

Содержательный модуль 3. Общая вирусология.

Цели модуля. 1. Интерпретировать биологические свойства патогенных и непатогенных вирусов и закономерности их взаимодействия с макроорганизмом, с популяцией человека и внешней средой. 2. Трактовать основы вирусологической диагностики, этиотропной терапии и специфической профилактики вирусных инфекций

Содержательный модуль. Общие свойства вирусов. Механизмы взаимодействия вирусов с макроорганизмом. Методы культивирования вирусов. Лабораторная диагностика вирусных инфекций.

Конкретные цели:

- Трактовать морфологию и ультраструктуру вирусов
- Анализировать особенности взаимодействия вирусов с живыми системами.
- Оценивать результаты размножения вирусов в живых системах.
- Анализировать методы культивирования вирусов в лабораторных условиях.
- Характеризовать противовирусные химиотерапевтические препараты и механизмы их действия .

ТЕМА 5: «Общие свойства вирусов. Методы культивирования вирусов.

Культуры клеток»

I. АКТУАЛЬНОСТЬ ТЕМЫ

Вирусы это микроскопические болезнетворные агенты, которые широко распространены в природе, они могут поражать все живые существа, населяющие нашу планету. Это касается всех представителей царства животных, (простейших, насекомых, рыб, птиц, зверей, в том числе человека), и царства растений (бактерий и высших растений). Вирусы являются исключительно внутриклеточными паразитами, репродукция которых на всех стадиях их развития тесно связана с клеточными структурами и метаболизмом клеток, в которых они паразитируют. Вирусы – облигатные внутриклеточные паразиты, которые не имеют клеточной структуры. У них отсутствуют белоксинтезирующие системы, собственные источники энергии и есть лишь один тип нуклеиновой кислоты – или РНК или ДНК.

Успехи медицинской науки и практического здравоохранения способствовали снижению заболеваемости большинством бактериальных инфекций. В связи с этим в общей структуре заболеваемости человека и домашних животных вырос удельный вес заболеваний, которые обусловлены вирусами. Так, заболеваемость только гриппом и ОРВИ достигает сегодня 60-70%.

В последние годы, благодаря внедрению новых методов диагностики, открыты возбудители целого ряда инфекций (вирусы гепатитов С, Е, F, G,

ТТV, герпесвирусы человека HHV6, HHV7, HHV8), описаны ранее неизвестные инфекции и изолированы их возбудители (возбудители человеческих Т-клеточных лейкозов – HTLV1, HTLV2, вирусы иммунодефицита человека HIV1 и HIV2 и ряд других). В настоящее время появляются сообщения об этиологической роли вирусов в возникновении ряда таких заболеваний, как подострый склерозирующий панэнцефалит, ишемическая болезнь сердца, сахарный диабет. Становится понятным, что роль вирусов в патологии человека несравненно значительнее той, что определялась представлениями о них как этиологических агентах известных инфекций.

Существенных успехов достигла противовирусная химиотерапия. В лечении целого ряда вирусных инфекций происходит постепенный отход от симптоматической терапии и переключение на этиотропную.

Для постановки диагноза недостаточно одного эпидемиологического анамнеза и клинического обследования больного, а необходимое определение возбудителя. Это особенно актуально в случае, когда для лечения, вызванного вирусом заболевания, медики располагают специфическими противовирусными препаратами. Назначение противовирусной терапии должно базироваться на четком представлении о ее необходимости, путях и конкретном времени ее использования, что невозможно без знания патогенеза инфекции на клеточном и субклеточном уровнях.

2. ЦЕЛЬ ОБУЧЕНИЯ

Общая цель. Уметь различать патогенные вирусы по их свойствам (строению, этапам взаимодействия вирусов с клеткой), определять методы их культивирования для выбора тактики вирусологической диагностики и химиотерапии.

Конкретные цели:

Уметь

1. *Определять принципы строения и классификации вирусов.*
2. *Дифференцировать вирусы по типу их взаимодействия с чувствительной клеткой.*
3. *Определять особенности стратегии вирусного генома у ДНК и у РНК-геномных вирусов.*
4. *Различать методы культивирования вирусов и разных клеточных культур, которые используются для диагностики в вирусологии.*
5. *Готовить первично - трипсинизированную культуру клеток.*

3. ОСНОВНЫЕ ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ВОПРОСЫ

К конкретной цели 1. (Определять принципы строения и классификации вирусов).

1. Принципиальное отличие вирусов от микроорганизмов.
2. Ультраструктура и химический состав вириона.

К конкретной цели 2. (Дифференцировать вирусы по типу их взаимодействия с чувствительной клеткой).

3. Варианты взаимодействия вирусного и клеточного геномов – альтернативный и интегративный.
4. Типы взаимодействия вирусов с чувствительной клеткой (продуктивная, abortивная инфекция).
5. Фазы взаимодействия вирусов с чувствительной клеткой при альтернативном типе взаимодействия геномов (продуктивной инфекции).
К конкретной цели 3. (Определять особенности стратегии вирусного генома у ДНК- и РНК вирусов).
6. Стратегия вирусного генома у разных типов вирусов (РНК, ДНК, «однонитчатых», «двухнитчатых».
К конкретной цели 4. (Различать методы культивирования вирусов и разновидности клеточных культур, которые используются в диагностической вирусологии).
7. Биологические объекты, которые используются для культивирования вирусов.
К конкретной цели 5. (Приготовить первично - трипсинизированную культуру клеток).
8. Этапы получения первично-трипсинизированной культуры клеток.

4. СОДЕРЖАНИЕ ОБУЧЕНИЯ

Источники информации

Рекомендуемая литература:

1. Гайдаш И.С., Флегонтова В.В. Медицинская вирусология.- Луганск, 2002.- С.112-136.
2. Коротяев А.И., Бабичев С.А. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология.-Санкт-Петербург: Специальная литература, 1998.-С.239-253.
3. Поздеев О.К. Медицинская микробиология: Москва: ГЭОТАР-Мед, 2001.- С. 89-107.
4. Букринская А.Г. Вирусология. - М.: Медицина, 1986. - С. 30-87, 150-159.
5. Руководство к практическим занятиям по медицинской микробиологии и лабораторной диагностике инфекционных болезней/ Под ред. проф. Ю.С.Кривошеина.-Киев: Вища школа, 1986.-С.191 – 221.
6. Руководство к лабораторным занятиям по микробиологии / под ред. Л.Б. Борисова.-М.: Медицина, 1984.-с.
7. Лекция.
8. Стенд в учебном музее кафедры.

Дополнительная литература:

1. Фролов А.Ф., Шевченко Л.Ф., Широбоков В.П. Практическая вирусология. - Киев: Здоровья, 1989. - С. 13-23.

При работе с учебниками и другой литературой пользуйтесь графом логической структуры к данной теме. Если в процессе самоподготовки у Вас

возникнут вопросы, запишите их и выясните в начале занятия у преподавателя.

5.ОРИЕНТИРОВОЧНАЯ ОСНОВА ДЕЙСТВИЯ

Протокол практического занятия к теме: „**Общие свойства вирусов. Методы культивирования вирусов. Культуры клеток**”

1.Разобрали биологические объекты, которые используются для культивирования вирусов (лабораторные животные, развивающиеся куриные эмбрионы, культуры клеток).

2.Разобрали классификацию и общую характеристику культур клеток и тканей, которые используются в вирусологии. Микроскопировали препараты клеточных культур, окрашенные гематоксилин-эозином.

3.Выучили этапы получения первично-трипсинизированной культуры клеток. Приготовили первично-трипсинизированную культуру куриных фибробластов.

Ориентировочной основой действия, при изучении и выполнении данной темы является инструкция.

ИНСТРУКЦИЯ ПРИГОТОВЛЕНИЯ ПЕРВИЧНО-ТРИПСИНИЗИРОВАННОЙ КУЛЬТУРЫ КЛЕТОК КУРИНЫХ ФИБРОБЛАСТОВ

Оснащение занятия:

1.Измельченные и отмытые от крови фрагменты ткани куриного эмбриона в стерильном пенициллиновом флаконе с резиновой пробкой.

2.Физраствор.

3.Раствор трипсина 0,25 % в флаконе с резиновой пробкой.

4. Смесь из среды 199, сыворотки крупного рогатого скота, антибиотиков для культивирования клеток (культуральная смесь).

5.Градуированные пипетки на 1,0 мл.

6.Градуированные центрифужные пробирки, обозначенные номерами.

7.Стерильные бактериологические пробирки с промаркированным «верхом».

ХОД РАБОТЫ

1.К измельченным и отмытым от крови фрагментам ткани куриного эмбриона в зоне пламени горелки мерной стерильной пипеткой прибавить равный объем 0,25% раствора трипсина.

2.Закрывать пробкой и встряхнуть суспензию ткани в трипсине до помутнения.

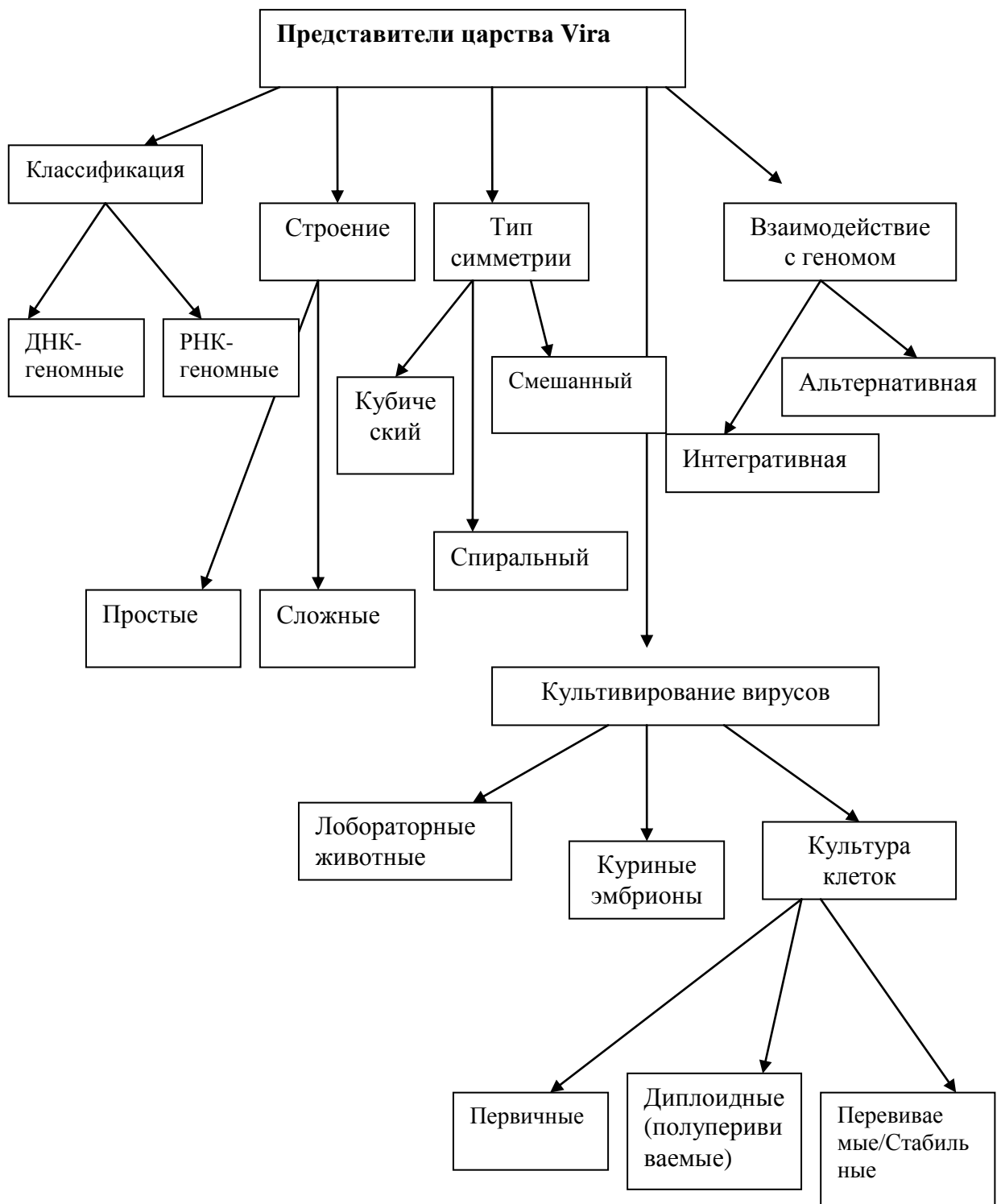
3.Дать суспензии отстояться 1 мин.

2.Перенести смесь трипсинизированных фрагментов ткани куриного эмбриона в центрифужные пробирки. Запомнить номер соответствующей пробирки.

3.Осадить центрифугированием клетки после трипсинизации.

- 4.Отобрать надосадок (смесь раствора трипсина и физраствора), слить в емкость с дезинфицирующим раствором в зоне пламени горелки.
- 5.Прибавить к осадку клеток в центрифужной пробирке культуральную смесь в объеме 1,0 мл.
- 6.Ресуспендировать клетки в культуральной смеси.
- 7.Перенести суспензию клеток в культуральной смеси в стерильные бактериологические пробирки с промаркированным «верхом».
- 8.На пробирки надеть этикетки с надписью: Ф.И.О. студентов, которые выполняли работу, курс, факультет, группу, число и месяц проведения работы.
- 9.Дежурный собирает пробирки и сдает их лаборанту для инкубации в термостате в положении «лежа» под углом 10-15 градусов, маркировкой пробирки кверху.

ГРАФ ЛОГИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ К ТЕМЕ:» «Общие свойства вирусов. Методы культивирования вирусов. Культуры клеток»



МЕТОДИКА ПРОВЕДЕНИЯ ЗАНЯТИЯ

Занятие практическое. В начале занятия преподаватель проводит проверку и коррекцию уровня подготовки студентов к занятию. По предложенной схеме записывается протокол. Студенты выполняют самостоятельную работу по приготовлению первично-трипсинизированной культуры куриных фибробластов, оформляют протокол. В ходе занятия студенты решают ситуационные задачи из сборника «Задания для самостоятельной работы студентов по курсу общей и специальной микробиологии», знакомятся со «Схемой приготовления первично-трипсинизированной культуры клеток» и «Схемой перевивки стабильной (перевиваемой) линии клеток» в учебном пособии. Преподаватель проводит итоговый тестовый контроль, подписывает протоколы, подводит итоги.

Задания для проверки достижения конкретных целей обучения

К вопросу 1. Принципиальное отличие вирусов от микроорганизмов.

Тест 1

Вирусы-это особая форма жизни. По целому ряду свойств вирусы отличаются от всего живого, но принципиальным отличием их от микроорганизмов является особая форма паразитизма -паразитизм на генетическом уровне. Что представляет собой такой тип паразитизма, присущий только вирусам?

- А.Репродукцию вирусов в ядре клетки с использованием клеточной ДНК-полимеразы
- В.Физическую связь вирусного и клеточного геномов
- С.Обязательную интеграцию генома вируса с геномом клетки и стадию «провируса»
- Д.Реализацию генетической программы вируса в ущерб генетической программы клетки
- Е.Использование энергетических ресурсов клетки

К вопросу 2. Ультраструктура и химический состав вириона

Тест 2

Сложные вирусы имеют в отличие от простых дополнительную оболочку – суперкапсид. Чем является данная оболочка у сложных вирусов?

- А.Фрагментом цитоплазматической или ядерной мембраны клетки, липидным слоем
- В. Фрагментом клеточной стенки, полисахаридным слоем
- С.Второй белковой оболочкой, синтезированной в клетке
- Д.Липопротеиновой оболочкой, кодируемой геномом вируса
- Е. Фрагментом цитоплазматической или ядерной мембраны клетки, белковым слоем

К вопросу 3. Варианты взаимодействия вирусного и клеточного геномов – альтернативный и интегративный

Тест 3

При проникновении вируса в клетку происходит депротенизация, транспортировка вирусного генома в ядро (или он остается в цитоплазме), транскрипция и репликация вирусного генома, синтез вирусных белков, сборка дочерних вирионов. Как называют такую последовательность событий и исход взаимодействия вирусного и клеточного геномов?

- А. Продуктивным
- В. Корпоративным
- С. Альтернативным
- Д. Абортивным
- Е. Интегративным

К вопросу 4. Типы взаимодействия вирусов с чувствительной клеткой (продуктивная, абортивная инфекция)

Тест 4

Вирусы являются паразитами на генетическом уровне. При проникновении вируса в клетку происходит депротенизация, транспортировка вирусного генома в ядро (или он остается в цитоплазме), синтеза вирусных белков сборки дочерних вирионов не происходит. Как называют такой вариант вирусной инфекции клетки?

- А. Продуктивным
- В. Корпоративным
- С. Абортивным
- Д. Альтернативным
- Е. Интегративным

К вопросу 5. Фазы взаимодействия вирусов с чувствительной клеткой при альтернативном типе взаимодействия геномов (продуктивная инфекция).

Тест 5

Данный этап взаимодействия вируса с клеткой обеспечивается разностью зарядов на поверхности цитоплазматической мембраны клетки и на внешней оболочке вируса. Как называется такой этап взаимодействия вируса с клеткой?

- А. Специфическая адсорбция
- В. Проникновение путем слияния
- С. Проникновение путем рецепторного эндоцитоза
- Д. Проникновение путем инокуляции
- Е. Неспецифическая адсорбция

К вопросу 6. Стратегия вирусного генома у разных типов вирусов (РНК, ДНК, «однонитчатых», «двухнитчатых»).

Тест 6

При проникновении вируса в клетку происходит депротеинизация, транспортировка вирусного генома в ядро. С участием клеточных полимераз осуществляется репликация вирусного генома, клеточные транскриптазы обеспечивают образование вирусспецифических иРНК. В цитоплазме происходит синтез вирусных белков. Для кого характерна такая стратегия экспрессии вирусного генома?

- A.+ нитевых РНК-геномных вирусов.
- В.ДНК – геномных вирусов
- С.Ретровирусов
- D.- нитевых РНК-геномных вирусов.
- Е.РНК –геномных вирусов с фрагментарным геномом

К вопросу 7. Биологические объекты, используемые для культивирования вирусов.

Тест 7

У пациента, с подозрением на вирусную инфекцию, был отобран и направлен в лабораторию материал для вирусологической диагностики. Каким образом можно будет изолировать вирус из материала, полученного от данного больного?

- A. Если посеять полученный материал на питательную среду с высоким содержанием сыворотки.
- В. Если посеять полученный материал в питательную среду с высоким содержанием CO₂.
- С.Культивировать материала от больного в анаэробных условиях.
- D.Заразить полученным материалом культуру клеток.
- Е.Исследовать полученный от больного материал под электронным микроскопом

К вопросу 8. Этапы получения первично-трипсинизированной культуры клеток.

Тест 8

В процессе приготовления первично-трипсинизированной культуры клеток произвели механическое измельчение эмбриональной ткани, отмыли раствором Хенкса и для получения клеточной взвеси использовали определенное средство. Как называется это средство?

- A. Раствор трипсина
- В.Раствор Эрла
- С. Раствор Версена
- D.Фосфатно-буферный раствор
- Е.Физиологический раствор

ТЕМА №6: «Методы лабораторной диагностики вирусных инфекций»

1. АКТУАЛЬНОСТЬ ТЕМЫ

За последние годы резко вырос удельный вес заболеваний вирусной этиологии. Задача врача, осуществляющего этиологическую диагностику отдельных заболеваний или расшифровку причины (этиологической) вспышек и эпидемий, в современных условиях неизмеримо осложнилось. Последнее обусловлено отсутствием или сложностью методов ранней (экспресс - диагностики) при одних вирусных инфекциях, и их избыточностью при других -, что усложняет выбор тактики этиологической диагностики вирусных заболеваний. Выбор метода лабораторной диагностики определяется, в основном, характером заболевания, вероятным возбудителем и в каждом конкретном случае зависит от периода болезни и возможностей лаборатории.

Врач любой специальности должен быть знаком с общими принципами лабораторной диагностики вирусных инфекций, чтобы правильно провести отбор материала для исследования с целью установления вероятного диагноза. При этом необходимо усвоить, что лабораторная диагностика вирусных инфекций складывается из трех основных направлений:

- вирусологический метод диагностики - изоляция (выделение) вируса из клинического материала и его идентификация;

- серологический метод диагностики вирусных инфекций;

- группа экспресс-методов – ранняя диагностика вирусных инфекций, основанная на выявлении вирусных антигенов в исследуемом материале, обнаружении «ранних» специфических противовирусных Ig M- антител, выявлении специфических фрагментов вирусных геномов в клиническом материале, который исследуется с помощью гибридизации нуклеиновых кислот и полимерной цепной реакции (ПЦР).

Вирусологический метод является наиболее достоверным доказательством вирусной этиологии инфекции.

Серологический метод - это выявление с помощью разных реакций специфических противовирусных антител в сыворотках обследуемых лиц. Применение данного метода при диагностике массовых вирусных инфекций имеет свои особенности и ограничения – в сыворотках большинства лиц есть антитела к ряду респираторных и кишечных вирусов, которые часто встречаются. В этой связи факт выявления специфических противовирусных антител к какому -либо вирусному антигену не может рассматриваться как подтверждение вирусной этиологии заболевания. Для подтверждения вирусной природы заболевания с помощью серологического метода диагностики необходима констатация увеличения (нарастания) титров антител в динамике.

Для этого отбор сывороток у пациента для серологической диагностики проводят на протяжении заболевания – в начале и в период

реконвалесценции (но не раньше чем через 10-14 суток после забора первой сыворотки) – так называемый «метод парных сывороток». Это обстоятельство обрекает серологический метод диагностики вирусных инфекций на ретроспективность.

Для врача любой специальности важно знание возможностей лабораторной диагностики вирусных инфекций для эффективного использования ее, организации забора материала от больного и умения интерпретировать результаты лабораторных исследований.

2. ЦЕЛЬ ОБУЧЕНИЯ

Общая цель. Уметь выбирать метод лабораторной диагностики вирусных инфекций с учетом особенностей взаимодействия возбудителя и пораженного организма, а также периода инфекционного процесса, организовать отбор материала для соответствующего метода обследования и интерпретировать полученные в лаборатории результаты.

Конкретные цели:

Уметь:

1. Различать методы лабораторной диагностики вирусных инфекций (чувствительность, пригодность в зависимости от стадии заболевания).
2. Выбирать метод лабораторной диагностики вирусных заболеваний.
3. Организовать отбор материала для соответствующего метода лабораторного обследования.
4. Интерпретировать полученные в лаборатории результаты.

3. ОСНОВНЫЕ ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ВОПРОСЫ, КОТОРЫЕ БУДУТ РАССМОТРЕНЫ ПРИ ИЗУЧЕНИИ ДАННОЙ ТЕМЫ.

К конкретной цели 1. (Различать методы лабораторной диагностики вирусных инфекций (чувствительность, пригодность в зависимости от стадии заболевания)).

1. Особенности лабораторной диагностики вирусных инфекций.
2. Применение микроскопии в диагностике вирусных инфекций.

К конкретной цели 2. (Выбирать метод лабораторной диагностики вирусных заболеваний).

3. Вирусологический метод диагностики вирусных инфекций – индикация и идентификация вирусов.

4. Серологический метод диагностики вирусных инфекций. Реакции, которые используются: РСК, РПГА, РТГА.

5. Общие принципы экспресс-диагностики вирусных инфекций.

К конкретной цели 3. (Организовать отбор материала для соответствующего метода лабораторного обследования).

6. Схема подготовки (обработки) материала для вирусологического исследования.

7. Требования к организации отбора материала для серологической диагностики вирусных инфекций

К конкретной цели 4. (Интерпретировать полученные в лаборатории результаты).

8. Второй этап вирусологического метода диагностики – идентификация вирусов.

9. Экспресс-методы диагностики, основанные на выявлении специфических «ранних» антител.

10. Экспресс-диагностика, основанная на выявлении вирусных антигенов.

11. Выявление фрагментов вирусного генома с помощью гибридизации нуклеиновых кислот и полимеразной цепной реакции.

12. Ретроспективный характер серологической диагностики вирусных инфекций.

4. СОДЕРЖАНИЕ ОБУЧЕНИЯ

Источники информации

Рекомендуемая литература:

1. Гайдаш И.С., Флегонтова В.В. Медицинская вирусология.- Луганск, 2002.- С.112-136.

2. Коротяев А.И., Бабичев С.А. Медицинская микробиология, иммунология и вирусология: СПб: Специальная литература, 1998. -С.244-246, 260-261.

3. Поздеев О.К. Медицинская микробиология: Москва: ГЭОТАР-Мед, 2001.- С. 272-280.

4. Букринская А.Г.. Вирусология. - М.: Медицина, 1986. - С. 165-181.

5. Руководство к практическим занятиям по медицинской микробиологии и лабораторной диагностике инфекционных болезней/Под ред. проф. Ю.С.Кривошеина.-Киев: Вища школа, 1986.-С.191 – 221.

6. Руководство к лабораторным занятиям по микробиологии /Под ред. Л.Б. Борисова.-М.: Медицина, 1984.-с.

7. Лекция.

8. Стенд в учебном музее кафедры.

Дополнительная литература

1. Фролов А.Ф., Шевченко Л.Ф., Широбоков В.П. Практическая вирусология. - Киев: Здоровья, 1989. - С. 3-39.

2. Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследования / Под ред. М.О.Биргера М. «Медицина», 1982 –с

Во время работы с литературой пользуйтесь графом логической структуры к данной теме. Если в процессе самоподготовки у Вас возникнут вопросы, запишите их и выясните в начале занятия у преподавателя.

5.ОРИЕНТИРОВОЧНАЯ ОСНОВА ДЕЙСТВИЯ

Протокол практического занятия к теме: «Методы лабораторной диагностики вирусных инфекций. Индикация и идентификация вирусов»

1. Разобрали требования к материалу, предназначенному для изоляции вирусов.

2.Изучили схемы подготовки (обработки) материала для вирусологического исследования. Обработали клинический материал – испражнения от больного с подозрением на полиомиелит.

3.Инфицировали культуру клеток куриных фибробластов подготовленной пробой фекалий от больного с подозрением на полиомиелит.

4.Разобрали требования к организации отбора материала для серологической диагностики вирусных инфекций

5.Разобрали общие принципы методов, основанных на выявлении фрагментов вирусных геномов - гибридизацию нуклеиновых кислот и полимеразную цепную реакцию.

Для реализации поставленной цели и усвоения учебного материала решали задачи № 204-206 из сборника «Задания для самостоятельной работы студентов по курсу общей и специальной микробиологии».

Ориентировочной основой действия при изучении и выполнении данной темы служит инструкция.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПОДГОТОВКЕ ПРОБЫ КЛИНИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА (ФЕКАЛИЙ) ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ И ЗАРАЖЕНИЯ КУЛЬТУРЫ КЛЕТОК

1.Пробки пенициллиновых флаконов с навеской кала обработайте салфеткой, смоченной дезинфицирующим раствором.

2.Откройте пробку флакона и к навеске фекалий прибавьте 2-3 мл стерильного физ. раствора.

3.Закройте пробкой флакон и энергично встряхивайте его на протяжении 1-2 минут. Полученную мутную жидкость перелейте в центрифужную пробирку. Запомните номер центрифужной пробирки и передайте их дежурному студенту для центрифугирования.

4.Во время центрифугирования изучите рост культуры клеток под малым увеличением микроскопа.

5.После центрифугирования с помощью 1,0 мл пипетки отберите 0,5 мл надосадочной жидкости и внесите ее в отдельную стерильную пробирку, прибавьте смесь антибиотиков.

6.Оставьте смесь для контакта на 5-7 мин. Отработанную пипетку сбросьте в дезинфицирующий раствор.

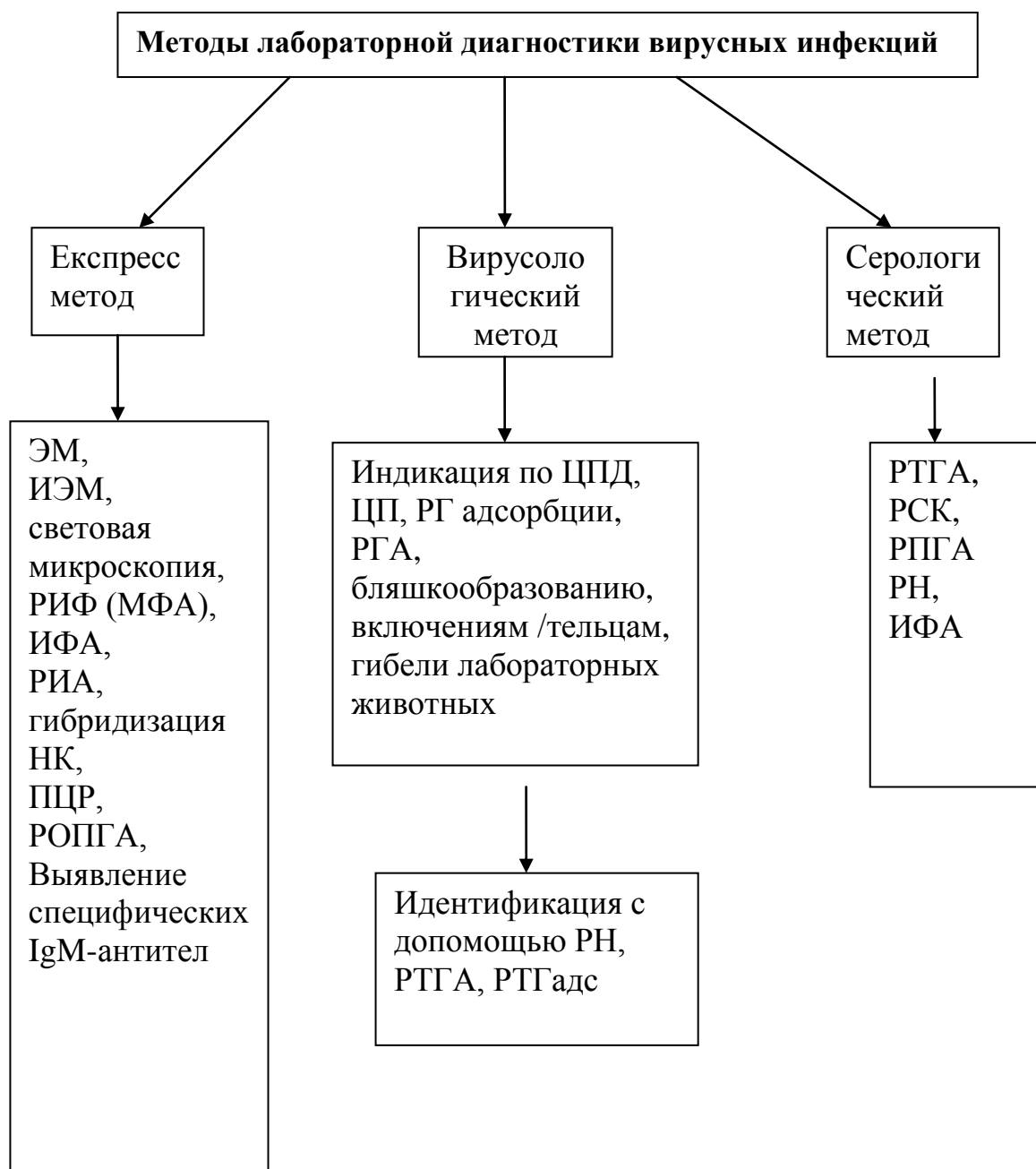
7.По окончании времени контакта, с помощью стерильной пипетки внесите 0,2 мл обработанного материала в пробирку с культурой клеток, предварительно слив из пробирки уже использованную питательную среду (культуральную смесь).

8.Поместите пробирку на лоток под углом 10-15 градусов меткой вверх на 3-5 мин. для контакта монослоя клеток с материалом, содержащим вирус. Отработанную пипетку сбросьте в дезинфицирующий раствор.

9. После контакта монослоя клеток с исследуемым опытным материалом, стерильной пипеткой добавьте в пробирку 1,8 мл свежей культуральной смеси (среда 199 и 20% сыворотки крупного рогатого скота).

10. На пробирки с зараженной культурой клеток наденьте этикетки с надписью: фамилии студентов, которые выполнили работу, № группы, факультета, даты выполнения работы.

ГРАФ ЛОГИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ К ТЕМЕ: «Методы лабораторной диагностики вирусных инфекций. Индикация и идентификация вирусов»



Задание для проверки достижения конкретных целей обучения

К вопросу 1. *Особенности лабораторной диагностики вирусных инфекций.*

Тест 1

Аналогом бактериологического метода (выделение чистой культуры) в вирусологии является вирусологический (изоляция вируса). Однако в связи с особенностями вирусов диагностика вирусных инфекций отличается от микробиологической. Какие свойства вирусов обуславливают специфику вирусологической диагностики?

- А. Малые размеры
- В. Существование вирусов с РНК-геномом
- С. Существование вирусов с фрагментарным геномом
- Д. Невозможность культивироваться на искусственных питательных средах
- Е. Способность проходить сквозь бактериальные фильтры

К вопросу 2. *Применение микроскопии в диагностике вирусных инфекций.*

Тест 2

При микроскопии монослая клеток, пораженного вирусом и обработанного специфической сывороткой, меченой флюорохромом, нашли изумрудно-зеленое свечение в околоядерной зоне клеток. Как называют такую разновидность микроскопии?

- А. Темнопольная
- В. Фазовоконтрастная
- С. Иммерсионная
- Д. Люминесцентная
- Е. Аноптральная

К вопросу 3. *Вирусологический метод диагностики вирусных инфекций – индикация и идентификация вирусов.*

Тест 3

С целью индикации вирусов в культуре клеток, применяют метод, основанный на изменении рН культуральной питательной среды в процессе культивирования вирусов *in vitro*. Как называется данный метод индикации вирусов?

- А. Цитопатическое действие.
- В. Реакция гемагглютинации.
- С. Реакция гемадсорбции.
- Д. Цветная проба.
- Е. Реакция бляшкообразования

К вопросу 4. *Серологический метод диагностики вирусных инфекций. Реакции, которые используются: РСК, РПГА, РТГА.*

Тест 4

При серологическом методе диагностики вирусных заболеваний исследуемую сыворотку, двукратно разводят в лунках планшета. Вносят вирусный диагностикум и взвесь эритроцитов.

Как называется данная серологическая реакция?

- A. Реакция гемагглютинации.
- B. Реакция пассивной гемагглютинации.
- C. Реакция обратной пассивной гемагглютинации.
- D. Реакция торможения гемагглютинации.
- E. Реакция связывания комплемента.

К вопросу 5. *Общие принципы экспресс-диагностики вирусных инфекций.*

Тест 5

Исследуемый материал обработали специфической сывороткой с красителем, выдержали 1 час, центрифугировали, из осадка приготовили препарат и исследовали под микроскопом с целью выявления вирусов. Какая это разновидность микроскопии?

- A. Электронная
- B. Иммерсионная
- C. Фазовоконтрастная
- D. Иммуноэлектронная
- E. Аностральная

К вопросу 6. *Схема подготовки (обработки) материала для вирусологического исследования.*

Тест 6

Заражение куриных эмбрионов является основным методом выделения вируса гриппа. При введении в куриный эмбрион исследуемого материала (смыва из носоглотки) с целью уничтожения микробов к нему сначала добавляют:

- A. Стрептомицин и пенициллин
- B. Перйодат калия
- 3. Среду Игла
- D. Формалин
- E. Эфир

К вопросу 7. *Требования к организации отбора материала для серологической диагностики вирусных инфекций.*

Тест 7

Для лабораторного подтверждения диагноза острой респираторной вирусной инфекции у пациента врач решил использовать серологический метод диагностики. Как необходимо отобрать материал для данного метода диагностики у пациента?

- A. В начале заболевания, как можно раньше.
- B. В конце заболевания, в период угасания клинических симптомов.

- C. На пике заболевания, в момент проявления всех клинических симптомов.
- D. В начале заболевания (как можно раньше) и через 2-3 недели.
- E. Во время максимального повышения температуры.

К вопросу 8. *Второй этап вирусологического метода диагностики – идентификация вирусов.*

Тест 8

С целью идентификации вируса в зараженной культуре клеток применяют реакцию нейтрализации цветной пробы с использованием специфической сыворотки. Какой будет цвет питательной среды при положительной реакции нейтрализации цветной пробы?

- A. Желтый
- B. Красный
- C. Синий
- D. Коричневый
- E. Серый

К вопросу 9. *Экспресс-методы диагностики, основанные на выявлении специфических «ранних» антител.*

Тест 9

Для подтверждения диагноза герпетической инфекции у пациента, заболевшего несколько дней назад, врач назначил обследование с целью выявления противогерпетических антител с помощью ИФА. Выявление антител какого класса может достоверно подтвердить диагноз герпетической инфекции у данного больного?

- A. Иммуноглобулинов А
- B. Иммуноглобулинов М
- C. Иммуноглобулинов D
- D. Иммуноглобулинов E
- E. Иммуноглобулинов G

К вопросу 10. *Экспресс-диагностика, основанная на выявлении вирусных антигенов.*

Тест 10

В детском учреждении зарегистрирована вспышка инфекции, вероятно вирусной этиологии. Необходимо срочно наметить план противоэпидемических мероприятий. Какие реакции или методы лабораторной диагностики необходимо подключить в первую очередь для быстрой и своевременной расшифровки данной вспышки?

- A. Электронную микроскопию.
- B. Вирусологический метод.
- C. Серологический метод.
- D. Иммунофлюоресцентную микроскопию.
- E. Световую микроскопию нативного/исходного материала.

К вопросу 11. *Выявление фрагментов вирусного генома с помощью гибридизации нуклеиновых кислот и полимеразной цепной реакции.*

Тест 11

В настоящее время как экспресс-методы диагностики вирусных инфекций все более широко используются методы, позволяющие найти в исследуемом материале следовые количества нуклеиновых кислот. Какой из перечисленных методов относится к данной группе методов?

- А.ИФА.
- В.РИА.
- С.ИЭМ.
- Д.ПЦР.
- Е.РИФ.

К вопросу 12. *Ретроспективный характер серологической диагностики вирусных инфекций.*

Тест 12

У пациента с подозрением на аденовирусную инфекцию в начале заболевания и на третьей неделе от начала заболевания были отобраны сыворотки. После забора второй сыворотки материал был передан в вирусологическую лабораторию для постановки РСК с аденовирусным антигеном. Как можно оценить диагностику заболевания у данного больного?

- А. Экспресс-метод, позволяющий в первые часы подтвердить этиологию заболевания
- В. Метод, позволяющий прогнозировать результат заболевания
- С. Метод, позволяющий выделить возбудитель
- Д. Ретроспективный метод, позволяющий подтвердить вирусную этиологию заболевания
- Е. Метод, выявляющий циркуляцию вирусных антигенов в организме больного

МЕТОДИКА ПРОВЕДЕНИЯ ЗАНЯТИЯ

Занятие практическое. В начале занятия преподаватель проводит проверку и коррекцию уровня подготовки студентов к занятию. По предложенной схеме записывается протокол. Студенты выполняют самостоятельную работу по обработке клинического материала (испоражнений), подготовке материала для вирусологического исследования и выполняют заражение культуры клеток - куриных фибробластов, микроскопируют препараты с проявлениями ЦПД и гемадсорбцией, оформляют протокол. В ходе занятия студенты знакомятся со схемой «Обработки материала для вирусологического метода исследования» и таблицей «Вирусологический метод диагностики» в учебном пособии. Заканчивается занятие итоговым тестовым контролем.

Содержательный модуль 4.

Специальная вирусология. Биологические свойства. Лабораторная диагностика этиотропная терапия и специфическая профилактика.

Конкретные цели:

- Анализировать биологические свойства патогенных для человека вирусов.
- Пояснить роль вирусов в патологии человека.
- Дифференцировать методы диагностики вирусных инфекций, делать выводы на основании результатов исследований.
- Анализировать препараты, предназначенные для специфической профилактики вирусных инфекций.

ТЕМА № 7: «Пикорнавирусы. Вирусы полиомиелита, Коксаки и ЕСНО. Лабораторная диагностика энтеровирусных инфекций».

1. АКТУАЛЬНОСТЬ ТЕМЫ

Вирусы полиомиелита, Коксаки и ЕКХО относят к семейству Picornaviridae, роду Enterovirus. Энтеровирусы вызывают у человека тяжелое поражение нервной системы и других органов и тканей. Полиомиелит как заболевание, известно с древности - есть изображение египетского жреца в одном из храмов Мемфиса со следами перенесенного заболевания. В то же время, невзирая на применение высокоэффективных вакцин (инактивированной – Солка и живой аттенуированной вакцины Себина), продолжают регистрироваться одиночные случаи заболевания полиомиелитом, в том числе и в Украине. Вирусы Коксаки и ЕСНО, открытые сравнительно недавно (50-ые годы XX столетия). Они вызывают как полиомиелитоподобные заболевания (параличи, серозный менингит), так и миалгии, герпангину, лихорадки, энцефалиты, гепатит, диарею, стоматиты, и другие синдромы. Вирусы Коксаки В3 и В4 рассматриваются как этиологические агенты инсулинозависимого сахарного диабета 1 типа. Имеются данные, указывающие на роль некоторых энтеровирусов в возникновении инфаркта миокарда.

Большую роль в открытии ряда вирусов (ЕСНО), изучении, классификации энтеровирусов сыграл выдающийся американский вирусолог украинского происхождения Джозеф Мельник.

Знание и умения, полученные при изучении данной темы, помогут врачу общеклинического профиля правильно выбрать материал для обследования, метод диагностики и оценить результаты исследования.

2. ЦЕЛЬ ОБУЧЕНИЯ.

Общая цель. Уметь правильно выбрать материал для лабораторного исследования при подозрении на энтеровирусную инфекцию, трактовать полученные результаты и выбирать препараты для профилактики полиомиелита.

Конкретные цели:

Уметь:

1. *Выбрать, в зависимости от стадии заболевания, метод диагностики (вирусологический, серологический или экспресс-метод).*

2. *Правильно отбирать материал для вирусологического исследования (режим сохранения, сроки доставки).*

3. *Трактовать полученные результаты.*

4. *Правильно выбрать препараты для специфической профилактики полиомиелита.*

3. ОСНОВНЫЕ ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ВОПРОСЫ, РАССМАТРИВАЕМЫЕ ПРИ ИЗУЧЕНИИ ДАННОЙ ТЕМЫ

К конкретной цели 1 (Уметь выбирать, в зависимости от стадии заболевания, метод диагностики (вирусологический, серологический или экспресс-метод)).

1. Современная классификация и основные свойства энтеровирусов.

2. Источник инфекции, патогенез заболевания у человека на примере полиомиелита.

К конкретной цели 2. (Уметь правильно отобрать материал для вирусологического исследования - режим сохранения, сроки доставки).

3. Сроки, правила отбора и транспортировки материала для исследования от больных с энтеровирусной инфекцией.

К конкретной цели 3. (Уметь трактовать полученные результаты).

4. Вирусологический метод лабораторной диагностики энтеровирусной инфекции.

5. Серологический метод лабораторной диагностики энтеровирусной инфекции.

К конкретной цели 4. (Правильно выбрать препараты для специфической профилактики полиомиелита).

6. Диагностические и профилактические препараты, используемые при энтеровирусных инфекциях.

4. СОДЕРЖАНИЕ ОБУЧЕНИЯ

Источники информации

Рекомендуемая литература

1. Гайдаш И.С., Флегонтова В.В. Медицинская вирусология.- Луганск, 2002.- С.323 -347.

2. Коротяев А.И., Бабичев С.А. Медицинская микробиология, иммунология и вирусология: СПб: Специальная литература, 1998. -С. 279-283

3. Поздеев О.К. Медицинская микробиология: Москва: ГЭОТАР-Мед, 2001.- С. 453 -457.

4. Букринская А.Г.. Вирусология. - М.: Медицина, 1986. - С. - С. 317-327.

5. Руководство к практическим занятиям по медицинской микробиологии и лабораторной диагностике инфекционных болезней/ Под ред. проф. Ю.С.Кривошеина.-Киев: Вища школа, 1986.-С. 238 – 243.

6. Руководство к лабораторным занятиям по микробиологии /Под ред. Л.Б. Борисова.-М.: Медицина, 1984.-с.

7.Лекция.

8.Стенд в учебном музее кафедры

Дополнительная литература

- 1.Фролов А.Ф., Шевченко Л.Ф., Широбоков В.П. Практическая вирусология. - Киев: Здоровья, 1989. - С. 90 - 120.
- 2.Общая и частная вирусология. Т.2. /Под. ред. В.М. Жданова.- М.: Медицина, 1982. - С.5 – 23.
- 3.Ворошилова Э.Энтеровирусные инфекции. - М.:Медицина,1979
- 4.Лабораторная диагностика вирусных и риккетсиозных заболеваний //Под ред. Э.Леннета и Н.Шмидта.-М.:Медицина,1974- С.421-479.

При работе с учебниками пользуйтесь графом логической структуры к данной теме. Если в процессе самоподготовки у Вас возникнут вопросы, запишите их и выясните в начале занятия с преподавателем.

5.ОРИЕНТИРОВОЧНАЯ ОСНОВА ДЕЙСТВИЯ

Протокол практического занятия по теме: «Энтеровирусы. Вирусы полиомиелита, Коксаки и ЕСНО. Лабораторная диагностика энтеровирусных инфекций».

1.Изучили лабораторную диагностику энтеровирусов на примере лабораторной диагностики полиомиелита, заполнили схему диагностики в учебнике.

2.Поставили опыт по изоляции (выделению) вируса из клинического материала.

3.Ознакомились с демонстрацией цитопатического действия (ЦПД) вируса полиомиелита в культуре клеток (демонстрационные препараты).

4.Ознакомились с демонстрацией препаратов мышей-сосунков, инфицированных вирусами Коксаки А.

5.Изучили биологические препараты, используемые для диагностики и профилактики энтеровирусных инфекций.

Для реализации поставленной цели и усвоения учебного материала решить задачу № 214 из сборника «Задание для самостоятельной работы студентов по курсу общей и специальной микробиологии».

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРОВЕДЕНИЮ ВТОРОГО ЭТАПА ВИРУСОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ - ИДЕНТИФИКАЦИИ ЦИТОПАТОГЕННЫХ АГЕНТОВ (ВИРУСОВ ПОЛИОМИЕЛИТА), ИЗОЛИРОВАННЫХ ОТ БОЛЬНОГО ХОД РАБОТЫ

В зоне пламени горелки стерильной 2-х кубиковой пипеткой возьмите 0,6 мл жидкости, которая содержит вирус - ЦПА из пробирки с зараженной культурой клеток. Внесите ее в пенициллиновые флаконы со специфическими противополиомиелитными сыворотками к 1, 2, 3 типам (по 0,2 мл в каждый флакон). Оставьте смесь "вирусодержащая жидкость +

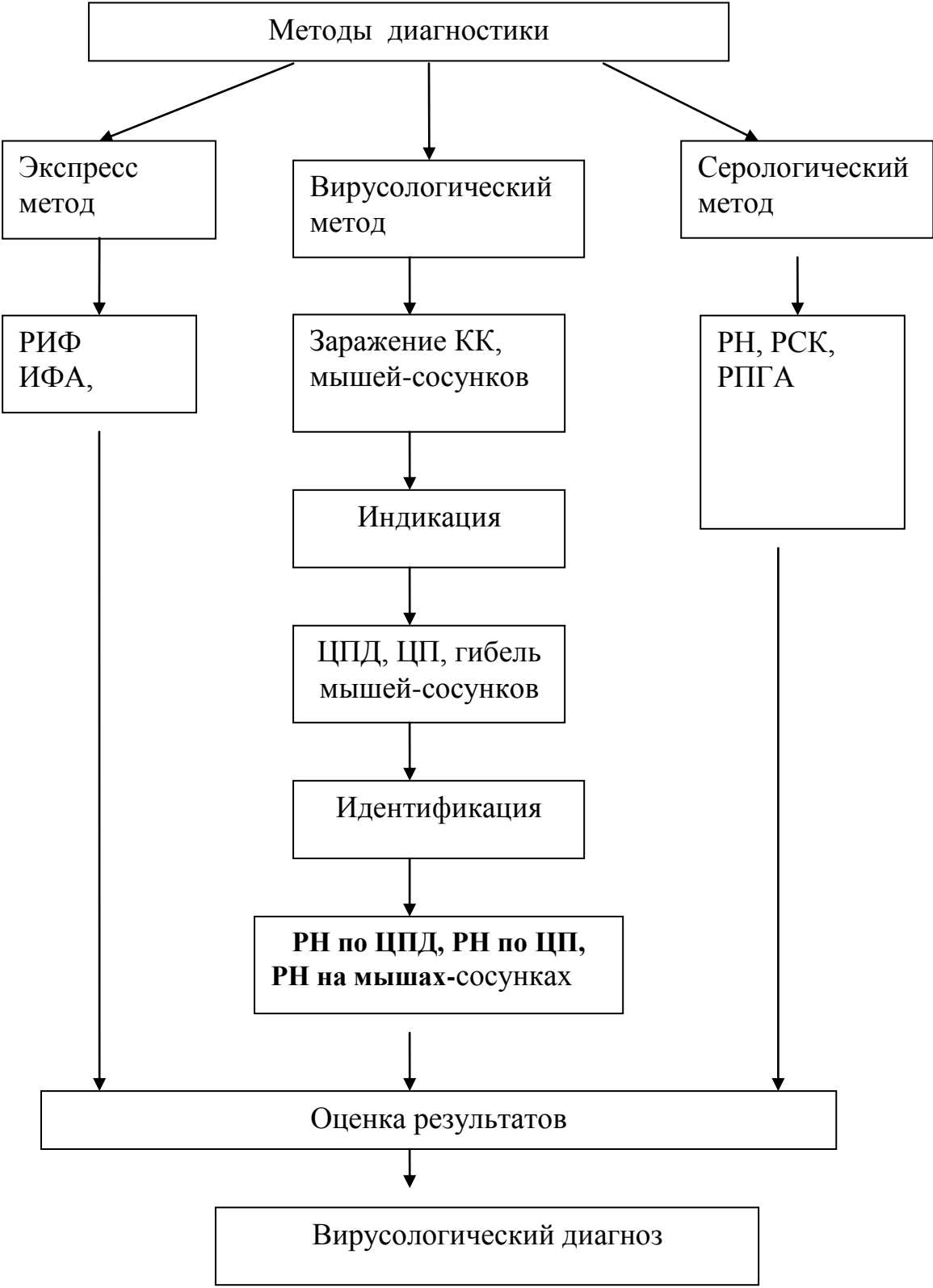
специфическая сыворотка" для контакта на 10 мин. Отработанную пипетку сбросьте в дезинфицирующий раствор.

По окончании времени контакта, инфицируйте каждой смесью свежую культуру клеток. С этой целью удалите ростовую, уже истощенную питательную среду и внесите по 0,2 мл смеси -"вируссодержащая жидкость + специфическая сыворотка".

В зараженные культуры клеток в пробирках добавляйте 1,8 мл поддерживающей питательной среды №199.

На пробирки с зараженными культурами клеток наденьте этикетки, в которых укажите смесь (1, 2, 3).

ГРАФ ЛОГИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ К ТЕМЕ: «Энтеровирусы. Вирусы полиомиелита, Коксаки и ЕСНО. Лабораторная диагностика энтеровирусных инфекций».



Задание для проверки достижения конкретных целей обучения

К вопросу 1. *Современная классификация и основные свойства энтеровирусов.*

Тест 1

Мелкие по размеру (22-32 нм) РНК – вирусы, лишенные липидных компонентов, патогенные для человека и животных, имеют кубический тип симметрии и нуклеокапсид в форме икосаэдра. К какой таксономической группе могут относиться такие вирусы?

- A. Poxviridae
- B. Retroviridae
- C. Picornaviridae
- D. Orthomyxoviridae
- E. Togaviridae

К вопросу 2. *Источник инфекции, патогенез заболевания у человека на примере полиомиелита*

Тест 2

В 1909 г. путем введения взвеси/эмульсии спинного мозга умершего от полиомиелита ребенка мартышкам было вызвано у них лихорадочное заболевание и доказана вирусная этиология полиомиелита. Какие ученые провели данный опыт и впервые изолировали вирус полиомиелита?

- A. Дж. Уотсон и Ф. Крик
- B. Дж. Мельник и Бенъеш-Мельник.
- C. Г. Долдорф и Р. Сиклс.
- D. К. Ландштейнер и Е. Поппер
- E. Ф. Леффлер и П. Фрош

К вопросу 3. *Сроки, правила отбора и транспортировки материала для исследования больных с энтеровирусной инфекцией.*

Тест 3

У умершего с подозрением на полиомиелит необходимо забрать материал для вирусологического исследования. Какой материал необходимо отобрать на протяжении первых часов после смерти?

- A. Фрагменты тканей печени и селезенки.
- B. Фрагменты тканей спинного мозга (шейный и поясничный отделы)
- C. Кусочки нисходящей петли толстого кишечника
- D. Фрагменты тканей головного мозга.
- E. Ликвор

К вопросу 4. *Вирусологический метод лабораторной диагностики энтеровирусной инфекции.*

Тест 4

У больного мальчика 5 лет на пятый день после начала заболевания из носоглотки и миндалин выделен вирус. На основании имеющихся данных врач-вирусолог предположил, что это вирус полиомиелита. Какую из перечисленных ниже реакций следует использовать для определения серотипа возбудителя?

- A. Реакция торможения гемагглютинации
- B. Реакция нейтрализации цитопатического действия
- З. Реакция торможение гемадсорбции
- D. Реакция непрямой гемагглютинации
- E. Реакция связывания комплемента

К вопросу 5. *Серологический метод лабораторной диагностики энтеровирусной инфекции*

Тест 5

Для серологической диагностики полиомиелита исследуются парные сыворотки больного в реакции нейтрализации цитопатического действия. Что следует использовать как антиген в этой реакции?

- A. Антигены - гемагглютинины.
- B. Комплементсвязующие антигены вируса.
- С. Антигены, инактивированные формалином.
- D. Живые вирусы трех антигенных типов.
- E. Антигены из капсидных белков вируса.

К вопросу 6. *Диагностические и профилактические препараты, которые используются при энтеровирусных инфекциях.*

Тест 6

Для специфической профилактики полиомиелита в Украине применяют вакцину, полученную заражением первичнотрипсинизированных культур клеток почек эмбриона мартышки аттенуированными штаммами вируса полиомиелита трех серотипов. Какая это вакцина?

- A. Солка
- B. Себина
- С. Ферми
- D. БЦЖ
- E. АКДС

МЕТОДИКА ПРОВЕДЕНИЯ ЗАНЯТИЯ

Занятие практическое. В начале занятия преподаватель проводит проверку и коррекцию уровня подготовки студентов к занятию. По предложенной схеме записывается протокол. Студенты выполняют самостоятельную работу по обработке клинического материала для вирусологического исследования. Проводят первый этап индикации вируса полиомиелита – заражение культуры клеток. На втором этапе исследования

проводится работа по идентификации вируса в реакции нейтрализации в культуре клеток. Во время занятия студенты микроскопируют препараты культуры клеток с ЦПД, знакомятся с препаратами, предназначенными для специфической профилактики полиомиелита, оформляют протокол. В ходе занятия студенты решают ситуационные задачи, заполняют схемы лабораторной диагностики энтеровирусных инфекций, имеющиеся в пособии. Заканчивается занятие итоговым тестовым контролем.

ТЕМА №8: «Вирусы гриппа. Вирусы -возбудители ОРВИ. Лабораторная диагностика гриппа».

I. АКТУАЛЬНОСТЬ ТЕМЫ

Грипп - самая распространенная вирусная инфекция человечества. С гриппозной инфекцией или ее последствиями (постгриппозными осложнениями, отягощающими течение хронических заболеваний "избыточной смертностью", как следствием гриппозной эпидемии) приходится сталкиваться врачам всех специальностей.

Острые респираторные вирусные инфекции - очень распространенная группа инфекционных заболеваний, сходных по клинике с гриппом, однако все они отличаются по этиологии. Кроме гриппа, клинику острых респираторных заболеваний может вызывать большая группа вирусов (аденовирусы – более 10 серотипов, вирусы парагриппа 1-3 типов, респираторно-синцитиальный вирус, реовирусы -3 серотипа, респираторные коронавирусы, вирусы Коксаки А и В, ЕСНО, герпесвирусы, риновирусы – более 100 серотипов и ряд других - всего около 200 вирусов), а также микоплазмы пневмонии и ряд других бактерий. Невзирая на большое количество возбудителей, чаще всего респираторные заболевания вирусной природы вызывают аденовирусы, вирусы парагриппа и респираторно-синцитиальный вирус. Чаще и в наиболее тяжелой клинической форме этими инфекциями болеют дети, особенно в первый год жизни.

В сумме грипп и острые респираторные вирусные инфекции по показателям заболеваемости занимают первое место в мире среди инфекционных заболеваний.

Умения, полученные при изучении данной темы, помогут врачу любого клинического профиля правильно отобрать материал для обследования, выбрать метод диагностики, оценить результаты лабораторной диагностики, выбрать препараты, предназначенные для специфической профилактики и лечения.

2. ЦЕЛЬ ОБУЧЕНИЯ

Общая цель. Уметь назначить и оценить результаты вирусологического, серологического и экспресс - методов исследований для диагностики, выбрать препараты для этиотропного лечения и специфической профилактики гриппа, ОРВИ.

Конкретные цели:

Уметь:

1.Выбрать соответствующий (вирусологический, серологический или экспресс-метод) метод исследования для диагностики гриппа, отобрать и организовать доставку материала.

2.Интерпретировать результаты вирусологического метода диагностики гриппа.

3.Оценить результаты экспресс - и серологического исследований при диагностике гриппа и ОРВИ.

4. Назначить препараты, которые используются для специфической профилактики и лечения гриппа.

3. ОСНОВНЫЕ ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ВОПРОСЫ, КОТОРЫЕ БУДУТ РАССМОТРЕНЫ ПРИ ИЗУЧЕНИИ ДАННОЙ ТЕМЫ.

К конкретной цели 1. (Выбрать соответствующий метод исследования для диагностики гриппа и ОРВИ, отобрать и организовать доставку материала).

1. Систематическое положение вирусов - возбудителей ОРВИ (аденовирусы, парамиксовирусы, риновирусы, реовирусы, реовирусы, коронавирусы).

К конкретной цели 2. (Интерпретировать результаты вирусологического метода диагностики гриппа и ОРВИ).

2. Культуральные свойства вирусов гриппа, вирусологическая диагностика гриппа.

3. Вирусологическая диагностика возбудителей ОРВИ.

К конкретной цели 3. (Оценить результаты экспресс - и серологических исследований при диагностике гриппа и ОРВИ).

4. Серологический метод диагностики – РСК, РПГА, РТГА.

5. Экспресс-метод диагностики: РИФ (МФА), ИФА, РОПГА.

К конкретной цели 4. (Назначить препараты, которые используются для специфической профилактики и лечения гриппа, ОРВИ).

6. Патогенез гриппозной инфекции на уровне клетки и перспективы химиотерапии гриппа.

7. Особенности эпидемиологии гриппозной инфекции – роль поверхностных антигенов гемагглютинаина и нейраминидазы, популяционного иммунитета, изменчивости вирусов (антигенный шифт и дрейф).

8. Специфическая профилактика гриппозной инфекции.

4. СОДЕРЖАНИЕ ОБУЧЕНИЯ

Источники информации

Рекомендуемая литература:

1. Гайдаш И.С., Флегонтова В.В. Медицинская вирусология.- Луганск, 2002.- С.196-201, 259-265, 272-275, 287-303, 341-343.

2. Коротяев А.И., Бабичев С.А. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология.-Санкт-Петербург: Специальная литература, 1998.-С. 263, 264-268, 268-269, 270-271, 273-276.

3. Поздеев О.К. Медицинская микробиология: Москва: ГЭОТАР-Мед, 2001.- С. 441-452.

4. Букринская А.Г.. Вирусология. - М.: Медицина, 1986. - С. 217-225, 230-233, 256-259, 259-264, 271-274, 274-288.

5. Руководство к практическим занятиям по медицинской микробиологии и лабораторной диагностике инфекционных болезней/ Под ред. Проф. Ю.С.Кривошеина. -Киев:Вища школа, 1986.-С.221 – 223, 223 – 225.

6.Руководство к лабораторным занятиям по микробиологии /Под ред. Л.Б. Борисова.-М.: Медицина, 1984.-с.

7.Лекция.

8.Стенд в учебном музее кафедры

Дополнительная литература

1.Фролов А.Ф., Шевченко Л.Ф., Широбоков В.П. Практическая вирусология. - Киев: Здоровья, 1989. - С. 39-55, 55-62, 70-78, 82-90, 120-125, 176-188.

2.Общая и частная вирусология. Т.2. /Под. ред. В.М. Жданова.- М.: Медицина, 1982. - С. 139-185, 186-191, 316-327, 413-460.

3.Лабораторная диагностика вирусных и риккетсиозных заболеваний //Под ред. Э.Леннета и Н.Шмидта.-М.:Медицина,1974- С.421-479.

При работе с учебниками пользуйтесь графом логической структуры к данной теме. Если в процессе самоподготовки у Вас возникнут вопросы, запишите их и выясните в начале занятия с преподавателем.

5.ОРИЕНТИРОВОЧНАЯ ОСНОВА ДЕЙСТВИЯ

Протокол практического занятия к теме: «Грипп. Лабораторная диагностика гриппа и ОРВИ».

1.Разобрали особенности вирусологической диагностики гриппа – методами индикации (РГА) и идентификации (РТГА). Поставили РТГА с аллантоисной жидкостью с целью идентификации вируса гриппа.

2.Изучили серологический метод диагностики гриппа (РСК, РПГА, РТГА), принцип исследования сыворотки в динамике (парные сыворотки), оценку результатов серологической диагностики (4-х кратный прирост антител). Провели оценку результатов серологической диагностики гриппа с помощью РТГА (демонстрация).

3.Изучили экспресс-методы диагностики гриппа и ОРВИ: РИФ/МФА, ИФА, РОПГА по стенду учебного музея.

4.Заполнили схему лабораторной диагностики гриппозной инфекции в учебном пособии.

5.Ознакомились с биологическими препаратами, которые используются для специфической профилактики, диагностики и лечения гриппозной инфекции.

Для реализации поставленной цели и усвоения учебного материала необходимо решить задачи №№ 207, 210, №211 из сборника «Задания для самостоятельной работы студентов по курсу общей и специальной микробиологии».

Задания для проверки достижения конкретных целей обучения

К вопросу 1.*Систематическое положение вирусов - возбудителей ОРВИ (аденовирусы, парамиксовирусы, риновирусы, реовирусы, реовирусы, коронавирусы).*

Тест 1

В населенном пункте Н. в январе месяце зарегистрирован эпидемический подъем заболеваний, которые клинически диагностируются, как ОРВИ. Для выяснения и уточнения этиологии заболеваний было решено провести ряд исследований. Какие вирусы могли вызывать заболевание, клинически диагностируемое как ОРВИ?

- А. Ретровирусы.
- В. Вирус паротита.
- С. Вирусы полиомиелита.
- Д. Парамиксовирусы.
- Е. Вирус клещевого энцефалита.

К вопросу 2. *Культуральные свойства вирусов гриппа, вирусологическая диагностика гриппа.*

Тест 2

Больной Г., заболевший накануне (заболел остро), госпитализирован в инфекционное отделение. У больного высокая температура ($38,8 - 39,0^{\circ}\text{C}$), озноб, сильная головная боль, ломота в суставах, небольшой насморк. Дежурный врач поставил диагноз "грипп"? Какие из методов диагностики можно применить на данной стадии заболевания у больного?

- А. Вирусологический (изоляция вируса).
- В. Экспресс-метод (ИФА, выявление Ig - антител).
- С. Аллергологический (РБТЛ, выявление сенсibilизации).
- Д. Аллергологический (внутрикожная проба, выявление сенсibilизации)
- Е. Экспресс метод (непрямая РИФ, выявление антител).

К вопросу 3. *Вирусологическая диагностика возбудителей ОРВИ.*

Тест 3

В населенном пункте Н. 15 января зарегистрирован эпидемический подъем заболеваний, которые клинически диагностируются, как ОРВИ. Для выяснения и уточнения этиологии заболеваний **на второй день после регистрации эпидемического подъема** было решено провести ряд исследований. Какие методы лабораторной диагностики целесообразно использовать для расшифровки этиологии ОРВИ у жителей данного населенного пункта?

- А. Микроскопический (риноцитоскопия).
- В. Микроскопический (иммуноэлектронная микроскопия)
- С. Микроскопический (электронная микроскопия)
- Д. Серологический (выявление 4-х кратного нарастания титра антител).
- Е. Вирусологический.

К вопросу 4. *Серологический метод диагностики – РСК, РПГА, РТГА.*

Тест 4

Больной Г., заболевший накануне (заболел остро), госпитализирован в инфекционное отделение. У больного высокая температура ($38,8 - 39,0^{\circ}\text{C}$),

озноб, сильная головная боль, ломота в суставах, небольшой насморк. Дежурный врач поставил диагноз "грипп"? Почему нельзя использовать для диагностики заболевания у данного больного на момент поступления серологический метод?

- А.Еще не выработались антитела, болеет только вторые сутки
- В.Необходимо выявить 2-х кратный прирост антител
- С. Необходимо выявить 4-х кратный прирост антител
- Д.Достоверным будет определение титров антител в динамике.
- Е.В первый день заболевания не была отобрана сыворотка.

К вопросу 5. *Экспресс-метод диагностики: РИФ (МФА), ИФА, РОПГА.*

Тест 5

В населенном пункте Н. в конце января зарегистрирован эпидемический подъем заболеваний, которые клинически диагностируются, как ОРВИ. Для выяснения и уточнения этиологии заболеваний в начале февраля было решено провести ряд исследований. Какие методы лабораторной диагностики целесообразно использовать для расшифровки этиологии ОРВИ у жителей данного населенного пункта для оперативного планирования эпидемических мероприятий?

- А.Микроскопический (риноцитоскопия).
- В.Экспресс – метод (иммунофлюоресцентный, иммуноферментный).
- С.Электронномикроскопический.
- Д.Серологический (выявление 4-х кратного нарастания титра антител).
- Е.Вирусологический.

К вопросу 6. *Патогенез гриппозной инфекции на уровне клетки и перспективы химиотерапии гриппа.*

Тест 6

Для лечения больного с клиникой гриппа врач назначил ему прием химиотерапевтического препарата, который сможет приостановить поражение клеток вирусом гриппа на раннем этапе инфекции клетки. Какой препарат имеет подобное действие?

- А.Ремантадин.
- В.Ацикловир.
- С.Интерферон
- Д.Аскорбиновая кислота.
- Е.Мефенаминовая кислота.

К вопросу 7. *Особенности эпидемиологии гриппозной инфекции – роль поверхностных антигенов гемагглютинина и нейраминидазы, популяционного иммунитета, изменчивости вирусов (антигенный шифт и дрейф).*

Тест 7

От лиц с клиникой респираторной инфекции – жителей юго-восточной Азии был изолирован вирус гриппа со значительно измененными поверхностными гликопротеидами – гемагглютинином и нейраминидазой. Сотрудники лаборатории расценили данный вирус как вирус с пандемическими потенциями. В результате какого процесса мог образоваться данный антигенный вариант вируса гриппа?

- А. Антигенного шифта.
- В. Антигенного дрейфа.
- С. Конъюгации.
- Д. Трансдукции.
- Е. Трансформации.

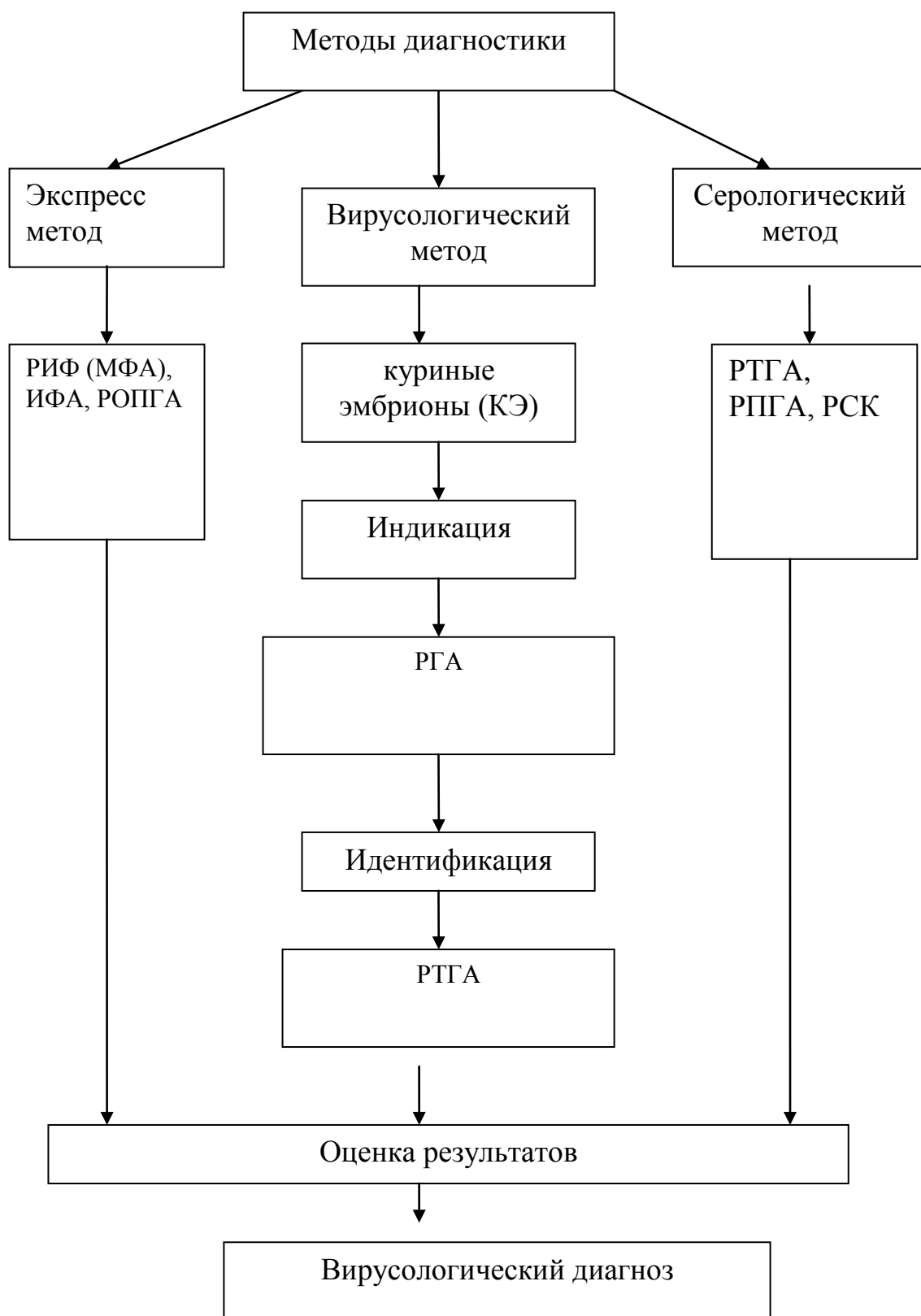
К вопросу 8. *Специфическая профилактика гриппозной инфекции.*

Тест 8

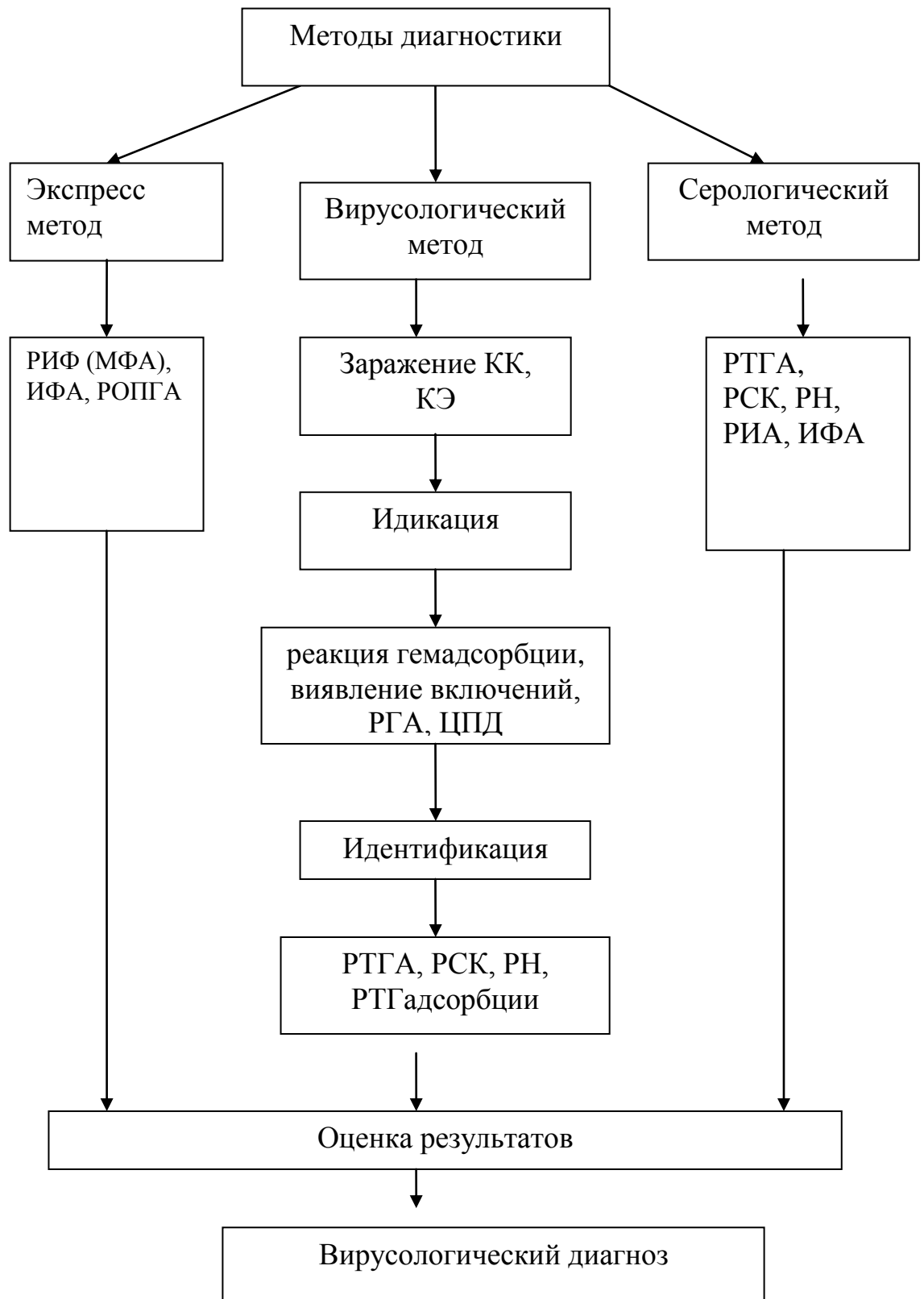
В закрытом детском коллективе планируется с целью профилактики гриппозной инфекции провести вакцинацию с целью снижения (прекращения) циркуляции вирусов гриппа среди членов коллектива. Какой вид иммунной защиты должен вероятнее всего снизить циркуляцию вирусов гриппа среди членов коллектива?

- А. Местный иммунитет слизистой носоглотки (IgA- антитела).
- В. Циркулирующие антитела в крови (IgM- и IgG-антитела).
- С. Мигрирующие макрофаги в легочной ткани.
- Д. Цитотоксические лимфоциты (Т-цтк в селезенке)
- Е. Естественные киллеры.

ГРАФ ЛОГИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ К ТЕМЕ: «Грипп. Лабораторная диагностика гриппа».



ГРАФ ЛОГИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ К ТЕМЕ: : «Острые респираторные вирусные инфекции (ОРВИ). Лабораторная диагностика ОРВИ»



МЕТОДИКА ПРОВЕДЕНИЯ ЗАНЯТИЯ

Занятие практическое. В начале занятия преподаватель проводит проверку и коррекцию уровня подготовки студентов к занятию. По предложенной схеме записывается протокол. Студенты выполняют самостоятельную работу по постановке РТГА с целью серологической диагностики парагриппозной инфекции, микроскопируют препараты культуры клеток с ЦПД и феноменом гемадсорбции, знакомятся с препаратами, предназначенными для диагностики ОРВИ, оформляют протокол. В ходе занятия студенты решают ситуационные задачи из сборника «Задания для самостоятельной работы студентов по курсу общей и специальной микробиологии», заполняют схему лабораторной диагностики ОРВИ, которая есть в пособии. Заканчивается занятие итоговым тестовым контролем.

ЗАНЯТИЕ 9

Тема 9. Ретровирусы. Вирус иммунодефицита человека ВИЧ. Лабораторная диагностика ВИЧ/СПИД. Поксвирусы. Вирус натуральной оспы.

Лабораторная диагностика.

I. АКТУАЛЬНОСТЬ ТЕМЫ

Борьба со СПИД (синдромом приобретенного иммунодефицита) является всемирной и чрезвычайно сложной проблемой здравоохранения, требующей глубоких знаний у медицинских работников, санитарно-гигиенических знаний у населения и правительственных программ по борьбе с "чумой 21-го века", как окрестили это заболевание.

По данным медицинской статистики на основании расчетных данных (экстраполяция результатов выборочных исследований на всю популяцию Украины) ВИЧ-инфицированных в стране около 1%, то есть каждый сотый житель. Число и удельный вес таких лиц в популяции постоянно растут.

Прогнозы развития эпидемии/пандемии ВИЧ-инфекции в мире и в Украине чрезвычайно пессимистические. Учитывая расчетную распространенность инфекции в нашей стране, отсутствие на протяжении длительного времени клинических проявлений заболевания (на стадии ВИЧ-инфицированности) с больными с данной патологией в ближайшее время будут сталкиваться медики всех специальностей. ВИЧ-инфицированные во многих случаях не знают о своем состоянии и могут обращаться за медицинской помощью в рядовые учреждения здравоохранения. Медики всех специальностей должны быть четко информированы о биологических свойствах, резистентности, особенностях патогенеза ВИЧ-инфекции, мерах предупреждения, тактике ведения больных как в стадии ВИЧ-инфицирования, так и в стадии СПИД (последним помощь должна оказываться в специализированных медицинских учреждениях).

Натуральная оспа - одна из карантинных (конвенционных) инфекций, которая характеризуется высокой контагиозностью и летальностью. Натуральная оспа известна с древности (выявлены египетские мумии со следами натуральной оспы). За всю историю человечества натуральная оспа забрала жизнь не менее чем у 150 млн. человек. Благодаря открытию Э. Дженнера человечество получило средство борьбы (профилактики) с этой страшной инфекцией. В 1957г. ВОЗ была принята программа ликвидации оспы. В 1975 г. зарегистрированы последние случаи *Variola major* в Бангладеш, в 1977 г. - последний случай *Variola minor* в Сомали. Через два года генеральный секретарь ВОЗ сообщил о ликвидации заболеваний натуральной оспой на земном шаре. Это пока единственная инфекция, заболеваемость которой ликвидирована во всем мире. Но возбудитель натуральной оспы находится в нескольких лабораториях мира, огромное количество людей не вакцинировано против оспы (родились после 1979 г. или в тех странах, где вакцинация прекращена еще раньше), есть сообщение о заболевании людей оспой обезьян. В связи с этим врачи всех специальностей должны иметь представление о клинике, лабораторной диагностике и средствах и профилактики натуральной оспы.

2. ЦЕЛЬ УЧЕБЫ

Общая цель. Уметь правильно назначать обследование, интерпретировать результаты лабораторной диагностики для постановки диагноза и выбора препаратов для лечения ВИЧ-инфекции/СПИД, использовать результаты лабораторной диагностики для постановки диагноза и выбора препаратов для профилактики и лечения натуральной оспы

Конкретные цели:

Уметь

1. *Выбрать материал для исследования и метод лабораторной диагностики ВИЧ-ИНФЕКЦИИ/СПИД, в зависимости от стадии заболевания.*

2. *Интерпретировать результаты лабораторной диагностики ВИЧ-ИНФЕКЦИИ/СПИД.*

3. *Выбрать средства профилактики ВИЧ-ИНФЕКЦИИ/СПИД.*

4. *Интерпретировать результаты лабораторной диагностики натуральной оспы.*

5. *Правильно выбрать препараты для профилактики натуральной оспы.*

3. ОСНОВНЫЕ ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ВОПРОСЫ, РАССМОТРЕННЫЕ ПРИ ИЗУЧЕНИИ ДАННОЙ ТЕМЫ.

К конкретной цели 1. (Выбрать материал для исследования и метод лабораторной диагностики ВИЧ-ИНФЕКЦИИ/СПИД, в зависимости от стадии заболевания).

1. **Общая характеристика ретровирусов:** особенности строения, резистентность.

2. **Патогенез заболевания на уровне организма, стадии заболевания, ВИЧ-ИНФЕКЦИЯ или СПИД.**

К конкретной цели 2. (Интерпретировать результаты лабораторной диагностики).

3. **Методы лабораторной диагностики ВИЧ-инфекции.** Иммуноферментный (ИФА), иммуноблотинг, гибридизация нуклеиновых кислот, полимеразная цепная реакция (ПЦР).

К конкретной цели 3. (Выбрать способы профилактики ВИЧ-ИНФЕКЦИИ/СПИД).

4. **Неспецифическая профилактика ВИЧ-инфекции.** Проблема ВИЧ/СПИД для стоматологических специальностей.

К конкретной цели 4. (Интерпретировать результаты лабораторной диагностики).

5. **Вирусологическая диагностика натуральной оспы.**

6. **Экспресс- диагностика натуральной оспы**

К конкретной цели 5. (Правильно выбрать препараты для профилактики натуральной оспы).

7. **История вопроса специфической профилактики оспы.** Работы Э. Дженнера.

4. СОДЕРЖАНИЕ ОБУЧЕНИЯ

Источники информации (Вирус иммунодефицита человека ВИЧ. Лабораторная диагностика ВИЧ/СПИД)

Рекомендуемая литература:

1. Гайдаш И.С., Флегонтова В.В. Медицинская вирусология.- Луганск, 2002.- С.222 – 244.
2. Коротяев А.И., Бабичев С.А. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология.-Санкт-Петербург: Специальная литература, 1998.-С.319-326.
3. Поздеев О.К. Медицинская микробиология: Москва: ГЭОТАР-Мед, 2001.- С. 489 – 492.
4. Букринская А.Г.. Вирусология. - М.: Медицина, 1986. - С. 309-313.
5. Лекция.
6. Стенд в учебном музее кафедры

Дополнительная литература:

1. Фролов А.Ф., Шевченко Л.Ф., Широбоков В.П. Практическая вирусология. - Киев: Здоровья, 1989. - С. 226 - 236.

Источники информации Вирус натуральной оспы. Лабораторная диагностика.

Рекомендуемая литература:

1. Гайдаш И.С., Флегонтова В.В. Медицинская вирусология.- Луганск, 2002.- С.159-167.
2. Коротяев А.И., Бабичев С.А. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология.-Санкт-Петербург: Специальная литература, 1998.-С.316-319.
3. Поздеев О.К. Медицинская микробиология: Москва: ГЭОТАР-Мед, 2001.- С. 472-475.
4. Букринская А.Г.. Вирусология. - М.: Медицина, 1986. - С. 191-198.
5. Руководство к практическим занятиям по медицинской микробиологии и лабораторной диагностике инфекционных болезней/ Под ред. Проф. Ю.С.Кривошеина.-Киев:Вища школа, 1986.-С.227 – 232.
6. Руководство к лабораторным занятиям по микробиологии /Под ред. Л.Б. Борисова.-М.: Медицина, 1984.-с.
7. Лекция.
8. Стенд в учебном музее кафедры

Дополнительная литература

1. Фролов А.Ф., Шевченко Л.Ф., Широбоков В.П. Практическая вирусология. - Киев: Здоровья, 1989. - С. 203 - 212.
2. Общая и частная вирусология. Т.2. /Под. ред. В.М. Жданова.- М.: Медицина, 1982. - С. 340 – 369.
3. Лабораторная диагностика вирусных и риккетсиозных заболеваний //Под ред. Э.Леннета и Н.Шмидта.-М.:Медицина,1974- С.421-479.

При работе с учебниками пользуйтесь графом логической структуры к данной теме. Если в процессе самоподготовки у Вас возникнут вопросы, запишите их и выясните в начале занятия с преподавателем.

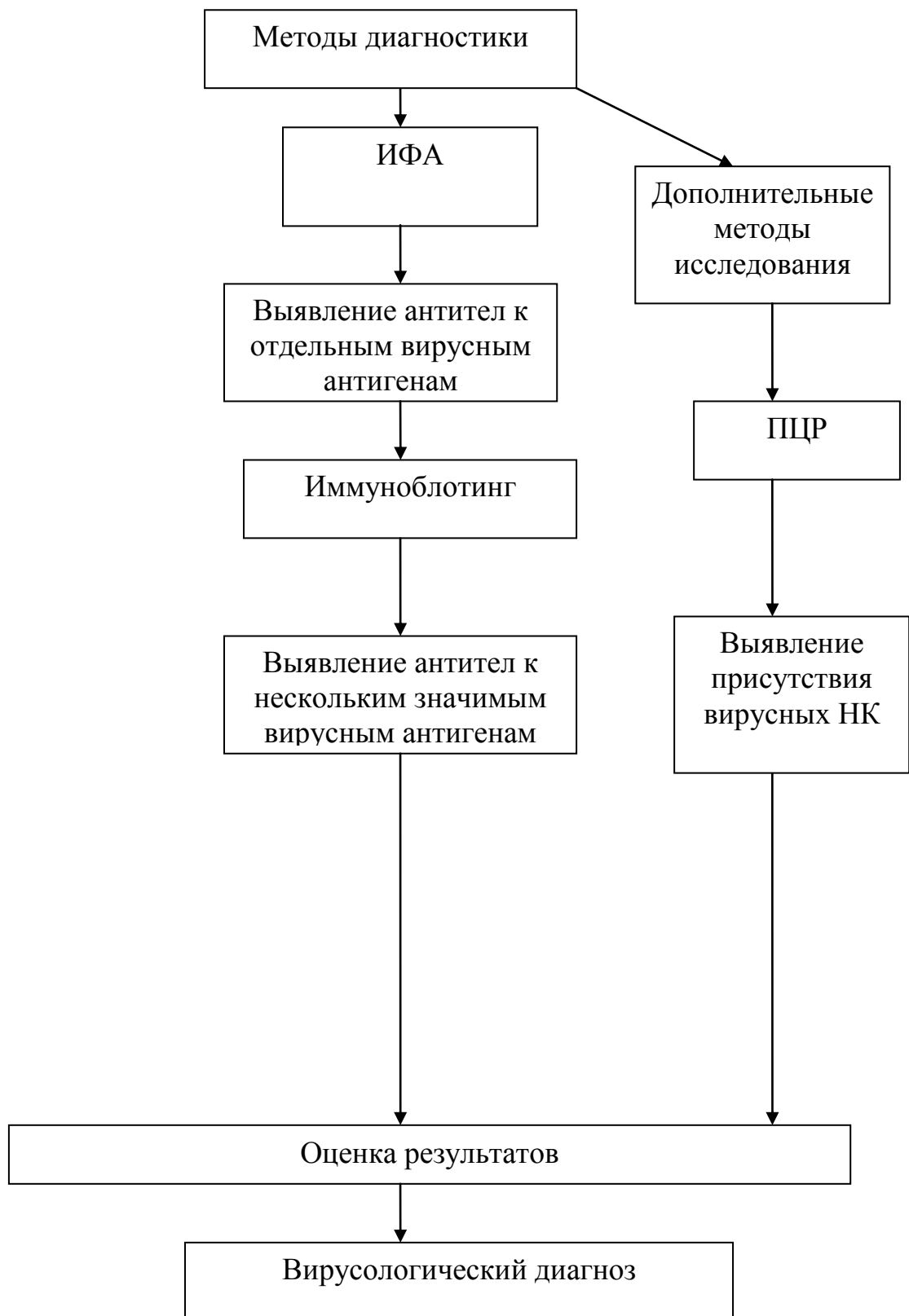
ОРИЕНТИРОВОЧНАЯ ОСНОВА ДЕЙСТВИЯ

Протокол практического занятия к теме: «Ретровирусы. Вирус иммунодефицита человека. Лабораторная диагностика ВИЧ-инфекции»

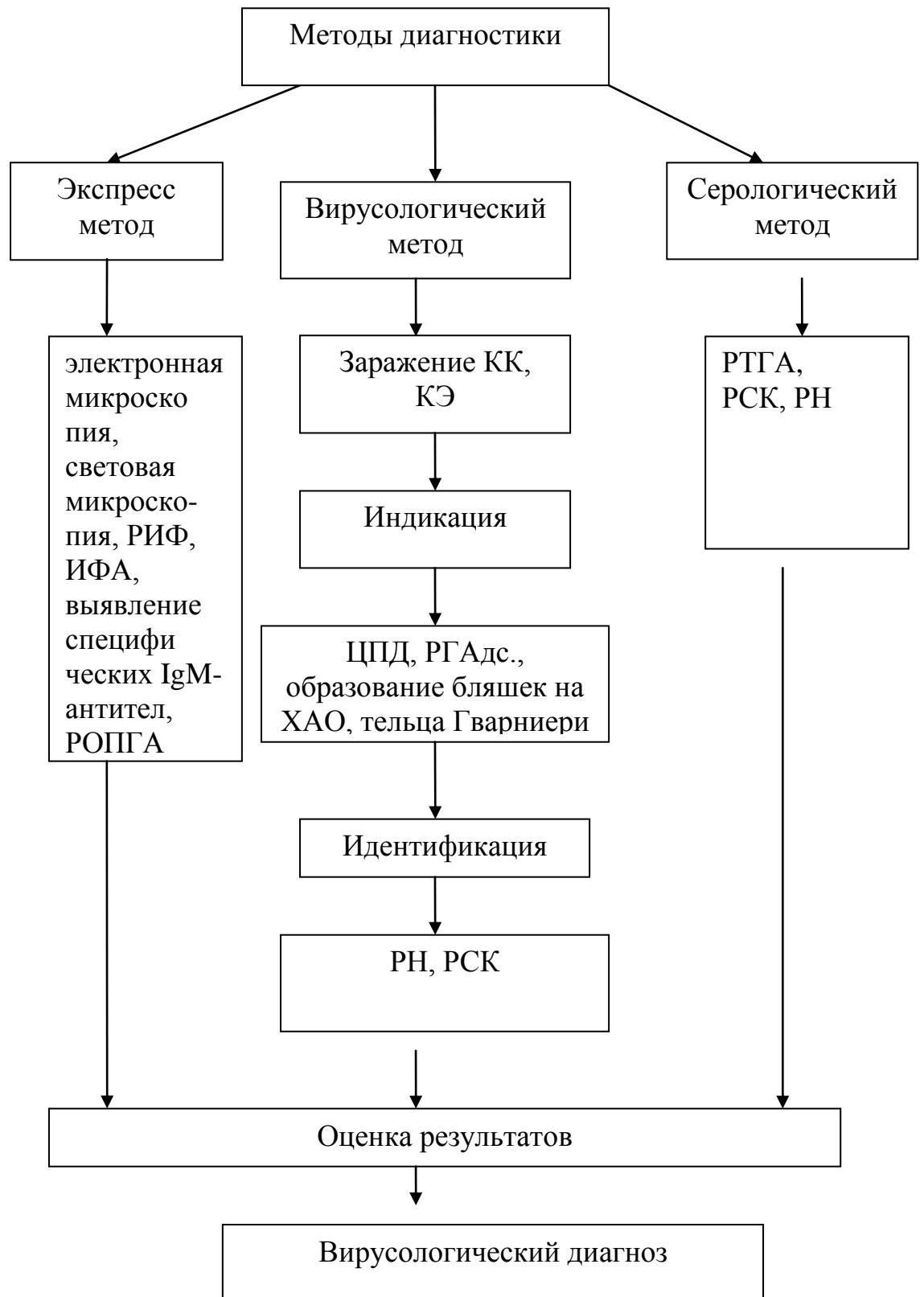
- 1.Разобрали методы лабораторной диагностики ВИЧ-инфекции: иммуноферментный (ИФА), иммуноблотинг, гибридизацию нуклеиновых кислот, полимеразную цепную реакцию (ПЦР).
- 2.Изучили неспецифическую профилактику ВИЧ-инфекции. Ознакомились с проблемой ВИЧ/СПИД для стоматологических специальностей.
3. Зарисовали элементарные тельца Пашена и включения Гварниери (по таблицам).
- 4.Разобрали методы лабораторной диагностики натуральной оспы: экспресс-метод, вирусологический и серологический методы. Заполнили схему диагностики в учебном пособии.
- 5.Ознакомились с препаратами, которые используются для профилактики натуральной оспы.

Для реализации поставленной цели и усвоения учебного материала решите задачи № 207, 216 - 218 из сборника «Задания для самостоятельной работы студентов по курсу общей и специальной микробиологии».

ГРАФ ЛОГИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ К ТЕМЕ: «Ретровирусы. Вирус иммунодефицита человека. Лабораторная диагностика ВИЧ-инфекции»



ГРАФ ЛОГИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ К ТЕМЕ: «Поксвирусы. Лабораторная диагностика натуральной оспы»



Задание для проверки достижения конкретных целей обучения
 К вопросу 1. *Общая характеристика ретровирусов: особенности строения, резистентность.*

Тест 1

Структура ВИЧ образована внешней оболочкой – суперкапсидом, который состоит из двухслойной мембраны, происходящей из цитоплазматической мембраны клетки, в которой происходила репродукция вируса. Такую двухслойную мембрану пронизывают вирусные гликопротеиды. Какие поверхностные трансмембранные гликопротеиды имеет данный вирус?

- A. gp120
- B. gp41
- C. gp17
- D. gp10
- E. gp110

К вопросу 2. *Патогенез заболевания на уровне организма, стадии заболевания, ВИЧ-инфекция и СПИД.*

Тест 2

Больной К., длительное время лечился по поводу пневмонии неясной этиологии, резистентной к стандартной антибиотикотерапии. Из анамнеза установлено, что пациент длительное время находился в служебной командировке за границей, в юго-восточной Африке. Находясь в командировке, получил травму, лечился в госпитале. При сборе анамнеза жизни указал ряд сексуальных контактов во время пребывания в командировке в Африке. Оценивая данные анамнеза, клиническую картину заболевания врач заподозрил у больного ВИЧ-инфекцию/СПИД. Какой мог быть наиболее вероятный механизм инфицирования ВИЧ-вирусом данного больного?

- A. Фекально-оральный.
- B. Воздушно-капельный.
- C. Трансмиссивный.
- D. Половой.
- E. Парентеральный ятрогенный

К вопросу 3. *Методы лабораторной диагностики ВИЧ-инфекции. Иммуноферментный (ИФА), иммуноблотинг, гибридизация нуклеиновых кислот, полимеразная цепная реакция (ПЦР).*

Тест 3

Больной К., длительное время лечился по поводу пневмонии неясной этиологии, резистентной к стандартной антибиотикотерапии. Из анамнеза установлено, что пациент длительное время находился в служебной командировке за границей, в юго-восточной Африке. Находясь в командировке, получил травму, лечился в госпитале. При сборе анамнеза жизни указал ряд сексуальных контактов во время пребывания в командировке в Африке. Оценивая данные анамнеза, клиническую картину заболевания врач заподозрил у больного ВИЧ-инфекцию/СПИД. Какими исследованиями можно подтвердить или опровергнуть диагноз, поставленный врачом данному больному?

- A. Определить нарастание титра антител к ВИЧ в реакции Видалья.

- В. Определить в ИФА наличие IgM-антител.
- С. Выявить в ИФА наличие антител к ВИЧ.
- Д. Определить в реакции иммуноблотинга наличие антител к ВИЧ.
- Е. Выявить наличие антител к ВИЧ в РСК.

К вопросу 4. *Неспецифическая профилактика ВИЧ-инфекции. Проблема ВИЧ/СПИД для стоматологических специальностей.*

Тест 4

У группы детей от разных родителей, которые находились на лечении в педиатрическом стационаре города Н. через два с половиной года, после пребывания в стационаре, выявлена ВИЧ-инфекция, у некоторых в стадии СПИД. Комиссия, расследовавшая данную вспышку посчитала её ятрогенной. Какие возможны механизмы инфицирования у данных детей?

- А. Вертикальный (с молоком матери).
- В. Вертикальный (трансплацентарный).
- С. Парентеральный (гемотрансфузия).
- Д. Парентеральный (инъекция).
- Е. Парентеральный (инвазивные манипуляции инструментами многократного пользования).

К вопросу 5. *Вирусологическая диагностика натуральной оспы..*

Тест 5

Вирусологическая лаборатория готовится к плановым учениям по тестированию вируса натуральной оспы как потенциального возбудителя, который может быть использован в качестве биологического оружия. Для индикации вируса во внешней среде будут заражаться биологические объекты. Какие феномены дадут возможность обнаружить присутствие вируса в зараженных биологических объектах?

- А. Гибель морских свинок.
- В. Паралич у кур
- С. Паралич у морских свинок
- Д. Рвота и кровавый пронос у котят.
- Е. "Бляшки" на хорионаллантоисной оболочке.

К вопросу 6. *Экспресс- диагностика натуральной оспы.*

Тест 6

В начале 70-х годов (к моменту глобальной ликвидации натуральной оспы во всем мире) в странах, свободных от натуральной оспы, продолжала оставаться опасность завозной оспы, что создавало настороженность со стороны карантинных служб и органов здравоохранения. В аэропорту города Д. был снят с авиарейса и госпитализирован в боксированное отделение инфекционной больницы специалист, который вернулся из длительной командировки в Африку, с диагнозом: "Натуральная оспа?". Какими методами лабораторной диагностики можно было бы подтвердить или исключить такой диагноз у данного пассажира с учетом возможности применения карантинных мероприятий ко всему большому городу ?

- А. Бактериологическим
- В. Аллергологическим
- С. Серологическим.
- Д. Вирусологическим
- Е. Экспресс методом.

К вопросу 7. *История вопроса специфической профилактики оспы. Работы Э. Дженнера.*

Тест 7

14 мая 1796 года сельский врач взял содержимое пустулы на руке крестьянки Сары Нельмс, пораженной коровьей оспой, и привил на руку восьмилетнему мальчику Джемсу Фиппсу. Этим было положено начало оспопрививанию. Как звали этого врача?

- А. Луи Пастер
- В. Роберт Кох
- С. Жюль Борде
- Д. Джираламо Фракасторо
- Е. Эдуард Дженнер

МЕТОДИКА ПРОВЕДЕНИЯ ЗАНЯТИЯ

Занятие проводится в учебной лаборатории и учебном музее. В начале занятия преподаватель проводит проверку и коррекцию уровня подготовки студентов к занятию. По предложенной схеме записывается протокол. В учебном музее с использованием учебных стендов, студенты знакомятся с общей характеристикой ретровирусов, разбирают особенности строения, патогенеза на клеточном уровне и на уровне целого организма, разбирают методы лабораторной диагностики и перспективы лечения и специфической профилактики. В учебной лаборатории студенты выполняют самостоятельную работу – заполняют схему лабораторной диагностики ВИЧ-инфекции, схему лабораторной диагностики натуральной оспы, знакомятся с препаратами, предназначенными для лабораторной диагностики заболевания, разбирают инструкцию по проведению ИФА, знакомятся с препаратами, предназначенными для специфической профилактики натуральной оспы. В ходе занятия студенты решают задачи для самостоятельной работы из пособия и ситуационные задачи №№ 207, 216 - 218 из сборника «Задания для самостоятельной работы студентов по курсу общей и специальной микробиологии». Заканчивается занятие итоговым тестовым контролем.

Дополнение

НЕКОТОРЫЕ ОСОБЕННОСТИ ПАТОГЕНЕЗА ВИЧ

ВИЧ-ИНФЕКЦИЮ/СПИД вызывает ретровирус, получивший название вирус иммунодефицита человека (ВИЧ).

Ретровирусы – семейство вирусов, у которых есть уникальный вирусный фермент – ревертаза (обратная транскриптаза, РНК-зависимая

ДНК-полимераза). Подобного фермента нет ни в растительном, ни в животном мире, нет и у представителей других семейств вирусов (за исключением гепадновирусов). Ревертаза - фермент, позволяющий на матрице РНК сформировать копию ДНК. Наличие ревертазы позволяет РНК-геномным ретровирусам, точнее ДНК – копиям их геномов интегрироваться в геном клеток, пораженных этими ретровирусами.

Главной мишенью ВИЧ являются клетки-хелперы CD 4+- субпопуляции лимфоцитов (CD – кластеры дифференциации). CD 4+ – лимфоциты выполняют в иммунной системе организма регуляторную роль, так называемых, лимфоцитов-помощников, которые регулируют запуск иммунного ответа.

Кроме лимфоцитов-помощников (хелперов) ВИЧ поражает, однако в меньшей мере – моноциты, макрофаги, клетки нейроглии. Все они имеют на своей поверхности CD4+белки-рецепторы. Вирус иммунодефицита человека проникает в клетки, имеющие на своей мембране CD 4+ рецепторы, к которым присоединяется gp 120-прикрепительный белок ВИЧ.

После проникновения вируса ВИЧ в клетку (лимфоциты-хелперы, моноциты, макрофаги и др.), происходит образование с помощью фермента ревертазы ДНК-копии генома вируса и интеграция этой копии генома в геном клетки. Наступает состояние, которое на уровне целого организма получило название ВИЧ-инфицирование. Такое состояние может продолжаться достаточно долго (месяцы и годы), пока не происходит функциональная активация пораженного лимфоцита. Активация клетки приводит к активации ДНК-копии «спящего» генома ретровируса. Эти процессы ведут к нарушению функции, а чаще к гибели пораженной вирусом клетки. Все это приводит к нарушению регуляции в иммунной системе – защитной системе организма. Наступает стадия СПИД.

Через определенные промежутки времени (около 7 лет, иногда больше, но нередко – меньше) состояние ВИЧ-инфицированности, которое не проявляется клинически, переходит в клинически выраженный синдром приобретенного иммунодефицита (СПИД).

Организм ВИЧ-инфицированного на стадии СПИД становится уязвимым для целого ряда агентов, к которым не чувствителен организм с нормально функционирующей иммунной системой.

У больных в стадии СПИД возникает большое количество разнообразных, так называемых оппортунистических инфекций (агентами, что их вызывают являются такие, которые обычно не патогенны для лиц с нормально функционирующей иммунной системой) и злокачественных новообразований (саркома Капоши, лимфомы). Наблюдается также поражение центральной нервной системы в связи с тем, что поражаются клетки нейроглии.

ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКИ ВИЧ-ИНФЕКЦИИ

Схема подготовки, проведения и учета результатов **прямого иммуноферментного анализа (ИФА)** у лиц с подозрением на ВИЧ-инфекцию.

Этапы исследования, что предшествуют проведению анализа.

В плоскодонные лунки («плашки») полистиролового планшета предприятием-изготовителем внесены отдельные белки вируса ВИЧ, полученные с помощью биотехнологии. Тест-системы для ИФА, используемые в настоящее время, для диагностики ВИЧ безопасны. После адсорбции на внутренней поверхности полистироловых «плашек», последние тщательным образом промываются забуференным физраствором. Полистироловая поверхность имеет высокую сорбцию к белкам, поэтому дополнительно обрабатывается нейтральным белком (альбумином), чтобы экранировать участки полистироловой поверхности, которые не связались с белками-антигенами ВИЧ. В таком виде тест-система готова к работе.

ПРИНЦИП МЕТОДА ИФА: если в сыворотке обследуемого содержатся антитела к белкам-антигенам ВИЧ, они специфически и крепко связываются с антигеном: **[ВИЧ Ag - Ab обследуемого]**.

Добавление конъюгата «антитела к глобулинам человека-пероксидаза» приводит к специфическому связыванию противовидовых антител конъюгата с антителами (человеческими глобулинами) обследуемого, если такие были в исследуемой сыворотке и связались с ВИЧ-антигеном:

[ВИЧ Ag - Ab обследуемого] – [антивидовые Ab – пероксидаза].

Внесение субстрата – смеси перекиси водорода и ортофенилендиамина позволяет выявить в «плашке» присутствие фермента пероксидазы. При наличии пероксидазы происходит ускоренное разложение перекиси водорода, что на свету вызывает изменение нейтрально-бесцветного ортофенилендиамина.

Изменение цвета ортофенилендиамина улавливается с помощью фотоэлектрокалориметра, связанного с компьютером, который сравнивает экстинции, полученные при исследовании сывороток пациентов с позитивными и негативными контролями. Поток света перед тем, как попасть в «окошко» фотоэлектрокалориметра, проходит через «плашку» с исследуемым материалом. Во избежание оптических искажений дно «плашки» плоское.

Постановка реакции прямого ИФА.

В «плашки» вносят сыворотки обследуемых с подозрением на ВИЧ/СПИД. После часового контакта в условиях термостатирования, делают первое промывание забуференным физраствором с добавлением Твина-80 (поверхностно-активного вещества). Задача промывания - вымыть все белки, которые специфически не связались с сорбированными на поверхности полистирола белками-антигенами ВИЧ. После удаления белков сыворотки обследуемого, которые не связались, в плашки вводится антивидовая сыворотка, содержащая антитела к глобулинам человека, конъюгованные с пероксидазой так называемый «конъюгат». Контакт на протяжении одного

часа в условиях термостатирования. Второе тщательное промывание «плашек» забуференным физраствором с Твином-80. После удаления промывающего раствора, с которым вымывается весь «конъюгат», который не связался, вносят бесцветный субстрат для пероксидазы. Субстрат - это перекись водорода, к которой добавлен ортофенилендиамин. Желто-оранжевая расцветка, которая появляется в положительном образце сыворотки, свидетельствует, что в сыворотке исследуемого пациента содержатся антитела к ВИЧ.

Схема подготовки, проведения и учета результатов методом иммуноблотинга у лиц с подозрением на ВИЧ-инфекцию.

ПРИНЦИП МЕТОДА ИММУНОБЛОТИНГА

Проводится фракционирование белков ВИЧ с помощью электрофореза в полиакриламидном геле (ПААГ) в присутствии додецилсульфата натрия (ДСН) со следующей иммуноиндикацией белковых фракций методом ИФА. Выявление в сыворотке лица, которое обследуется, антител к белкам ВИЧ на полоске нитроцеллюлозной мембраны (МН) осуществляется иммуноферментным методом.

Подготовка тест-системы.

Смесь вирусных белков под действием постоянного электрического тока в полиакриламидном геле (ПААГ) в связи с разной молекулярной массой проходит разный по длине путь – формируются так называемые «треки белков». Место расположения отдельных белков по отношению друг к другу известно. С помощью электрофореза «треки белков» переносят (перепечатаывают) с пластины ПААГ на нитроцеллюлозную мембрану. Белки ВИЧ, расположенные в определенной последовательности на нитроцеллюлозной мембране – тест система для постановки реакции иммуноблотинга.

Схема постановки реакции.

Для выявления антител к белкам ВИЧ в сыворотке обследуемого полоску нитроцеллюлозной мембраны с «треками белков» погружают (смачивают) в раствор сыворотки обследуемого. Если в сыворотке есть антитела к белкам-антигенам ВИЧ, непосредственно на нитроцеллюлозной мембране, в местах локализации соответствующих вирусных белков, образуется комплекс антиген-антитело: **[ВИЧ Ag - Ab обследуемого]**.

Полоску нитроцеллюлозной мембраны тщательным образом промывают и удаляют все белки, которые не связались.

Комплексы антиген-антитело выявляют, погружая полоску нитроцеллюлозной мембраны с «треками белков», к которым прикрепились сывороточные антитела, в раствор «конъюгата» - антивидовой сыворотки, антитела которой соединены с пероксидазой:

[ВИЧ Ag - Ab обследуемого] – [антивидовые Ab – пероксидаза].

После контакта с раствором «конъюгата», полоску нитроцеллюлозной мембраны тщательным образом промывают и удаляют часть «конъюгата», которая не связалась.

После второго промывания полоску нитроцеллюлозной мембраны с вирусными белками погружают в смесь перекиси водорода и ортофенилендиамина. В местах присоединения к белкам ВИЧ антител из сыворотки обследуемого, к которым в свою очередь присоединился «конъюгат» - антивидовые антитела к глобулинам человека-пероксидаза, после контакта с перекисью водорода и ортофенилендиамином на свету проступают окрашенные пятна («блот»). Интенсивность их окраски зависит от количества противовирусных антител в сыворотке обследуемого.

Учет проводится при сравнении расцветки полос, обработанных сывороткой больного и позитивного (сыворотка больного на ВИЧ) и негативного (сыворотка здорового) контролей.

В связи с тем, что локализация на полоске нитроцеллюлозной мембраны белков ВИЧ известна, при постановке реакции иммуноблотинга выявляют не только факт наличия антител к вирусным белкам, но и специфичность антител – к каким антигенам эти антитела.

Особенное внимание обращают на окраску полос, которые соответствуют локализации на полоске фильтра белков вирионов ВИЧ - gp120, gp 41, p24.

При выполнении этого задания студенты должны сравнить результаты исследования методом иммуноблотинга сывороток крови ряда лиц, с подозрением на носительство ВИЧ или СПИД, с соответствующими данными, которые получены в сыворотках лиц, с установленным СПИД (позитивный контроль), и аналогичных исследований, проведенных с сывороткой здорового человека (негативный контроль).

ЗАНЯТИЕ 9

Тема.10. Герпесвирусы. Возбудители вирусных гепатитов. Лабораторная диагностика.

АКТУАЛЬНОСТЬ ТЕМЫ.

В настоящее время описаны 8 вирусов этого семейства **герпесвирусов**, которые вызывают различную патологию у человека: вирусы простого герпеса I и II типов (ВПГ 1 и 2), вирус ветряной оспы/опоясывающего лишая, цитомегаловирусы (ЦМВ) человека, вирус Эпштейн-Барр, герпесвирусы человека 6, 7 и 8 типов.

Представителям семейства герпесвирусов присущи: убиквитарность распространения, склонность к латенции, способность передаваться горизонтально и вертикально (от матери к плоду), в том числе через биоматериалы (кровь, продукты ее переработки, ткани и органы). С большинством герпес-вирусов человек сталкивается в самом начале жизни.

Типичным представителем этого семейства является вирус Herpes simplex или ВПГ типа I, к которому по морфологическим, антигенным и физико-химическим свойствами близок ВПГ II – типа.

Врачу необходимы знания о вирусах, входящих в данное семейство, о заболеваниях, которые они вызывают, с целью организации правильного отбора материала для лабораторной диагностики, подтверждения диагноза и назначения эффективных методов лечения и профилактики рецидивов.

Вирусные гепатиты – группа заболеваний с одинаковой клиникой и различной этиологией. В связи с целым рядом обстоятельств, заболеваемость вирусными гепатитами, преимущественно теми, что передаются так называемым «парентеральным» путем во всем мире неуклонно растет. Ежегодно около 50 млн. человек инфицируется только вирусным гепатитом В. Около 1 млрд. лиц в мире являются носителями вируса гепатита В и свыше 2 млн. лиц в год погибает от данной инфекции. Антитела, свидетельствующие о перенесенной инфекции, вызванной вирусом гепатита В встречаются у 2-4% населения. С вирусами гепатитов В и С связывают возникновение первичного рака печени (гепатокарциномы). Увеличивается число лиц с циррозом печени, который приводит к печеночной недостаточности и коме. Подобный исход особенно часто (в 50% случаев) наблюдается при вирусном гепатите С. В настоящее время описаны 8 вирусов – возбудителей гепатитов (А, В, С, D, E, F, G и так называемый агент TTV – transfusion transmitted virus) однако можно допустить вероятность обнаружения новых неизвестных до сих пор возбудителей.

В процессе своей профессиональной деятельности врач-стоматолог с высокой вероятностью подвергается риску инфицироваться вирусными гепатитами с парентеральным механизмом передачи и рядом герпесвирусов.

2. ЦЕЛЬ ОБУЧЕНИЯ.

Общая цель. Уметь назначить лабораторную диагностику заболеваний, вызванных герпесвирусами, выбирать метод лабораторной

диагностики вирусных гепатитов , интерпретировать результаты анализов и использовать результаты полученных данных в клинической практике.

Конкретные цели:

Уметь

1. *Правильно провести отбор материала для исследования при различной патологии, обусловленной представителями семейства герпесвирусов.*

2. *Выбирать методы лабораторной диагностики герпесвирусной инфекции, в зависимости от вариантов поражения и стадии заболеваний, и интерпретировать результаты диагностики.*

3. *Правильно выбрать препараты для специфической профилактики и лечения герпетической инфекции.*

4. *Интерпретировать результаты лабораторной диагностики вирусных гепатитов.*

3. ОСНОВНЫЕ ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ВОПРОСЫ, КОТОРЫЕ БУДУТ РАССМОТРЕНЫ ПРИ ИЗУЧЕНИИ ДАННОЙ ТЕМЫ:

К конкретной цели 1. (Правильно провести отбор материала для исследования при различной патологии, обусловленной представителями семейства герпесвирусов).

1. **Общая характеристика и классификация вирусов семейства герпеса.**

2. **Источник инфекции, механизм заражения, патогенез и клинические проявления заболеваний, вызванных ВПГ.**

3. **Принципы забора материала для лабораторной диагностики.**

К конкретной цели 2. (Выбирать методы лабораторной диагностики, в зависимости от вариантов поражения и стадии заболеваний, и интерпретировать результаты диагностики).

4. **Лабораторная диагностика герпесвирусных инфекций на примере диагностики заболеваний, вызванных ВПГ.**

К конкретной цели 3. (Правильно выбрать препараты для специфической профилактики и лечения герпетической инфекции).

5. **Вирусологические принципы специфической профилактики и лечения герпесвирусных заболеваний.**

К конкретной цели 4: (Интерпретировать результаты лабораторной диагностики вирусных гепатитов.)

6. **Диагностика вирусных гепатитов (РОПГА, ИФА, РИА, ИЭМ, ПЦР).**

4. СОДЕРЖАНИЕ ОБУЧЕНИЯ

Источники информации (Герпесвирусы)

Рекомендуемая литература:

1. Гайдаш И.С., Флегонтова В.В. Медицинская вирусология.- Луганск, 2002.- С.173-195.

2. Коротяев А.И., Бабичев С.А. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология.-Санкт-Петербург: Специальная литература, 1998.-С.294-299.

3. Поздеев О.К. Медицинская микробиология: Москва: ГЭОТАР-Мед, 2001.- С. 466-471.

4. Букринская А.Г.. Вирусология. - М.: Медицина, 1986. - С.198-209.
5. Руководство к практическим занятиям по медицинской микробиологии и лабораторной диагностике инфекционных болезней/ Под ред. Проф. Ю.С.Кривошеина. -Киев:Вища школа, 1986.-С.225 – 232.
- 6.Руководство к лабораторным занятиям по микробиологии /Под ред. Л.Б. Борисова.-М.: Медицина, 1984.-с.
- 7.Лекция.
- 8.Стенд в учебном музее кафедры

Дополнительная литература

- 1.Фролов А.Ф., Шевченко Л.Ф., Широбоков В.П. Практическая вирусология. - Киев: Здоровья, 1989. - С. 188 - 202.
- 2.Общая и частная вирусология. Т.2. /Под. ред. В.М. Жданова.- М.: Медицина, 1982. - С.375 –412.
- 3.Лабораторная диагностика вирусных и риккетсиозных заболеваний //Под ред. Э.Леннета и Н.Шмидта.-М.:Медицина,1974- С.421-479.

Источники информации (Возбудители вирусных гепатитов).

Рекомендуемая литература:

- 1.Гайдаш И.С., Флегонтова В.В. Медицинская вирусология.- Луганск, 2002.- С. 216-218, 338-340, 390-396.
2. Коротяев А.И., Бабичев С.А. Медицинская микробиология, иммунология и вирусология.Санкт-Петербург, Специальная литература, 1998.-С.285-294.
3. Поздеев О.К. Медицинская микробиология: Москва: ГЭОТАР-Мед, 2001.- С. 459-465.
4. Букринская А.Г. Вирусология. М. «Медицина», 1986.-С.209-216, 327-331.
5. Руководство к практическим занятиям по медицинской микробиологии и лабораторной диагностике инфекционных болезней/ Под ред. Проф. Ю.С.Кривошеина. -Киев:Вища школа, 1986.-С. 245 – 248.
- 6.Руководство к лабораторным занятиям по микробиологии /Под ред. Л.Б. Борисова.-М.: Медицина, 1984.-с.
- 7.Лекция.
- 8.Стенд в учебном музее кафедры

Дополнительная литература

- 1.Фролов А.Ф., Шевченко Л.Ф., Широбоков В.П. Практическая вирусология. - Киев: Здоровья, 1989. - С. 212 - 225.
- 2.Общая и частная вирусология. Т.2. /Под. ред. В.М. Жданова.- М.: Медицина, 1982. - С.375 –412.
- 3.Лабораторная диагностика вирусных и риккетсиозных заболеваний //Под ред. Э.Леннета и Н.Шмидта.-М.:Медицина,1974- С.421-479.

При работе с учебниками пользуйтесь графами логической структуры к данной теме. Если в процессе самоподготовки у Вас возникнут вопросы, запишите их и выясните в начале занятия с преподавателем.

5.ОРИЕНТИРОВОЧНАЯ ОСНОВА ДЕЙСТВИЯ.

Протокол практического занятия к теме «Герпесвирусы. Возбудители вирусных гепатитов. Лабораторная диагностика».

- 1.Изучили методы лабораторной диагностики заболеваний, вызванных ВПГ (по стенду учебного музея).
- 3.Заполнили схему лабораторной диагностики заболеваний, вызванных ВПГ, в учебном пособии.
- 4.Изучили препараты, используемые для специфической профилактики и лечения заболеваний, вызванных ВПГ (по стенду учебного музея).
- 5.Разобрали классификацию вирусов – возбудителей вирусных гепатитов по стендам учебного музея.
- 6.Ознакомились с реакциями, которые используются для диагностики гепатита В, тремя поколениями тест-систем для определения HBs-Ag по стендам учебного музея.
7. Заполнили схему лабораторной диагностики вирусных гепатитов С, D в учебном пособии.
- 8.Поставили РОПГА с целью индикации HBs-Ag в сыворотке. Сделали вывод.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРОВЕДЕНИЮ ИНДИКАЦИИ HBs – антигена ВИРУСА ГЕПАТИТА В. ПОСТАНОВКА РОПГА

Оснащение занятия

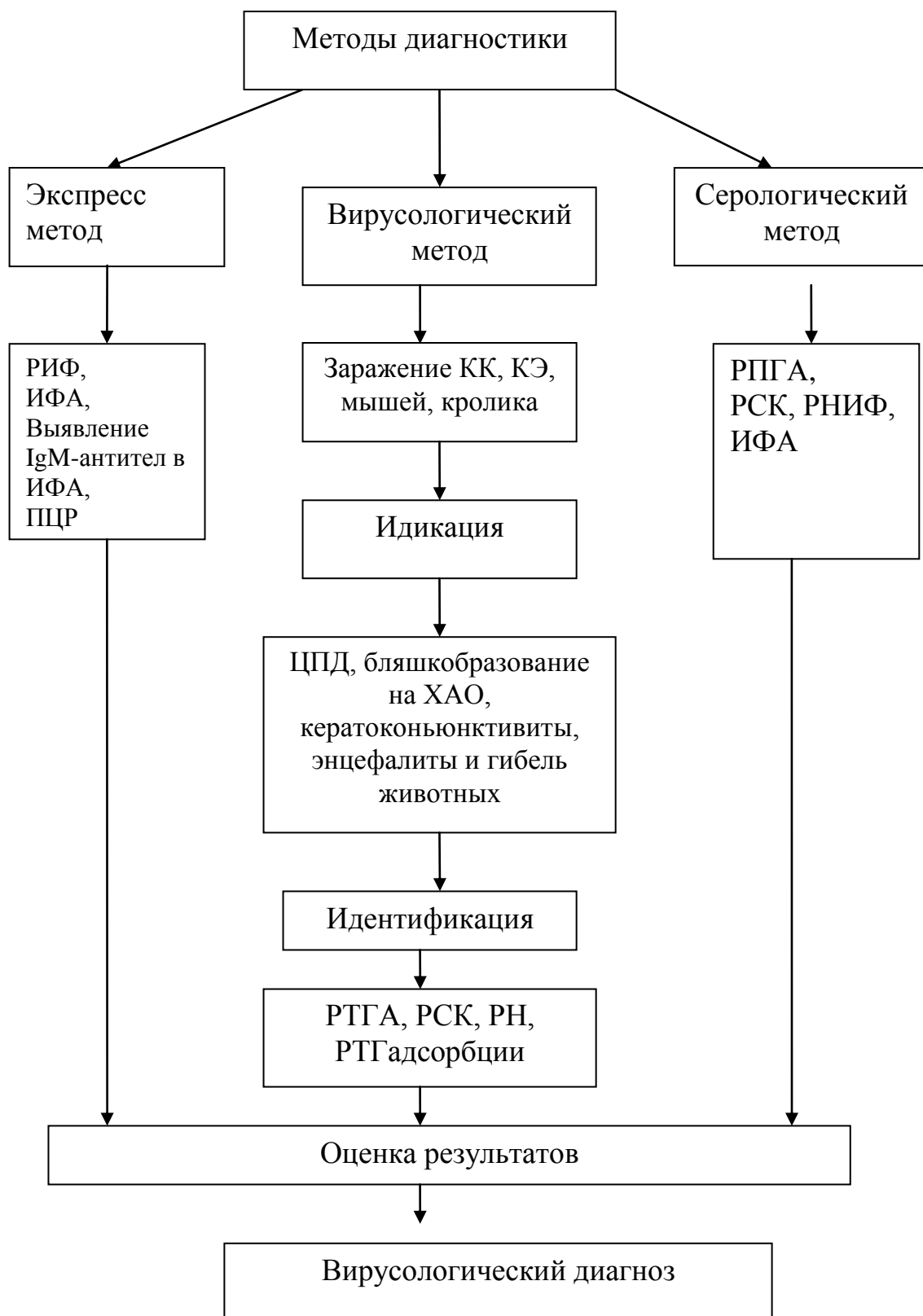
- 1.Сыворотка обследованного в пенициллиновом флаконе
- 2.Эритроцитарный антигельный анти HBs -диагностикум.
- 3.Плексиглазная панель с U-образными лунками.
- 4.1,0 мл – мерные пипетки без вредного пространства.
- 5.Стерильный физраствор на ФСБ с Р Н 6,8-7,2.

ХОД РАБОТЫ

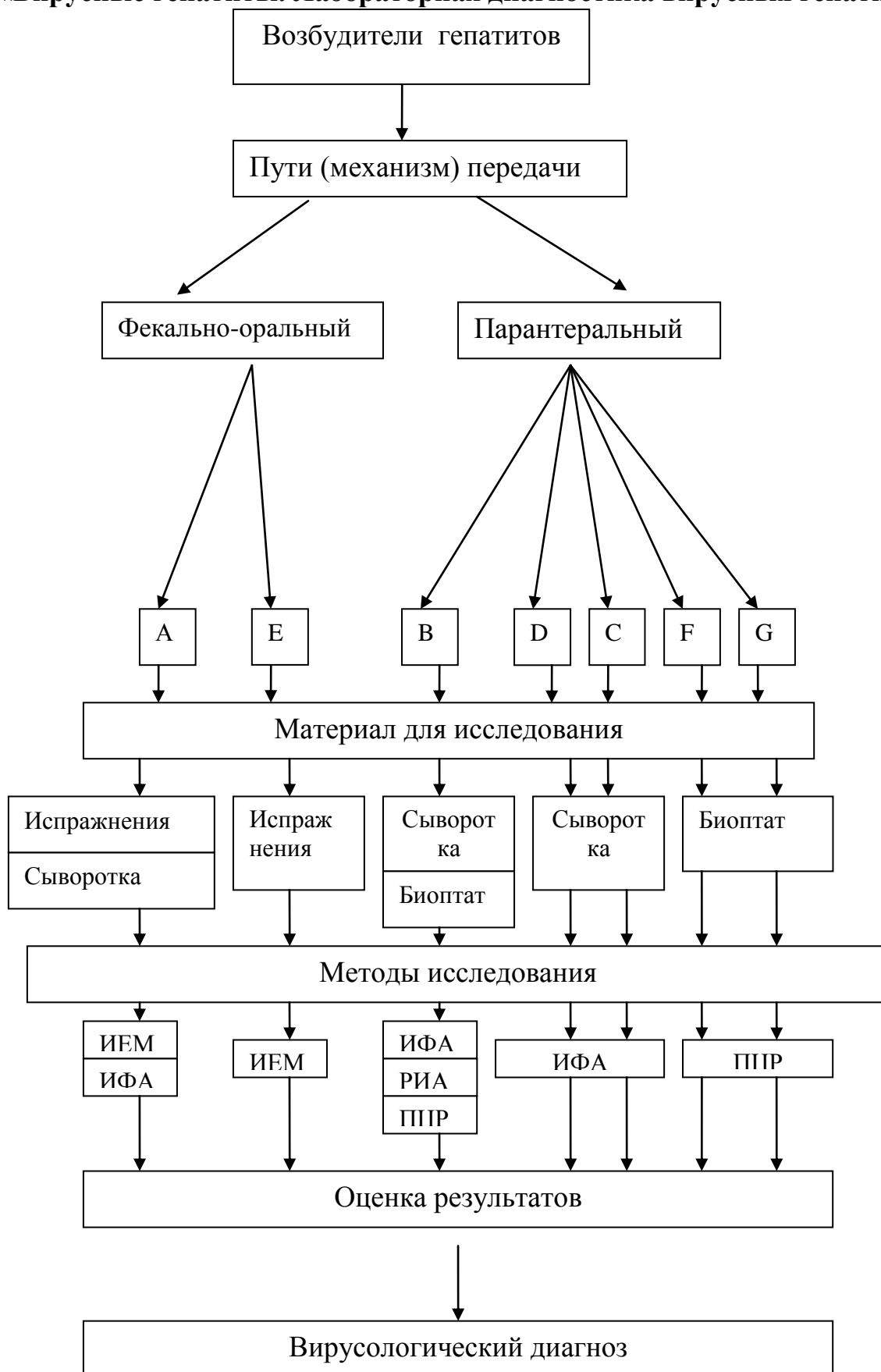
Возьмите 0,1 мл сыворотки для исследования, полученной от больного с подозрением на вирусный гепатит В и внесите в лунку плексиглазной панели. В другую лунку внесите равный объем стерильного физраствора. Другой пипеткой в обе лунки внесите по 0,1 мл суспензии эритроцитарного антигельного анти-HBs - диагностикума. Осторожно встряхните. Учет реакции проведите через 30 минут. Положительный результат – «зонтик», отрицательный – «пуговица». Учтите реакцию. Результаты занесите в протокол.

Для реализации поставленной цели и усвоения учебного материала решите задачи №№ 208, 215 из сборника «Задания для самостоятельной работы студентов по курсу общей и специальной микробиологии».

**ГРАФ ЛОГИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ К ТЕМЕ: «Герпесвирусы.
Лабораторная диагностика герпесвирусных инфекций».**



**ГРАФ ЛОГИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ К ТЕМЕ: .
«Вирусные гепатиты. Лабораторная диагностика вирусных гепатитов».**



Задание для проверки достижения конкретных целей обучения

К вопросу 1. *Общая характеристика и классификация семейства герпесвирусов.*

Тест 1

К врачу привели ребенка трех лет. Ребенок жалуется на боль во рту, отказывается от еды, температура повышена. При осмотре на слизистой губ выявлены трещины, на – слизистой оболочке щек и десен – язвы, слюна густая, определяется неприятный запах изо рта. Врач предположил, что у ребенка герпетический стоматит. Какие вирусы из семейства герпесвирусов могут вызывать данное заболевание?

- A. Вирус простого герпеса (ВПГ-I или ВПГ-II).
- B. Цитомегаловирус (ЦМВ).
- C. Вирус Эпштейн-Барр (ЭБВ).
- D. Вирус ветряной оспы – герпес зостер (ВГЗ).
- E. Герпесвирус человека 8 (ГВЧ-8).

К вопросу 2. *Источник инфекции, механизм заражения, патогенез и клинические проявления заболеваний, вызванных ВПГ.*

Тест 2

Женщине 45 лет, после тщательного и всестороннего клинико-лабораторного обследования врач поставил диагноз: «Генитальный герпес». Какой вирус мог вызывать такое заболевание у данной больной?

- A. Вирус простого герпеса I типа (ВПГ I).
- B. Вирус простого герпеса II типа (ВПГ II).
- C. Вирус Эпштейн - Барр.
- D. Вирус ветряной оспы-герпес зостер.
- E. Цитомегаловирус.

К вопросу 3. *Принципы забора материала для лабораторной диагностики.*

Тест 3

К врачу обратился больной с жалобами на высокую температуру, резкую жгучую боль на правой боковой поверхности тела, общее недомогание. На коже по ходу межреберных промежутков врач обнаружил высыпания в виде везикул/пузырьков. На основании клинических симптомов и данных анамнеза врач поставил диагноз « опоясывающий лишай (герпес зостер)». Какой материал необходимо отобрать у данного больного для вирусологического метода диагностики?

- A. Содержимое везикул.
- B. Носоглоточный смыв.
- C. Сывороку.
- D. Ликвор.
- E. Слюну.

К вопросу 4. *Лабораторная диагностика герпесвирусных инфекций на примере диагностики заболеваний, вызванных ВПГ.*

Тест 4

К врачу обратился больной с жалобами на высокую температуру, резкую жгучую боль на правой боковой поверхности тела, общее недомогание. На коже по ходу межреберных промежутков врач обнаружил высыпания в виде везикул/пузырьков. На основании клинических симптомов и данных анамнеза врач поставил диагноз « опоясывающий лишай (герпес зостер)». Какими лабораторными исследованиями можно подтвердить диагноз?

- А. Вирусологическим.
- В. Серологическим.
- С. Экспресс-методом (выявлением IgM-антител).
- Д. Экспресс-методом (выявлением герпетического антигена).
- Е. Экспресс-методом (выявлением характерных фрагментов вирусного генома).

К вопросу 5. *Вирусологические принципы специфической профилактики и лечения герпесвирусных заболеваний.*

Тест 5

Для специфической терапии некоторых герпетических инфекций предложены высокоэффективные химеотерапевтические препараты – ацикловир (завиракс) и фамцикловир. Какие герпесвирусы – возбудители инфекций будут чувствительны к данным препаратам?

- А. Вирус простого герпеса 1
- В. Вирус простого герпеса 1 и вирус простого герпеса 2
- С. Цитомегаловирус
- Д. Вирус Епштейна-Барр и цитомегаловирус
- Е. Человеческие герпес вирусы 6 и 7 типов

К вопросу 6. *Диагностика вирусных гепатитов (РОПГА, ИФА, РИА, ИЭМ, ПЦР).*

Тест 6

Манипуляционная сестра, работающая в отделении программного гемодиализа была госпитализирована в инфекционное отделение с клиническими проявлениями гепатита. Какой материал для лабораторного обследования необходимо отобрать у данной больной?

- А. Желчь.
- В. Испражнения.
- С. Мочу.
- Д. Сыворотку крови.
- Е. Биоптат печени.

МЕТОДИКА ПРОВЕДЕНИЯ ЗАНЯТИЯ

Занятие практическое. В начале занятия преподаватель проводит проверку и коррекцию уровня подготовки студентов к занятию. По

предложенной схеме записывается протокол. В ходе занятия студенты решают ситуационные задачи, заполняют схемы лабораторной диагностики заболеваний, вызванных ВПГ, которые есть в пособии, знакомятся с тест-системами для лабораторной диагностики гепатитов (ИФА, РИА), принципами диагностики вирусных гепатитов с использованием метода гибридизации нуклеиновых кислот и полимеразной цепной реакцией (ПЦР) по стендам учебного музея, заполняют схемы лабораторной диагностики вирусных гепатитов В и А, Е. Заканчивается занятие итоговым тестовым контролем.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- ОРВИ –острые респираторные вирусные инфекции.
- ЭМ - электронная микроскопия
- ИЭМ - иммуноэлектронная микроскопия
- ИФА - иммуноферментный анализ
- КК - культура клеток
- КЭ – куриный эмбрион
- ЦП – цветная проба
- МФА – метод флуоресцентных антител
- НК - нуклеиновые кислоты
- ПЦР – полимеразная цепная реакция
- РГА - реакция гемагглютинации
- РГадс. – реакция гемадсорбции
- РТГадс. –реакция торможения гемадсорбции
- РОПГА – реакция обратной пассивной гемагглютинации
- РИА – радиоиммунный анализ
- РИФ – реакция иммунофлюоресценции
- РКА – реакция коагглютинации
- РН - реакция нейтрализации
- РНГА (РПГА) – реакция непрямой гемагглютинации, реакция пассивной гемагглютинации
- РНИФ – реакция непрямой иммунофлуоресценции
- РРГ – реакция радиальной гемадсорбции
- РТГА - реакция торможения гемагглютинации
- ХАО –хорионаллантоисная оболочка
- ЦПЭ – цитопатогенный эффект
- ЦПА - цитопатогенный агент
- ЦПД – цитопатогенное действие