за отриманими даними видається спеціальний бюлетень WHONETnews, який дозволяє клінічним мікробіологам та госпітальним епідеміологам усього світу координувати свою діяльність, обмінюватися досвідом роботи з програмою та містить методичні рекомендації щодо використання WHONET для вирішення окремих питань.

Медична допомога не повинна завдавати шкоди нікому. Проте, кожен рік у всьому світі через небезпечне надання медичної допомоги заподіюють шкоду мільйонам пацієнтів. За оцінками, в країнах з високим рівнем доходу під час надання стаціонарної допомоги кожен десятий зазнає шкоди. Загалом у світі чотири з десяти пацієнтів мають негативні наслідки первинної та амбулаторної медичної допомоги. Найбільш небезпечні помилки у діагностиці, а також призначенні та використанні лікарських засобів. Профілактика інфекцій та інфекційний контроль (ППК) є **невід'ємною частиною безпечного надання медичної допомоги.**

Профілактика інфекцій та інфекційний контроль мають вирішальне значення для зведення до мінімуму передавання збудників інфекційних хвороб.

Дотримання гігієни рук медичними працівниками у закладах охорони здоров'я є **одним з головних заходів щодо запобігання поширенню інфекційних хвороб, які пов'язані з наданням медичної допомоги** та поширення збудників з антимікробною резистентністю. Контаміновані руки медичних працівників є фактором передавання мікроорганізмів всередині закладу і можуть бути причиною перехресного інфікування та спалахів інфекцій.

Гігієна рук — це спосіб очищення рук, який суттєво зменшує кількість потенційних патогенів (шкідливих мікроорганізмів) на руках і є найважливішим заходом для профілактики інфекційних хвороб, які пов'язані з наданням медичної допомоги. Це загальний термін, який застосовується до миття рук водою з милом, гігієнічної обробки рук та хірургічної обробки рук.

Гігієнічна обробка рук — обробка рук шляхом втирання антисептика для рук в шкіру рук.

Антисептик для рук — спиртовмісний дезінфекційний засіб (рідина, гель або піна), що застосовується для нанесення на шкіру рук з метою знищення мікроорганізмів.

ЗАВДАННЯ ДЛЯ ПРАКТИЧНОЇ РОБОТИ

1. Ознайомитись з апаратурою для стерилізації та правилами роботи з нею:
 - а) сушильної шафи;
 - б) автоклаву;
 - в) апарату Зейтца.
2. Підготувати до стерилізації лабораторний посуд.
3. Розглянути фізичні властивості дезінфікуючих речовин.
4. Засвоїти методику проведення: дезінфекції піпеток, скляних шпательів, предметних і покривних скелець, біологічного матеріалу, робочого місця та гігієни рук.
5. Ознайомитись із сучасними дезінфікуючими засобами та їх застосуванням.
6. Ознайомитись з дотриманням вимог охорони праці в галузі, технікою безпеки, інфекційного контролю, чинних наказів МОЗ України під час роботи з біологічним матеріалом, при роботі з електроапаратурою.

ХІД ВИКОНАННЯ ПРАКТИЧНОГО ЗАНЯТТЯ

1. Ознайомитись з апаратурою для стерилізації та правилами роботи з нею:

- а) сушильної шафи;
- б) автоклаву;
- в) апарату Зейтца.

Помістити посуд на полицю в печі Пастера. Закрити двері й включити прилад. Після однієї години стерилізації увімкнути прилад. Посуд можна вийняти з печі через 30 хв. Стерилізація проводиться сухим жаром або гарячим повітрям.



Контроль стерилізації в печі Пастера

а) *бактеріологічний контроль* – шовкову нитку змочують в культурі спороутворюючих бактерій, підсушують, поміщають в стерильну чашку Петрі й поміщають в піч Пастера. Стерилізують при 165 °С одну годину. Для контролю частинку нитки залишають при кімнатній температурі. Простерилізовані й контрольні нитки кладуть на поверхню агару в чашку Петрі, або поміщають пробірки з бульйоном і інкубують в термостаті при 37 °С дві доби. При правильній стерилізації в печі в пробірках або чашках росту не повинно бути, а контрольна нитка проросте і на середовищі утвориться ріст.

б) *Хімічні тести для контролю стерилізації*: закладають разом з матеріалом запаяні ампули, які містять невелику кількість речовини, яка відповідає температурному режиму даної речовини. Для того, щоб не було видно, до неї додають крупинку барвника (фуксин і т.п.) - тест-реактив - сахароза, яка плавиться при 170 °С.

в) *фізичний контроль* (за допомогою термометрів).

Стерилізація насиченою парою під тиском – це автоклавовання. Гинуть як вегетативні, так і спорові форми мікроорганізмів. Ефект досягається дією пари, температура якої під тиском вища, ніж температура киплячої води.

Автоклав – це подвійний металевий котел, закритий кришкою, який має болти, бачок з водомірним склом і електронагрівальними елементами.



ads.chemihiv.info

Проведення стерилізації в автоклаві:

- через лійку залити воду до верхньої мітки водомірного скла і закрити кран під лійкою;
- помістити матеріал в стерилізаційну камеру так, щоб він не торкався стінок та між предметами був простір;
- закрити кришку і попарно (хрест-навхрест) прикрутити її болтами;
- відкрити випускний кран, що з'єднує стерилізаційну камеру з зовнішнім повітрям;
- включити прилад;
- після того, як покази манометра досягнуть 2 атм, засікти час 30 хв;
- після 30 хв вимкнути, випустити пару через випускний кран;
- коли стрілка манометра опуститься до нуля, відкрити кришку на себе.

Контроль стерилізації в автоклаві:

а) Бактеріологічний контроль ефективності стерилізації в автоклаві – поміщають пробірку з споровою культурою. Після автоклавування пробірку переносять в термостат на 24-48 год, відмічають відсутність росту або ріст. Відсутність росту свідчить про вірну роботу приладу.

б) Хімічний тест для контролю стерилізації під тиском:

бензонафтол, який плавиться при 110 °С, антипірін – при 113 °С, резерпін і сірка – 119 °С, бензойна кислота – при 120 °С.

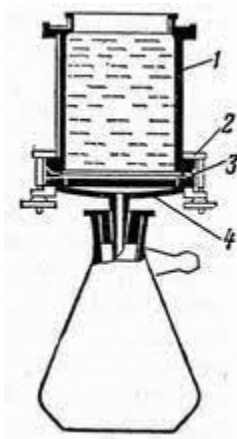
Стерилізація текучою парою проводиться в автоклаві при відкритій кришці й відкритому випускному крані.



Автоклав

Стерилізацію фільтруванням здійснюють в тих випадках, коли стерилізуючі предмети змінюються при нагріванні. Фільтрування проводять за допомогою бактеріальних фільтрів, які виготовлені з дрібнопористих матеріалів. Пори фільтрів повинні бути достатньо дрібними (до 1 мкм), щоб забезпечити механічну затримку бактерій.

Фільтрування води через пористі фільтри здійснюється шляхом вакууму. Апарат складається з лійки та корпусу. Фільтрування проходить через фільтр, щільно затиснений між лійкою і корпусом, герметичність забезпечується прокладкою. На корпусі встановлено: кран, який перекриває доступ води в приймач; штуцер, який є для під'єднання до вакууму; кран, який служить для відключення джерела вакууму. За допомогою корка апарат герметично встановлюється в горловині посудини для фільтрування.



Апарат Зейтца

Бактеріальні фільтри – пристрої, що дозволяють відокремлювати мікроорганізми, видимі в оптичному мікроскопі, від рідкого середовища, в якому вони знаходяться. Бактеріальні фільтри застосовують для стерилізації розчинів, що змінюють свої властивості при тепловій стерилізації (сироватки, лікарські речовини, поживні середовища). Фільтрування за допомогою бактеріальних фільтрів проводять при розрідженні або під тиском. Однак різкий вакуум або надмірно високий тиск порушують якість фільтрування і призводять до порушення стерильності.

2. Підготувати до стерилізації лабораторний посуд

1. Чашки Петрі загорнути по 3 штуки в папір;
2. Пробірки закрити ватно-марлевими корками і зв'язати по 5-50 штук, загорнути у щільний папір;
3. В піпетки вставити ватний тампончик і загорнути в смужки паперу шириною 4-5 см і довжиною 50-70 см, відмітити об'єм піпетки, по 10-15 штук загорнути у щільний папір;
4. У флакони, колби, бутлі вставити ватно-марлеві корки та одягнути паперовий ковпачок, зав'язати.

3. Розглянути фізичні властивості дезінфікуючих речовин

Розчин Люголя (розчин йоду у водному розчині йодиду калію) – прозорий розчин коричнево-бурого кольору із запахом йоду. 100 см³ розчину містять: йоду — 1,0 г, калію йодиду — 2,0 г, гліцерину — 94,0 г. Допоміжні речовини: вода очищена.

Найчастіше розчин Люголя використовують в медицині. Адже розчин Люголя з гліцерином має бактерицидну дію за рахунок вмісту в ньому вільного йоду. Препарат має протимікробну дію на грам-позитивні та грам-негативні бактерії, у тому числі на стрептококи, стафілококи, кишкову паличку, клебсієли, вульгарний протей. Розчин Люголя з гліцерином застосовують при різних запальних процесах слизових оболонок глотки та гортані — при хронічному ларингіті, тонзиліті, фарингіті. Препарат можна застосовувати як дорослим, так і дітям.

4. Засвоїти методику проведення: дезінфекції піпеток, скляних шпательів, предметних і покривних скелець, біологічного матеріалу, робочого місця та гігієни рук

Вибір дезінфікуючих речовин, його концентрація та експозиція залежать від біологічних властивостей мікроорганізму і того середовища, в якому буде проходити контакт деззасобів з патогенними мікроорганізмами

Наприклад, сулема, фенол, спирти непридатні для знешкодження білкових субстратів (гній, кров, харкотиння), оскільки під їх впливом проходить згортання білків, а згорнений білок охороняє мікроорганізми від дії дезінфікуючої речовини.

Піпетки, скляні шпательі після роботи з біологічним матеріалом, культурами мікроорганізмів,

предметні й покривні скельця занурити в банки з розчином бланідаз 300 на добу.

Біологічний матеріал (кров, гній, харкотиння, кал, сеча та інше) перед злиттям їх в каналізацію залити розчином деззасобу.

При попаданні на руки біологічного матеріалу або мікробної культури перше дезінфікують забруднені ділянки шкіри – кладуть на неї вату змочену деззасобом на 3-5 хв.

УВАГА! Посуд, в якому культивують мікроорганізми, не обробляється дезінфікуючими речовинами, оскільки сліди деззасобів будуть впливати на культивування бактерій! Його складають в металічні баки, бікси; пломбують і відправляють автоклавувати.

Методика дезінфекції піпеток, предметних стекол, скляних шпателів тощо:

- опустити забруднені біологічним матеріалом або мікробною культурою піпетки (градуйовані, пастерівські), предметні та покривні скла, скляні шпателі відразу після використання в банки з дезінфікуючим розчином 0,2% р-н Дез ТАБ-у, що знаходиться на робочому місці;

Методика дезінфекції біологічного матеріалу:

- біологічний матеріал (кров, гній, кал, сеча, харкотиння, ліквор і т.д.) перед злиттям його в каналізацію розчином Бланідаз 300 або іншими сучасними дезрозчинами.

Провести дезінфекцію робочого місця:

- змочити ватну кульку або тампон в розчині Бланідаз 300 або іншими сучасними дезрозчинами;
- протерти робоче місце перпендикулярними штрихами.

Провести миття рук з водою та милом:

Показання до миття рук водою та милом:

- 1) коли руки помітно брудні;
- 2) коли руки забруднені кров'ю або іншими біологічними рідинами;
- 3) після відвідування туалету;
- 4) перед вживанням їжі;
- 5) після приходу на роботу та завершення робочої зміни;
- 6) коли високий ризик забруднення спороутворювальними мікроорганізмами (спалахи захворювань, що спричинені *Clostridioides difficile*) та коровірусами;
- 7) у всіх випадках необхідності практики гігієни рук, але недоступності антисептика для рук.

ЯК ПРАВИЛЬНО МИТИ РУКИ

Тривалість процедури 40–60 секунд



ЦЕНТР
ГРОМАДСЬКОГО
ЗДОРОВ'Я



НАМОЧИТЬ
РУКИ
ВОДОЮ



НАНЕСІТЬ МИЛО
НА ВСЮ
ПОВЕРХНЮ РУК



ПОТРІТЬ РУКИ
ДОЛОНЯ ОБ ДОЛОНЮ



ПОТРІТЬ ПРАВОЮ
ДОЛОНЕЮ ПО ПОВЕРХНІ
ЛІВОЇ РУКИ
З ПЕРЕПЛЕТІННЯМ ПАЛЬЦІВ
І НАВПАКИ



ПОТРІТЬ РУКИ ДОЛОНЯ
ОБ ДОЛОНЮ ІЗ
ПЕРЕПЛЕТЕННЯМ
ПАЛЬЦІВ



ЗЧЕПІТЬ
ПАЛЬЦІ
ТА ПОТРІТЬ ЇХ



РЕТЕЛЬНО ВИМИЙТЕ
ВЕЛИКІ ПАЛЬЦІ
КОЖНОЇ РУКИ



ПОТРІТЬ ДОЛОНІ
ПАЛЬЦЯМИ В
КРУГОВОМУ НАПРЯМКУ



ЗМИЙТЕ
РУКИ
ВОДОЮ



ВИТРІТЬ РУШНИКОМ
ОДНОРАЗОВОГО
ВИКОРИСТАННЯ



ВИМКНІТЬ КРАН
РУШНИКОМ



ТЕПЕР
ВАШІ РУКИ
ЧИСТІ

www.phc.org.ua

Провести гігієнічну обробку рук:

Гігієнічна обробка рук — обробка рук шляхом втирання антисептика для рук в шкіру рук. Антисептик для рук — спиртовмісний дезінфекційний засіб (рідина, гель або піна), що застосовується для нанесення на шкіру рук з метою знищення мікроорганізмів.

Показання до гігієнічної обробки рук:

- до контакту з пацієнтом;
- перед асептичною процедурою;
- після ситуації, що пов'язана із ризиком контакту/контактом з біологічними рідинами;
- після контакту з пацієнтом;
- після контакту з об'єктами внутрішнього середовища закладу охорони здоров'я, що перебувають у безпосередній близькості з пацієнтом.

ГІГІЄНІЧНА ОБРОБКА РУК СПИРТОВМІСНИМ АНТИСЕПТИКОМ



ЦЕНТР
ГРОМАДСЬКОГО
ЗДОРОВ'Я



НАНЕСІТЬ
АНТИСЕПТИК НА
ПОВЕРХНЮ РУК



ПОТРІТЬ РУКИ
ДОЛОНЯ ОБ
ДОЛОНЮ



ПОТРІТЬ ПРАВОЮ
ДОЛОНЕЮ ПО ПОВЕРХНІ ЛІВОЇ РУКИ
З ПЕРЕПЛЕТІННЯМ ПАЛЬЦІВ
І НАВПАКИ



ПОТРІТЬ РУКИ
ДОЛОНЯ ОБ ДОЛОНЮ
ІЗ ПЕРЕПЛЕТЕННЯМ
ПАЛЬЦІВ



ЗЧЕПІТЬ
ПАЛЬЦІ
ТА ПОТРІТЬ ІХ



РЕТЕЛЬНО ОБРОБІТЬ
ВЕЛИКІ ПАЛЬЦІ
КОЖНОЇ РУКИ



ПОТРІТЬ ДОЛОНІ
ПАЛЬЦЯМИ В
КРУГОВОМУ НАПРЯМКУ



ТЕПЕР ВИ
В БЕЗПЕЦІ

www.phc.org.ua



При забрудненні рук культурою патогенного мікроба або біологічним матеріалом, в першу чергу, дезінфікують забруднені ділянки шкіри. З цією метою на забруднену ділянку кладуть вату, змочену р-ном бланідасу 300, на 3-5 хв або іншими сучасними дезрозчинами.



При роботі з бактеріями, що утворюють спори, для дезінфекції можуть використовувати 5-10 % р-н формаліну, бланідас 300 та інші.

5. Ознайомитись із сучасними дезінфікуючими засобами та їх застосуванням

Найчастіше застосовують такі деззасоби:



	<p>Бріліантові руки 2 (1 л, 65 мл)</p>	<p>Засіб «Бріліантові руки 2» призначено для:</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ обробки рук хірургів і медичного персоналу, що оперує, у лікувально-профілактичних закладах (ЛПЗ); ○ гігієнічної обробки рук медичного персоналу ЛПЗ; ○ гігієнічної обробки рук медичних працівників дитячих дошкільних і шкільних установ, установ соцзабезпечення (будинку пристарілих, інвалідів та ін.), косметичної, фармацевтичної, мікробіологічної та харчової (хлібопекарної, кондитерської, молочної, м'ясної, пиво-безалкогольної) промисловості, аптечних закладів, лабораторій, ветеринарії, об'єктів громадського харчування, торгівлі, комунальних служб (у тому числі косметичних салонів, перукарень та ін.) та готельного господарства; ○ обробки шкіри операційних та ін'єкційних полів пацієнтів ЛПЗ, а також в умовах транспортування в машинах швидкої допомоги та у надзвичайних ситуаціях; ○ обробки шкіри ліктювих згинів донорів; ○ гігієнічна обробка рук населенням у побуті.
	<p>Дезасепт (1л, 1л з дозатором, 100 мл)</p>	<p>Засіб «Дезасепт» призначено для:</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ обробки рук хірургів і медичного персоналу, що оперує, у заклади-охорони здоров'я (ЗОЗ); ○ гігієнічної обробки рук медичного персоналу ЛПЗ; ○ гігієнічної обробки рук медичних працівників дитячих дошкільних і шкільних установ, установ соцзабезпечення (будинку пристарілих, інвалідів та ін.), косметичної, фармацевтичної, мікробіологічної та харчової (хлібопекарної, кондитерської, молочної, м'ясної, пиво-безалкогольної) промисловості, аптечних закладів, лабораторій, ветеринарії, об'єктів громадського харчування, торгівлі, комунальних служб (у тому числі косметичних салонів, перукарень та ін.) та готельного господарства; ○ обробки шкіри операційних та ін'єкційних полів пацієнтів ЗОЗ, а також в умовах транспортування в машинах швидкої допомоги та у надзвичайних ситуаціях; ○ обробки шкіри ліктювих згинів донорів; ○ гігієнічна обробка рук населенням у побуті.

	<p>Бріліантова сестричка-2 (1л)</p>	<p><i>Засіб «Бріліантова сестричка -2»</i> призначено для:</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ гігієнічної обробки рук хірургів, та оперуючого медичного персоналу перед обробкою антисептичним засобом; ○ гігієнічної обробки рук медичного персоналу в ЗОЗ; швидкої медичної допомоги, працівників лабораторій (у тому числі бактеріологічних, мікробіологічних, імунологічних, клінічних та інших); ○ гігієнічної обробки рук працівників дитячих дошкільних і шкільних установ; установ соцзабезпечення (будинкустарих, інвалідів та ін.), пенітенціарних установ, працівників парфумерно-косметичних, фармацевтичних підприємств, центрів біотехнології, персоналу підприємств громадського харчування та харчової промисловості, торгівлі, об'єктів комунальних служб (у т.ч. у банях, саунах, перукарських і косметичних салонах, салонах краси та інших), персоналу санаторно-курортних установ; ○ гігієнічної обробки рук і шкірних покривів населенням у побуті; ○ обробки ступнів ніг з метою профілактики грибкових захворювань; ○ санітарної обробки шкіри пацієнтів ЗОЗ, включаючи лежачих хворих у відділеннях гериатричного, онкологічного профілю, хосписах, будинках-інтернатах для інвалідів та осіб літнього віку, установах соціального захисту.
	<p>Бланідаз 300, 300 табл. (1 кг) Склад: натрієва сіль дихлорізоціанурової кислоти – 80,52% (діюча речовина); адипінова кислота – 8,66%, бікарбонат натрію; карбонат натрію – 2,16 (допоміжні речовини). Засіб випускається у вигляді таблеток білого кольору, вагою 3,2±0,2 г. При розчиненні однієї таблетки у воді виділяється 1,6±0,1 г активного хлору (50%).</p>	<p><i>Бланідаз 300</i> призначений для дезінфекції:</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ поверхонь приміщень, санітарно-технічного обладнання, ○ посуду, білизни, виробів медичного призначення (крім ендоскопів), ○ предметів догляду хворих, ○ при інфекціях бактеріальної, вірусної, грибкової етіології, ○ в ЗОЗ (включаючи біохімічні, бактеріологічні, вірусологічні лабораторії, донорські пункти і відділення переливання крові), ○ дитячі заклади, ○ при проведенні поточної і заключної дезінфекції, ○ профілактичної, ○ в навчальних та дитячих закладах, ○ комунальних об'єктах, ○ будинках відпочинку і пансіонатах, ○ підприємствах громадського харчування і

		<p>торгівлі,</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ лазнях, саунах, басейнах, громадських туалетів, ○ в місцях проведення спортивних змагань та тренувань, ○ овочів, фруктів та яєць, ○ обробки води.
	<p>Бланідаc Актив Ензим (1 л) Склад: алкїлдиметилбензил-амоній хлорид – 12%, дидецилдиметил-амоніай хлорид – 8%, полігексаметилен-гуанідин гідрохлорид (пгмг) – 2% (діючі речовини), ферменти (ліпаза, амілаза, протеаза), а також ізопропіловий спирт та інші функціональні компоненти та інгібітори корозії – до 100%.</p>	<p>Бланідаc Актив Ензим застосовується для дезінфекції:</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ стоматологічних, хірургічних інструментів, ○ лабораторного посуду, ○ гнучких та жорстких ендоскопів, ○ наркозно-дихальної апаратури, ○ медичного обладнання, апаратури, підвіконня, стін, підлоги, стелі, ○ інвентарю, санітарно-технічного обладнання, медичних відходів з текстильних матеріалів, біологічних рідин та харчових відходів.
	<p>Дезодерм спрей (0,25) Склад: 100 г засобу містить (г); 2-пропанолу – 60,0-66,5; 1,3 – бутадіону – 0,104-0,126 (діючі речовини), запашку, зволожуючі та пом'якшуючі шкіру добавки, воду – 100,0.</p>	<p>Дезодерм використовують для:</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ гігієнічної та хірургічної обробки рук; ○ шкіри тіла перед хірургічним втручанням у хірургічній, косметологічній та стоматологічній практиці; ○ швидкої обробки невеликих за площею поверхонь і виробів медичного призначення тощо.
	<p>АХД 2000 (500 мл) Розчин для зовнішнього застосування, 75 г/100 г готовий для використання. Склад: на 100 г розчину: діючі речовини: етанол денатурований 75 г, допоміжні речовини: ефір поліольної жирної кислоти, пінофлор, кислота молочна, вода очищена.</p>	<p>АХД 2000 застосовують для дезінфекції:</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ гігієнічної обробки рук (3 мл/ 1/2хв); ○ хірургічна обробка рук (2х5 мл/2х2хв.)

6. Ознайомитись з дотриманням вимог охорони праці в галузі, технікою безпеки, інфекційного контролю, чинних наказів МОЗ України під час роботи з біологічним матеріалом, при роботі з електроапаратурою.

ПИТАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ

1. Назвіть фактори навколишнього середовища, які впливають на мікроорганізми.
2. Як впливають фізичні фактори на мікроорганізми?
3. Чим відрізняється дезінфекція від стерилізації?
4. Чому стерилізують бакпетлю на вогні?
5. Чому необхідно стерилізувати живильні середовища?

6. На які групи поділяються хімічні речовини протимікробної дії?
7. Для чого в мікробіологічній практиці використовуються дезінфікуючі речовини?
8. Чому проводять дезінфекцію робочого місця та гігієну рук?

ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ

1. В мікробіологічній лабораторії проводять стерилізацію лабораторного посуду. При якому режимі стерилізації гинуть спорові форми бактерій?

- A. При 60 °С- 30хв
- B. При 80-100°С – 1-2 хв
- C. При тиску 1атм. –30 хв
- D. При кип'ятінні 20-30хв
- E. При кип'ятінні 10 хв.

2. Для проведення дезінфекції можуть застосовуватись дезінфікуючі розчини. Розрахуйте скільки потрібно взяти концентрату, щоб приготувати 5 л 3% розчину?

- A. 15 г
- B. 25 г
- C. 30 г
- D. 120 г
- E. 150 г

3. Стерилізація це знищення спорових та вегетативних форм бактерій. Як провести стерилізацію продуктів харчування?

- A. Кип'ятінням
- B. Проварюванням
- C. Миттям з милом
- D. Прожарюванням
- E. Ультразвуком

4. Фізичний фактор зовнішнього середовища, який використовують для стерилізації операційних, пологових залів тощо:

- A. Іонізуюча радіація
- B. Ультрафіолетове випромінювання
- C. Механічний струс
- D. Висушування
- E. Атмосферний тиск

5. Вид дезінфекції, який використовують у епідемічному вогнищі:

- A. Профілактична
- B. Заключна
- C. Автоклавування
- D. Прожарювання
- E. Кип'ятіння

6. Система профілактичних заходів, спрямованих на запобігання проникненню мікробів у рану, тканини, органи, порожнини:

- A. Дезінфекція
- B. Стерилізація

- C. Асептика
- D. Антисептика
- E. Дератизація

7. *Хімічні речовини, які використовують для знезараження чинників навколишнього середовища:*

- A. Антисептики
- B. Антибіотики
- C. Дезінфектанти
- D. Гормональні препарати
- E. Вітамінні препарати

8. *Фізичний фактор, що згубно впливає на мікроорганізми і використовується для стерилізації медичного інструментарію, лабораторного посуду:*

- A. Ультразвук
- B. Механічний струс
- C. Температура
- D. Випромінювання
- E. Атмосферний тиск

9. *Вид стерилізації, який використовують у мікробіологічній лабораторії для знезараження бактеріологічних петель:*

- A. Фламбування
- B. Кип'ятіння
- C. Автоклавування
- D. Сухий жар
- E. Хімічна холодна стерилізація

10. *Режим стерилізації простих живильних середовищ (МПБ, МПА):*

- A. 2 атм - 20 хв
- B. 1 атм - 20 хв
- C. t° -180 $^{\circ}$ - 60 хв
- D. t° -100 $^{\circ}$ - 30 хв 3 дні підряд
- E. 1 атм - 10 хв

СИТУАЦІЙНІ ЗАДАЧІ

1. В бактеріологічній лабораторії кожного дня після закінчення роботи проводиться стерилізація кімнат бактерицидними лампами. Скільки часу її необхідно проводити? Чому?
2. Після закінчення роботи лаборант проводить дезінфекцію робочої поверхні. З якою метою проводиться дезінфекція? Які Ви знаєте сучасні деззасоби для проведення даної процедури?
3. У лабораторії приготували просте живильне середовище за всіма вимогами. Стерилізацію його провели автоклавуванням при тиску 1 атм. 10 хв. Виділити культуру мікроорганізмів не вдалося. Обґрунтуйте чому.
4. Медична сестра прокварцувала операційну 10 хв. У пацієнта виникло післяопераційне гнійне ускладнення. З гною виділений золотистий стафілокок. Оцініть дії медичної сестри.
5. Медсестра для стерилізації помістила у сухожарову шафу ізотонічний розчин натрію хлориду, піпетки, пробірки. Через 1 год після досягнення температури 165 $^{\circ}$ C вона виключила сухожарову шафу та відкрила її дверцята. Дайте оцінку діям медсестри.

ПРАКТИЧНЕ ЗАНЯТТЯ №4

Тема: «ІМУНОЛОГІЧНИЙ МЕТОД ДОСЛІДЖЕННЯ. ДОСЛІДЖЕННЯ ІМУННОГО СТАТУСУ ЛЮДИНИ. ЕКСПРЕС-МЕТОДИ ДІАГНОСТИКИ»

Актуальність: серологічний метод дослідження та експрес-методи діагностики є важливими інструментами у швидкому й точному виявленні інфекційних захворювань. Серологічний метод ґрунтується на виявленні антитіл або антигенів у біологічному матеріалі, що дозволяє не лише підтвердити діагноз, а й оцінити стадію захворювання та імунну відповідь організму. Експрес-методи діагностики відіграють ключову роль у сучасній медицині, оскільки забезпечують отримання результатів за короткий час, що є особливо важливим для своєчасного початку лікування та профілактики подальшого поширення інфекції. Використання цих методів дозволяє швидко реагувати в умовах епідемій та надзвичайних ситуацій, підвищуючи ефективність роботи медичних працівників і знижуючи ризик ускладнень для пацієнтів.

Мета: ознайомитись з серологічним методом діагностики інфекційних хвороб; засвоїти методу постановки реакції аглютинації, її облік та оцінку результатів, ознайомитись з методами дослідження імунного статусу організму людини; ознайомитись з експрес-методами лабораторної діагностики інфекційних хвороб, їх застосуванням в практиці.

Матеріальне забезпечення: агарова культура, діагностична сироватка, предметні стекла, бактеріологічні петлі, пастерівські піпетки, демонстраційна реакція аглютинації об'ємним методом, мазки периферичної крові, мазки з фагоцитованими гонококами, мікроскопи, тест - системи для ІФА. Таблиці: Реакція аглютинації, Види імунітету, Класи імуноглобулінів, ІФА, РІФ, Фагоцитоз. Реакція аглютинації, реакція непрямой гемаглютинації, види імунітету, класи імуноглобулінів.

Конкретні цілі:

знати:	вміти:
• види імунітету;	• проводити забір біологічного матеріалу для серологічного методу діагностики;
• неспецифічні й специфічні чинники імунітету;	• проводити постановку експрес-тестів для діагностики інфекційних захворювань;
• серологічний метод діагностики;	• дотримуватись правил асептики та антисептики під час забору біологічного матеріалу від пацієнтів;
• основні серологічні реакції, їх застосування;	• дотримуватися вимог охорони праці в галузі, техніки безпеки, інфекційного контролю, чинних наказів МОЗ України під час роботи зі збудниками інфекцій, при роботі з біологічним матеріалом, електроапаратурою, деззасобами.
• органи імунної системи, їх функції;	
• антигени і антитіла, їх структуру, види;	
• експрес-методи діагностики, їх застосування в медицині;	
• тести для оцінки імунного статусу;	

ЗМІСТ ЗАНЯТТЯ

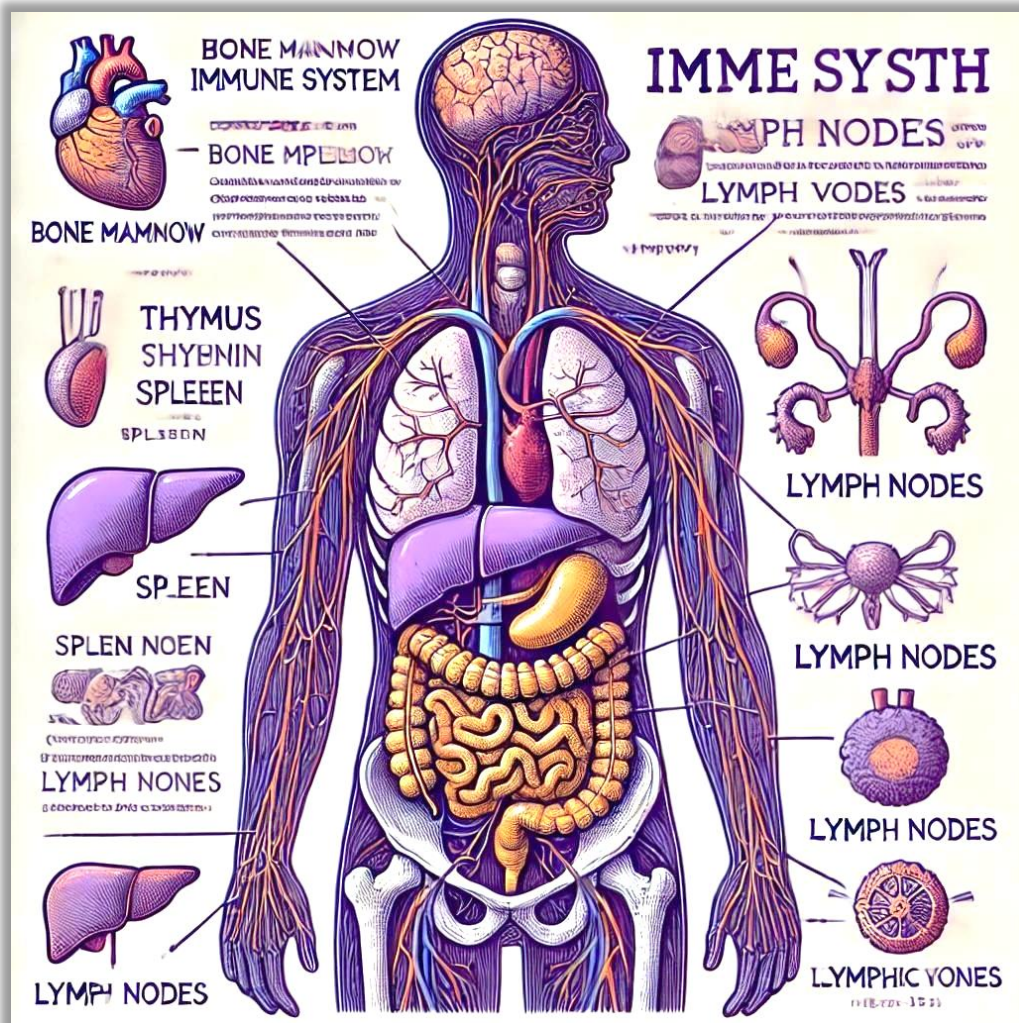
Імунітет - це несприйнятливість організму до інфекційних і неінфекційних агентів. Головна функція імунітету - імунний нагляд за внутрішньою постійністю організму.

Головне завдання - знищення генетично чужих клітин, включаючи мікроорганізми.

Імунна система - це сукупність лімфоїдних органів і тканин, об'єднаних морфологічно та функціонально.

Органи імунної системи поділяються на **центральні** (вилочкова залоза, червоний кістковий мозок) та **периферичні** (селезінка, лімфатичні вузли, мигдалики, асоційована з кишківником і бронхами лімфатична тканина).

У центральних органах відбувається дозрівання Т- і В- лімфоцитів і набуття ними імунної компетенції, після чого вони поступають у циркуляцію, заселяють периферичні лімфатичні органи.



Імунна система

Фактори захисту організму поділяють на неспецифічні (механічні, фізико-хімічні, гуморальні, клітинні, а також фізіологічні захисні реакції, які забезпечують збереження сталості внутрішнього середовища і відновлення порушених функцій макроорганізму) та специфічні (які утворюються у відповідь на антигенне подразнення - антитіла).

Антигени - це чужі для організму речовини (білки, нуклеопротейди, полісахариди, та ін.) на введення яких організм відповідає розвитком специфічних імунологічних реакцій.

Основні властивості антигенів :

- 1 - імуногенність, здатність викликати утворення антитіл і імунних лімфоцитів.
- 2 - здатність вступати з антитілами і імунними лімфоцитами у специфічну взаємодію, що

проявляється у вигляді імунологічної реакції.

Автоантигени - речовини, які мають властивість імунізувати організм з якого їх добуто. До них належить кришталік ока, сперма, паразитоподібна залоза, тканина сім'яних залоз (за звичайних умов тканина даних органів не стикається з імунною системою організму, тому антитіла до них не утворюються. Але при пошкодженні цих тканин, автоантигени можуть всмоктуватись в кров і спричинити утворення антитіл, які уражають відповідні клітини).

Антигенна структура бактеріальної клітини

Бактерії - складний комплекс антигенів.

O - антиген (соматичний) – термостабільний, ліпополісахаридо-протеїновий комплекс, входить до складу клітинної стінки;

H - антиген (джгутиковий) - термолабільний, протеїновий;

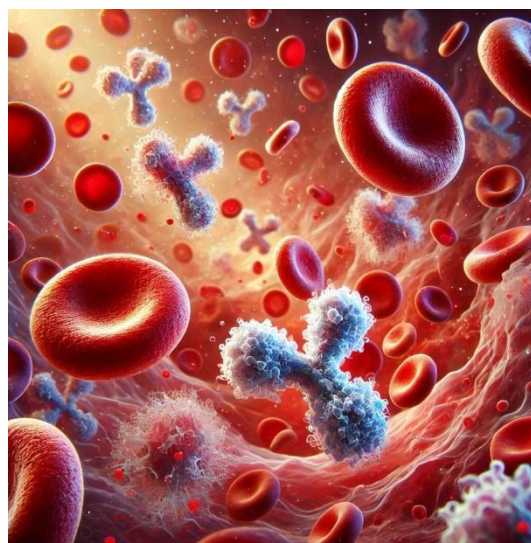
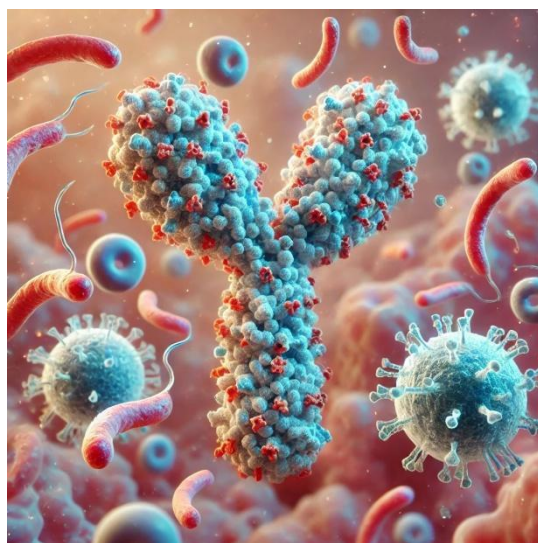
Vi - антиген вірулентності - термостабільний, полісахаридний;

K - антиген (капсульний) - складається з складних полісахаридів.

Протективні антигени - які спричиняють вироблення специфічних антитіл, що знешкоджують одну з патогенних функцій збудника.

Антитіла - це специфічні білки, які належать до імуноглобулінів - Ig, які синтезуються клітинами лімфоїдної системи у відповідь на антигенне подразнення і які мають властивість вступати з ними у зв'язок.

Розрізняють 5 класів імуноглобулінів: **Ig G, IgM, IgA, IgE, Ig D.**



Серологічний метод діагностики – дає змогу виявити в сироватці крові антитіла, що утворилися у відповідь на антигенне подразнення (на патогенні мікроорганізми).

Серологічні реакції – це реакції взаємодії між антигеном і антитілом, які протікають у дві фази:

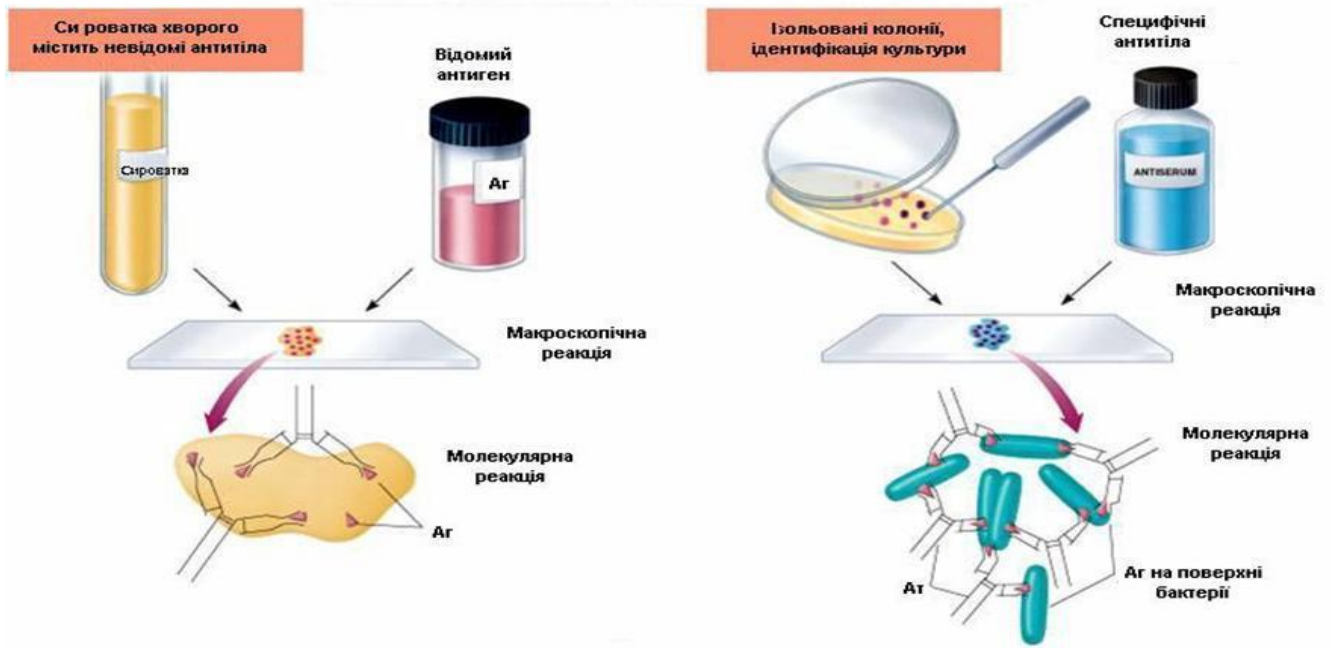
1-а – специфічна – утворення комплексу антиген-антитіло, яка є невидимою;

2-а – неспецифічна – специфічний комплекс антиген-антитіло взаємодіє з неспецифічними факторами середовища, в якому проходить реакція.

Результат їх взаємодії можна оцінити візуально (склеювання, розчинення, гемоліз).

Серологічні реакції використовують з метою:

- **серодіагностики** інфекційних хвороб, тобто для виявлення невідомих антитіл в сироватці крові за допомогою відомого антигену (діагностикуму);
- **сероідентифікації** - визначення виду мікроорганізмів за допомогою стандартних діагностичних сироваток.



Імунний статус – це сукупність механізмів неспецифічного захисту та імунологічних реакцій, які визначають стан імунітету організму.

Імунний статус визначається:

I. Орієнтованими клінічними тестами:

1. Збір і оцінка імунологічного анамнезу.
2. Загальний аналіз крові з урахуванням лейкоцитарної формули.
3. Визначення бактеріоносійства і вірусоносійства.
4. Наявність еубіозу, дизбіозу, дизбактеріозу у пацієнта.

II. Комплексом імунологічних методів:

тести I рівня – дають орієнтовну характеристику імунної системи;

тести II рівня складніші й дають можливість детальної характеристики порушень у системі імунного гомеостазу.

Комплекс методів I рівня включає визначення:

1. абсолютної кількості лімфоцитів;
2. кількості Т- і В-лімфоцитів (методом розеткоутворення);
3. визначення сироваткових імуноглобулінів (А, М, G);
4. фагоцитарної активності нейтрофілів периферичної крові.

Комплекс методів II рівня включає оцінку:

1. реакції бласттрансформації лімфоцитів (РБТЛ);
2. субпопуляційного складу лімфоцитів;
3. НСТ- тест;
4. рівня циркулюючих імунних комплексів;
5. рівня природних антитіл;
6. титру комплементу.

Імунодефіцит – це порушення структури й функції будь-якої ланки цілісної імунної системи, втрата організмом здатності чинити опір будь-яким інфекціям і відновлювати порушення своїх

органів.

Імунодефіцит характеризується наявністю вродженого або набутого дефекту імунної системи, що проявляється різким зниженням кількості окремих популяцій імунокомпетентних клітин або порушенням синтезу імуноглобулінів.

Існує два різновиди імунодефіцитних станів:

- вроджений (спадково зумовлений) імунодефіцит;
- набутий імунодефіцит.

При виникненні імунодефіцитного стану спостерігається підвищена чутливість до інфекційних захворювань. Інфекції, які частіше виникають у таких хворих, можна поділити на дві категорії:

1. При порушеннях, пов'язаних з імуноглобулінами, компонентами комплементу й фагоцитарною активністю, різко зростає сприйнятливність до повторних інфекцій, викликаних бактеріями, що мають капсулу (гноєтворні бактерії).

2. У випадках порушень у системі Т-клітинної ланки імунітету підвищується чутливість до мікроорганізмів, широко розповсюджених і в нормі нешкідливих (дріжджоподібні гриби, віруси тощо).

При нормально функціонуючій імунній системі у здорових людей до них швидко розвивається несприйнятливність, а з виникненням недостатності, наприклад, Т- клітинної функції виникають опортуністичні інфекції.

Препарати, які застосовують для цілеспрямованого впливу на імунну систему, можна віднести до імуномодуляторів, імунокоректорів, імуностимуляторів та імунодепресантів.

Імуномодулятори – лікарські засоби, що мають імунотропну активність, які в терапевтичних дозах відновлюють функції імунної системи (ефективний імунний захист).

Імунокоректори – засоби та впливи (у тому числі й лікарські), що мають імунотропність, які нормалізують конкретні порушення імунної системи (компоненти або субкомпоненти Т-клітинного імунітету, В-клітинного імунітету, фагоцитозу, комплементу). Таким чином, імунокоректори – це імуномодулятори «точкової» дії.

Імуностимулятори – засоби, що підсилюють імунну відповідь (лікарські препарати, харчові добавки, ад'юванти й інші різні агенти біологічної або хімічної природи, що стимулюють імунні процеси).

Імунодепресанти – засоби, що пригнічують імунну відповідь (лікарські препарати, що мають імунотропну або неспецифічну дію й інші різні агенти біологічної або хімічної природи, що пригнічують імунні процеси).

Методи експрес-діагностики – дозволяють поставити мікробіологічний діагноз протягом короткого проміжку часу (від декількох хвилин до декількох годин) з моменту доставлення досліджуваного матеріалу в лабораторію. До цих методів належать РІФ, ІФА, РІА, ІХЛ (імунохемілюмінесцентний метод) та ін.

Імунохроматографія.

Значним досягненням технологій імунологічних досліджень є імунохроматографічні методики. Суть полягає в тому, що компоненти реакції (антигени та мічені антитіла), пересуваючись на хроматографічному папері взаємодіють між собою виявляються на основі кольорової ферментної реакції. Імунохроматографія значно спростила дослідження і сучасні тест-системи можна використовувати біля ліжка пацієнта, у поліклінічних і домашніх умовах.



Швидкі імунохроматографічні тести

ЗАВДАННЯ ДЛЯ ПРАКТИЧНОЇ РОБОТИ

1. Розібрати принцип та механізм реакції аглютинації (за допомогою таблиці).
2. Провести орієнтовну реакцію аглютинації. Облік та оцінка результатів.
3. Ознайомитись за допомогою таблиці з методикою постановки розгорнутої реакції аглютинації, реакції непрямой гемаглютинації, ІФА.
4. Засвоїти етапи постановки реакції імунофлюоресценції, радіоімунного аналізу, полімеразної ланцюгової реакції.
5. Ознайомитися з дотриманням вимог охорони праці в галузі, техніки безпеки, інфекційного контролю, чинних наказів МОЗ України під час роботи із збудниками інфекцій, при роботі з біологічним матеріалом, електроапаратурою, деззасобами.

ХІД ВИКОНАННЯ ПРАКТИЧНОГО ЗАНЯТТЯ

1. Розібрати принцип та механізм реакції аглютинації (за допомогою таблиці).

Феномен аглютинації полягає в здатності антитіл зв'язуватись із корпускулярними антигенами, що веде до утворення агрегатів, які випадають в осад.

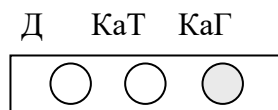
Антитіла (АТ) - аглютиніни,
 антигени (АГ) - аглютиногени,
 а осад - комплекс АГ+АТ - аглютинат.

Реакція аглютинації характеризується строгою специфічністю. Залежно від характеру аглютинату розрізняють дрібнозернисту і великопластівцеву аглютинацію.

2. Провести орієнтовну реакцію аглютинації. Облік та оцінка результатів.

“Постановка реакції аглютинації на склі”

- Знежирити предметне скло.
- Обвести за допомогою олівця 3 кола на предметному склі.
- Позначити 1-й - Д (дослід)
 2-й - Контроль аТ (антитіла)
 3-й - Контроль аГ (антигену).

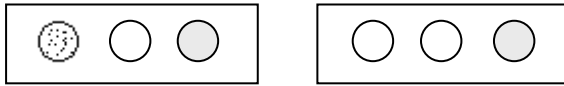


- Внести за допомогою пастерівської піпетки в кружечки:
 1-й - сироватку,

2-й - сироватку,
3-й - фізіологічний розчин.

- Внести в 1-у і 3-ю краплі досліджувану чисту культуру мікроорганізмів (або частинку ізольованої колонії), кожен раз прожарюючи бактеріологічну петлю.
- Проемульгувати.
- Залишити на 1-3 хвилин.

Облік та оцінка результатів орієнтовної реакції аглютинації проводиться через 1-3 хвилини!



Позитивний результат Від'ємний результат

Контроль антигену – помутніння;

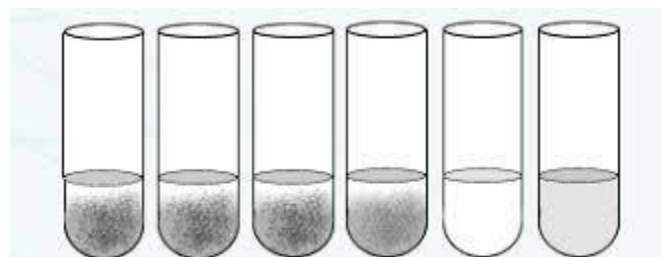
Контроль антитіла - прозорий

Дослід: позитивний результат - утворення аглютинату - якщо антиген відповідає антитілу.

Від'ємний результат – аглютинат відсутній (*помутніння*), якщо антиген не відповідає антитілу.

3. Ознайомитись за допомогою таблиці з методикою постановки розгорнутої реакції аглютинації, реакції непрямой гемаглютинації, ІФА.

Розгорнута реакція аглютинації (РА). Для визначення АТ в сироватці крові хворого ставлять розгорнуту РА. Для цього до серії розведень сироватки крові додають діагностичум - суспензія вбитих мікроорганізмів або частки з сорбованих Аг. Максимальне розведення, що дає **аглютинацію** Аг, називають титром сироватки крові.



Аглютинація К сир. К Аг

Схема розгорнутої РА

Суть **реакції непрямой гемаглютинації (РНГА)** полягає в адсорбції вірусних антигенів на поверхні еритроцитів та подальшої їх аглютинації гомологічними до антигену антитілами. Ця реакція специфічна і навіть чутливіша за інші серологічні тести.

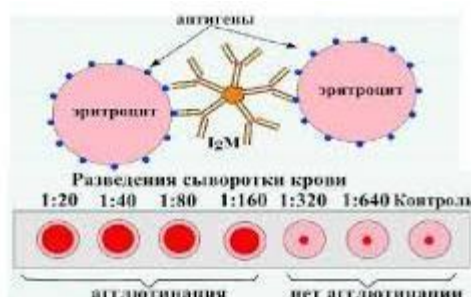


Схема РНГА

ІМУНОФЕРМЕНТНИЙ АНАЛІЗ – ІФА:

Простий і доступний для звичайних лабораторій метод. Він дає змогу виявити антитіла або антигени при різних захворювань людини. Є кілька модифікацій ІФА. Найпоширенішою вважають твердофазову, при якій антиген виявляють за допомогою антитіл, приєднаних до поверхні полістеролових пробірок (лунок).

ІФА - це взаємодія антигену з антитілом, хімічно зв'язаним з ферментом (пероксидаза хрому або лужна фосфатаза). Комплекс АГ-АТ, що утворюється, набуває ферментативної активності й розщеплює відповідний субстрат з появою забарвлення і люмінесцентним ефектом.

Розрізняють прямий і непрямий ІФА. За допомогою прямого ІФА визначають наявність антигену.

Непрямий метод використовують для виявлення антитіл (до комплексу АГ-АТ проти якого-небудь антигену додають мічений ферментом антиглобулін проти першої імунної сироватки й хромогенний субстрат).

Видимим ефектом позитивної реакції є темно-коричневе забарвлення в результаті з'єднання антиглобулінової сироватки, що несе імуноферментний комплекс, з імуноглобуліном досліджуваної сироватки крові.

Якщо досліджуваний антиген не відповідає імунній сироватці, то імуноферментний комплекс не утворюється, колірної реакції не буде.

Результати ІФА обчислюють за допомогою спектрофотометра або візуально.

Реакція ставиться в полістеролових пробірках або планшетах.

1. Антиген фіксують на твердій фазі, додаючи 200 мкл антигену, інкубують 16 год При 4 °С. Відмити 3 рази 0,1 Н фосфатним буфером (ФСБ).

2. Додають досліджувані сироватки по 200 мкл; Інкубують 2 год при 37 °С, або 16 год при кімнатній температурі. Відмити 3 рази 0,1 Н фосфатним буфером (ФСБ).

3. Додають антиглобулінові сироватки, мічені ферментом, по 200 мкл; Інкубують 2 год при 37°С; Відмити 3 рази 0,1 Н фосфатним буфером (ФСБ).

4. Вносять по 500 мкл субстрату; Інкубують 2 год при кімнатній температурі.

5. Зупиняють реакцію додаванням по 500 мкл «стоп-реагенту» для зупинки реакції.

6. Оцінка результатів може розводитись напівкількісно - візуально без використання апаратури. Для кількісної характеристики вимірюють екстинкцію при довжині хвилі 535 нм в об'ємі 1 мл за допомогою спектрофотометру.



ІФА тест-системи



ІФА аналізатор

Сьогодні основними методами **реакції імунофлюоресценції (ІФА)**, що застосовуються в гінекології, вважаються реакція прямої і непрямой імунофлюоресценції.

Прямий ІФА: у цій реакції використовують мічене антитіло, яке специфічно зв'язується з цільовим антигеном. Маркер (наприклад, фермент) дає сигнал, який вимірюється, що дозволяє кількісно оцінити концентрацію антигену.

Непрямий ІФА: спочатку додають немічене антитіло для зв'язування з антигеном, після чого додається мічене вторинне антитіло, яке розпізнає первинне. Цей метод підсилює сигнал, підвищуючи чутливість аналізу.

Обидва підходи широко використовуються для діагностики інфекцій та визначення рівнів антитіл у сироватці крові.

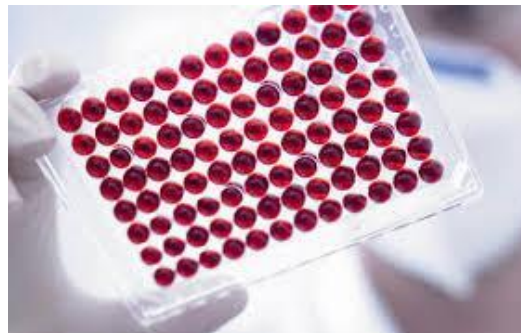
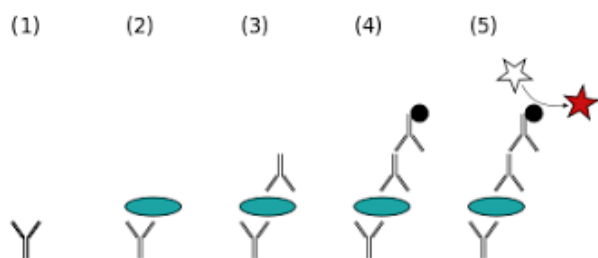


Схема відтворення ІФА

Методика дозволяє встановити факт наявності антигену в досліджуваному середовищі за наявністю специфічного світіння або фарбування і найчастіше використовується при виявленні інфекційних агентів в мазках з піхви або рановій виділеннями. Для проведення якісного ІФА досить люмінесцентного або світлового мікроскопа.



ІФА тест-системи



Автоматичний планшетний фотометр - іфа аналізатор

4. Засвоїти етапи постановки реакції імунофлуоресценції, радіоімунного аналізу, полімеразної ланцюгової реакції.

РЕАКЦІЯ ІМУНОФЛУОРЕСЦЕНЦІЇ – РІФ:

Дає можливість протягом кількох хвилин не тільки виявити, але й ідентифікувати антигени та антитіла.

Існує **пряма та непрямі реакції імунофлуоресценції**.

Для постановки **прямі реакції** необхідні:

1. діагностична імунна сироватка, з'єднана (помічена флуоресцентним барвником, яким найчастіше є флюоресцеїнізотіоціанат (ФІТЦ));
2. досліджуваний матеріал (антиген);
3. люмінесцентний мікроскоп.

При утворенні комплексу антиген-антитіло в препараті в ультрафіолетових променях, що дає люмінесцентний мікроскоп, спостерігається яскраво-зелене світіння.

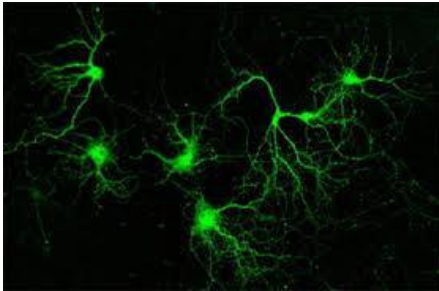
З метою запобігання виготовлення великої кількості імунолюмінесцентних сироваток для виявлення різноманітних антигенів використовують **непрямий метод РІФ**.

Для реакції необхідні:

1. діагностична імунна сироватка;
2. антивидова сироватка мічена флюоресцентним барвником;
3. досліджуваний матеріал (антиген);

Антивидова сироватка мічена флюоресцентним барвником містить антитіла до глобулінів того виду, яких використовували для отримання діагностичної імунної сироватки.

Цей метод більш досконалий тому, що дає можливість користуватись однією антиглобуліновою міченою сироваткою для визначення різноманітних антигенів.



Мікроскопічна картина РІФ



Люмінесцентний мікроскоп

Радіоімунний метод – РІА.

Для цього методу використовують стандартну кількість антисироватки проти досліджуваного антигену і стандартну кількість цього антигену, міченого радіонуклідом. 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 досліджуваному матеріалі, тим менша радіоактивність преципітату.

Результати РІА обчислюють за допомогою лічильників радіоактивності.

Для виявлення антитіл до досліджуваної сироватки додають певну кількість міченого антигену. Титр антитіл у сироватці визначають по зменшенню кількості вільного міченого антигену.

Для виявлення антигену до досліджуваного матеріалу додають специфічну імунну сироватку, а потім через певний час гомологічний мічений антиген. Якщо мічений антиген залишається вільним, то реакція вважається позитивною. І, навпаки, якщо кількість міченого антигену зменшується – то це свідчить про його взаємодію з імунною сироваткою. Така реакція вважається РІА дає можливість виявити в 1 мл досліджуваного матеріалу 10^{-9} – 10^{-12} г тестового складника.



Тест-система РІФ

Засвоїти етапи постановки полімеразної ланцюгової реакції.

Принцип реакції полягає в багатократному копіюванні (ампліфікації) специфічної ділянки ДНК або окремого гена за допомогою ферменту ДНК-полімерази.

Для проведення ПЛР потрібні праймери. Праймер – це штучно синтезовані короткі (5-20 нуклеотидів) одноланцюгові фрагменти ДНК, компліментарні 3' - 5' (тобто протилежним) кінцям нуклеотидної послідовності ДНК, яку треба виявити. Вони обмежують фрагмент ДНК, який ампліфікується, тобто копіюється мільйони разів у ході реакції. Праймери орієнтовані так, що добудова нового ланцюга ДНК відбувається тільки між ними. Реакція відбувається в реакційній суміші, до складу якої входять: буфер з іонами магнію, суміш нуклеотидів (дезоксирибонуклеотидфосфатів), фермент термостабільна ДНК – полімераза, суміш двох праймерів, дистильована вода та виділена зі збудника ДНК.

ПЛР останнім часом знаходить широке застосування, що пояснюється її перевагами перед іншими методами. ЛПР – високо специфічна (100%), високочутлива (дає змогу визначити збудник, якщо в патологічному матеріалі його знаходиться 1-10 клітин), при дослідженні може бути використаний будь-який патологічний матеріал (виділення чистої культури не обов'язкове), дає можливість діагностувати як маніфестну, так і латентну інфекцію, результат дослідження можна отримати протягом 4-8 год (одного робочого дня), досліджуваний матеріал може бути незаражений хімічним або термічним способами, що виключає інфікування персоналу в лабораторії, поста у виконанні. Водночас ЛПР потребує використання дуже дорогої спеціальної техніки, реагентів, відповідних приміщень, тому проводиться в спеціалізованих лабораторіях.

5. Ознайомитися з дотриманням вимог охорони праці в галузі, техніки безпеки, інфекційного контролю, чинних наказів МОЗ України під час роботи зі збудниками інфекцій, при роботі з біологічним матеріалом, електроапаратурою, деззасобами.

ПИТАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ

1. Які відмінності між вродженим і набутим імунітетом?
2. Які відмінності між специфічними і неспецифічними чинниками імунітету?
3. Імунна система організму, її особливості та функції.
4. Чому мікроорганізми називають антигенами?
6. Назвіть класи антитіл та їх відмінності.
7. Чому використовують серологічний метод діагностики та яке його значення?
8. Як отримати сироватку крові для серологічного дослідження?
9. Для чого визначають діагностичний титр?

ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ

1. Лаборант при використанні серологічного методу діагностики провів постановку реакції аглютинації. Скільки часу необхідно для проведення обліку та оцінки результатів?

- A. 1-3 хв
- B. 2-4 хв
- C. 3-5 хв
- D. 4-6 хв
- E. 5-7 хв

2. У людини імунodefіцитний стан проявляється у зниженій продукції антитіл. Дефект формування яких клітин можна запідозрити з найбільшою вірогідністю?

- A. Т-супресори

- В. Цитотоксичні Т-лімфоцити
- С. Нормальні кілери
- Д. Т-хелпери
- Е. Нейтрофіли

3. Імунна система людини складається із центральних та периферичних органів. Який із них відноситься до центральних і відповідає за проліферацію і дозрівання Т-лімфоцитів?

- А. Тимус
- В. Кістковий мозок
- С. Лімфатичні вузли
- Д. Селезінка
- Е. Песрові бляшки

4. Ідентифікація мікроорганізмів основана на визначенні комплексу властивостей. Які із них визначають за допомогою серологічних реакцій?

- А. Морфологічні
- В. Біохімічні
- С. Тинкторіальні
- Д. Антигенні
- Е. Патогенність

5. Для визначення видової належності культури мікроорганізмів застосовуються серологічні реакції. Які компоненти простої СР, поставленої з метою сероідентифікації?

- А. Імунна діагностична сироватка, культура мікроорганізмів
- В. Сироватка пацієнта, культура мікроорганізмів
- С. Сироватка пацієнта, імунна діагностична сироватка, культура мікроорганізмів
- Д. Кров пацієнта, імунна діагностична сироватка
- Е. Діагностикум, сироватка пацієнта

6. Спосіб захисту організму від тіл і речовин, які несуть на собі чужорідну генетичну інформацію:

- А. Імунодефіцитний стан
- В. Інфекція
- С. Імунітет
- Д. Алергія
- Е. Анафілаксія

7. За своєю природою антитіла – це:

- А. Ліпіди
- В. Імуноглобуліни
- С. Альбуміни
- Д. Полісахариди
- Е. Моносахариди

8. Метод лабораторної діагностики інфекційних хвороб, в основі якого лежить специфічна взаємодія антигена з антитілом *invitro*:

- А. Біохімічний
- В. Мікроскопічний
- С. Мікробіологічний

- D. Серологічний
- E. Шкірно-алергічна проба

9. Вкажіть, які з перерахованих реакцій використовуються для ідентифікації збудників:

- A. Розгорнута реакція аглютинації Відаля
- B. Реакція непрямой гемаглютинації
- C. Орієнтовна реакція аглютинації на склі
- D. Прискорена реакція аглютинації
- E. Антитільна O-аглютинація

СИТУАЦІЙНІ ЗАДАЧІ

1. У пацієнтки Л. після трансплантації печінки через 1,5 місяця погіршився стан внаслідок початку реакції відторгнення трансплантату. Який фактор імунної системи відіграє вирішальну роль в цій реакції?
2. З метою профілактики проводиться імунізація населення вакцинами, що супроводжується формуванням імунітету. Кооперативна взаємодія яких імунокомпетентних клітин необхідно для ефективного формування первинної імунної відповіді клітинного типу?
3. У серологічній лабораторії досліджується кров пацієнта з попереднім діагнозом: “черевний тиф”. Через який час від початку більшості інфекцій може бути ефективним серологічний метод діагностики інфекційних захворювань? Чому?
4. У пологовому будинку спалах кору. Материнські антитіла якого класу можуть забезпечити несприйнятливості немовляти до вірусу кору? Чому?
5. При негативному результаті бактеріологічного обстеження діагноз пацієнтові встановлюють за допомогою серологічного дослідження. Як називається серологічна реакція, у якій відбувається склеювання антигенів під впливом антитіл?

ПРАКТИЧНЕ ЗАНЯТТЯ №5

Тема: «МЕТОДИ АЛЕРГОДІАГНОСТИКИ. ВАКЦИНИ. СИРОВАТКИ»

Актуальність теми: методи алергодіагностики дозволяють виявляти підвищену чутливість організму до різних алергенів, що є критичним для діагностики алергічних захворювань та вибору ефективної тактики лікування. Вакцини відіграють провідну роль у профілактиці інфекційних захворювань, формуючи імунітет проти конкретних збудників і знижуючи ризик епідемій. Своєчасна імунізація населення є основою контролю за поширенням небезпечних інфекцій. Сироватки, як готові препарати антитіл, використовуються для пасивної імунізації, що забезпечує швидкий імунний захист у випадках гострих інфекцій. Таким чином, засвоєння цих методів є надзвичайно важливим для медичного персоналу, оскільки дозволяє ефективно діагностувати алергічні стани, запобігати розвитку інфекцій та надавати своєчасну допомогу при гострих станах, підвищуючи якість медичної допомоги.

Мета: ознайомитись з різними видами бактерійних препаратів: вакцинами, сироватками, імуноглобулінами, діагностикумами; їх застосуванням в медицині.

Матеріальне забезпечення: вакцини, діагностикуми, діагностичні імунні сироватки, лікувально-профілактичні імунні сироватки. Таблиці.

Конкретні цілі:

знати:	вміти:
<ul style="list-style-type: none">• специфічну імунопрофілактику; вакцини, їх види, отримання та застосування;	<ul style="list-style-type: none">• застосовувати препарати для специфічної імунопрофілактики;
<ul style="list-style-type: none">• специфічну імунотерапію; види сироваток, їх отримання, застосування;	<ul style="list-style-type: none">• застосовувати препарати для специфічного лікування;
<ul style="list-style-type: none">• алергію, види алергічних реакцій;	<ul style="list-style-type: none">• зберігати імунобіологічні препарати, їх характеризувати;
<ul style="list-style-type: none">• алергени; методи алергодіагностики;	<ul style="list-style-type: none">• дотримуватись вимог охорони праці в галузі, техніки безпеки, особистої гігієни, інфекційного контролю, чинних наказів МОЗ України під час роботи з препаратами. Дотримання вимог календаря щеплень.

ЗМІСТ ЗАНЯТТЯ

Імунізація – це введення препаратів для створення штучного активного імунітету, проводиться в певні терміни протягом життя людини.

Вакцини – препарати, отримані з мікроорганізмів або продуктів їх життєдіяльності, їх синтетичні чи генно-інженерні аналоги, що застосовуються для активної імунізації людей і тварин з метою специфічної профілактики або лікування інфекційних захворювань. Сьогодні вакцини використовують також для профілактики та терапії пухлин, алергій, вторинних імунодефіцитів, деяких соматичних захворювань.

Вакцини вводять в організм нашкірно, підшкірно, внутрішньошкірно, через рот, інтраназально і т.д. Через певний проміжок часу (від кількох діб до кількох тижнів) створюється активний імунітет.

Вакцини умовно можна поділити на чотири покоління.

Перше покоління – це вакцини з цілих мікроорганізмів. Вони поділяються на живі вакцини та інактивовані вакцини, отримані з цільних мікроорганізмів.

Вакцини другого покоління одержують з очищених антигенних компонентів мікроорганізмів. До цього покоління належать хімічні вакцини, при виготовленні яких антигенні комплекси

вилучаються з мікробів хімічним шляхом (у вірусів вони називаються субодиночними – вилучають субодиночні вірусні білки). Близькими до хімічних вакцин є анатоксини, отримані з екзотоксинів збудників.

До третього покоління належать генно-інженерні або рекомбінантні вакцини. Генноінженерні вакцини поділяють на вакцини очищених рекомбінантних антигенів і живі векторні вакцини – коли потрібний ген, що відповідає за синтез певного протективного антигену, вводять у живий вектор (наприклад, непатогенний вірус), який розмножується у вакцинованому організмі.

Вакцини четвертого покоління – це вакцини, які сьогодні тільки входять у практику, конструюються на основі новітніх технологій і наукових знань. До таких вакцин належать синтетичні вакцини, ліпосомальні та мікрокапсулярні вакцини, мукозальні вакцини, антиідіотипові вакцини, ДНК- і РНК- вакцини, а також так звані «їстівні вакцини», отримані з трансгенних рослин.

Вакцинація населення в нашій країні регламентується санітарним законодавством і здійснюється медичними закладами в плановому порядку.

Планову вакцинацію дітей і дорослих проводять у терміни, передбачені календарем щеплень.

Імунізацію населення здійснюють у спеціальних кабінетах профілактичних щеплень, які розміщуються в поліклініках, дошкільних закладах і школах. У кожному кабінеті повинні бути холодильник для зберігання імунологічних препаратів, стіл, кушетка, шафа для інструментів, шафа з медикаментами для першої допомоги при виникненні післявакцинальних реакцій.

До проведення щеплень допускаються спеціально підготовлені медичні працівники, які ознайомлені з інструкціями із застосування вакцин, технікою їх введення, порядком надання першої допомоги при необхідності. Імунізація проводиться під керівництвом лікаря. Усі вакцини необхідно вводити в організм із дотриманням правил асептики й антисептики. Дільнична медична сестра щомісячно відбирає дітей, яких потрібно імунізувати в наступному місяці, з врахуванням існуючого календаря щеплень. Вакцинацію проводять з урахуванням епідемічної ситуації і медичних протипоказань.

До протипоказань належать: гострі запальні захворювання, недавно перенесені гострі інфекції, хронічні інфекції (туберкульоз, малярія), вади серця, тяжкі ураження внутрішніх органів, друга половина вагітності, перші місяці годування груддю, алергічні стани.

Сироватки – це препарати, які містять готові антитіла проти певного виду антигена, застосовуються для створення штучного пасивного імунітету. Сироваткові препарати одержують шляхом імунізації лабораторних тварин відповідними антигенами, переважно коней.

Сироваткові препарати можуть застосовуватись для діагностики - **для ідентифікації** антигенів в певних серологічних реакціях та **для терапії і профілактики (серотерапія, серопротекція)**.

Сироватки поділяють на лікувальні й профілактичні, на анитоксичні й антибактеріальні.

Для екстреної профілактики та лікування використовується протиправцева, протидифтерійна, протигангренозна, протиботулінічна сироватки.

Препарати одержані з крові коней містять чужорідні для людини білки, які при повторному введенні можуть викликати алергічні реакції: сироваткову хворобу або анафілактичний шок. Для запобігання ускладнень сироваткові препарати слід вводити обережно за методом **Безредки**.



МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ

НАКАЗ

16.09.2011

N 595

м.Київ

**Про порядок проведення
профілактичних щеплень в Україні та
контроль якості й обігу медичних
імунобіологічних препаратів**

Відповідно до статті 27 Закону України "Про забезпечення санітарного та епідемічного благополуччя населення", статей 1, 12 та 13 Закону України "Про захист населення від інфекційних хвороб" та Закону України „Про затвердження Загальнодержавної програми імунопрофілактики та захисту населення від інфекційних хвороб на 2009-2015 роки", з метою забезпечення епідемічного благополуччя населення України та попередження інфекцій, керованих засобами специфічної профілактики,

НАКАЗУЮ:

1. Затвердити:

1.1. Календар профілактичних щеплень в Україні (додається).

1.2. Положення про організацію і проведення профілактичних щеплень та туберкулінодіагностики (додається).

1.3. Перелік медичних протипоказань до проведення профілактичних щеплень (додається).

1.4. Інструкцію щодо організації епідеміологічного нагляду за несприятливими подіями після імунізації при застосуванні вакцин, анатоксинів та алергену туберкульозного (додається).

1.5. Положення про оперативне реагування на несприятливі події після імунізації при застосуванні вакцин, анатоксинів та алергену туберкульозного у разі госпіталізації або летального випадку (додається).

1.6. Положення про групу оперативного реагування на несприятливі події після імунізації при застосуванні вакцин, анатоксинів та алергену туберкульозного у разі госпіталізації або летального випадку (додається).

1.7. Порядок відпуску громадянам вакцин та анатоксинів через аптечну мережу (додається).

1.8. Порядок забезпечення належних умов зберігання, транспортування, приймання та обліку вакцин, анатоксинів та алергену туберкульозного в Україні (додається).

2. Міністру охорони здоров'я Автономної Республіки Крим, начальникам управлінь (головних управлінь) охорони здоров'я обласних, Київської та Севастопольської міських державних адміністрацій, головним державним санітарним лікарям Автономної Республіки Крим, областей, міст Києва та Севастополя, на залізничному, повітряному та водному транспорті забезпечити неухильне проведення на підпорядкованих адміністративних територіях профілактичних щеплень та туберкулінодіагностики відповідно до затверджених цим наказом актів та належний їх облік у закладах охорони здоров'я.

3. Визнати такими, що втратили чинність, накази МОЗ України від 03.02.2006 № 48 „Про порядок проведення профілактичних щеплень в Україні та контроль якості й обігу медичних імунобіологічних препаратів”, зареєстрований у Міністерстві юстиції України 02.06.2006 за № 665/12539, від 17.04.2008 № 207 "Про затвердження змін до наказу МОЗ України від 03.02.2006 № 48", зареєстрований у Міністерстві юстиції України 17.05.2008 за № 427/15118, та від 19.05.2011 № 296 "Про внесення змін до наказу МОЗ України від 03.02.2006 № 48", зареєстрований у Міністерстві юстиції України 19.05.2011 за № 601/19339.

4. Управлінню громадського здоров'я та санітарно-епідемічного благополуччя населення Департаменту контролю якості медичних послуг, регуляторної політики та санітарно-епідемічного благополуччя забезпечити подання цього наказу в установленому порядку на державну реєстрацію до Міністерства юстиції України.

5. Цей наказ набирає чинності з дня його офіційного опублікування.

6. Контроль за виконанням цього наказу покласти на першого заступника Міністра Моїсеєнко Р.О. та Голову Державної санітарно-епідеміологічної служби України Пономаренка А. М.

Міністр охорони здоров'я України

О.В. Аніщенко

Календар щеплень

Порядок проведення щеплень

1. Щеплення за віком

Вік	Щеплення проти					
1 день		Гепатиту В ²				
3-5 днів	Туберкульоз у ¹					
1 міс.		Гепатиту В ²				
3 міс.			Дифтерії, кашлюку, правця ³	Поліомієліту ⁴	Гемофільної інфекції ⁵	
4 міс.			Дифтерії, кашлюку, правця ³	Поліомієліту ⁴	Гемофільної інфекції ⁵	
5 міс.			Дифтерії, кашлюку, правця ³	Поліомієліту ⁴		
6 міс.		Гепатиту В ²				
12 міс.						Кору, краснухи, паротиту ⁶
18 міс.			Дифтерії, кашлюку, правця ³	Поліо- мієліту ⁴	Гемофільної інфекції ⁵	
6 років			Дифтерії, правця ³	Поліо- мієліту ⁴		Кору, краснух, паротиту ⁶
7 років	Туберкульоз у ¹					

14 років			Дифтерії, правця ³	Поліо- мієліту ⁴		
18 років			Дифтерії, правця ³			
23 роки			Дифтерії ³			
28 років			Дифтерії, правця ³ (надалі - кожні 10 років)			

Щепленню підлягають усі новонароджені, що не мають до цього протипоказань. Вакцинація проводиться на 3-5-у добу життя дитини (не раніше 48-ї години після народження). Для вакцинації недоношених дітей з масою тіла ≥ 2000 г необхідно застосовувати вакцину для профілактики туберкульозу із зменшеним вмістом антигену (далі – БЦЖ-м).

Щеплення для профілактики туберкульозу не проводять в один день з іншими щепленнями та іншими парентеральними маніпуляціями.

Для концентрації антитіл в меншому об'ємі препарату розроблено методи виділення з сироватки крові **гама-глобулінів**, що містять антитіла. Такі препарати називають **імуноглобулінами**. Їх готують з сироватки людини (гомологічні) і тварин (гетерологічні). Ефективність імуноглобулінів набагато вища, а ускладнень – значно менше.

Сировиною для приготування нормального імуноглобуліна людини можуть бути плазма крові донорів або сироватка плацентарної крові. Використання нормального імуноглобуліна людини для екстреної профілактики і лікування кору, коклюшу, менінгококової інфекції, поліомієліту, скарлатини зумовлено наявністю антитіл проти відповідних збудників в крові дорослих людей.

Від спеціально імунізованих донорів отримують сироватку крові для приготування імуноглобулінів цілеспрямованої дії для екстреної профілактики й лікування правця, кліщового енцефаліту, грипу, стафілококової інфекції та інш.

Алергія – явище зміненого стану організму, що розвивається у відповідь на дію певних речовин – алергенів і є передумовою для виникнення імунопатологічних процесів. Стан алергії виникає внаслідок сенсibiliзації, тобто змін імунної системи, викликаних при першій зустрічі з ним макроорганізму. При повторному контакті з тим самим алергеном стан алергії може призвести до розвитку алергічних процесів, тобто алергічні реакції розвиваються в сенсibiliзованому організмі.

Ряд проявів сенсibiliзації та розвитку алергічних реакцій зв'язана з імуноглобулінами класу E (Ig E).

Алергени – це антигени, які здатні викликати розвиток алергічних реакцій. Алергени можуть бути тваринного походження, рослинного походження, побутові алергени, промислові алергени, грибкові алергени, мікробні алергени та ін.

За механізмом розвитку можна виділити **4 типи алергічних реакцій**:

1. Реакції пов'язані з Ig E (анафілактичні): анафілактичний шок, кон'юнктивіти, екзема, бронхіальна астма, риніти.

2. Гуморальні цитотоксичні імунні реакції, зумовлені Ig G та комплементом: тромбоцитопенія, лейкопенія, гемолітична анемія.

3. Реакції, пов'язані з утворенням імунних комплексів: сироваткова хвороба, артралгії.

4. Патологічні імунні реакції, пов'язані з T-лімфоцитами (реакції повільного типу): реакція Манту, феномен Артюса, набряк Квінке.

ЗАВДАННЯ ДЛЯ ПРАКТИЧНОЇ РОБОТИ

1. Ознайомитись з різними видами вакцин (вбитих, хімічних, живих, анатоксинів), способами їх виготовлення.
2. Ознайомитись із виготовленням та застосуванням автовакцини.
3. Ознайомитись із готовими заводськими препаратами імунних сироваток (лікувальних, профілактичних, діагностичних).
4. Ознайомитись з мікробними алергенами і способами їх виготовлення та методами алергодіагностики.
5. Ознайомитися з дотриманням вимог охорони праці в галузі, техніки безпеки, особистої гігієни, інфекційного контролю, чинних наказів МОЗ України під час роботи з препаратами. Дотримання вимог календаря щеплень.

ХІД ВИКОНАННЯ ПРАКТИЧНОГО ЗАНЯТТЯ

1. Ознайомитись з різними видами вакцин (вбитих, хімічних, живих, анатоксинів), способами їх виготовлення.

Вивчити інформацію на етикетці: найменування виробника вакцини, дату виготовлення, термін придатності, № серії, № флакона, № держконтролю.

Вивчити інструкцію до препарату, звернувши увагу на форму затвердження, на показники непридатності препаратів: пошкодження цілості, прилипання сухих вакцин до стінки пробірки й ін.



2. Ознайомитись із виготовленням та застосуванням автовакцини.

Автовакцина – це вакцина виготовлена із штаму збудника, виділеного від пацієнта і застосовується для вакцинотерапії цього ж пацієнта.

- 1- Забрати патологічний матеріал, провести посів на поживні середовища для виділення чистої культури.
- 2- Перевірити чистоту виділеної культури: виготовити мазок, зафарбувати за методом Грама, промікроскопувати (в препараті повинні бути морфологічно однорідні мікроорганізми).
- 3- Приготувати завісину бактерій: для чого стерильною піпеткою внести 3-5 мл стерильного фізіологічного розчину в пробірку з чистою культурою. Посів змити, обертаючи пробірку між долонями. Після чого завісину відсмоктати в стерильну пробірку (дотримуючись правил роботи з мікробними культурами).
- 4- Знешкодити мікробну завісину нагріванням на водяному нагрівачі при температурі 56-60° протягом 0,5-1 години.
- 5- Перевірити ефективність знешкодження шляхом посіву на МПА і МПБ. Посіви витримують у термостаті 5 діб.
- 6- Визначити оптичну кількість клітин у завісині за стандартом мутності. Для чого в стерильну пробірку налити 1 мл маточної завісини й додавати фізіологічний розчин до тих пір, поки мутність у досліді не буде відповідати стандарту. Відмітити кількість використаного фізіологічного розчину. Ступінь мутності порівняти на фоні друкованого шрифту (10 ОД

мутності відповідає 1 млрд мікробних тіл).

Приклад: до 1 мл маточної завісини додано 3,5 фізіологічного розчину - мутність дорівнювала 10 ОД.

Отже, в 1 мл маточної завісини міститься 1+3,5 млрд мікробних тіл.

- 7- Розрахувати, скільки вакцини густотою 0,5 млрд можна приготувати із маточної завісини, яка залишилася.
- 8- Розрахувати кількість консерванту (карболової кислоти), із розрахунку 0,25%.
- 9- Розлити вакцину в стерильні ампули по 1 мл і запаяти.
- 10- Перевірити стерильність виготовленої автовакцини (методом посіву 1 ампули з кожних 100 штук на МПА і МПБ в об'ємі 0,5 мл -37° С, 5 діб).
- 11- Перевірити нешкідливість вакцини (вміст ампули ввести білим мишам внутрішньочеревно, вони не повинні загинути). Перевірити ефективність вакцини (на лабораторних тваринах).



Автовакцини

3. Ознайомитись із готовими заводськими препаратами імунних сироваток (лікувальних, профілактичних, діагностичних):

- а) вивчити інформацію на етикетці: виготівник, назву сироватки, дату виготовлення, термін зберігання, № держконтролю, одиниці вимірювання.
- в) описати колір, консистенцію.
- с) вивчити інструкцію до препарату, звернувши увагу на форму затвердження, на спосіб вживання, на наявність ознак, які вказують на непридатність препарату до використання.

4. Ознайомитись з мікробними алергенами і способами їх виготовлення та методами алергодіагностики.

- а) вивчити інформацію на етикетці: виготівник, назву алергена, дату виготовлення, термін зберігання, № держконтролю.
- б) вивчити інструкцію до препарату, звернувши увагу на форму затвердження, на спосіб вживання, на наявність ознак, які вказують на непридатність препарату до використання.

Алергодіагностика - це комплекс досліджень, спрямованих на підтвердження стану алергії і виявлення причин її розвитку.

До методів алергодіагностики відносяться алергологічний анамнез, алергологічні проби (шкірні, провокаційні, елімінаційні) і алергодіагностику in vitro.

Алергологічний анамнез передбачає виявлення скарг, характерних для алергічних хвороб, встановлення алергічних захворювань в минулому в пацієнта або в його родичів, виявлення реакції на введення медикаментів, вплив клімату, погоди, фізіологічного стану організму та ін. Дає можливість виявлення наявності алергічного захворювання у пацієнта і окреслити коло алергенів, що

його викликають.

Алергічні проби in vivo:

Шкірні алергічні проби передбачають внутрішньошкірне чи наскірне введення алергенів. Для постановки внутрішньошкірних проб необхідна доза алергену вводиться в об'ємі від 0,05 до 0,1 мл.

Обов'язково вводиться контрольна рідина (розчинник для алергену).

Реакція негайного типу проявляється через 10-15 хвилин після введення з утворенням запального елемента типу кропивниці і зникає через 3-4 години.

Алергічна реакція, що перебігає з утворенням імунних комплексів, проявляється через 3-4 години і зникає через 24 години. Такі реакції характерні для багатьох бактеріальних та грибкових алергенів.

Реакції повільного типу проявляються почервонінням та інфільтрацією шкіри через 24-48 годин після введення алергенів.

При наскірному (аплікаційному) способі постановки проби алерген наносять на непошкоджену або злегка скарифіковану шкіру.

Провокаційні проби використовуються в тих випадках, коли результати алергологічного анамнезу не співпадають з результатами діагностичних шкірних проб. Вони основані на штучному викликанні симптомів алергічного захворювання. При цьому вводиться мінімальна доза алергену різними методами: назально, орально, в кон'юнктиву.



Алергічні проби in vivo

Елімінаційні проби передбачають виключення передбачуваних алергенів з навколишнього оточення, одяжі, їжі пацієнта, усунення професійних чинників. Їх ставлять для діагностики харчових алергій.

Алергодіагностика in vitro: передбачає виявлення специфічних антитіл, що належать до Ig E, або виявлення сенсibiliзованих клітин.

Точним і достовірним методом визначення Ig є радіоімунний метод, який ділиться на конкурентний і неконкурентний.



Алергодіагностика in vitro

5 .Ознайомитися з дотриманням вимог охорони праці в галузі, техніки безпеки, особистої гігієни, інфекційного контролю, чинних наказів МОЗ України під час роботи з препаратами. Дотримання вимог календаря щеплень.

ПИТАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ

1. Чим зумовлений імунітет?
2. Чому використовують вакцини? Що вони містять?
3. Які ви знаєте сучасні вакцини, як їх одержують?
4. В яких випадках вакцини використовують для лікування?
5. З якою метою використовують автовакцини, що вони містять?
6. Які ви знаєте сироватки, що вони містять, з якою метою їх використовують?
7. Чим відрізняються від сироваток гама - глобуліни, їх види, застосування в практиці?
8. Чому виникають алергічні реакції? Їх види? Як їм запобігти?
9. Які є методи алергодіагностики?

ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ

1. *Хто вперше отримав живу вакцину?*
 - A. Кох
 - B. Пастер
 - C. Мечніков
 - D. Дженнер
 - E. Рамон
2. *Як була отримана вакцина БЦЖ?*
 - A. На нечутливих тваринах
 - B. Хімічним шляхом
 - C. На картопляно-гліцериновому середовищі зі жовчю
 - D. Дією на вакцинний штам підвищеної температури
 - E. На середовищі Левенштейна-Йенсена
3. *Хто вперше отримав анатоксин?*
 - A. Пастер
 - B. Рамон
 - C. Кох
 - D. Чумаков
 - E. Кальметт
4. *Що таке вакцини?*
 - A. Антисептики
 - B. Антибіотики
 - C. Препарати, що вміщують антитіла
 - D. Еубіотики
 - E. Антигенні препарати
5. *Як створити штучний пасивний імунітет?*
 - A. Ввести імуноглобулін
 - B. Ввести живу вакцину
 - C. Лікувати антибіотиками

- D. Ввести анатоксин
E. Ввести імунні діагностичну сироватку
6. Який імунітет формується після введення інактивованої вакцини?
A. Загальний і місцевий
B. Загальний
C. Місцевий
D. Клітинний
E. Антитоксичний
7. Яку серологічну реакцію використовують для визначення сили анатоксину?
A. Аглютинації
B. Флокуляції
C. Непрямої гемаглютинації
D. Зв'язування комплементу
E. Лізису
8. Які вакцини використовуються не стерильними?
A. Хімічні
B. Генно-інженерні
C. Анатоксини
D. Живі
E. Інактивовані
9. З якою метою використовують імунні діагностичні сироватки?
A. Для серологічної ідентифікації чистої культури бактерій
B. Для профілактики інфекційних захворювань
C. Для серологічної діагностики інфекційних захворювань
D. Для створення штучного пасивного імунітету
E. Для лікування хронічних хворих
10. Який метод контролю вакцинних препаратів не використовують?
A. На стерильність
B. На відсутність шкідливості
C. Визначення антимікробної активності
D. Здатність викликати антитілоутворення
E. На онкогенність

СИТУАЦІЙНІ ЗАДАЧІ

1. Дитині 6 міс. ввели вакцину АКДП внутрішньом'язово. Через 5 годин у дитини різко зблідли шкірні покриви, з'явився ціаноз, знизився АТ, частий малий пульс, неспокій, похолодання кінцівок, судоми, втрата свідомості. Про що слід думати? Який це тип алергічної реакції?
2. Пацієнту з діагнозом: лептоспіроз з лікувальною метою ввели лептоспірозний імуноглобулін. Який вид імунітету у нього створюється? Як називається такий вид лікування?
3. Після автокатастрофи пацієнту була введена протиправцева сироватка. На 8-му добу у потерпілого підвищилась температура тіла, з'явився висип на шкірі за типом кропивниці, виник свербіж, болі у суглобах. Що зумовило такий стан пацієнта?
4. В травматологічному відділенні хворому зробили первинну хірургічну обробку рани. і Який препарат необхідно ввести пацієнтові для створення штучного пасивного імунітету в організмі? Чому?

5. Єдиним препаратом, який дозволяє успішно лікувати такі токсикоінфекції, як дифтерія, правець, ботулізм тощо, є антитоксичні сироватки. Який метод, який дозволяє одержати такі сироватки?

САМОСТІЙНА РОБОТА №1

Тема: «ВНЕСОК ВІТЧИЗНЯНИХ ВЧЕНИХ В РОЗВИТОК МЕДИЧНОЇ МІКРОБІОЛОГІЇ, ІМУНОЛОГІЇ, ВІРУСОЛОГІЇ»

Актуальність: медична мікробіологія, вірусологія та імунологія відіграють ключову роль у вирішенні сучасних викликів у сфері охорони здоров'я, таких як боротьба з інфекційними хворобами, розробка вакцин, антимікробних препаратів та імунотерапій. Вітчизняні вчені зробили вагомий внесок у розвиток цих галузей, заклавши основи для подальших наукових досягнень. Сучасні науковці України продовжують розвивати ці напрями, впроваджуючи новітні технології, такі як нанотехнології, молекулярна діагностика та біоінженерія, у мікробіологічну та імунологічну практику. Це не лише підвищує рівень медицини в Україні, але й забезпечує конкурентоспроможність української науки на міжнародному рівні. Таким чином, вивчення та популяризація досягнень вітчизняних учених у мікробіології, вірусології та імунології є важливим не лише для історичного та наукового аналізу, а й для майбутнього розвитку медичної науки.

Завдання №1. Заповніть таблицю.

Ім'я вченого	Коротка біографія вченого	Внесок у мікробіологію, імунологію, вірусологію
 Ілля Ілліч Мечников (1845-1916)		
 Данило Кирилович Заболотний (1866-1929)		
 Сергій Миколайович Виноградський (1856-1953)		



**Дмитро Йосипович
Івановський
(1866-1934)**

Сучасні мікробіологи



Олена Мошинець

**Ірина Василівна
Тимчук**

Доцентка кафедри мікробіології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, кандидатка медичних наук, спеціалістка в галузі клінічної мікробіології та антибіотикорезистентності

**Людмила В'ячеславівна
Титова**

Кандидатка біологічних наук, старша наукова співробітниця відділу загальної та ґрунтової мікробіології Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України, лауреатка Національної премії України ім. Бориса Патона.

**Тарас Богданович
Перетятко**

Доцент кафедри мікробіології біологічного факультету Львівського національного університету імені Івана Франка, учасник команди 28-ї УАЕ (2023-2024 рр.).

Завдання № 2. Напишіть яких ви знаєте інших сучасних видатних мікробіологів:

ПИТАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ

I. Доповніть речення:

1. Це ім'я стоїть поряд з іменами Пастера та Коха, він відкрив сірко-залізобактерії, нітрифікуючі та азотфікуючі мікроби – це _____

2. І.І. Мечніков висунув концепції фагоцитарної та гуморальної теорії за що відзначений _____

3. Провів героїчний досвід самозараження холерним вібрионом вчений _____

II. Поясніть та охарактеризуйте:

1. Чому І.І.Мечнікова вважають видатним українським мікробіологом?

2. Хто продовжив очолювати Інститут мікробіології ім. Пастера у Парижі після його смерті ?

3. Хто продовжив наукові праці про щеплення Д. К. Заболотного?

4. Поясніть, завдяки чому видатний український вчений став засновником вірусології.

САМОСТІЙНА РОБОТА №2

Тема: «ОСОБЛИВОСТІ ЗАБОРУ, ТРАНСПОРТУВАННЯ МАТЕРІАЛУ ПРИ ІНФЕКЦІЙНИХ ЗАХВОРЮВАННЯХ»

Актуальність: забір та транспортування біологічного матеріалу є одними з найважливіших етапів у діагностиці інфекційних захворювань, адже точність та своєчасність проведення лабораторних досліджень безпосередньо залежить від правильного збору, зберігання та транспортування зразків. Невірно або неякісно зібраний матеріал може призвести до помилкових результатів, що у свою чергу ускладнює діагностику та ефективність лікування хворого.

Особливості збору біологічного матеріалу варіюються залежно від типу інфекційного агента, зокрема, бактерії, віруси, гриби чи паразити. Для кожного з них існують специфічні вимоги до типу контейнера, засобів для збору, методів зберігання та транспортування. Наприклад, при бактеріальних інфекціях матеріал зазвичай забирають за допомогою стерильних тампонів, а для вірусних інфекцій часто використовуються спеціальні транспортні середовища, які дозволяють зберігати активність збудника до моменту аналізу.

Правильне транспортування біологічного матеріалу є не менш важливим етапом, оскільки деякі мікроорганізми можуть загинути або змінити свої властивості під час неправильного зберігання, що ускладнює точне визначення збудника інфекції. Використання спеціальних охолоджуваних контейнерів, зберігання зразків при певних температурних режимах є важливими умовами для збереження їх життєздатності.

Тому вивчення та оптимізація процедур збору і транспортування біологічного матеріалу має велике значення для забезпечення ефективної діагностики та лікування інфекційних захворювань. Це сприяє не лише підвищенню точності результатів лабораторних досліджень, але й своєчасному виявленню захворювань, що, в свою чергу, знижує рівень захворюваності та смертності.

Завдання №1. Засвоїти правила збору біологічного матеріалу.

Забирати матеріал необхідно до початку антибіотикотерапії, або через певний час, необхідний для виведення антибіотика з організму (як правило через 8-10 годин).

При зборі матеріалу, зберіганні, транспортуванні в лабораторію необхідно строго дотримуватись правил безпеки, інфекційного контролю.

Доставлення матеріалу повинна проводитись в максимально короткий термін – від цього залежить ефективність мікробіологічного дослідження. Доставляють матеріал в спеціальних біксах, пеналах, металевих контейнерах. При транспортуванні оберігають матеріал від дії світла, тепла, холоду, механічних ушкоджень.

Клінічний матеріал необхідно супроводжувати направленням-скеруванням, що містить дані, необхідні для мікробіологічного дослідження: прізвище, ім'я та по батькові пацієнта, вік, клініка, № палати, № історії хвороби, домашня адреса, вид матеріалу, дата збору матеріалу (день і час), попередній клінічний діагноз, мета і методи дослідження, підпис лікаря.

Матеріал для бактеріологічного дослідження слід забирати в стерильний лабораторний посуд.

Досліджуваний матеріал: кров, гній, ексудат, рановий вміст, некротичні маси і ін. з відкритих вогнищ забирають тампоном, і відразу ж скеровують у лабораторію. Із закритих вогнищ – забирають стерильним шприцом дотримуючись правил асептики.

Харкотиння збирають зранку, натще у стерильний посуд (плювальницю, яка заповнена 10 мл стерильної води чи гідрокарбонату натрію). Забір проводять до початку лікування.

Завдання № 2. Яким повинен бути посуд для збору біологічного матеріалу?

Завдання № 3. Розгляньте та оберіть посуд який необхідно використати для забору харкотиння. Чому?



1.



2.

Завдання № 4. Проведіть забір біологічного матеріалу: сеча, кров, харкотиння для мікроскопічного дослідження на муляжах.

ПИТАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ

I. Доповніть речення:

1. При заборі біологічного матеріалу пацієнта необхідно повідомити про _____

2. Медичний фахівець при виконанні маніпуляцій пацієнтові повинен дотримуватись _____

3. В скеруванні яке супроводжує біологічний матеріал необхідно вказувати _____

II. Поясніть та охарактеризуйте:

1. Для чого необхідно обробляти посуд дезінфікуючими розчинами для взяття біологічного матеріалу?
2. Охарактеризуйте роль медичної сестри, акушерки, асистента стоматолога у діагностиці інфекційного захворювання (правильного взяття матеріалу для досліджень).
3. На Вашу думку, чому медичний фахівець повинен захистити себе та дотримуватись відповідних правил під час проведення маніпуляцій по заборі біологічного матеріалу?

САМОСТІЙНА РОБОТА №3

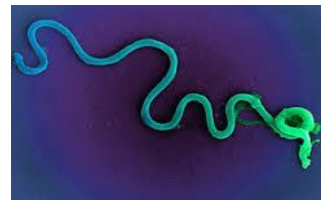
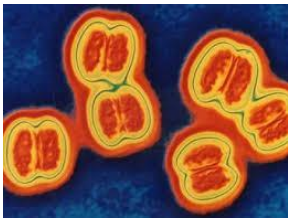
Тема: «МІКРОСКОПІЯ МАЗКІВ З РІЗНИМИ МОРФОЛОГІЧНИМИ ГРУПАМИ МІКРООРГАНІЗМІВ»

Актуальність: мікроскопія мазків є важливим методом діагностики інфекційних захворювань, що дозволяє швидко виявити різні морфологічні групи мікроорганізмів. Для бактерій визначають форму та розташування клітин, а також Грам-фарбування, що допомагає диференціювати грампозитивні та грамнегативні бактерії. Гриби вивчають за їх гіфами та спорами, а віруси за допомогою електронної мікроскопії. Мікроскопія мазків дозволяє швидко отримати важливу інформацію для початку лікування, що робить її незамінним інструментом у мікробіологічній практиці.

Завдання № 1. Назвіть основні форми бактерій.

1. _____
2. _____
3. _____
4. _____

Завдання № 2 Підпишіть які форми бактерій зображені на малюнку:



1. _____
2. _____
3. _____
4. _____

Завдання № 3. Промікроскопуйте мазки-препарати з різними формами бактерій з використанням імерсійної системи.

ПИТАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ

I. Доповніть речення:

1. При мікроскопії мазків в імерсійній системі використовують об'єктив із збільшенням _____ конденсор при цьому _____
2. Бактерії які розташовуються у вигляді блоків по 16; 32; 64 називають _____
3. При мікроскопії на світловому мікроскопі при штучному освітленні використовують _____ дзеркало, тому що _____

II. Поясніть та охарактеризуйте:

1. Для чого в мікробіологічних лабораторіях проводять мікроскопію мазків?
2. Поясніть для чого використовують реактив толуол?
3. Охарактеризуйте мікроскопію мазків при використанні світлового мікроскопа при природному освітленні.
4. Дайте опис світлового мікроскопа з яким закінчили працювати.

САМОСТІЙНА РОБОТА №4

Тема: «ЗАБІР ЗМИВІВ З ОБ'ЄКТІВ ДОВКІЛЛЯ, ПРОБ ВОДИ, ПОВІТРЯ»

Актуальність: забір змивів з об'єктів довкілля, а також проб води та повітря є важливими для виявлення мікроорганізмів, що можуть спричиняти захворювання або вказувати на забруднення. Це необхідно для моніторингу екологічної безпеки та попередження спалахів інфекцій, пов'язаних із водою та повітрям. Правильний забір і транспортування проб забезпечують точність результатів і важливі для моніторингу інфекційних захворювань, а також їх попередження.

Завдання № 1. Засвоїти правила відбору проб з об'єктів довкілля для мікробіологічних досліджень

Дослідженню підлягає вода:

1. центрального водопостачання;
2. із колодязів різного типу;
3. відкритих водоймищ (рік, озер, ставків, морів);
4. плавальних басейнів;
5. стічна вода.

Санітарно-показовим мікроорганізмом для води є кишкова паличка - *Escherichia coli*.

Для забору проб водопровідної води використовують стерильні флакони (місткістю 500 мл).

а) *відбір проб води з систем централізованого водопостачання:* для забору проб водопровідної води використовують стерильні флакони ємкістю 500 мл, які закриті ватно-марлевими корками і накриті паперовими ковпачками. Кран обпалюють тампоном, який змочений в спирті. Після цього воду спускають протягом 10-15 хвилин і набирають в флакони. Заповнені флакони закривають стерильними корками.

б) *з відкритих водоймищ:* з відкритих водоймищ воду забирають за допомогою батометрів. Пробу води рекомендовано брати на глибині 10-15 см від поверхні й на віддалі 1,5 м від берега в кількості 1 л. Відібравши проби води, оформляється скерування, в якому вказують:

1. Назву проби (вода)
2. Місце взяття проби й номер.
3. Дата (рік, місяць, число, година).
4. Мета дослідження.
5. Куди скеровується проба для дослідження.
6. Підпис особи, яка відбрала пробу.



Зонд-тампони (Сваби) з транспортним середовищем

Транспортування відібраних проб завжди проводиться при 6-8 °С, щоб не було розмноження і загибелі мікроорганізмів.

Бактеріологічне дослідження повинно проводитись не пізніше 3-6 годин від моменту відбору проби для дослідження.

Оцінку чистоти повітря закритих приміщень проводять на основі визначення загальної кількості мікробів (ЗМЧ) в 1 м³ і наявності санітарно-показових бактерій - гемофільних бактерій і золотистих стафілококів.

Особливо важливий контроль за мікробним забрудненням повітря у хірургічних, акушерських та дитячих стаціонарах, де виникнення госпітальних інфекцій найбільш небезпечно.

Відбір проб повітря для санітарно-бактеріологічного дослідження проводять *седиментаційним* та *аспіраційним* методами.

Відібравши проби повітря, оформляється скерування в санітарно-бактеріологічну лабораторію, в якій вказують:

- назву проби;
- місце взяття проби і номер;
- дата (рік, місяць, число, година);
- мета дослідження;
- куди скеровується проба;
- підпис особи, яка відбрала пробу.

Увага! Транспортування відібраних проб завжди проводять при 6-8°С, щоб не було розмноження і відмирання мікроорганізмів.

Бактеріологічне дослідження повинно проводитись не пізніше 3-6 годин від моменту відбору проби для дослідження.

Для знезараження повітря лікарняних закладів використовують УФ і кварцове опромінювання, аерозолі дезінфікуючих розчинів.

Санітарно-показовими бактеріями ґрунту є кишкова паличка, ентерокок, *Cl. perfringens* і термофільні мікроорганізми. За наявністю перших трьох судять про ступінь фекального забруднення ґрунту. Точніша оцінка проводиться при визначенні колі-індексу – кількість БГКП (бактерій групи кишкової палички) в 1 г ґрунту. Визначають також ЗМЧ - це кількість сапрофітних бактерій в 1 г ґрунту.

Вибір місця для відбору проб ґрунту визначається санітарним лікарем залежно від мети дослідження.

На кожній з відібраних ділянок позначають 5 точок (за методом конверта) для забору проб. Поверхневий шар ґрунту товщиною 1,5-2 см знімають стерильним ножом. Для дослідження відбирають пробу стерильною лопаткою на глибині до 20 см з 5-ти точок по 200-300 г ґрунту. Загальна проба повинна важити не менше 1 кг. Проби ґрунту переносять в стерильні банки з ватно-марлевими корками, накривають стерильним пергаментним ковпачком. До банки прикріплюють етикетку, де вказаний номер проби й дата. В скеруванні вказують характер ґрунту, розташування джерел забруднення, площу обстежуваної ділянки, дані, які характеризують клімат місцевості.

Завдання № 2. Проведіть забір проб повітря у мікробіологічній лабораторії.

ПИТАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ

I. Доповніть речення:

1. При санітарному дослідженні води особлива увага звертається на _____ мікроорганізми.
2. Санітарно-показовий мікроорганізм - _____ тому, що _____

3. Мікробіота в лікарняних установах має важливе значення тому, що _____ ,
_____ ,
проводить дослідження в таких відділеннях _____

II. Поясніть та охарактеризуйте:

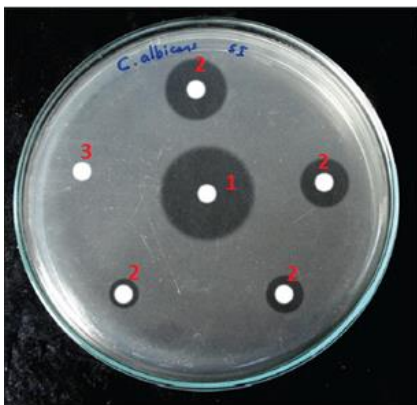
1. Чому об'єкти довкілля підлягають мікробіологічному дослідженню?
2. На які мікроорганізми звертають увагу при дослідженні ґрунту?
3. За якими параметрами проводиться відбір ґрунту на мікробіологічне дослідження?
4. Яка документація повинна супроводжувати проби на подальше дослідження в бактеріологічну лабораторію?

САМОСТІЙНА РОБОТА №5

Тема: «АНАЛІЗ АНТИБІОТИКОГРАМ»

Актуальність: зростання антибіотикорезистентності є однією з головних проблем сучасної медицини. Антибіотикограма дозволяє визначити чутливість збудника до антибактеріальних препаратів, забезпечуючи індивідуалізований підхід до лікування інфекцій. Правильний аналіз антибіотикограми є ключовим для вибору ефективної терапії, зменшення ризику ускладнень та запобігання поширенню стійких штамів мікроорганізмів.

Завдання № 1 Огляньте та опишіть результати антибіотикограми яка зображена на малюнку:



Завдання № 2. Який антибіотик слід використати для антибіотикотерапії пацієнта з попередніх результатів (Завдання № 1). Чому?

ПИТАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ

I. Доповніть речення:

1. Для постановки антибіотикограми живильне середовище засівають методом _____, для того, щоб _____
2. Відстань між дисками на чутливість до антибіотиків має бути _____
3. Вибирають для лікування той антибіотик _____

II. Поясніть та охарактеризуйте:

1. Чому при постановці чутливості до антибіотиків необхідно проводити маніпуляції біля полум'я пальника?
2. Чому відстань між антибіотичними дисками і до краю чашки Петрі повинна бути не менш ніж 2 см?
3. Скільки часу після постановки антибіотикограми потрібно чекати на результат?




САМОСТІЙНА РОБОТА №6



Тема: «ІМУНОМОДУЛЯТОРИ»

Актуальність: імуномодулятори відіграють важливу роль у корекції роботи імунної системи при інфекційних, автоімунних та онкологічних захворюваннях. У сучасній медицині їх застосування спрямоване на посилення імунної відповіді або її пригнічення, залежно від клінічної ситуації. Вивчення механізмів дії імуномодуляторів та показань до їх використання є необхідним для ефективного та безпечного лікування пацієнтів.

Завдання № 1. На Вашу думку кому, в першу чергу, необхідні імуномодулятори?

Завдання № 2. Заповніть таблицю: «Плюси» та «мінуси» використання імуномодуляторів.

Назва препарата	Користь для організму	Шкідливість	Зміни в імунній системі після препарата
1. Вілозен 			
2. Галіум-Хеель 			
3. Іммунал 			

<p>4. Імуноглобулін</p> 			
<p>5. Імудон</p> 			

ПИТАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ

I. Доповніть речення:

1. Для кращої роботи імунної системи необхідно вживати _____

2. Люди які в першу чергу потребують імуномодулятори – це _____

II. Поясніть та охарактеризуйте:

1. Що таке імуномодулятори?

2. Хто застосовує стимулятори імунітету?

3. На Вашу думку, чи існують природні імуномодулятори?

ЛІТЕРАТУРА

1. Данилейченко В.В., Федечко Й.М., Корнійчук О.П. Мікробіологія з основами імунології. К. «Медицина», 2019. 370 с.
2. Климнюк С.І., Ситник І.О., Ширококов В.П. Практична мікробіологія: навчальний посібник. Вінниця: Нова книга, 2018. 584 с.
3. Люта В.А., Кононов О.В.. Мікробіологія з технікою мікробіологічних досліджень, вірусологія та імунологія: підручник / 2-е вид. К. : ВСВ «Медицина», 2018. 576 с.
6. Кривко Ю.Я., Корнійчук О.П., Федорович У.М. Мікробіологія з основами імунології та технікою мікробіологічних досліджень: Електронний посібник. Львів. 2021. 543 с.

ЕЛЕКТРОННІ РЕСУРСИ

1. Наказ МОЗ України № 1447 «Про затвердження Зміни до критеріїв, за якими визначаються випадки інфекційних та паразитарних захворювань, які підлягають реєстрації. URL-адреса: <https://ips.ligazakon.net/document/RE36836?an=1>
2. Центр Громадського здоров'я. URL-адреса: <https://phc.org.ua/>
3. Відеоінструкція з використанням таблиць EUCAST. URL-адреса: <https://www.youtube.com/watch?v=5cun8wdX0Us>
4. Укрбіо. URL-адреса: http://ukrbio.com.ua/pages-3/kharchova-promyslovist/khromohenni-seredovyshcha?utm_source=chatgpt.com

Електронне видання

Сойка Л.Д., Федорович У.М., Менів Н.П., Вінярська М.С.

МІКРОБІОЛОГІЯ З ВІРУСОЛОГІЄЮ ТА ОСНОВАМИ ІМУНОЛОГІЇ

Загальна мікробіологія

Навчальний посібник

Посібник рекомендований здобувачам освіти спеціальності 223 Медсестринство ОПП «Сестринська справа», освітньо-професійного ступеня «фаховий молодший бакалавр»; спеціальності 223 Медсестринство ОПП «Сестринська справа», освітнього ступеня «бакалавр».

*Рекомендовано Методичною радою
КЗВО ЛОР «Львівська медична академія імені Андрея Крупинського»
як електронний навчальний посібник
Протокол № 4 від 11.03.2025 р.*

Ум. друк. арк.12,6

КЗВО ЛОР «Львівська медична академія імені Андрея Крупинського»
79000 м. Львів, вул. П. Дорошенка, 70
Тел: (032) 244-57-52, 261-50-48