

## Частина I. Загальна мікробіологія

### Лекція № 1. ВСТУП ДО МІКРОБІОЛОГІЇ. ІСТОРІЯ РОЗВИТКУ МІКРОБІОЛОГІЇ. МОРФОЛОГІЯ ТА ФІЗІОЛОГІЯ МІКРООРГАНІЗМІВ

#### *Актуальність теми:*

Мікробіологія є одним з основних предметів у підготовці медичних працівників. Без знань цього освітнього компонента неможливо науково обґрунтувати діагностику, лікування та профілактику інфекційних захворювань. Для сприйняття навчального матеріалу з мікробіології треба знати біологію, хімію, анатомію та фізіологію, латинську мову, фармакологію. А сама мікробіологія є основою для всіх клінічних та медико-профілактичних дисциплін, оскільки вона сприяє логічному сприйняттю цих предметів і формує клінічне мислення, без якого не можна бути висококваліфікованим спеціалістом.

#### *Навчальна мета*

##### *Знати:*

- завдання медичної мікробіології;
- сучасні методи діагностики інфекційних хвороб;
- морфологію бактерій та коротку характеристику вірусів, пріонів, грибів і найпростіших;
- будову бактеріальної клітини;
- дихання, живлення та розмноження мікробів;
- токсиноутворення у мікробів.

##### *Мати поняття:*

- про класифікацію та номенклатуру мікроорганізмів;
- про культуральні та біохімічні властивості мікробів, живильні середовища.

*Бути проінформованим* про історію розвитку мікробіології, внесок вітчизняних учених у розвиток науки, досягнення мікробіології в боротьбі з інфекційними хворобами.

## **Загальні компетентності (ЗК)**

ЗК. 4. Здатність застосовувати знання у практичних ситуаціях.

ЗК. 5. Здатність спілкуватися державною мовою як усно, так і письмово.

ЗК. 6. Знання та розуміння предметної області та розуміння професійної діяльності.

## **Програмні результати навчання (РН)**

РН. 2. Застосовувати сучасні цифрові та комунікативні технології для пошуку інформації та документування результатів професійної діяльності.

### ***План***

I. Вступ до мікробіології.

1. Мікробіологія як наука. Досягнення та завдання медичної мікробіології в боротьбі з інфекційними захворюваннями.

2. Сучасні методи мікробіологічної діагностики інфекційних хвороб.

3. Історія розвитку мікробіології.

II. Морфологія та фізіологія мікроорганізмів.

1. Поняття про систематику, класифікацію та номенклатуру мікроорганізмів.

2. Морфологія бактерій.

3. Будова бактеріальної клітини.

4. Характеристика нетипових представників різних груп бактерій.

5. Коротка характеристика грибів, найпростіших, вірусів і пріонів.

6. Хімічний склад мікроорганізмів.

7. Фізіологія мікроорганізмів.

## **ВСТУП ДО МІКРОБІОЛОГІЇ. МІКРОБІОЛОГІЯ ЯК НАУКА**

**Мікробіологія** (від грецьк. *micros* — малий, *bios* — життя, *logos* — наука) — це наука про дуже малі( розміри мікробів вимірюють у мікрометрах та нанометрах:  $1 \text{ мкм} = 0,001 \text{ мм} = 1 \times 10^{-6} \text{ м}$ ;  $1 \text{ нм} = 0,001 \text{ мкм} = 1 \times 10^{-9} \text{ м}$  ), невидимі неозброєним оком живі істоти, названі мікроорганізмами, або мікробами, їх систематику, морфологію та фізіологію, екологію та взаємовідношення з іншими живими організмами.

Більш ніж за трьохсотлітню історію вивчення мікроорганізмів (з моменту першого описання мікроорганізмів А. Левенгуком) мікробіологія зібрала велику кількість наукових даних і розділилася на галузі (загальна, технічна, сільськогосподарська, ветеринарна, медична, санітарна, морська, космічна та ін.).

У медичній мікробіології залежно від об'єкту дослідження виділяють:

**бактеріологію** — науку про бактерії;

**мікологію** — науку про гриби;

**протозоологію** — науку про найпростіші;

**вірусологію** — науку про віруси.

Як окрема дисципліна сформувалась імунологія, набула розвитку генна інженерія.

Медична мікробіологія вивчає хвороботворні (патогенні) мікроорганізми, їх морфологію, фізіологію, екологію, резистентність, антигенну структуру, фактори патогенності, розробляє методи діагностики, профілактики та лікування інфекційних хвороб.

Мікробіологи створюють препарати для їх специфічної профілактики та лікування.

**Досягнення та завдання медичної мікробіології в боротьбі з інфекційними захворюваннями.** Завдяки успіхам мікробіології й інших медичних наук в усьому світі ліквідовано натуральну віспу, знижено захворюваність на чуму, поліомієліт, кір, висипний і поворотний тифи та інші хвороби, значно знижено смертність від інфекційних хвороб. Але наприкінці ХХ ст. були зареєстровані спалахи епідемій дифтерії, туберкульозу, холери та кишкових захворювань, значно поширилися внутрішньолікарняні інфекції.

Виникли нові проблеми: а) виділено вірус імунодефіциту людини (ВІЛ), збудники інших раніше невідомих інфекцій; б) відкрито пріони; в) унаслідок мінливості мікроорганізмів з'явилися стійкі до лікарських препаратів збудники.

Над вирішенням цих проблем працюють мікробіологи всього світу й України зокрема. ВООЗ створила розширену програму профілактики інфекційних захворювань. Її реалізація дозволить ліквідувати такі хвороби, як поліомієліт, краснуха, кір, епідемічний паротит, а захворюваність на туберкульоз, дифтерію, правець, коклюш значно знизиться. Реалізувати цю програму і доведеться сьогоднішнім студентам — майбутнім медпрацівникам, а допоможе їм у цьому знання мікробіології.

**Сучасні методи мікробіологічної діагностики інфекційних захворювань.** Успіхи в лікуванні та профілактиці інфекційних хвороб значною мірою залежать від своєчасної діагностики. Мікробіологія пропонує такі сучасні методи діагностики:

**мікроскопічний** — ґрунтується на виявленні збудника в патологічному матеріалі та його ідентифікації (визначенні виду). За допомогою мікроскопа вивчають його морфологічні (форму, розмір, взаємне розміщення клітин, рухливість, наявність спори та капсули) і тинкторіальні властивості (здатність забарвлюватися барвниками);

**мікробіологічний** — посів патологічного матеріалу на живильні середовища, виділення чистої культури та її ідентифікація на основі вивчення культуральних і біохімічних властивостей мікроорганізмів; нині розроблено автоматичні системи, які дозволяють протягом кількох годин визначити вид збудника, вивчити його антибіотикограму;

**біологічний** — уведення патологічного матеріалу лабораторним тваринам із метою моделювання в них інфекційного захворювання, виділення чистої культури збудника з подальшою ідентифікацією, виявлення токсинів;

**серологічний** — виявлення в крові специфічних антитіл і антигенів;

**алергічний** метод — виявлення підвищеної чутливості макроорганізму до конкретного збудника або продуктів його життєдіяльності. Використовують для діагностики туберкульозу (реакція Манту), бруцельозу (реакція Бюрне) та ін.;

**молекулярно-генетичний** — виявлення фрагментів нуклеїнових кислот мікроорганізмів у патологічному матеріалі. Використовують молекулярні та генні ДНК- і РНК-зонди в поєднанні з ланцюговою полімеразною реакцією (АПР). За допомогою цього методу можна ідентифікувати будь-який об'єкт.

## ІСТОРІЯ РОЗВИТКУ МІКРОБІОЛОГІЇ

У розвитку мікробіології виділяють 4 періоди:

I — морфологічний (А. Левенгук);

II — фізіологічний (Луї Пастер, Роберт Кох та ін.);

III — імунологічний (І. І. Мечников, П. Ерліх та ін.);

IV — молекулярно-генетичний (сучасний).

Тривалий час людина жила в оточенні невидимих істот, споживала продукти їх життєдіяльності (випечений хліб, кисле молоко, вино, пиво). Ці істоти спричинювали захворювання, але людина навіть не підозрювала про їх існування, бо вони мали надто малі розміри.

Навіть видатний лікар Древньої Греції Гіппократ вважав, що в повітрі під час епідемій містяться особливі хвороботворні "міазми" — випаровування, які можуть поширюватися на великі відстані. На думку Лукреція Кара, кожна інфекція має особливе "насіння". Лише під час страшної епідемії чуми в XIV ст. з'явилися перші уявлення про заразні хвороби. У 1374 р. у Венеції був виданий наказ про ізоляцію людей, товарів та кораблів на 40 днів (quarantina) з метою запобігання поширенню чуми, звідки і пішов термін — карантин. Джираломо Фракасторо розробив учення про живих контагій (contagium vivum) як причину захворювання.

Мікроскоп уперше винайшли голландці Ганс та Захарій Янсени. Антоній ван Левенгук значно удосконалив його і першим проник у світ мікробів (мал. 1). Цей світ невидимих раніше істот, що виник перед дослідником, вразив його. Він розглядав усе, що потрапляло під руку: дощову воду, зубний наліт, випорожнення. І всюди були істоти, які мали різну форму (кулясту, паличкоподібну, звивисту, розгалужену) і хаотично рухались. Про це відкриття А. Левенгук доповів у Лондонському Королівському товаристві (1673). Так почався *I період розвитку мікробіології — морфологічний*. Але вчений навіть не підозрював, що ці "невинні створіння Господні" можуть бути причиною захворювань і навіть смерті. Бо і в той час була дуже поширена міазматична теорія. Багато вчених підтримували теорію живих контагій. Одним із них був випускник Київської Духовної академії, лікар Данило Самойлович (1744— 1805). За допомогою мікроскопа він намагався виявити збудник чуми в органах померлих від цієї хвороби і створити протичумний профілактичний препарат — вакцину. Але лише в 1796 р. англійський лікар Едуард Дженнер створив першу ефективну вакцину. Він помітив, що доярки ніколи не хворіють на натуральну віспу, а коров'ячу переносять у легкій формі. Тому Е. Дженнер прищепив коров'ячу віспу 8-річному хлопчику, а через 1 міс заразив його натуральною. Дитина не захворіла. Завдяки вакцині, так назвали препарат (від лат. vacca — корова), сьогодні віспа ліквідована в усьому світі. Хоч Дженнер і провів вакцинацію, але суті її він не зрозумів. Це вдалося французькому вченому Луї Пастеру (1822— 1895). З іменем Л. Пастера пов'язаний *II період розвитку мікробіології — фізіологічний*. Пастер є

*основоположником наукової мікробіології*. Він довів неможливість самозародження життя, запропонував методи стерилізації (повного знищення мікроорганізмів) та пастеризацію (більш м'яку стерилізацію), а також науково обґрунтував роль мікроорганізмів у виникненні захворювань. А. Пастер довів, що бродіння та гниття спричиняють мікроорганізми, що дозволило іншим ученим, зокрема Лістеру та Пирогову, розробити методи асептики та антисептики.

Л. Пастер відкрив анаероби, обґрунтував явище атенуації (ослаблення патологічних властивостей збудника), отримав вакцину проти сибірки та сказу.

Л. Пастер зібрав навколо себе блискучу плеяду вчених. Серед них були і наші співвітчизники: І. І. Мечников, О. М. Безредка, М. Ф. Гамалія, І. Г. Савченко та ін.

У цю "золоту" пору мікробіології поряд з іменем Л. Пастера стало ім'я німецького вченого Роберта Коха (1843—1910) — майстра прикладних досліджень. Він зробив неоціненний внесок у мікробіологію:

- удосконалив мікробіологічну техніку, застосував імерсійні об'єктиви, мікрофотографію;
- використав анілінові барвники;
- запропонував методи виділення чистої культури та щільні живильні середовища;
- відкрив збудників туберкульозу (паличку Коха) і холери;
- довів, що збудником сибірки є *B. anthracis*;
- обґрунтував теорію та практику дезінфекції (знищення патогенних мікроорганізмів).

Використовуючи методи Коха, інші вчені відкрили й описали збудників дифтерії (Клебс і Леффлер), черевного тифу (Еберт і Гафкі), правця (Ніколайєр і Кітазато), дизентерії (Григор'єв і Шига), сифілісу (Шаудін), лептоспірозу (Індо, Ідо).

Було відкрито здатність мікробів утворювати токсини. Дифтерійний екзотоксин уперше виділили Ру та Йєрсен. Ру і Берінг отримали антитоксичну протидифтерійну сироватку. Використання сироваток призвело до виникнення проблеми сироваткової хвороби.

Вирішенню цих проблем був присвячений *III період розвитку мікробіології — імунологічний*. Одним з основоположників імунології був випускник Харківського університету І. І. Мечников. Наукова діяльність І. І. Мечникова дуже багатогранна. Він обґрунтував фагоцитарну теорію імунітету, визначив роль клітинного захисту в розвитку імунітету. Між ним і П. Ерліхом (побічником гуморальної теорії, який вважав, що імунітет забезпечується антитілами) тривалий час ішла дискусія. І. І. Мечников першим зрозумів, що ці теорії доповнюють одна одну. У 1908 р. І. І. Мечников та П. Ерліх отримали Нобелівську премію за це відкриття. І. І. Мечников вивчив явище антагонізму в мікросвіті, що лягло в основу використання бак-препаратів та антибіотиків, зробив значний внесок у вивчення холери, черевного тифу і туберкульозу, створив велику школу мікробіологів. Його учнями та помічниками були європейські вчені (Ру, Йерсен, Борде, Жангу, Бюрне, Рамон) та наші співвітчизники (О. М. Безредка, М. Ф. Гамалія, Д. К. Заболотний, А. А. Тарасевич, І. Г. Савченко, В. А. Хавкін), які стали всесвітньо відомими вченими.

***І. І. Мечников є основоположником розвитку наукової мікробіології в Україні.***

Бурхливий розвиток мікробіології сприяв розквіту всієї медицини, але розвиток самої мікробіології гальмувався відставанням інших наук: біохімії, генетики, фізики. Наприкінці ХІХ ст. було відкрито царство вірусів Д. І. Івановським, але глибоке вивчення їх стало можливим лише в другій половині ХХ ст. після винаходу електронного мікроскопа.

На початку ХХ ст. розвивалися прикладні аспекти мікробіології. Були сформульовані наукові принципи хіміотерапії (П. Ерліх, Д. Л. Романовський), відкриті та виділені антибіотики (Флемінг, Чейн, Флорі, З. В. Єрмольєва), розроблені методи серодіагностики (Вассерманн, Відаль, Райт, Асколі).

***IV період розвитку мікробіології — молекулярно-генетичний.*** У досліджах на бактеріях та вірусах було доведено, що носієм генів є ДНК. Було встановлено її структуру. Мікробіологи відкрили плазміди (нехромосомні носії спадковості, що передають різні ознаки, зокрема резистентність до лікарських засобів). У другій половині ХХ ст. бурхливо розвивалися вірусологія та імунологія. У галузі вірусології були такі досягнення:

- розшифровано молекулярно-генетичну організацію багатьох вірусів;
- вивчено механізм взаємодії вірусів із клітиною, загальні механізми перетворення вірусами нормальної клітини на пухлинну (Л. О. Зільбер);
- у 1983 р. виділено ВІЛ (Монтаньє і Галло);
- виділено та вивчено нові віруси (Ласса, Марбург, Ебола);

· відкрито пріони.

У галузі імунології зроблено багато відкриттів:

запропоновано вчення про імунітет як захист організму від усіх генетично чужорідних агентів, а не тільки від мікроорганізмів;

описано два різновиди лімфоцитів — В- і Т-лімфоцити, їх функції;

розшифровано структуру антитіл, відкрито різні класи імуноглобулінів;

виявлено гени, що контролюють утворення антитіл до всіх існуючих агентів, тобто доведено існування генетичної схильності до інфекційних захворювань.

У цей же період відбувалося становлення генної інженерії. Розпочалося промислове виробництво вакцин нового покоління — генно-інженерних. Д. Келер та І. Мільстайн відкрили гібридоми, що дозволило отримати моноклональні антитіла заданої специфічності, які використовують з діагностичною метою.

Історія розвитку мікробіології — це героїчна та разом з тим драматична сторінка історії медицини. Адже дослідник завжди ризикує, тримаючи смерть у пробірці. Багато вчених у дослідах на собі довели:

заразність тієї чи іншої хвороби (Г. М. Мінх та О. О. Мочутковський довели заразність поворотного та висипного тифів, виявили переносників хвороби — вошей);

ефективність вакцин або сироваток (І. І. Мечников, І. Г. Савченко, Д. К. Заболотний та інші дослідники після вакцинації випили культуру збудника);

безпечність вакцини (вірусологи лабораторії А. А. Смородинцева Інституту експериментальної медицини в Ленінграді та члени їх сімей прийняли великі дози поліомієлітної вакцини, а М. П. Чумаков приймав вакцину тричі, щоб довести безпечність її для людей).

Винятковий героїзм проявили І. О. Деминський, М. О. Лебедева, А. І. Турчинович-Вижникевич, І. В. Мамонтов, Ріккетс і Провачек, які своє життя принесли в жертву науці.

Багато вчених стали лауреатами Нобелівської премії з мікробіології. Серед них І. І. Мечников, П. Ерліх, Р. Кох, А. Флемінг, Чейн та ін.

Розвиток мікробіології в Україні. Центром розвитку мікробіології в Україні була Одеса, де в 1885 р. у Новоросійському (Одеському) університеті вперше

почали викладати мікробіологію І. І. Мечников і Я. Ю. Бардах. У Московському університеті мікробіологію викладав з 1892 р. учень І. І. Мечникова Г. Н. Габричевський. Після від'їзду Мечникова до Франції для роботи в Пастерівському інституті Одеську школу мікробіологів очолив М. Ф. Гамалія. Він у себе на квартирі разом з (І. І. Мечниковим ще у 1886 р. відкрив першу в Україні та другу в світі бактеріологічну лабораторію і Пастерівську станцію, де виготовляли вакцину та робили щеплення проти сказу. М. Ф. Гамалія вперше використав хімічні вакцини, розробив методику виготовлення вакцини проти віспи. Цей дослідник спостерігав у 1898 р. явище бактеріофагії задовго до відкриття Д'Ерелем бактеріофага (1917). Випробував на собі безпечність вакцини проти сказу.

Наші співвітчизники зробили неоціненний внесок у розвиток світової медицини. Вони відкривали бактеріологічні лабораторії й інститути в різних містах і країнах, розпочинали викладання і відкривали кафедри мікробіології. Їх іменами названі наукові та навчальні заклади: ім. І. І. Мечникова — у Санкт-Петербурзі, Харкові, Одесі та інших містах, ім. Д. К. Заболотного — у Києві, Санкт-Петербурзі, ім. В. А. Хавкіна — в Індії (Бомбей). Вдячні народи встановлювали їм пам'ятники (Хавкіну — у Бомбеї).

О. М. Безредка вивчав проблеми імунітету та анафілаксії, запропонував методику введення сироваток з метою профілактики анафілактичного шоку, яку використовують і нині (вона названа його ім'ям).

І. Г. Савченко встановив стрептококову етіологію скарлатини. Разом з І. І. Мечниковим вивчав механізм фагоцитозу та проблеми профілактики холери. Проводив досліди самозараження разом із Д. К. Заболотним. Заснував бактеріологічний інститут у Казані.

Великий науковий потенціал українського народу знайшов свою реалізацію в роботах Київської та Харківської шкіл мікробіологів, які виникли пізніше. Їх плідна праця сприяла подальшому розвитку медицини (роботи М. П. Нещадименка, В. Г. Дроботька, Л. В. Громашевського, В. І. Недригайлова та ін.). Засновником кафедри Київського медичного інституту був М. П. Нещадименко. Першим директором і засновником Науково-дослідного інституту мікробіології та вірусології в Києві був Д. К. Заболотний — визначний мікробіолог, основоположник епідеміології. Його роботи були присвячені боротьбі з чумою, холерою, сифілісом.

Більше як півстоліття на кафедрі мікробіології Київського медичного інституту працював С. С. Дяченко, який виховав багато вчених-мікробіологів і вірусологів, а також лікарів-практиків, які і понині працюють на ниві охорони здоров'я українського народу. Плідною стала робота В. Й. Білай та інших фахівців, які досліджували хвороботворні гриби та гриби-продуценти антибіотиків.

І нині мікробіологічна наука України стоїть на варті здоров'я народу. Розгорнута широка мережа бактеріологічних лабораторій та науково-дослідних інститутів, основними напрямками роботи яких є діагностика та профілактика інфекційних хвороб.

## СИСТЕМАТИКА, КЛАСИФІКАЦІЯ ТА НОМЕНКЛАТУРА МІКРООРГАНІЗМІВ

**Мікроби** — це найбільша за кількістю та дуже різноманітна за рівнем організації частина організмів, які населяють біосферу Землі. Об'єднують їх тільки малі розміри, тому систематизувати їх дуже складно. Збудники захворювань є серед *неклітинних* (віруси та пріони) і *клітинних* організмів. Останні поділяють на 2 великі групи: *прокаріоти* (доядерні) та *евкаріоти* (ядерні). Патогенні мікроорганізми зустрічаються серед бактерій (прокаріоти), *грибів* і *найпростіших* (евкаріоти; схема 1).

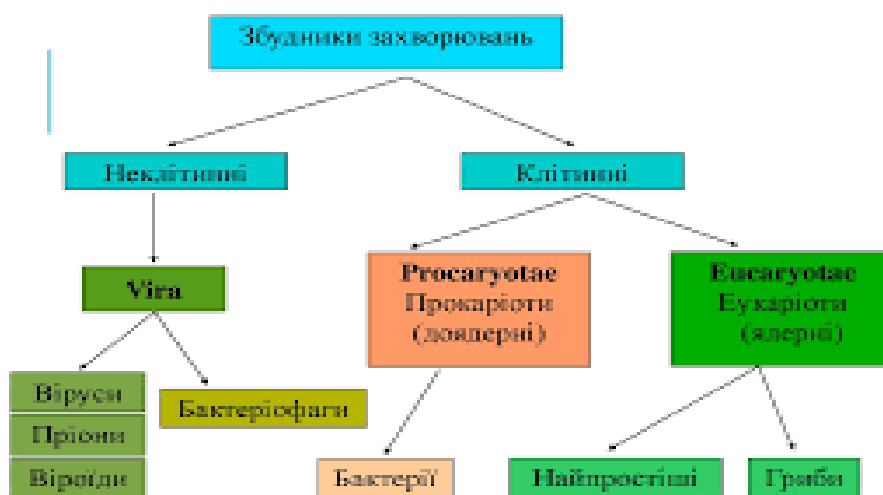


Схема 1. Класифікація збудників захворювань

Згідно з новим кодексом номенклатури бактерій запроваджено такі міжнародні класифікаційні категорії: відділ - клас – порядок - родина- рід -вид.

Загальновизнаною та найбільш поширеною є класифікація бактерій Д. Берджі. Згідно з визначником, виданим у 1993 р., бактерії поділяють за будовою клітинної стінки та забарвленням за Грамом на такі відділи (схема 2): Gracilicutes — тонкошкірі (грамнегативні); Firmicutes — товстошкірі (грампозитивні), Tenericutes — не мають клітинної стінки (мікоплазми),

Mendosicutes

— архебактерії (вони непатогенні).



Схема 2. Класифікація бактерій за Д. Берджи

ДЛЯ зручності відділи описують за групами, які включають родини, роди та види. Там, де вони об'єднані в порядки і класи, вказується їх назва.

Найбільше практичне значення серед *грамнегативних* бактерій мають:

1-ша група — спірохети, родина спірохет: рідтрепонем — збудники сифілісу, рід борелій — збудники поворотного тифу:

родина лептоспир, рід лептоспир — збудники лептоспірозу:

2-га група — аеробні (мікроаерофільні) рухливі вібріодні бактерії: рід спірил — збудники содоку (хвороби укусу щурів), роди кампілобактерій і гелікобактерій — представники нормальної мікрофлори (збудники шлунково-кишкових захворювань), рід бделовібріонів — паразити бактерій, очищують воду;

4-та група — аеробні (мікроаерофільні) палички та коки (83 роди): рід нейсерій — збудники гонореї та менінгіту, рід бордетел — збудники коклюшу, рід бруцел — збудники бруцельозу, рід францисел — збудники туляремії, рід псевдомонад — збудники гнійно-запальних процесів і сапу, рід легіонел — збудники гострих респіраторних інфекцій;

5-та група — факультативно-анаеробні палички (45 родів, 3 родини): родина ентеробактерій, роди ешерихій, сальмонел та шигел — усі вони збудники кишкових захворювань, рід ієрсиній — збудники чуми, псевдотуберкульозу та кишкового ієрсиніозу, роди протею і клебсієл — умовно-патогенні, збудники гнійно-запальних процесів; родина пастерел, рід гемофіліс — збудники м'якого шанкру та інфлюенци; родина вібріонів, рід вібріонів — збудники холери;

6-та група — анаеробні палички: прямі, зігнуті, спіральні, аспорогенні; родина бактероїдів, рід бактероїдів; рід фузобактерій — умовно-патогенні мікроорганізми, збудники гнійно-запальних і некротичних процесів (апендициту);

8-ма група — анаеробні коки, родина вейлонел, рід вейлонел — представники нормальної мікрофлори, умовно-патогенні, збудники запальних процесів у м'яких тканинах;

9-та група включає родини рикетсій, хламідій і бартонел; родина рикетсій — збудники висипного тифу та інших рикетсіозів; родина хламідій — збудники трахоми, орнітозу та інших хламідіозів.

Серед *грампозитивних* бактерій найбільше практичне значення мають:

17-та група — грампозитивні коки: родина мікрококів, рід стафілококів; родина стрептококів, рід стрептококів. Усі вони є збудниками гнійно-запальних захворювань; родина бацил: рід бацил — збудники сибірки, рід клостридій — збудник правця, ботулізму, газової анаеробної інфекції;

19-та група — аспорогенні палички: рід еризопелотрикс — збудники еризопелоїду, рід лістерій — збудники лістеріозу (опортуністичні інфекції);

20-та група включає рід коринебактерій — збудники дифтерії і РІД актиноміцетів — збудники актиномікозів;

21-ша група — родина мікобактерій, рід мікобактерій — збудники туберкульозу, лепри;

22-га — 29-та групи — актиноміцети, непатогенні (за винятком 22-ї групи, рід нокардій);

25-та група — рід стрептоміцетів — продуценти антибіотиків (стрептоміцину);

30-та група — мікоплазми — збудники мікоплазмозів.

Основною номенклатурною та таксономічною одиницею є *вид*. Визначення виду мікроорганізмів (ідентифікацію) проводять за морфологічними, тинкторіальними, фізіологічними, антигенними та молекулярно-біологічними та іншими ознаками.

Морфологічні ознаки характеризують форму, рухливість, спороутворення, наявність капсули.

Тинкторіальні ознаки — це відношення до барвників.

Фізіологічні ознаки — це культуральні та біохімічні властивості мікроорганізмів.

Культуральні ознаки — це характер росту мікроорганізмів на живильному середовищі. Мікроби, що виростили на живильному середовищі, називають *культурою*. Мікроби одного виду — це чиста культура.

Біохімічні ознаки — здатність мікроорганізмів виділяти ферменти.

Антигенні ознаки — антигенна структура мікроорганізмів, яку визначають за допомогою серологічних реакцій.

Молекулярно-генетичні ознаки — індивідуальність ДНК. Порівнюють ДНК досліджуваного мікроорганізму з еталонною для даного виду ДНК. Якщо подібність становить 90 % і більше, то мікроби належать до одного виду. На цьому ж принципі ґрунтується застосування молекулярних зондів, за допомогою яких у досліджуваному матеріалі визначають ДНК і встановлюють діагноз захворювання. Якщо бактерії мають деякі відмінності від видових ознак, то такі мікроорганізми розглядають як *підвид*.

Мікроорганізми, що відрізняються незначними спадковими властивостями, називаються *варіантами*.

Морфовар — мікроорганізми, що відрізняються морфологічними ознаками, біовар — фізіологічними, серовар — антигенними, хемовар — хімічними, фаговар — відношенням до фага.

Штам — культура мікробів, виділена з конкретного джерела (організму людини, тварини, зовнішнього середовища). Штам можна вважати найнижчою таксономічною одиницею мікроорганізмів. Як правило, штами позначають протокольними номерами, або за джерелом виділення, або за місцевістю, де він був виділений (наприклад, вірус грипу Сингапур).

Клон — потомство однієї мікробної клітини.

Колонія — видиме скупчення мікроорганізмів на живильному середовищі.

Мікроорганізми називають за бінарною номенклатурою, кожний вид має родову і родову назви. Родову назву пишуть з великої літери (латинською мовою), родову — з малої. Наприклад: збудник правця — *Clostridium tetani*, збудник чуми — *Yersinia pestis*, збудник холери — *Vibrio cholerae*, один із збудників дизентерії — *Shigella sonnei*. Допускаються скорочення родової назви (*S. sonnei*).

# ВСТУП ДО МІКРОБІОЛОГІЇ. ІСТОРІЯ РОЗВИТКУ МІКРОБІОЛОГІЇ. МОРФОЛОГІЯ ТА ФІЗІОЛОГІЯ МІКРООРГАНІЗМІВ

## МОРФОЛОГІЯ БАКТЕРІЙ

*Бактерії* — це переважно одноклітинні організми, які не мають чітко сформованого ядра та хлорофілу. Вони розмножуються простим поділом.

Форма бактерій та їх розміри мають велике таксономічне значення і є важливими критеріями при їх ідентифікації. Мікроскопія патологічного матеріалу та вивчення морфологічних особливостей мікроорганізмів дозволяють встановити діагноз гонореї, сифілісу, лептоспірозу, поворотного тифу, туберкульозу, а також поставити орієнтовний діагноз правця, газової анаеробної інфекції, дифтерії.



Схема 3. Форма бактерій

Розміри бактерій коливаються від 0,2 до 10 мкм (більшість із них має розміри 0,5 — 0,8 мкм 2 — 3 мкм).

Бактерії можуть мати різну форму (коки, палички, звивисті, ниткоподібні, трикутні, зіркоподібні, кільцеподібні та ін.); (схема 4).

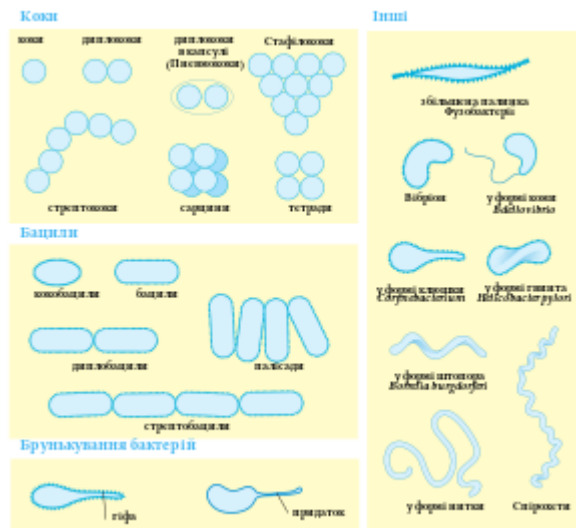


Схема 4. Форма бактерій

Коки кулястої форми, але бувають бобоподібні та ланцетоподібні бактерії.

За характером поділу та розміщення розрізняють такі коки:

*мікрококи* (розміщуються поодинокі, безладно) — сапрофіти (але є й умовно-патогенні), спричиняють запальні процеси;

*диплококи* (розміщуються парно, мають форму бобів) — збудники епідемічного цереброспінального менінгіту, гонореї і бленореї;

*тетракоки* (розміщуються по чотири) — непатогенні;

*сарцини* (розміщуються тюками — по 8, 16, 32, 64) — непатогенні;

*стафілококи* (мають форму грона) — спричиняють гнійно-запальні процеси;

*стрептококи* (розміщуються ланцюжком) — спричиняють гнійно-запальні процеси.

Палички, що не утворюють спор (аспорогенні), називають просто бактеріями (збудники дифтерії, чуми, кишкових захворювань). Спорогенні палички, що живуть в аеробних умовах і утворюють спори, діаметр яких менший за поперечник клітини, називають бацилами (збудник сибірки). Спорогенні анаеробні палички, які утворюють спори, діаметр яких більший за поперечник клітини, називають клостридіями (схема 4). За формою вони нагадують барабанну паличку, веретено або тенісну ракетку (збудники правця, ботулізму, газової анаеробної інфекції).

Спора може розміщуватися центрально (збудник сибірки), термінально — на кінці (збудник правця), субтермінально — ближче до кінця (збудник ботулізму).

Палички розрізняються розміщенням, розміром, діаметром і формою кінців.

Монобактерії розміщуються хаотично (більшість бактерій), диплобактерії, або диплобацили,— попарно, стрептобактерії, або стрептобацили,— ланцюжком.

Короткі палички (кокобактерії) мають розміри до 1 мкм (збудники коклюшу, бруцельозу, туляремії), довгі — понад 3 мкм (клостридії, кишкові палички та ін.).

За діаметром розрізняють тонкі (мікобактерії туберкульозу) і товсті (клостридії) палички, а за формою кінців — заокруглені (кишкові палички, шигели, сальмонели), овоїдні (збудник чуми), обрубані (збудник сибірки), стовщені, булавоподібні (збудник дифтерії), загострені (фузобактерії).

Звивисті бактерії відрізняються кількістю завитків (схема 5).

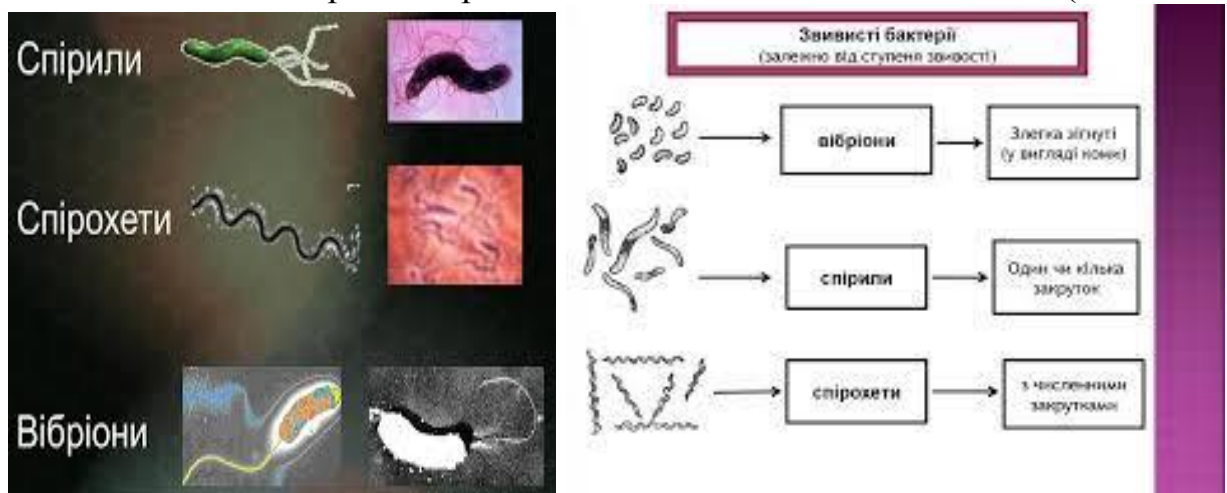


Схема 5. Звивисті палички

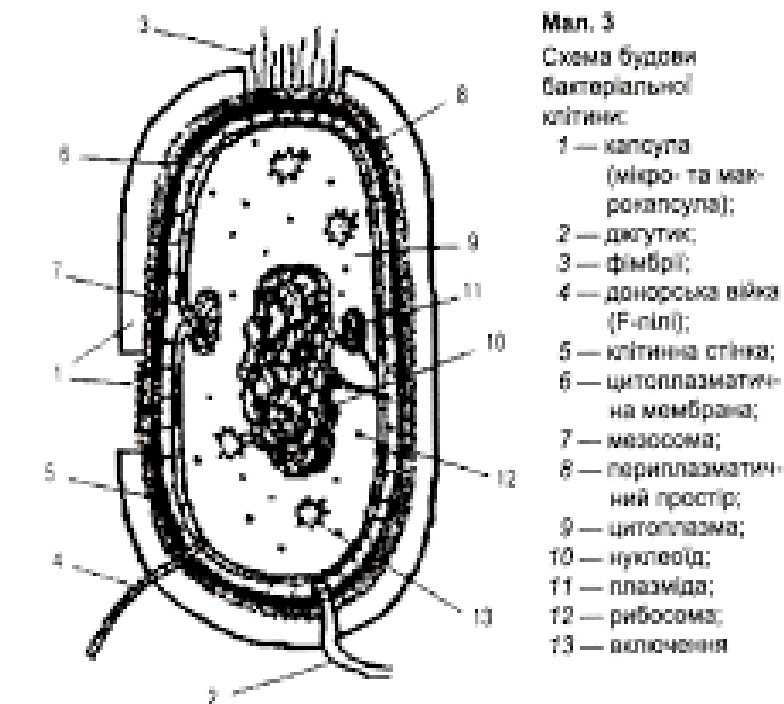
Поліморфізм — здатність змінювати форму під дією різних факторів (антибіотиків, дезінфекційних розчинів, умов культивування та ін). Найбільш властивий паличкам. Це слід урахувати при ідентифікації.

## БУДОВА БАКТЕРІАЛЬНОЇ КЛІТИНИ

Бактерії — прокаріоти, тому їх структура відрізняється від структури клітин рослин і тварин (евкаріотів). Бактерії не мають ядерної оболонки,

мітохондрій та апарату Гольджі. Вони мають клітинну стінку, яка є лише в прокаріотів.

У бактеріальній клітині розрізняють такі основні частини: поверхневі структури, клітинну оболонку та цитоплазму з нуклеїдом (мал. 3).



Мал. 3. Схема будови бактеріальної клітини:

1 — капсула (мікро- та макрокапсула); 2 — джгутик; 3 — фімбрії; 4 — донорська війка (F-пілі); 5 — клітинна стінка; 6 — цитоплазматична мембрана; 7 — мезосома; 8 — периплазматичний простір; 9 — цитоплазма; 10 — нуклеїд; 11 — плазміда; 12 — рибосома; 13 — включення

Деякі бактерії утворюють спори, містять включення та плазміди.

**Поверхневі структури.** До них відносять капсулу, джгутики, мікрівійки. Наявність або відсутність їх є постійною ознакою для даного виду. Це враховують під час ідентифікації мікроорганізмів.

**Капсула.** Розрізняють мікро- та макрокапсулу, або слизовий шар.

**Мікрокапсулу** виявляють за допомогою електронної мікроскопії. Вона представлена мукополісахаридними фібрилами. Роль її остаточно не з'ясовано.

**Макрокапсула** — це стовщений слизовий шар, його мають не всі мікроорганізми. Оскільки капсула має гелеподібну консистенцію, вона не

затримує барвників, тому при забарвленні за Буррі — Гінсом забарвлюється фон препарату та клітина, а сама капсула лишається безбарвною. У деяких мікроорганізмів (збудників пневмонії, сибірки та ін.) капсули утворюються в організмі людини або тварини, а в деяких — як у макроорганізмі, так і на штучних живильних середовищах (*S. aureus*, *S. pyogenes*, *Klebsiellapneumoniae*, *Klebsiella rhinoscleromatis* та ін.). У патогенних мікроорганізмів капсула може оточувати одну (збудник чуми — *Y. pestis*) чи дві клітини (збудник пневмонії — *S. pneumoniae*), навіть цілий ланцюжок клітин (збудник сибірки).

Капсула захищає клітину від бактеріофагів, фагоцитів та антитіл. Тому вона є фактором патогенності, (пневмококи, що втрачають капсулу, стають непатогенними).

Вона обумовлює антигенні властивості мікроорганізмів (К-антиген — капсульний антиген).

*Слизовий шар.* Бактерії часто виділяють велику кількість слизу, котрий утворює навколо них пухкий шар.

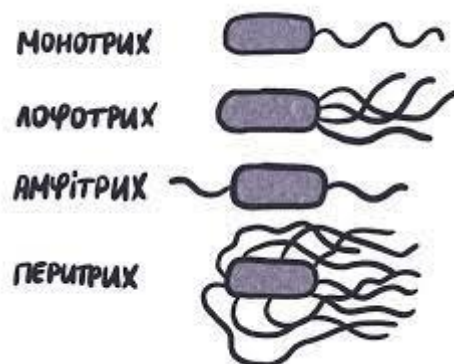
Джгутики мають не всі мікроорганізми. За кількістю та розміщенням джгутиків мікроорганізми поділяють на такі групи (мал. 4):

*монотрихи* — один джгутик розміщується на полюсі клітини (холерний вібріон);

*лофотрихи* — пучок джгутиків розміщується на одному кінці (синьогнійна паличка);

*амфітрихи* — пучок джгутиків розміщується на обох кінцях (спірили);

*перитрихи* — джгутики розміщуються на всій поверхні клітини (сальмонели, ешерихії та ін.).



Мал. 4. Джгутики в бактерій: а — монотрихи; б — лофотрихи; в — амфітрихи; г — перитрихи

Такий поділ мікроорганізмів є досить умовним. Дані електронної мікроскопії свідчать про те, що монотрихи мають кілька джгутиків, а амфітрихи — це дві клітини монотрихів, що не повністю поділилися.

За допомогою джгутиків мікроорганізми рухаються. Для виявлення їх рухливості використовують такі методи:

1) мікроскопічний — фазово-контрастна або звичайна світлова мікроскопія "роздавленої" або "висячої" краплі;

2) бактеріологічний — посів штриком у стовпчик напівщільного агару: рухливі бактерії ростуть дифузно, а нерухливі — тільки там, де зроблено посів.

Мікрівійки. Окрім джгутиків, поверхню бактерій вкривають мікрівійки. Розрізняють 2 типи мікрівійок: 1) фімбрії, або війки; 2) кон'югативні, або донорські (F-пілі).

*Фімбрії* — це короткі тонкі волоски. Їх може бути від 10 до кількох тисяч. Вони є фактором патогенності. За допомогою фімбрій бактерії прикріплюються до чутливих клітин (адгезія), де потім розмножуються (колонізація).

*F-пілі* — довгі тонкі ниткоподібні структури. Бактерія може мати 1 — 2 такі структури. Вони є апаратом кон'югації у бактерій, які є носіями плазмід. F-пілі забезпечують контакт між клітиною-донором і клітиною-реципієнтом, а також передачу спадкової інформації, що є в плазмідах.

Клітинна оболонка складається з клітинної стінки і цитоплазматичної мембрани.

*Клітинна стінка.* Забарвлення залежить від будови клітинної стінки, яка складається з двох шарів: внутрішнього (ригідного) та поверхневого (пластичного). У грампозитивних мікроорганізмів більш виражений ригідний шар, утворений пептидогліканом (до 90 %), який містить тейхоеві кислоти. Пластичний шар майже не виражений. Крістіан Грам запропонував метод забарвлення мікроорганізмів генціановим фіолетовим і розчином Люголя, мікроорганізми при цьому забарвлюються у фіолетовий колір. Після обробки спиртом і промивання водою одні з них втрачали попереднє забарвлення і забарвлювалися фуксином Пфейффера в червоний колір, їх назвали грамнегативними. Мікроорганізми, які не втрачали фіолетового забарвлення, назвали грампозитивними.

У грамнегативних мікроорганізмів виражені пластичний і ригідний шари. Пластичний шар складається з ліпополісахариду (ЛПС) і поверхневої мембрани (вони мозаїчно переплітаються), а також ліпопротеїдів. ЛПС запускає синтез близько 20 сполук, що виявляють хвороботворну дію на

макроорганізм. Він спричинює підвищення температури тіла. ЛПС ще називають ендотоксином (оскільки він знаходиться у клітинній стінці). ЛПС складається з ліпиду А (саме він і є токсичним) та полісахариду. Полісахарид є чужорідним для макроорганізму (О-антиген) і спричинює утворення антитіл. У різних видів бактерій полісахариди різні, а в бактерій одного виду — однакові. Це пояснює антигенну специфічність мікробів.

Патогенних мікроорганізмів більше серед грамнегативних.

*Поверхнева мембрана* містить білки, які є рецепторами для фагів і коліцинів. Ці білки зумовлюють адгезію мікробів (здатність прикріплюватися до клітини макроорганізму).

В експерименті (*in vitro*) можна зруйнувати клітинну стінку. Лізоцим руйнує лише пептидоглікан клітинної стінки грамнегативних мікроорганізмів, а поверхнева мембрана (або її частина) залишається неушкодженою. Бактерії, у яких частково зруйнована клітинна стінка, називають *сферопластами*. Після обробки грампозитивних бактерій ферментами, які руйнують пептидоглікан, утворюються *протопласти* — структури, у яких повністю зруйнована клітинна стінка.

Грампозитивні та грамнегативні мікроорганізми мають понад 20 відмінностей. Основні з них наведено в табл. 1.

**Таблиця 1. Відмінності між грамнегативними та грампозитивними мікроорганізмами**

Грамнегативні мікроорганізми	Грамнегативні	Грампозитивні мікроорганізми
Забарвлюються в червоний колір	в	Забарвлюються у фіолетовий колір
Клітинна стінка тонша, складніша за структуру	стінка	Клітинна стінка товща, простіша за структуру
Вміст пептидоглікану незначний (5—10 %)		Вміст пептидоглікану значний (до 90 %)
Малочутливі до йоду, пеніциліну, лізоциму		Чутливі до йоду, лізоциму, пеніциліну (пептидоглікан є мішенню)
Клітинна стінка містить (ендотоксин)	стінка ЛПС	Більшість бактерій утворюють екзотоксини. Не містять ЛПС

### ***Роль клітинної стінки:***

- 1) бере участь у рості та поділі клітини;
- 2) захищає від дії факторів зовнішнього середовища та макрофагів (знижує фагоцитарну активність макрофагів, гальмує їх міграцію);
- 3) є фактором патогенності;
- 4) визначає антигенну структуру мікроорганізмів (О-антиген).

В організмі людини під дією антибіотиків, ферментів та антитіл бактерії можуть перетворюватися на *L-форми*. Це бактерії, які втратили клітинну стінку, але зберегли здатність до розмноження. Незалежно від виду бактерій *L-форми* мають подібні морфологічні, культуральні, тинкторіальні та антигенні властивості. Їх вірулентність знижена, всі вони нечутливі до хіміотерапевтичних препаратів і антитіл. *L-форми* зумовлюють тривале персистування збудника в організмі, перехід гострої інфекції в хронічну.

*Цитоплазматична мембрана.* Між клітинною стінкою та цитоплазматичною мембраною є *периплазматичний простір*. У грамнегативних мікроорганізмів він заповнений ферментами.

При інвагінації (вдавлюванні) цитоплазматичної мембрани утворюються мезосоми, які беруть участь у синтезі клітинної стінки, поділі бактерії і спороутворенні. Через цитоплазматичну мембрану здійснюється транспорт речовин у клітину. Вона напівпроникна (одні речовини пропускає, а інші — ні). Цитоплазматична мембрана є осмотичним бар'єром. На ній виявлено ферментні системи, які беруть участь у синтезі ферментів і токсинів.

*Цитоплазма* — складна колоїдна система, яка містить нуклеоїд, плазмід, рибосоми та різні включення.

*Нуклеоїд* (хромосома, генофор) є еквівалентом ядра еукаріот, але не має ядерної мембрани. Нуклеоїд являє собою ДНК, замкнуту в кільце. За аналогією з еукаріотами цю структуру називають хромосомою (вона одна). Кількість закодованої інформації різна у різних видів (2500—3000 генів). Перед поділом ДНК подвоюється.

*Плазмід* — додаткова кільцева молекула ДНК. Нині їх розглядають як найпростіші організми, які не мають системи синтезу білка та енергії. Вони паразитують на бактеріях, наділяючи їх певними властивостями (стійкість до антибіотиків, вірулентність та ін.). Плазмід передаються під час кон'югації мікробних клітин та поділу.

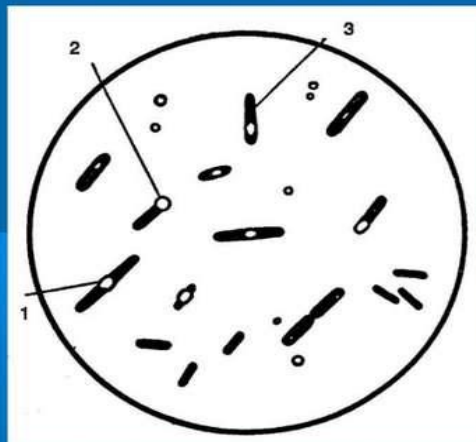
*Рибосоми.* На рибосомах відбувається синтез білка. Вони складаються із субодиниць 50S і 30S, які об'єднуються в рибосому 70S. Бактеріостатичні антибіотики (левоміцетин, тетрациклін, стрептоміцин) пригнічують синтез білка тільки на рибосомі 70S і не порушують його синтез на рибосомах людей і тварин (80S).

*Запасні речовини.* До них відносять крохмаль, глікоген і гранульозу, у грибів роду *Candida* — тригліцериди, у мікобактерій та нокардій — воски. Вони мають діагностичне значення (волютин — у коринебактерій).

*Спора* — стійка форма бактерій (мал. 5). Зустрічається переважно в паличкоподібних мікроорганізмів, дуже рідко — у коків і звивистих бактерій. Утворюються спори протягом 18—20 год. Вони проростають протягом 4—5 год. Ніколи не утворюються в тканинах людей і тварин. Вони являють собою ущільнену ділянку цитоплазми з нуклеоїдом, укриту щільною багат шаровою оболонкою, яка містить ліпіди, велику кількість кальцію, мінімальну кількість води (близько 40 %) та інші сполуки, яких немає у вегетативних клітинах (наприклад, дипіколінову кислоту, завдяки якій спори є термостійкими). Спори стійкі до високих температур (спори збудників ботулізму витримують кип'ятіння протягом 1—6 год), висушування, зміни рН. На них не діють дезінфекційні розчини. Спори можуть упродовж десятків років зберігатися в несприятливих умовах зовнішнього середовища. Це слід враховувати при виборі методів знезаражування. Матеріал, що містить спори, знезаражують в автоклаві за температури 132 °С або в сухо-жаровій шафі за температури 150—170 °С.

**Спори розташовуються:**

- 1) центрально (*B. anthracis*);
- 2) термінально (*C. tetani*);
- 3) субтермінально (*C. botulinum*, *C. perfringens*)



Мал. 5. Спори бактерій (розміщення): 1— термінальне (збудник правця); 2 — центральне (збудник сибірки); 3 — субтермінальне (збудник ботулізму).

## ХАРАКТЕРИСТИКА НЕТИПОВИХ ПРЕДСТАВНИКІВ ГРУП БАКТЕРІЙ

Представники деяких груп бактерій відрізняються будовою бактеріальної клітини, умовами існування, дією на макроорганізм та іншими ознаками.

*Спірохети* — це спірально-звивисті рухливі бактерії (мал. 6), що мають розміри 0,1—3 мкм 5—25 мкм (до 500 мкм). Не утворюють спор та капсул. Тіло спірохет являє собою спіралеподібний цитоплазматичний циліндр, оточений клітинною стінкою, що складається переважно з пептидоглікану. Він утворює постійні завитки першого порядку. їх кількість, тип, величина та кут нахилу у різних видів різні. Ці ознаки мають діагностичне значення. Вторинні завитки утворені вигинами всього тіла (наприклад, лептоспіри бувають S- і C-подібної форми). Між циліндром і поверхневою мембраною розміщуються ендоджгутики. Одним кінцем вони прикріплені до середини цитоплазматичного циліндра, другим — до полюсів, що обумовлює рухливість спірохет. Погано забарвлюються за Грамом, тому використовують мікроскопію в темному полі зору або забарвлюють за Романовським (збудник поворотного тифу забарвлюється в синьо-фіолетовий колір, сифілісу — у блідо-рожевий).



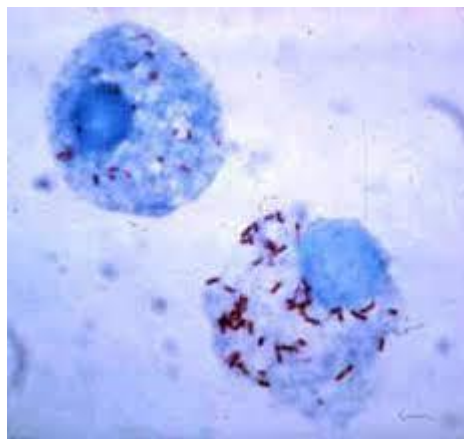
Мал. 6. Спірохети: а — трепонеми; б — лептоспіри; в — борелії

*Хламідії та рикетсії* за формою та будовою клітини подібні до бактерій. Вони чутливі до антибіотиків. Це внутрішньоклітинні паразити. Вони не ростуть на штучних живильних середовищах.

*Хламідії* — дуже дрібні організми (до 0,3 мкм), енергетичні паразити (не синтезують АТФ). Розрізняють 3 стадії розвитку хламідій. Це стадії елементарних (інфекційна форма), ініціальних (вегетативна форма, неінфекційна) та проміжних тілець. Цикл розвитку — 36—72 год. Спричиняють хламідіози в людей і тварин: орнітоз, трахому,

лімфогранулематоз, кон'юнктивіт. При будь-якій локалізації інфекція передається статевим шляхом, можливі й інші шляхи передачі.

*Рикетсії* (мал. 7). Розрізняють дві стадії розвитку: вегетативну та спокою. У вегетативній стадії рикетсії мають паличкоподібну форму, активно розмножуються, рухливі. У стадії спокою вони мають сферичну форму, не розмножуються, нерухливі. Спричинюють рикетсіози: висипний тиф, ку-гарячку, волинську гарячку та ін. Резервуарами рикетсій у природі є кліщі та воші. Рикетсії та хламідії культивують в організмі чутливих тварин, на культурах тканин і клітин, курячих ембріонах протягом 7 днів.



Мал. 7. Рикетсії

*Актиноміцети* займають проміжне місце між грибами та бактеріями. Вони мають розгалужений міцелій, який може розпадатись, утворюючи паличкоподібні форми (мал. 8). Постійно населяють ґрунт, організми людей і тварин, повітря. З них отримують антибіотики (стрептоміцин, мономіцин). Патогенні актиноміцети спричинюють актиномікози. В уражених органах утворюють тверді крупинки — друзи.



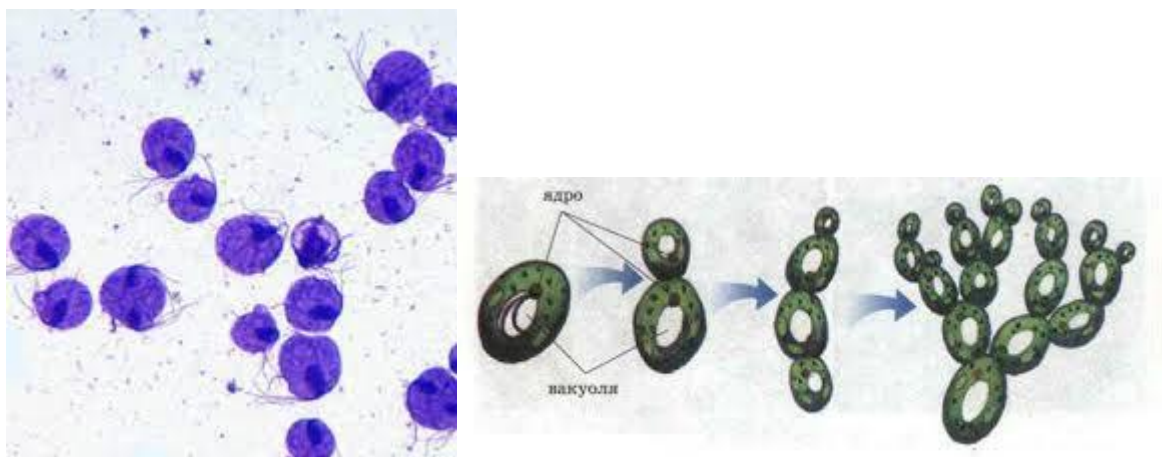
Мал. 8. Актиноміцети

*Мікоплазми* не мають клітинної стінки. Їх оболонка утворена тришаровою мембраною. Це найдрібніші (0,5 мкм) організми, що здатні до автономного розмноження. Вони нерухливі, поліморфні (кокоподібні, яйцеподібні,

ниткоподібні). Мікоплазми — паразити мембран клітин еукаріотів. Уражують органи дихання та кровообігу, сечово-статеві органи, ЦНС, суглоби у тварин і людей. Нечутливі до бета-лактамних антибіотиків (пеніциліну), мішенню для яких є клітинна стінка. Мікоплазми культивують на збагачених живильних середовищах (з холестеринном) за температури 36-37 °С, де вони утворюють дуже дрібні колонії з центром, що вростає всередину живильного середовища.

## КОРОТКА ХАРАКТЕРИСТИКА ГРИБІВ ТА НАЙПРОСТІШИХ

*Гриби* — організми рослинного походження. Тіло грибів (міцелій) складається з безбарвних одноклітинних або багатоклітинних ниток, або гіф. За формою розрізняють нитчасті (плісені) та овальні (дріжджі, дріжджеподібні) гриби. За способом розмноження є досконалі та недосконалі гриби. Серед них є і патогенні, і корисні. Дріжджі (мал. 9) синтезують вітаміни групи В, а з плісеней отримують антибіотики (пеніцилін, цефалоспорин та ін.). Гриби спричиняють мікози та мікотоксикози.



Мал. 9. Дріжджі (різні методи мікроскопи): а — світлова; б — у темному полі зору; в — фазово-контрастна; г — люмінесцентна

Мікози бувають поверхневими та системними. При поверхневих мікозах (мікроспорія, трихофітія, фавус) процес локалізується переважно в шкірі та її придатках. Гриби, як правило, не утворюють екзотоксинів, а зумовлюють гіперсенсibiliзацію. Деякі з них виділяють мікотоксини. Мікотоксикози є різновидом харчових отруень, що спостерігаються після вживання зернопродуктів, на яких розвиваються гриби (наприклад, аліментарно-токсична алейкія). Гриби роду *Candida* спричиняють кандидоз. Найчастіше збудником захворювання є *Candida albicans*. Розрізняють поверхневий, вісцеральний і генералізований кандидоз. Поверхневий кандидоз слизових оболонок називають пліснявкою. Генералізований кандидоз виникає в осіб з імунодефіцитним станом або за наявності дисбактеріозу. Патогенні гриби вирощують на середовищах, які містять вітаміни, амінокислоти та мікроелементи (середовище Сабуро) за температури 22—37 °С протягом 4—7

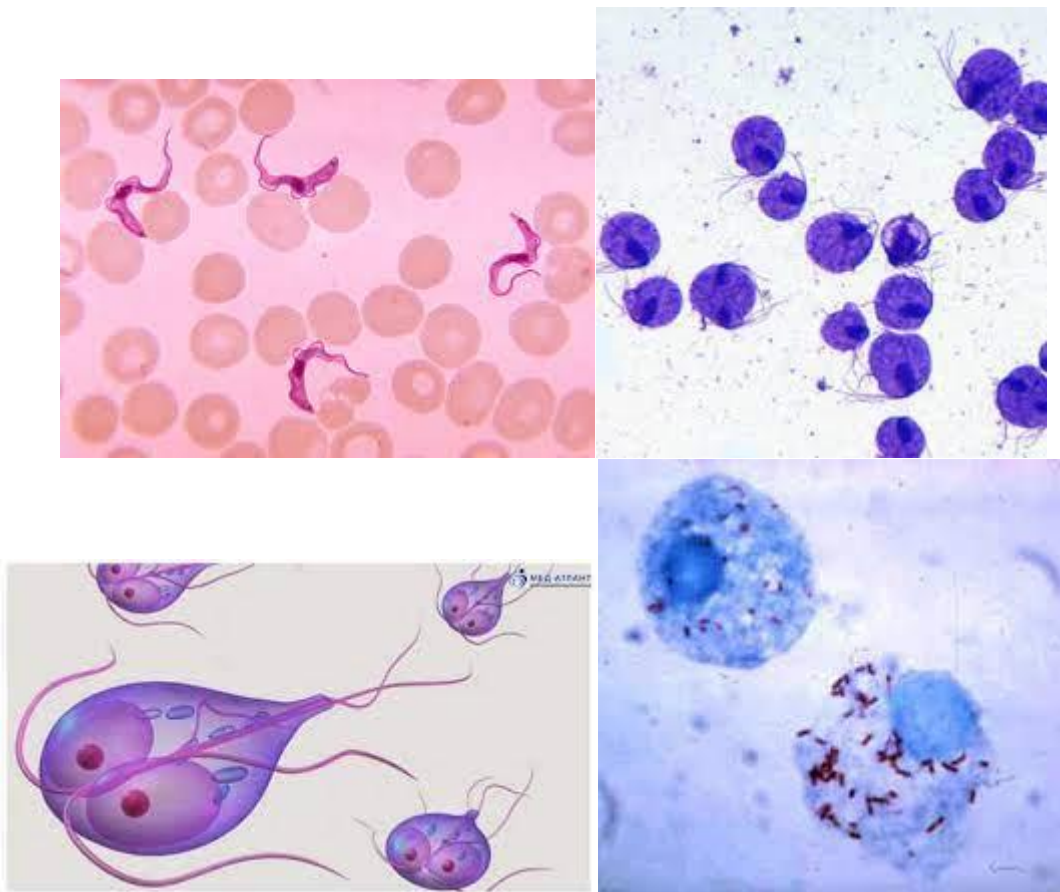
діб. Вони утворюють колонії різного кольору (білі, чорні, зелені, жовті), твердої консистенції, пухнасті, гладенькі, шорсткі та ін.

*Найпростіші* — одноклітинні мікроорганізми тваринного походження (мал. 10). У несприятливих умовах деякі з них утворюють цисти (амеби й інфузорії). Вегетативна форма нестійка (це треба враховувати під час забору патологічного матеріалу — багаторазово досліджують свіжі випорожнення). Багато найпростіших рухливі, мають джгутики або війки. До патогенних відносять такі:

- *саркододжгутиконосці*: амеби — збудники амєбіазу (амєбної дизентерії), лямблїї — збудники лямблїозу, лейшманїї — збудники шкїрного та вїсцерального лейшманїозу, трипаносоми — збудники сонної хвороби, трихомонади (ротовї, кишковї і пїхвовї; пїхвова — збудник трихомонїазу) та ін.;

- *їнфузорїї* — кишковї балантидїї (збудники балантидїазу);

- *споровики*: малярїйнї плазмодїї — збудники малярїї, токсоплазми — збудники токсоплазмозу.



Мал. 10. Найпростіші

## КОРОТКА ХАРАКТЕРИСТИКА ВІРУСІВ ШРІОНІВ

*Віруси* — це внутрішньоклітинні паразити, що не мають клітинної будови та систем, які синтезують білок та енергію. Вони мають власний геном, який складається з однієї нуклеїнової кислоти (ДНК або РНК). Розміри — від 15 до 400 нм. Вивчають віруси під електронним мікроскопом.

Позаклітинну форму називають віріоном, внутрішньоклітинну — вірусом. За будовою віріона розрізняють прості та складні віруси.

*Прості віруси.* Віріон простих вірусів складається з нуклеїнової кислоти та білкової оболонки — капсиду. Капсид складається з окремих одиниць — капсомерів. Є два способи складання капсомерів: спіральний і кубічний. Це зумовлює відповідний тип симетрії і форму вірусу. Є три типи симетрії: 1) спіральний; 2) кубічний; 3) змішаний, або комбінований. При *спіральному типі симетрії* капсомери розміщені за ходом спіралі геномної нуклеїнової кислоти. Капсид краще захищає геном, а нуклеїнова кислота вивільняється лише при руйнуванні капсиду. Такі віруси мають паличкоподібну форму (наприклад, вірус мозаїчної хвороби тютюну).

При *кубічному типі симетрії* нуклеїнова кислота утворює серцевинну структуру, оточену капсидом у вигляді багатогранника (вивільнення нуклеїнової кислоти відбувається без руйнування капсиду). Такі віруси мають сферичну форму (наприклад, вірус поліомієліту).

У деяких вірусів спостерігається *змішаний тип симетрії*. У фагів головка має кубічний тип симетрії, а хвіст — спіральний. Такі віруси мають форму сперматозоїда.

*Складні віруси.* Нуклеокапсид у них укритий ще однією оболонкою — суперкапсидом. Суперкапсид утворений модифікованими (зміненими) мембранами клітин хазяїна, у яких білки хазяїна замінені на білки вірусу (глікопротеїди). Тому суперкапсид містить компоненти, властиві клітинам хазяїна, і вірусні глікопротеїди. Ці глікопротеїди утворюють шипи. Шипи забезпечують адгезію вірусу на чутливих клітинах, обумовлюють його антигенні властивості. Крім того, вони сприяють поширенню вірусів.

Незалежно від способу складання нуклеокапсиду складні віруси (грипу, гепатиту В, ВІЛ) здебільшого мають сферичну форму. Віруси спричиняють близько 500 захворювань: герпес, вітряну та натуральну віспу, кір, краснуху, епідемічний паротит, гепатит, грип, сказ, СНІД, онкологічні захворювання та ін. Віруси руйнуються під впливом лугів, хлораміну та хлорного вапна, але стійкі до дії антибіотиків.

*Пріони* принципово відрізняються від відомих збудників захворювань (вірусів, бактерій та ін.). Вони не мають генетичного матеріалу (нуклеїнової

кислоти), а являють собою простий низькомолекулярний білок (змінена форма білка хазяїна), який кодується геномом клітини хазяїна. Легко проникає через мембрани клітини, обумовлюючи високу інфекційність. Пріони — єдина форма збудників, які не спричинюють імунних реакцій. Вони є збудниками захворювань тварин (губчастоподібна енцефалопатія) і людей (куру — хвороба, поширена серед деяких племен Нової Гвінеї, де існує ритуал канібалізму; хвороба Крейцфельда—Якоба, або вілюйська енцефалопатія, родинне фатальне безсоння та ін.).

Усі ці захворювання характеризуються губчастоподібним переродженням мозкової тканини. Вони проявляються порушенням ходи, парезами, прогресуючою деменцією і закінчуються летально. Зараження можливе при вживанні продуктів тваринного походження та використанні забруднених хірургічних інструментів, мозкових електродів, трансплантатів, ліків і косметичних засобів, виготовлених з мозку або лімфоїдної тканини тварин.

Пріони дуже стійкі до високих температур, ультрафіолетового випромінювання, дезінфекційних розчинів. Оскільки білки самі по собі не розмножуються, питання про механізм генетичного контролю репродукції пріонів і їх етіологічну роль залишаються відкритими.

## **ХІМІЧНИЙ СКЛАД МІКРОБНОЇ КЛІТИНИ**

Хімічний склад мікробних клітин мало чим відрізняється від складу клітин евкаріотів (табл. 2).

*Таблиця 2. Хімічний склад мікробної клітини*

Компоненти	Вміст у мікробній клітині, %	Вміст у клітині ссавців, %
H <sub>2</sub> O	70	70
Неорганічні іони (Na <sup>+</sup> , K <sup>+</sup> , Mg <sup>+2</sup> , Ca <sup>+2</sup> , Cl <sup>-</sup> )	1	1
Різні низькомолекулярні метаболіти	3	3
Білки	15	18
РНК	6	1,1
ДНК	1,0	0,25
Фосфоліпіди	2	3
Інші ліпіди	—	2
Полісахариди	2	2

Як видно з табл. 2, мікробна клітина складається переважно з води. Сухий залишок (15—30 %) формується з білків, нуклеїнових кислот, вуглеводів, полісахаридів, низькомолекулярних речовин і солей. Основну його масу складають білки. Прості білки називають протеїнами, складні — протеїдами. Білки, які зв'язані з нуклеїновими кислотами, називають *нуклеопротеїдами*, вуглеводами — *глікопротеїдами*, ліпідами — *ліпопротеїдами*, залізом і міддю — *хромопротеїдами*. Але за структурою хімічні речовини мікроорганізмів відрізняються від таких, що містяться в клітинах макроорганізмів. У мікроорганізмів є речовини (пептидоглікан, тейхоеві кислоти), яких немає в клітинах макроорганізмів. Тому ці речовини є чужорідними для людини, що обумовлює їх хвороботворні властивості. Особливості хімічної будови мікробної клітини враховують при створенні препаратів для лікування інфекційних хвороб, під час діагностики захворювань та при знезаражуванні мікроорганізмів.

## ФІЗІОЛОГІЯ МІКРООРГАНІЗМІВ

Функції мікроорганізмів спрямовані на підтримання життя індивіда та виду (тобто розмноження), що забезпечується безперервним обміном речовин — метаболізмом. Розрізняють пластичний (анаболізм) та енергетичний (катаболізм) метаболізм. Для підтримання процесів анаболізму, які забезпечують ріст і розмноження, необхідне надходження поживних речовин (живлення) та енергії, яка звільнюється в результаті катаболізму. Сукупність біохімічних процесів, при яких відбувається звільнення енергії, називають диханням.

*Мікроби* — це організми з дуже інтенсивним рівнем метаболізму, які швидко адаптуються до різних умов існування. Інтенсивний метаболізм і адаптацію забезпечує велика кількість ферментів. Унаслідок метаболізму утворюється багато біологічно активних речовин, які створюють оптимальні умови для існування мікроорганізму, а на макроорганізм ці речовини справляють токсичний вплив. Таким чином, мікроби живляться, дихають, ростуть, розмножуються, утворюють ферменти та токсини. Вони легко адаптуються до змін зовнішнього середовища.

**Живлення бактерій.** Для метаболізму, росту та розмноження мікробів необхідне надходження в клітину поживних речовин. Тип живлення мікроорганізмів голофітний (тобто всією поверхнею мікробної клітини). Поживні речовини надходять у клітину в молекулярній формі.

Для побудови мікробної клітини необхідні такі елементи, як вуглець, азот, кисень і водень. Потребу в кисні та водні мікроби задовольняють за рахунок води. За способом живлення мікроорганізми поділяють на автотрофи та гетеротрофи.

*Автотрофи* синтезують органічні речовини з неорганічних, *гетеротрофи* споживають готові органічні сполуки. Гетеротрофні організми, які живуть за рахунок мертвих органічних залишків, називають *сапрофітами*, за рахунок живого організму — *паразитами*.

Для живлення мікроорганізмів у лабораторіях використовують живильні середовища.

#### *Класифікація живильних середовищ*

##### *За походженням сировини:*

- натуральні (молоко, яйця, кров, сироватка, буряк);
- синтетичні (суміш хімічно чистих органічних і мінеральних речовин).

##### *За консистенцією:* рідкі, щільні та напівщільні.

##### *За складом:*

- прості: м'ясопептонний бульйон (МПБ), м'ясопептонний агар (МПА);
- складні (до простих додають вуглеводи, кров, сироватку, молоко та ін.).

##### *За призначенням:*

- основні: МПА, МПБ, пептонна вода;
- спеціальні — для виділення мікроорганізмів, які не ростуть на простих живильних середовищах;
- елективні — забезпечують сприятливі умови для росту одних мікроорганізмів і несприятливі — для інших (на середовищі Плоскірева добре ростуть сальмонели, а кишкові палички ростуть погано). Цього досягають додаванням у живильне середовище йоду, брильянтового зеленого і солей жовчних кислот;
- середовища накопичення — рідкі елективні середовища;
- диференціально-діагностичні — різні види мікроорганізмів відрізняються кольором колоній (середовище Ендо) або змінюють колір індикатора (середовище Гісса);
- консервувальні — використовують для первинного росту та транспортування патологічного матеріалу.

*Вимоги до живильних середовищ.* Живильні середовища повинні містити необхідні органічні та мінеральні речовини, вітаміни, амінокислоти. Концентрація іонів водню має бути оптимальною (рН 7,2 —7,4).

Крім того, живильні середовища повинні бути: буферними (містити сполуки, здатні нейтралізувати продукти обміну мікроорганізмів);

ізотонічними, що досягається додаванням 0,5 % розчину натрію хлориду; стерильними;

вологими (вимога до щільних середовищ); насиченими киснем (середовища для аеробів і факультативних анаеробів);

вільними від кисню (середовища для анаеробів); уніфікованими — мати постійну кількість окремих інгредієнтів (азоту, пептону, хлориду натрію); прозорими (бажано).

Живильні середовища розливають у пробірки, флакони, чашки Петрі. Прості середовища зберігають у шафах за кімнатної температури, складні — у холодильнику. Перед посівом середовища підігрівають у термостаті. Посів патологічного матеріалу проводять бактеріальною петлею, шпателем, піпеткою, дотримуючись правил асептики та техніки безпеки.

*Дихання.* За типом дихання мікроорганізми поділяють на 4 групи:

1. Облігатні аероби. Вони розмножуються тільки за наявності кисню (мікобактерії туберкульозу, бордетели, бруцели).

2. Мікроаерофіли. Вони потребують менше кисню (актиноміцети, лептоспіри).

3. Факультативні анаероби. Вони розмножуються як в аеробних, так і в анаеробних умовах (збудники кишкових інфекцій).

4. Облігатні анаероби. Вони розмножуються лише за відсутності кисню (клостридії, трепонеми, борелії). Облігатні анаероби за наявності кисню рости не можуть. Кисень навіть справляє на них токсичну дію. Для вирощування анаеробів створюють безкисневі умови. А з лікувальною метою використовують барокамери з киснем (при газовій анаеробній інфекції).

**Ферменти та токсини.** Швидкість метаболізму та адаптацію мікроорганізмів забезпечують ферменти, які вони виробляють. Для нормальної життєдіяльності клітини потрібно від 1000 до 4000 ферментів. Ферментний склад будь-якого мікроорганізму визначається його геномом і є достатньо постійною ознакою. Тому виявлення дії ферментів має діагностичне значення.

За локалізацією розрізняють екзоферменти та ендоферменти.

*Екзоферменти* виділяються в навколишнє середовище, у тому числі й в організм людини.

*Ендоферменти* локалізуються в цитоплазмі, цитоплазматичній мембрані та периплазматичному просторі. Вони потрапляють в організм людини при руйнуванні мікробної клітини. Екзо- й ендоферменти поділяють на конструктивні та адаптивні. Конструктивні (конститутивні) ферменти постійно синтезуються в клітині, а адаптивні (індуктивні) синтезуються за наявності відповідного субстрату. Останні забезпечують пристосування мікроорганізмів. Так, пеніциліназа за наявності пеніциліну забезпечує стійкість мікробів до антибіотиків.

За специфічністю дії на субстрат розрізняють такі ферменти:

- 1) протеолітичні, що розщеплюють білки до індолу, сірководню та аміаку;
- 2) сахаролітичні, що розщеплюють вуглеводи до кислоти або до кислоти та газу;
- 3) уреазу, що розщеплює сечовину до аміаку та вуглекислого газу.

Виділяють також *ферменти захисту та агресії* мікроорганізмів. Вони є факторами патогенності. Одні з них безпосередньо руйнують слиз, клітини, волокна, тканини і тим самим сприяють інвазії мікроорганізмів (наприклад, гіалуронідаза, нейрамінідаза) або пригнічують захисні реакції макроорганізму (плазмокоагулаза захищає мікробну клітину від фагоцитозу й антитіл, протеази руйнують антитіла). Інші зумовлюють утворення продуктів розпаду, які справляють токсичний вплив на макроорганізм. Так, при дії мікробної уреазу утворюються токсичні продукти, зокрема аміак, а при дії декарбоксилази у кишках накопичуються токсичні аміни, які згубно діють на організм. Патогенні мікроби також утворюють токсини (екзо- й ендотоксини). Екзотоксини утворюються в мікробній клітині і виділяються в навколишнє середовище (організм людини). Ендотоксин (АПС) є складовою частиною клітинної стінки (див. розділ "Учення про інфекцію").

У лабораторних умовах вивчають ферментативну активність на різних живильних середовищах.

*Сахаролітичні властивості* вивчають на середовищах, які містять вуглеводи (середовища Гісса, Ресселя та Олькеницького), крохмаль, молоко.

Про розпад вуглеводів до кислоти свідчать:

- а) зміна кольору індикатора (середовища Гісса та Ресселя);

б) зсідання казеїну (середовища, що містять молоко);

в) негативна реакція на крохмаль (середовище не синіє при додаванні розчину йоду).

Про утворення газу свідчить поява бульбашок. Можна спостерігати накопичення газу в поплавках.

*Протеолітичні властивості* вивчають на середовищах, які містять:

а) желатину (спостерігається розрідження желатини);

б) пептон (розщеплюється до індолу, сірководню, аміаку);

в) молоко (унаслідок пептонізації казеїну молоко стає прозорим).

Продукти розщеплення виявляють за допомогою індикаторного паперу. За наявності аміаку лакмусовий папір синіє. У разі утворення сірководню чорніє папір, просочений ацетатом свинцю та гідрокарбонатом натрію. За наявності індолу червоніє папір, просочений оксалатом калію.

*Гемолітичні властивості* вивчають на середовищах, які містять кров. Визначають зони гемолізу (альфа-гемоліз — зелена зона, бета-гемоліз — прозора зона).

*Лецитиназну активність* досліджують на середовищах, які містять жовток курячого яйця. На жовтково-сольовому агарі (ЖСА) навколо колонії з'являється "ореол", або "вінчик".

*Пігментоутворення.* Деякі мікроорганізми утворюють пігменти. Вони беруть участь у процесах дихання, захищають мікробні клітини від ультрафіолетового випромінювання, виявляють антибіотичну дію. Пігменти мають різну хімічну будову і відповідно різні розчинність і колір. Колір пігменту використовується як тест для ідентифікації пігментоутворювальних бактерій.

*Ріст і розмноження.* Ріст — збільшення біомаси клітинного матеріалу. Ростуть мікроби дуже швидко (кишкові палички — 20 хв, збудники туберкульозу — 18 — 20 год). При збільшенні біомаси клітини вдвічі починається розмноження. Мікроби розмножуються переважно простим поділом. Відбувається поділ хромосоми (ДНК) і плазмиди, потім, завдяки інвагінації цитоплазматичної мембрани і клітинної стінки, утворюється міжклітинна перегородка. Материнська клітина поділяється на 2 дочірні.

Поділ коків може відбуватися в різних площинах (стафілококи), а паличкоподібних — тільки в одній.

Швидкість розмноження мікроорганізмів дуже велика. Це визначає їх патогенність. Так, збудник чуми настільки швидко розмножується, що імунна система не встигає відреагувати. Створюється велике "навантаження" на макроорганізм, тому навіть одна мікробна клітина спричинює захворювання. А збудник туберкульозу розмножується дуже повільно, зараження в більшості випадків призводить до формування нестерильного імунітету.

Слід пам'ятати, що існують форми бактерій, які не розмножуються і тому не утворюють колоній на щільних живильних середовищах. Їх назвали *формою бактерій, що не культивуються* (ФБН). Це особливий пристосувальний стан мікроорганізмів. У такому стані вони здатні виживати в несприятливих умовах навколишнього середовища. У них знижений метаболізм, вони синтезують тільки білки, які підтримують життєдіяльність мікробної клітини і необхідні для її росту при попаданні в організм людини чи тварини. ФБН можуть утворювати багато патогенних мікроорганізмів. Так, збудник холери може зберігатися в такій формі протягом кількох років, підтримуючи ендемічний стан водоймища. Виявити ФБН можна тільки за допомогою ланцюгової полімеразної реакції (ЛПР).

**Культивування.** У лабораторних умовах мікроби вирощують у лабораторних умовах на живильних середовищах. Швидкість розмноження залежить від багатьох чинників: виду культури, складу живильного середовища, температури та ін. Мікроби розмножуються до максимально можливої кількості (розміру конкретної колонії). Культивують бактерії в термостаті, де забезпечуються оптимальні температура (для більшості 37—38 °С), вологість та аерація, відсутність світла. Більшість бактерій культивують протягом 18—24 год (анаероби — 5—7 днів, збудники туберкульозу — 2 тиж і більше).

*Вивчення культуральних властивостей.* Ознаками росту мікроорганізмів на рідкому живильному середовищі можуть бути помутніння бульйону, утворення плівки або осаду. На щільних живильних середовищах мікроби утворюють характерні для даного виду колонії, які відрізняються формою, розміром, будовою, консистенцією та кольором.

### ***Запитання для самоконтролю***

1. Що вивчає мікробіологія?
2. Які методи застосовують для мікробіологічної діагностики інфекційних захворювань?
3. Які основні періоди виділяють у розвитку мікробіології? З роботами яких учених вони пов'язані?
4. Який внесок зробили українські вчені в розвиток мікробіологічної науки?

5. Серед яких систематичних груп зустрічаються збудники захворювань?
6. На які групи поділяють бактерії згідно з визначником бактерій Берджі?
7. Що є основною номенклатурною одиницею мікроорганізмів?
8. За якими ознаками проводять ідентифікацію мікроорганізмів?
9. Форма бактерій, їх розміщення.
10. Чим відрізняються бацили від клостридій?
11. Що таке поліморфізм?
12. Які захворювання спричинюють коки, палички та звивисті мікроорганізми?
13. З яких основних структур складається бактеріальна клітина?
14. Назвіть поверхневі структури бактеріальної клітини. Яке значення вони мають для мікробної клітини? Яка їх роль у патогенезі захворювань?
15. Будова клітинної стінки та властивості грампозитивних і грамнегативних мікроорганізмів. Назвіть відмінності.
16. L-форми бактерій, їх роль у патогенезі захворювань.
17. Роль спори та капсули у життєдіяльності бактерій.
18. Особливості грибів, вірусів і найпростіших. Які захворювання вони спричинюють?
19. Особливість метаболізму мікроорганізмів.
20. На які групи поділяють мікроби залежно від типу дихання?
21. Практичне значення ферментоутворення.
22. Особливості росту та розмноження мікроорганізмів. Форми бактерій, що не культивуються. їх практичне значення.

### ***Ситуаційні задачі***

1. Під час мікроскопії осаду сечі хворого Н., який звернувся в поліклініку зі скаргами на біль при виділенні сечі та підвищення температури тіла до 37,6—37,8 °С, у препараті були виявлені грампозитивні коки у вигляді грона.

Який мікроорганізм виділено із сечі? Чи міг він спричинити запалення сечового міхура? Які мікроорганізми можуть спричинити таке захворювання?

2. При дослідженні в темному полі зору сечі та "роздавленої" краплі крові хворого С, який звернувся в поліклініку зі скаргами на головний біль, підвищення температури тіла до 39 °С, біль у литках, були виявлені рухливі спірально-звивисті мікроорганізми, за формою схожі на туго скручену пружину у вигляді літер С і S. Що це за мікроорганізми? Яке захворювання вони спричинюють?

3. Під час мікроскопії спинномозкової рідини в темному полі зору були виявлені мікроорганізми бобоподібної форми, схожі на кавові зерна, розміщені попарно, червоного кольору (забарвлення за Грамом). Які мікроорганізми було виділено? Яку хворобу вони спричинили? Які ще мікроорганізми мають подібну форму? Які захворювання вони спричинюють?

### ***Тест***

Які з виявлених при мікроскопії мікробів є спорогенними:

- а) стафілококи;
- б) кишкова паличка;
- в) бацили сибірки;
- г) клостридії правця;
- д) холерні вібріони?

## **Практичне заняття №1**

### **ОРГАНІЗАЦІЯ Й ОБЛАДНАННЯ МЕДИЧНОЇ МІКРОБІОЛОГІЧНОЇ ЛАБОРАТОРІЇ**

#### **Мета заняття:**

- знати основні методи мікробіологічних досліджень;
- уміти описувати морфологічні властивості бактерій;
- уміти мікроскопувати мазки-препарати.

#### **Загальні компетентності (ЗК)**

ЗК. 4. Здатність застосовувати знання у практичних ситуаціях.

ЗК. 5. Здатність спілкуватися державною мовою як усно, так і письмово.

ЗК. 6. Знання та розуміння предметної області та розуміння професійної діяльності.

### **Спеціальні (фахові) компетентності (СК)**

СК. 9. Здатність до використання сукупностей професійних навичок (умінь) при підготовці та проведенні діагностичних досліджень та застосовуванні дезінфікуючих і лікарських засобів у професійній діяльності.

СК. 13. Здатність до використання професійно профільованих знань, умінь та навичок для здійснення санітарно-гігієнічних і лабораторних досліджень, протиепідемічних та дезінфекційних заходів.

### **Програмні результати навчання (РН)**

РН. 5. Дотримуватися правил охорони праці та безпеки життєдіяльності. здоров'я пацієнта.

#### **План**

1. Призначення, структура, обладнання медичної мікробіологічної лабораторії.
2. Організація робочого місця лаборанта.
3. Правила поведінки та техніки безпеки в мікробіологічній лабораторії.
4. Класифікація за ступенем небезпечності найбільш поширених мікроорганізмів, патогенних для людини.
5. Правила взяття, оформлення та транспортування патологічного матеріалу.
6. Основні методи мікробіологічних досліджень.
7. Ознайомлення з основними методами мікроскопії.
8. Мікроскопія пофарбованих препаратів.

#### **Хід заняття**

### **1. Призначення, структура, обладнання медичної мікробіологічної лабораторії**

**Завдання 1. Ознайомтеся з призначенням, структурою та обладнанням медичної мікробіологічної лабораторії, організацією робочого місця.**

Вимоги щодо влаштування приміщення, безпеки робіт і правил поведінки персоналу мікробіологічної лабораторії викладені в Державних

санітарних правилах "Правила влаштування і безпеки роботи в лабораторіях (відділах, відділеннях) мікробіологічного профілю" (ДСП 9.9.5.-080-02), затверджених МОЗ України 28.01.2002 р. Мета Правил — створення безпечних умов праці, забезпечення індивідуальної та загальної безпеки, запобігання винесенню інфекцій за межі лабораторії, нещасним випадкам та професійним захворюванням.

Медичні мікробіологічні лабораторії організовують при лікарнях, поліклініках, санітарно-епідеміологічних станціях, медичних науково-дослідних інститутах, вищих та середніх спеціальних навчальних закладах.

За призначенням медичні мікробіологічні лабораторії бувають: бактеріологічні, вірусологічні, мікологічні, парази-тологічні, імунологічні. Окремо існують лабораторії для діагностики особливо небезпечних інфекцій, шкірно-венеричних інфекцій, а також туберкульозу.

### **Завдання медичної мікробіологічної лабораторії**

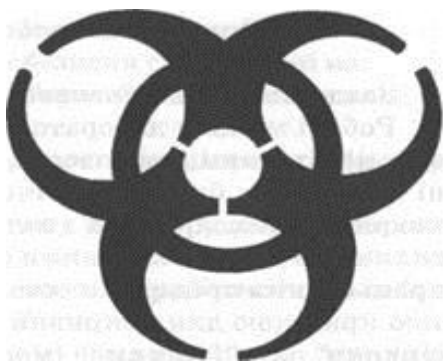
1. Діагностичні дослідження при інфекційних хворобах проводять з метою:
  - 1) виявлення збудника або ДНК і продуктів його метаболізму в матеріалі, що досліджується;
  - 2) визначення чутливості мікроорганізмів до антибіотиків;
  - 3) виявлення імунної відповіді макроорганізму на проникнення мікроорганізму.
2. Профілактичне обстеження населення для виявлення носіїв патогенних мікроорганізмів.
3. Санітарно-мікробіологічне обстеження об'єктів навколишнього середовища (води, харчових продуктів, повітря тощо) з метою стеження за циркуляцією збудників та запобігання поширенню інфекцій.
4. Наукові дослідження з метою вивчення властивостей збудників інфекційних хвороб, вдосконалення методів мікробіологічної діагностики, створення ефективних препаратів для профілактики та лікування інфекційних хвороб.

Робота мікробіологічної лабораторії в комплексі з іншими медичними і немедичними установами спрямована на зниження захворюваності населення і оздоровлення довкілля.

### **Структура мікробіологічної лабораторії**

Медична мікробіологічна лабораторія — це складний самостійний структурний підрозділ медичного закладу, що виконує експериментальні, діагностичні або виробничі роботи з патогенними біологічними агентами. Специфіка роботи потребує ізоляції її від інших приміщень. Вимоги до планування та складу приміщень лабораторії, їх обладнання залежать від конкретних задач, обсягу досліджень, призначення, централізації лабораторної служби. Лабораторія має бути забезпечена водопроводом, каналізацією, електрикою, засобами зв'язку, вентиляцією, опаленням, а також бути газифікованою.

На вхідних дверях потрібно позначити: назву лабораторії і міжнародний знак "Біологічна небезпека" (мал. 1). Двері повинні мати кодові замки.



Приміщення мікробіологічної лабораторії за ступенем небезпеки для персоналу ділять на три зони: "заразна" зона — приміщення, в яких проводять роботу з біологічним матеріалом; "умовно-заразна" зона — приміщення, в яких проводять роботу із знезараженим біологічним матеріалом; "чиста" зона — приміщення, в яких не проводять роботу з біологічним матеріалом.

Приміщення лабораторії слід розташовувати відповідно до ходу виконання аналізів і мати раціональне розміщення щодо основних потоків технологічного процесу. Дослідження патологічного матеріалу проводять у лабораторній кімнаті.

**Лабораторна кімната** має бути просторою, світлою, непрохідною. Для зручності оброблення дезінфекційними розчинами і миття стіни облицьовують глазурованою плиткою на висоту 1,5 м або фарбують олійною фарбою світлих тонів. Поверхня дверей, підлоги має бути рівною, без виступів, легко митися, стійкою до дезінфекційних засобів. Робочі поверхні столів потрібно робити із водонепроникного, кислото- і лужностійкого, незгораючого матеріалу, який не псується від оброблення вогнем і дезінфекційними розчинами. Столи, на яких проводять мікроскопію, розміщують біля вікон.

**Оснащення бактеріологічної лабораторії** має забезпечувати умови для праці персоналу. В ній слід розмістити: термостати, холодильники, стерилізатори, центрифуги, дистильатор, нагрівальні прилади. Лабораторна

кімната має бути обладнана водопроводом. Раковини зі змішувачами холодної та гарячої води розміщують біля виходу. Біля раковини встановлюють пристрої, в яких мають постійно знаходитись розчини для дезінфекції рук і мийні засоби. У лабораторній кімнаті повинні бути мікроскопи, інструменти для виконання досліджень.

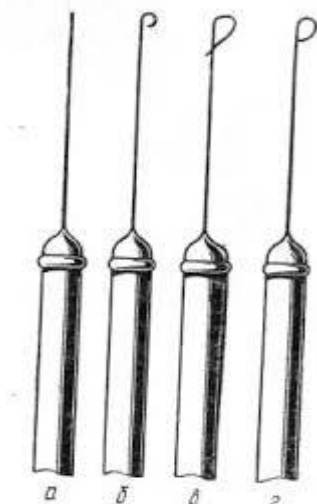
Дослідження в стерильних умовах проводять у боксах.

Площа боксу має бути розрахована на роботу одночасно двох осіб. Перед роботою і після неї приміщення боксу обробляють дезінфекційними розчинами і опромінюють бактерицидними лампами.

## 2. Організація робочого місця лаборанта

### Завдання 2. Ознайомтеся з організацією робочого місця.

Робочі місця в лабораторії мають бути постійно оснащені всім необхідним для повсякденної роботи. Для роботи потрібні спиртівка, бактеріологічна



петля (мал. 2),

Перед початком роботи предмети на столі потрібно розмістити так, щоб середина столу була вільною. Дезінфекційні розчини для оброблення рук, посудина для піпеток, банка для відходів мають бути розміщені справа від працівника на відстані, що дає змогу, не встаючи з робочого місця, обробляти руки, занурювати в дезінфекційний розчин піпетки й інший відпрацьований матеріал. Спиртівка повинна знаходитися у центрі столу на відстані 30 см від його краю. Об'єкти з посівами, незасіяні поживні середовища розміщують зліва на однаковому рівні зі спиртівкою.

Для фарбування мазків обладнують спеціальне місце, на якому потрібно мати барвники, спирт, пісочні годинники, про-мивалку з дистильованою водою, лоток із місточком, пінцет, фільтрувальний папір.

## 3. Правила поведінки та техніки безпеки в мікробіологічній лабораторії

**Завдання 3. Вивчіть правила поведінки та техніки безпеки в мікробіологічній лабораторії, поставте свій підпис в журналі інструктажу з питань техніки безпеки.**

Правила поведінки і техніки безпеки спрямовані на:

- профілактику внутрішньолабораторного зараження персоналу;
- запобігання потраплянню патогенних мікроорганізмів у навколишнє середовище;
- захист патологічного матеріалу від забруднення сторонньою мікрофлорою.

**Правила поведінки і техніки безпеки в мікробіологічній лабораторії**

1. Під час виконання роботи в "заразній" та "умовно-заразній" зонах персонал повинен працювати в спеціальному одязі: халат, шапочка, змінне взуття, гумові рукавички; у боксі — в стерильному спеціальному одязі: халат, шапочка, маска, бахіли, гумові рукавички.

2. Робоче місце утримувати в чистоті і порядку.

**Увага! Забороняється носити взуття із тканини та з відкритим носком!**

3. На посудинах із культурою мають бути чітко написані назва культури, реєстраційний номер, дата посіву.

4. Забороняється переливання бульйонних культур і матеріалу, який досліджується, із однієї посудини в іншу, він переноситься піпеткою так, щоб не інфікувати горловину посудини.

5. У разі потрапляння патологічного матеріалу або культури мікроорганізмів на руки, стіл їх негайно слід обробити дезінфекційним розчином.

6. Відпрацьований заразний матеріал, культури мікроорганізмів знезаражують в автоклаві чи заливають дезінфекційним розчином, занурюють у дезінфекційний розчин або спалюють.

7. У лабораторії не допускають зайвих рухів, сторонніх розмов.

8. Всі маніпуляції проводять таким чином, щоб уникнути виникнення аерозолів.

9. Категорично забороняється пити воду, їсти, палити.

10. Після закінчення роботи поживні середовища з посівами поміщають у термостат, культуру мікроорганізмів — у холодильник і опечатують їх; інструменти, прилади ставлять на відведені для них місця, стіл протирають дезінфекційним розчином, руки обробляють 70 % етиловим спиртом і ретельно миють із милом.

11. Персонал лабораторії повинен мати щеплення проти тих інфекцій, збудники яких можуть бути в патологічному матеріалі, що досліджується.

Режим роботи мікробіологічної лабораторії визначається ступенем небезпечності мікроорганізмів, які можуть перебувати в патологічному матеріалі.

#### 4. Класифікація за ступенем небезпечності найбільш поширених мікроорганізмів, патогенних для людини

**Завдання 4. Ознайомтеся з класифікацією за ступенем небезпечності найбільш поширених мікроорганізмів, патогенних для людини.**

За ступенем небезпечності патогенні для людини мікроорганізми та їх токсини поділяють на 4 групи (табл. 1). До I і II груп відносять збудників висококонтагіозних (від лат. *contactus* — дотик) інфекційних хвороб, які характеризуються важкими та стійкими розладами здоров'я у значній кількості хворих, високим рівнем смертності та швидким поширенням серед населення, їх називають особливо небезпечними інфекціями. Дослідження матеріалу, зараженого або підозрілого на зараженість цими збудниками, проводять в окремих лабораторіях, режим роботи яких регламентується "Інструкцією про протиепідемічний режим роботи з матеріалом, зараженим або підозрілим на зараженість збудниками інфекційних хвороб I—II груп".

До III групи відносять збудників інфекційних хвороб, що характеризуються важкими або стійкими розладами здоров'я в окремих хворих і становлять небезпеку для їх життя і здоров'я. Дослідження матеріалу, зараженого або підозрілого на зараженість цими збудниками, проводять у бактеріологічних лабораторіях санітарно-епідеміологічних і лікувальних закладів.

До IV групи належать збудники токсикоінфекцій і гострих бактерійних отруєнь, збудники ентеритів, сепсису, представники нормальної мікрофлори людини, в тому числі санітарно-показникова мікрофлора.

#### Патогенні для людини мікроорганізми

Види збудників						
Група II	Бактерії	Рикетсії	Гриби	Найпростіші	Хламідії	Віруси
I	Збудник чуми					Збудники натуральної віспи, гарячки Ебола, Ласса, Марбург

II	Збудники сибірки, сапу, бруцельозу, туляремії, легіонельозу, лептоспірозу, холери	Збудники епідемічного висипного тифу, ендемічного висипного тифу, Ку-гарячки	Збудники бластомикозу, кокцидіозу, гістоплазмозу	Збудники орнітозу	Збудники гепатиту В, Д, С, сказу, СНІДу, ящуру
III	Збудники коклюшу, дифтерії, туберкульозу, менінгококової інфекції, гонореї, дизентерії, черевного тифу, ботулізму, правця, сифілісу, актиномікозу	Збудники кліщового висипного тифу Північної Азії, волинської, марсельської гарячок	Збудники кандидозу, аспергілозу	Збудники лейшманіозу, малярії, трихомоніазу	Збудники трахоми, пневмонії, поліомієліту, простого герпесу, вітряної віспи, цитомегалії, вірус Епштейна—Барр
IV	Збудники паракоклюшу, газової гангрени, ешерихії, сальмонели, стафілококи, стрептококи, клебсієли, синьо-гнійна паличка, протей, мікоплазма		Мукор, пеніциліум, трихофітон	Токсоплазма, балантидій, патогенна (дизентерійна) амеба	Аденовіруси, віруси ЕСНО, збудники парагрипу, епідемічного паротиту, кору, краснухи

Робота з цими збудниками вимагає дотримання звичайного режиму, який забезпечує надійний захист персоналу від вну-трішньолабораторного зараження, надійне знезараження матеріалу, а також виключає можливість поширення інфекцій за межі лабораторії.\*

## 5. Правила взяття, оформлення та транспортування патологічного

## матеріалу

**Завдання 5. Вивчіть, який матеріал підлягає мікробіологічному дослідженню та як його доставляють до лабораторії.**

На мікробіологічне дослідження у хворих відбирають патологічний матеріал для діагностики інфекційних хвороб, у здорових людей — з метою профілактичного обстеження та з навколишнього середовища — для виявлення патогенних мікроорганізмів або визначення його санітарного стану.

У лабораторію доставляють від людей: випорожнення, блювотні маси, промивні води шлунка, бронхів, мокротиння, кров, сечу, виділення з ран, гній, мазки зі слизових оболонок, зскріб-ки, спинномозкову рідину, жовч, вагінальні виділення, жіноче грудне молоко, пунктат кісткового мозку, лімфатичних вузлів, абсцесів, біопсійний та секційний матеріал тощо; з навколишнього середовища: воду, ґрунт, повітря, харчові продукти, труп тварин та ін.

**Увага! Будь-який матеріал, що надходить на дослідження до лабораторії, розглядається як потенційно небезпечний!**

Патологічний матеріал відбирають стерильним інструментом (тампоном, шприцем, шпателем, піпеткою та ін.) і вміщують у стерильний посуд (банки, пробірки, флакони, плювальниці); зразки крові, сироваток крові потрібно доставляти у флаконах, пробірках, герметично закритих гумовими пробками, або у пробірках типу "Епендорф"; матеріал із навколишнього середовища для санітарно-бактеріологічного дослідження вміщують у нові поліетиленові пакети, стерильні пляшки, банки, стерильний пергаментний папір і ретельно пакують.

До кожної проби додають етикетку, на якій вказують номер і назву матеріалу, заклад (відділення) або місце його взяття, прізвище, ім'я та по батькові хворого, на етикетках до проб на санітарно-бактеріологічне дослідження вказують: ферму, підприємство, джерело води, дату і час взяття матеріалу. Крім етикетки заповнюють бланк направлення за затвердженим зразком, у якому вказується заклад (відділення) або місце взяття матеріалу, номер і назва матеріалу, кратність направлення матеріалу (первинно чи повторно), прізвище, ім'я та по батькові хворого, його вік, дата захворювання, попередній діагноз, дані про лікування хворого антибіотиками та іншими антимікробними препаратами, мета дослідження, дата і час взяття матеріалу, прізвище і посада особи, яка направляє матеріал для мікробіологічних досліджень.

### **Загальні вимоги до взяття і транспортування матеріалу**

1. Взяття матеріалу слід здійснювати до вживання хворим антибіотиків та інших антимікробних препаратів, а якщо це неможливо, то після відміни їх вживання хворим через 2—3 доби.

2. Необхідно захистити матеріал від забруднення сторонньою мікрофлорою, тобто чітко дотримуватися правил асептики. Особливо це стосується тих матеріалів, які в нормі не містять мікроорганізмів, — крові, спинномозкової рідини, лімфи тощо.
3. Характер і кількість матеріалу, який забирається, повинен бути скоригований з урахуванням клінічної картини, патогенезу, строків захворювання, його тяжкості тощо.
4. Необхідно виключити можливість інфікування осіб, які беруть і доставляють матеріал, і забруднення довкілля мікробами.
5. Максимальне скорочення строків з моменту взяття матеріалу до його доставки у мікробіологічну лабораторію — не більше ніж 2—3 год.

Транспортується матеріал на спеціальному транспорті або переноситься в біксах, сумках-холодильниках, пластикових футлярах, термосах, стійких до автоклавування та дії дезінфектантів. Матеріал, що вміщує мікроорганізми, нестійкі в навколишньому середовищі (збудники коклюшу, менінгококової інфекції), під час транспортування обкладають ватою та грілками. Направлення на дослідження упаковують окремо.

**Увага! Забороняється обертати направлення навколо посудини з об'єктом дослідження.**

**Зразки і посуд, в якому надходить матеріал для дослідження, поверненню не підлягають!**

## **6. Основні методи мікробіологічних досліджень**

**Завдання 6. Ознайомтеся з принципами основних методів мікробіологічних досліджень.**

Важливою умовою ефективності лабораторних досліджень є доцільний вибір методу. Основні вимоги, яким мають відповідати сучасні методи, — це висока специфічність і чутливість. У сучасних мікробіологічних лабораторіях використовуються такі методи.

**Мікроскопічний** — виявлення збудника під мікроскопом у мазках, виготовлених із патологічного матеріалу. Застосовують для діагностики гонореї, сифілісу, туберкульозу, малярії тощо.

**Бактеріологічний (вірусологічний, культуральний)** — посів патологічного матеріалу на поживні середовища, зараження культури клітин, курячих ембріонів, виділення чистої культури збудника та його ідентифікація. Використовують для діагностики більшості хвороб бактеріальної, вірусної, грибової природи: черевного тифу, чуми, мікроспорії, грипу та ін. Нині розроблено автоматичні аналізатори, за допомогою яких протягом декількох годин (4—24) можна визначити вид збудника.

**Біологічний (експериментальний)** — зараження лабораторних тварин патологічним матеріалом для моделювання інфекції або виділення та ідентифікації збудника. Застосовують для виділення чистої культури пневмокока, збудника туляремії, діагностики туберкульозу та ін.

Біологічний метод використовують також для виявлення мікробних токсинів, під час харчових отруєнь (ботулізм), при хворобах (правець, газова гангрена) тощо.

**Імунологічний (серологічний, від лат. *serum* — сироватка)** — виявлення специфічних антитіл у сироватці крові або антигенів у патологічному матеріалі. Для цього використовують імунні реакції.

**Молекулярно-генетичний** — виявлення РНК або ДНК збудника в патологічному матеріалі. Для цього використовують:

- а) метод гібридизації ДНК або РНК (метод ДНК-, РНК- зондів);
- б) метод ЛПР.

Молекулярно-генетичний метод найбільш специфічний і чутливий, він дає змогу ідентифікувати будь-який біологічний об'єкт навіть за незначної концентрації його нуклеїнових кислот у досліджуваному матеріалі. Метод ЛПР дає змогу виявити 1 молекулу нуклеїнової кислоти в зразку, що досліджується.

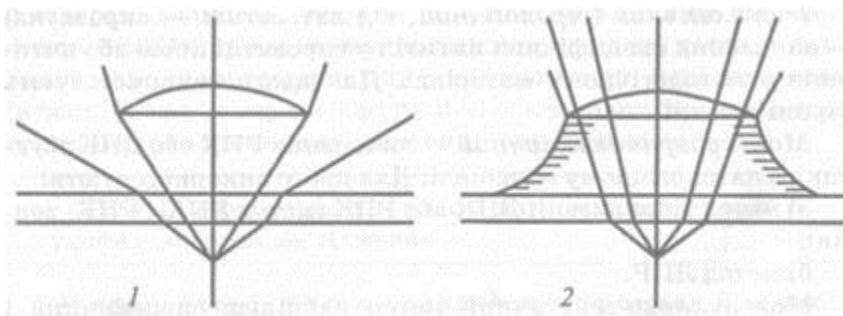
## **7. Ознайомлення з основними методами мікроскопії**

### **Завдання 7. Ознайомтеся з основними методами мікроскопії.**

Світлова мікроскопія проводиться за допомогою звичайних біологічних мікроскопів. Вона ґрунтується на тому, що світло, відбите поверхнею дзеркала, проходить через систему лінз конденсора Аббе і попадає на препарат, потім в об'єктив, окуляр і далі сприймається оком дослідника. У такий спосіб дослідник бачить уявне збільшене зображення об'єкта. Під час мікроскопії мікробіологічних препаратів слід користуватися імерсійним об'єктивом. В імерсійних системах використовують імерсійне масло (кедрове, персикове), об'єктив позначають "МІ" (масляна імерсія), або воду, об'єктив позначають "ВІ" (водна імерсія). Крім того, масляний об'єктив має на своїй поверхні чорне кільце, водний — біле. Імерсійне масло чи вода мають коефіцієнт заломлення світла, близький до такого, як у скла.

Світлові промені, проходячи через предметне скло препарату, потрапляють у краплю імерсійної рідини і далі в об'єктив, не змінюючи напрямку, тому не розсіюються (мал. 3). Це забезпечує краще освітлення об'єкта і посилює чіткість зображення.

Цей вид мікроскопії використовують здебільшого для вивчення пофарбованих препаратів, тому на світлому фоні видно забарвлений неprozорий об'єкт.



Мал. 3. Хід променів у сухій (1) та імерсійній (2) системах



Крім світлової використовують темнопольну, фазовоконтрастну, люмінесцентну та електронну мікроскопію. **Темнопольну і фазовоконтрастну мікроскопію** використовують для вивчення мікроорганізмів у живому стані. За допомогою люмінесцентної мікроскопії виявляють мікроби безпосередньо в патологічному матеріалі. Цей метод найбільш інформативний (можна виявити мікроорганізми навіть у невеликій кількості) і швидкий. Такий метод виявлення патогенних мікробів у патологічному матеріалі називається експрес-діагностикою.

Під час електронної мікроскопії зображення об'єкта збільшується в мільйони разів, що дає змогу вивчати структуру мікроорганізмів на субклітинному і молекулярному рівнях.

### 8. Мікроскопія пофарбованих препаратів

У мікробіологічній лабораторії в повсякденній практиці для вивчення морфології і тинкторіальних властивостей мікроорганізмів використовують світловий мікроскоп.

Мікроскопія включає такі етапи:

- 1) підготовка мікроскопа;
- 2) мікроскопія;
- 3) догляд за мікроскопом.

**Завдання 8. Повторіть будову світлового мікроскопа (мал. 4).**

**Увага! Мікроскоп — це чутливий, точний оптичний прилад. Він потребує обережного ставлення і чіткого виконання правил під час роботи з ним. Переносячи мікроскоп, його слід тримати двома руками: однією — за тубусотримач, другу — підставити під основу. Забруднені оптичні частини мікроскопа слід протирати м'якою тканиною, змоченою водою або спиртом.**

**Завдання 9. Підготуйте мікроскоп до роботи, проведіть мікроскопію пофарбованих препаратів.**

**Алгоритм "Підготовка мікроскопа":**

- поставте мікроскоп у зручну для роботи позицію, підніміть тубус;
- протріть оптичну систему; — підніміть конденсор;
- відкрийте діафрагму конденсора;
- встановіть об'єktiv (x8);
- освітіть поле зору за допомогою дзеркала.

**Алгоритм "Мікроскопія":**

- нанесіть краплю імерсійного масла на препарат;
- покладіть препарат на предметний столик;
- переведіть об'єktiv з малого збільшення на велике (x90 МІ);
- опустіть обережно об'єktiv макрогвинтами у краплю імерсійного масла (дивитися збоку);
- піднімайте повільно об'єktiv макрогвинтами, доки не з'явиться зображення (дивитися в окуляр);
- встановіть чіткість зображення за допомогою мікрогвин-та;
- визначте форму мікроорганізмів, їх розміщення, наявність у них спор і капсул;
- підніміть тубус макрогвинтами;
- зніміть препарат з предметного столика.

**Алгоритм "Догляд за мікроскопом":**

- зніміть імерсійне масло з лінзи об'єктива шматочком вати;
- протріть об'єktiv марлевою серветкою, покладіть її на предметний столик;
- переведіть об'єktiv на мале збільшення (x8);
- опустіть конденсор, закрийте діафрагму, опустіть тубус;
- поставте мікроскоп у шафу або накрийте чохлом (захист від пилу).

**Завдання 10. Приберіть робоче місце. Заповніть щоденник. Замалюйте в щоденнику основні форми бактерій.**

**Контрольні запитання**

1. При яких медичних закладах існують мікробіологічні лабораторії?

2. Які існують медичні мікробіологічні лабораторії залежно від призначення?
3. Які задачі стоять перед медичною мікробіологічною лабораторією?
4. Яким вимогам має відповідати лабораторна кімната?
5. Чим має бути обладнане робоче місце лаборанта?
6. Яких правил слід дотримуватися під час роботи з патологічним матеріалом?
7. Від чого залежить режим роботи лабораторії?
8. Яких правил слід дотримуватися під час взяття і транспортування матеріалу для дослідження?
9. Які методи використовують під час мікробіологічних досліджень?

## Тести

### **1. Метод дослідження, під час якого проводять посів патологічного матеріалу на поживне середовище:**

- а) мікроскопічний;
- б) бактеріологічний;
- в) біологічний;
- г) імунологічний.

### **2. На мікробіологічне дослідження відбирають матеріал:**

- а) у хворої людини;
- б) у здорової людини;
- в) із навколишнього середовища;
- г) всі відповіді правильні.

### **3. Відбір матеріалу проводять:**

- а) до початку лікування антибактеріальними препаратами;
- б) у процесі лікування;
- в) не має значення.

### **4. Час, протягом якого матеріал транспортують до лабораторії:**

- а) 1 год;
- б) 2 год;
- в) 1 доба,
- г) 3—5 год.

### **5. Імерсійну систему в мікроскопі використовують для:**

- а) збільшення зображення об'єкта;
- б) посилення чіткості зображення;
- в) всі відповіді правильні.

### **6. Експрес-методи діагностики є найбільш:**

- а) точними;

- б) швидкими;
- в) досконалими;
- г) всі відповіді правильні.

### **Ситуаційні задачі**

1. Під час мікроскопії препарату, виготовленого з культури бактерій, використали об'єктив x40. Які були допущені помилки?
2. Під час мікроскопії осаду спинномозкової рідини хворого на менінгіт виявили грампозитивні кулясті бактерії, розміщені у вигляді грона винограду. Наявність яких бактерій можна підозрювати у патологічному матеріалі?
3. Патологічний матеріал, забруднений споровою культурою, знезаражували в автоклаві за температури 110 °С протягом 20 хв. Дайте оцінку цим діям.
4. При інфекційній хворобі клінічний діагноз підтверджують мікробіологічним дослідженням патологічного матеріалу. Як слід упакувати матеріал і направлення до нього?
5. Збудник менінгококової інфекції швидко гине за температури, нижчої за температуру тіла людини. В яких умовах слід транспортувати патологічний матеріал хворого на менінгококову інфекцію?

### **Домашнє завдання**

Підготуйтеся до практичного заняття 2.

#### **Рекомендації щодо самопідготовки до практичного заняття 2**

1. Ознайомтеся з темою і метою заняття, запишіть у щоденнику тему і план.
2. Вивчіть теоретичний матеріал (див. підручник, с. 21—39; практикум, с. 26—38).

**Комунальний заклад Київської обласної ради  
«Чорнобильський медичний фаховий коледж»**

**ЗАТВЕРДЖУЮ**  
Заступник директора  
з навчальної роботи  
Тетяна КРАВЧЕНКО  
“ \_\_\_ ” \_\_\_\_\_ 20\_\_р.

Циклова комісія *природничо-наукових та соціально-гуманітарних  
дисциплін*

Галузь знань: 22 Охорона здоров'я  
Спеціальність: 223 Медсестринство  
Освітньо-професійна програма: Лікувальна справа  
Освітньо-професійний ступінь: Фаховий молодший бакалавр  
Вид освітнього компонента: Нормативна  
Мова викладання: Українська

***ІНСТРУКТИВНІ КАРТИ***

***ДЛЯ САМОСТІЙНОЇ РОБОТИ***

***З ОСНОВ МІКРОБІОЛОГІЇ З ІМУНОЛОГІЄЮ***

Викладачка основ мікробіології з імунологією  
Карасюк Тетяна Валентинівна,  
спеціаліст вищої категорії, «викладач-  
методист»

## **СХВАЛЕНО**

на засіданні ЦК природничо-наукових та  
соціально-гуманітарних дисциплін

Протокол № \_\_ від «\_\_» \_\_\_\_\_ 2023р

Голова ЦК \_\_\_\_\_ Олександр ТОЛКАЧОВ

Яготин  
2023

### **Тема 1. Живильні середовища. Ферменти бактерій, їх значення.**

#### **1. Актуальність теми:**

Для того, щоб ідентифікувати бактерії, дослідити їх культуральні та біохімічні властивості, для тривалого зберігання мікроорганізмів, для їх живлення використовують живильні середовища. Знання про склад, призначення живильних середовищ необхідні для правильного підбору їх для культивування конкретних мікроорганізмів.

Для нормальної життєдіяльності мікробних клітин необхідні ферменти. Виявлення ферментів використовують для ідентифікації (біохімічні ознаки) мікробів. Крім того, вивчення ферментів необхідне для розуміння патогенезу інфекційних хвороб.

#### **2. Навчальні цілі:**

##### **Знати:**

1. Класифікацію живильних середовищ.
2. Вимоги до живильних середовищ.
3. Ферменти мікроорганізмів.
4. Ферментативну активність на живильних середовищах.

##### **Вміти:**

1. Визначати ферментативну активність на живильних середовищах.

#### **Загальні компетентності (ЗК)**

ЗК. 4. Здатність застосовувати знання у практичних ситуаціях.

ЗК. 5. Здатність спілкуватися державною мовою як усно, так і письмово.

ЗК. 6. Знання та розуміння предметної області та розуміння професійної діяльності.

### **Спеціальні (фахові) компетентності (СК)**

СК. 13. Здатність до використання професійно профільованих знань, умінь та навичок для здійснення санітарно-гігієнічних і лабораторних досліджень, протиепідемічних та дезінфекційних заходів.

### **Програмні результати навчання (РН)**

РН. 2. Застосовувати сучасні цифрові та комунікативні технології для пошуку інформації та документування результатів професійної діяльності.

РН. 5. Дотримуватися правил охорони праці та безпеки життєдіяльності.

## **3. Матеріали для позааудиторної самостійної роботи**

### **3.1. Зміст теми:**

#### **Характеристика поживних середовищ**

Для культивування мікроорганізмів у лабораторії використовують поживні середовища. Вони мають забезпечувати оптимальні умови для росту і розвитку мікроорганізмів і відповідати таким **вимогам**:

**1) бути поживними**, тобто містити речовини, які необхідні для побудови клітини і є джерелом енергії;

**2) мати оптимальну реакцію середовища**, яка визначається по-казником концентрації іонів водню — рН; вона впливає на активність ферментів і проникність клітинної оболонки. Більшість патогенних мікроорганізмів потребують слаболужної реакції середовища (рН 7,2—7,4);

**3) бути буферними**, тобто містити речовини, які нейтралізують надлишок іонів водню або гідроксид-іонів, що утворюються внаслідок метаболізму. Буферність має певні межі, тому коли в середовищі утворюється багато кислоти внаслідок метаболізму вуглеводів, змінюється колір індикатора, що міститься в середовищі. За зміною кольору індикатора визначають ферментативну активність мікроорганізмів;

**4) бути ізотонічними** для мікробної клітини, тобто мати такий осмотичний тиск, як і всередині клітини. Для більшості мікробів він відповідає 0,5 % розчину натрію хлориду;

**5) мати певний окисно-відновний потенціал**, який вказує на насиченість середовища киснем. Для аеробів забезпечують аерацію середовища, для анаеробів, навпаки, видаляють кисень із поживних середовищ;

**6) щільні середовища повинні мати оптимальну консистенцію**, тобто містити певну кількість вологи;

**7) бути стерильними**, адже стороння мікрофлора пригнічує ріст досліджуваної культури, а також змінює склад і властивості поживного середовища, перешкоджає визначенню властивостей основної культури;

**8) бути уніфікованими** за певними інгредієнтами. Так, всі поживні середовища повинні містити: сумарного азоту аміногруп амінокислот і низькомолекулярних поліпептидів — 0,8—1,2 г/л, загального азоту — 2,5—3,0 г/л, хлоридів, у перерахунку на натрію хлорид, — 0,5 % , пептону — 1 %;

**9) бути прозорими** (за можливості). На прозорих середовищах зручніше визначати культуральні властивості, швидше можна помітити забруднення основної культури сторонньою мікрофлорою.

Вибір поживного середовища для культивування залежить від властивостей мікробів (типу живлення, дихання) і мети культивування. У мікробіологічній практиці використовують велику кількість поживних середовищ.

**Класифікують їх за:**

- походженням сировини,
- консистенцією,
- складом і
- призначенням.

**За походженням сировини** поживні середовища бувають **натуральні і синтетичні**.

**Натуральні середовища** виготовляють зазвичай із сировини тваринного походження: м'яса (головним чином із яловичини), яєць, молока, риби; а також рослинного: соєвих бобів, гороху, рису, ячменю, моркви, картоплі, буряку.

**Синтетичні середовища** готують із хімічно чистих органічних і неорганічних сполук відповідно до встановленого дозування.

**За консистенцією** (щільністю) розрізняють середовища **рідкі, напіврідкі і щільні**.

Напіврідкі і щільні середовища виготовляють із рідких, додаючи до них агар-агар або желатин. **Агар-агар** — це тверда волокниста речовина, яку

виробляють із морських червоних водоростей. За хімічним складом це полісахарид. Для мікробів він не є поживною речовиною.

**Желатин** (від лат. *gelatus* — замерзлий, застиглий) — продукт денатурації колагену — білка сполучної тканини. Його виварюють із кісток, хрящів, сухожилків тварин. Деякі мікроорганізми використовують його як поживну речовину, в цьому разі желатин розріджується. На цьому поживному середовищі вивчають протеолітичні властивості мікробів.

Інколи для ущільнення поживних середовищ використовують силікагель. У щільних середовищах він міститься у кількості 1,5 %.

У 1989 році у Київському медичному інституті імені О.О. Богомольця розроблено метод виготовлення щільних поживних середовищ на синтетичній полімерній основі, яка є модифікованим поліакриламідним гелем — пластагаром. Він є повноцінним замінником дефіцитного агару.

Щільні поживні середовища готують також із сироватки крові, що зсілася, ячної маси, яка в разі підвищення температури зсідається, із картоплі, моркви, буряку.

**За складом** середовища поділяють на **прості** (універсальні) і **складні**.

**До простих** відносять: м'ясопептонний бульйон (МПБ), м'ясопептонний агар (МПА), поживний желатин, пептонну воду.

**Складні** поживні середовища готують із простих, додаючи до них кров, сироватку крові тварин (великої рогатої худоби, коней) або людин, асцитичну рідину, вуглеводи, жовток курячого яйця, молоко й інші речовини, які необхідні для розвитку мікроорганізмів.

**За призначенням** розрізняють поживні середовища: **основні, спеціальні, елективні, селективні, середовища накопичення, диференціально-діагностичні, консервуючі**.

**Основні** (загального вжитку) середовища використовують для культивування більшості патогенних мікроорганізмів. Це прості поживні середовища: МПБ, МПА, поживний желатин, пептонна вода.

Спеціальні середовища використовують для культивування певних видів мікроорганізмів, які на інших середовищах ростуть погано або взагалі не ростуть. Лужна пептонна вода (рН 7,1—9,3) використовується для культивування холерного вібріона, жовтково-сольовий агар (ЖСА) — для стафілокока.

**Елективні середовища** застосовують для виділення і накопичення мікроорганізмів. Елективним середовищем для сальмонел є середовище, що містить 10—20 % жовчі.

**Селективні** (від лат. *selectio* — вибір) середовища сприяють росту одних видів мікробів і пригнічують ріст інших. Щоб середовище було селективним, до нього додають солі, антибіотики, барвники або змінюють рН. Їх використовують у тому випадку, коли патологічний матеріал містить різноманітну сторонню мікрофлору. Середовище Ендо містить барвник, який пригнічує ріст грампозитивних мікроорганізмів, але стимулює ріст грамнегативних.

**Середовища накопичення** — це рідкі селективні середовища. Так, середовищем накопичення для збудника дифтерії є МПБ із додаванням сироватки крові й калію телуриту.

**Диференціально-діагностичні** середовища використовують для того, щоб відрізнити один вид мікробів від інших.

**Консервуючі** середовища призначені для первинного посіву і транспортування патологічного матеріалу. В них створюються умови, за яких патогенні мікроби зберігаються, а ріст сапрофітів пригнічується.

У мікробіологічній практиці широко використовують сухі поживні середовища (спеціальні, прості, селективні, диференціально-діагностичні тощо). Перевага сухих поживних середовищ полягає в тому, що їх можна легко і швидко приготувати; вони мають постійний склад, через це можна порівнювати результати досліджень, отримані в різних лабораторіях (стандартні умови культивування); їх зручно транспортувати. Крім того, ці середовища економічні. Як джерело вуглецю і азоту в них використовують гідролізати ківки, казеїну, фібрину і навіть гідролізат білків сарцин.

### **Ферменти бактерій.**

Роль каталізатора в процесах метаболізму виконують **ферменти** (від грец. *fermentum* — закваска). Для нормальної життєдіяльності клітини потрібно від 1000 до 4000 ферментів. Функціональна активність ферментів і швидкість ферментативних реакцій залежать від умов, в яких перебуває мікроорганізм. Особливе значення має рН середовища і температура. Для більшості патогенних мікроорганізмів оптимальними є рН 7,2—7,4 і температура 37 °С. Це враховується під час культивування мікроорганізмів у лабораторії. Біосинтез ферментів будь-якого мікроорганізму кодується його геномом і є досить постійною ознакою. Тому виявлення ферментів використовують для ідентифікації (біохімічні ознаки) мікробів. Крім того, вивчення ферментів необхідне для розуміння патогенезу інфекційних хвороб.

У мікроорганізмів виявлені всі **6 класів ферментів:**

**1) оксидоредуктази** — ферменти бродіння, які каталізують окисновідновні реакції (оксидаза, каталаза та ін.);

**2) трансферази** — каталізують реакції переносу груп атомів від одних молекул органічних сполук до інших; завдяки цим ферментам у живих клітинах відбуваються процеси алкілування (перенос радикалів), біосинтез білків, нуклеїнових кислот (РНК- і ДНК-полімерази);

**3) гідролази** — каталізують реакції гідролізу молекул (протеази каталізують реакції гідролізу білків до пептонів і амінокислот, карбогідрази — гідроліз полісахаридів; деякі гідролази спричиняють патогенну дію на макроорганізм: стрептокіназа каталізує реакцію гідролізу фібрину, дезоксирибонуклеаза — гідроліз ДНК);

**4) ліази** — каталізують реакції негідролітичного відщеплення хімічної групи атомів ( $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $-\text{NH}_2$ ) від молекули з утворенням подвійного зв'язку або приєднання групи атомів до подвійного зв'язку (дезамінази, декарбоксилази);

**5) ізомерази** — каталізують внутрішньомолекулярне перетворення, в тому числі взаємне перетворення ізомерів органічних сполук у живій клітині;

**6) лігази**, або синтетази — каталізують сполучення різних молекул за рахунок енергії АТФ (зшивання нуклеотидів у молекулу ДНК тощо).

Залежно від особливостей генетичного контролю розрізняють екзоферменти і ендоферменти.

**Екзоферменти** (від грец. *exo* — зовні, поза) виділяються з мікробної клітини через оболонку в навколишнє середовище, в тому числі і в організм людини. Ці ферменти зумовлюють біохімічну активність мікроорганізмів.

**Ендоферменти** (від грец. *endon* — внутрішній) локалізуються в цитоплазмі, цитоплазматичній мембрані та периплазматичному просторі. Вони вивільняються з мікробної клітини і потрапляють у навколишнє середовище, в тому числі і в організм людини, у разі руйнування мікробної клітини.

Екзо- і ендоферменти поділяють на **конститутивні** (конструктивні) та **адаптивні** (індуктивні). Конститутивні (від лат. *constans* — постійний) ферменти постійно синтезуються в клітині, адаптивні (від пізньолат. *adaptatio* — пристосування) — за наявності відповідного субстрату. Останні забезпечують пристосування мікроорганізмів. Так, пеніциліназа синтезується за наявності пеніциліну і забезпечує стійкість мікробів до даного антибіотика.

**Під час ідентифікації мікроорганізмів** найчастіше визначають такі ферменти:

- **протеолітичні** — розщеплюють пептон до індолу, сірководню та аміаку, розріджують желатин, розщеплюють казеїн;
- **сахаролітичні** — розщеплюють вуглеводи до кислоти або до кислоти і газу;
- **уреазу** — розщеплює сечовину до аміаку і вуглекислого газу;
- **лецитиназу** — руйнує лецитин (ліпід, що входить до складу клітинних мембран макроорганізму) оболонки клітин;
- **плазмокоагулазу** — спричинює згортання плазми крові;
- **декарбоксилазу** — відщеплює карбоксильну групу від молекул амінокислот і перетворює їх на органічні аміни, які токсичні для макроорганізму;
- **дезаміназу** — відщеплює аміногрупу від молекули амінокислоти;
- а також **токсин гемолізін**, який руйнує еритроцити крові.

Залежно від дії на макроорганізм розрізняють **ферменти агресії та захисту** мікроорганізмів, вони є фактором патогенності.

Одні з них безпосередньо руйнують слиз, клітини, волокна, тканини і тим самим сприяють інвазії мікроорганізмів (гіалуронідаза, нейрамінідаза) або пригнічують захисні реакції макроорганізму (плазмокоагулаза захищає мікробну клітину від фагоцитозу і антитіл, протеази руйнують антитіла). Інші зумовлюють утворення продуктів розпаду, які токсично діють на макроорганізм. Так, у разі дії мікробної уреазу утворюються токсичні продукти, зокрема аміак, який спричинює запалення тканин. Біохімічна активність у різних мікробів різна, що враховується під час ідентифікації культури.

### ***3.2. Рекомендована література***

Основна: В.А. Люта, Г.І. Заговора «Основи мікробіології, вірусології та імунології» ст.36-40.

Допоміжна: В.А. Люта, О.В. Кононов «Мікробіологія» ст. 43-45, 48-51.

### ***3.3. Орієнтовна карта для самостійної роботи з теми***

Основні завдання	Вказівки	Відповіді
------------------	----------	-----------

<p>Вивчити: 1. Класифікацію живильних середовищ</p>	<p>1. Вивчити класифікації: - за походженням сировини; - за консистенцією; - за складом; - за призначенням. 2. Скласти графологічну схему «Класифікація живильних середовищ»</p>	
<p>3. Вимоги до живильних середовищ</p>	<p>1. З'ясувати основні вимоги до живильних середовищ.</p>	
<p>3. Ферменти мікроорганізмів</p>	<p>1. З'ясувати роль ферментів: - для життєдіяльності м/о; - для ідентифікації м/о; - в патогенезі інфекційних хвороб 2. Вивчити класифікацію ферментів: - за локалізацією; - за специфічністю дії на субстрат. 3. З'ясувати роль ферментів захисту та агресії.</p>	
<p>4. Ферментативні властивості мікроорганізмів.</p>	<p>1. З'ясувати роль таких ферментів: - протеолітичних; - сахаролітичних; - уреаз; - лецитинази; - плазмокоагулази; - гемолізину. 2. З'ясувати середовища, на яких вивчаються вищевказані ферментативні властивості.</p>	

### **3.4. Матеріали для самоконтролю:**

#### **А. Питання для самоконтролю:**

1. Що таке живильні середовища?
2. Як класифікують живильні середовища?
3. З чого виготовляють натуральні та синтетичні середовища?
4. Якими середовища бувають за консистенцією?
5. Що таке: основні, спеціальні, елективні, диференціально-діагностичні, консервувальні середовища, накопичення?

6. Які основні вимоги до живильних середовищ?
7. Що таке ферменти, екзоферменти, ендоферменти, ферменти захисту та агресії?
8. На яких середовищах та як вивчають сахаролітичні властивості?
9. Що таке протеолітичні, гемолітичні властивості, лецитиназна активність?
10. На яких середовищах вивчають протеолітичні, гемолітичні властивості, лецитиназну активність?

## **Б. Тести:**

1. Прості середовища це:
  - а) МПА, МПБ;
  - б) КА, КТА;
  - в) Ендо, МПА;
  - г) МПБ, КА;
  - д) Гісса, Плоскірева.
  
2. Буферність живильного середовища – це здатність містити:
  - а) Певну кількість води;
  - б) Певну кількість NaCl;
  - в) Певну кількість пептону;
  - г) Кров;
  - д) Речовини, що нейтралізують продукти обміну м/о.
  
3. Живильні середовища, що забезпечують сприятливі умови для росту одних мікроорганізмів і не сприятливі – для інших називаються:
  - а) Основні;
  - б) Спеціальні;
  - в) Елективні;
  - г) Накопичення;
  - д) Диференціально-діагностичні.
  
4. Для ідентифікації м/о використовують середовища:
  - а) Основні;
  - б) Спеціальні;
  - в) Елективні;
  - г) Накопичення;
  - д) Диференціально-діагностичні.
  
5. Здатність розкладати вуглеводи – це властивості:
  - а) Протеолітичні;
  - б) Сахаролітичні;
  - в) Гемолітичні;
  - г) Культуральні;

д) Гемолітичні.

**В. Ситуаційні задачі:**

**1.** Ферменти сінної палички, які використовують як біодобавки до прального порошку, належать до протеолітичних. Які з перерахованих тканин: лляні, бавовняні, з натурального шовку, з ацетатного шовку, шерстяні – неможна замочувати в розчині прального порошку з біодобавками? Чому?