

ДОНЕЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
КАФЕДРА МІКРОБІОЛОГІЇ, ВІРУСОЛОГІЇ ТА ІМУНОЛОГІЇ

ЗАГАЛЬНА ТА СПЕЦІАЛЬНА ВІРУСОЛОГІЯ
МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ ДО ПРАКТИЧНИХ ЗАНЯТЬ ДЛЯ СТУДЕНТІВ, ЩО
НАВЧАЮТЬСЯ ЗА КРЕДИТНО-МОДУЛЬНОЮ СИСТЕМОЮ НАВЧАННЯ
НАВЧАЛЬНИЙ ПОСІБНИК

УДК: 616.988.1/.7(075.5)

Загальна та спеціальна вірусологія. Методичні вказівки до практичних занять для студентів.

•

Посібник призначен для використання під час самостійної підготовки студентів до практичних занять з вірусології

Автори:.

Затверджено Вченою Радою ДонНМУ ім. М.Горького 30 жовтня 2008р.,
протокол № 2008р.

ВСТУП

В процесі викладання загальної та спеціальної вірусології у майбутніх лікарів повинно бути сформоване вміння правильно визначити характер досліджуваного матеріалу, терміни його отримання від хворого, вміння вибрати відповідний метод діагностики для дослідження і оцінити результати цього дослідження для постановки діагнозу.

Вирішення вказаних задач неможливо без методичних вказівок для студентів, що допомагають їм організувати процес навчання.

Даний навчальний посібник для студентів об'єднує методичні вказівки з загальної та спеціальної вірусології, теми практичних занять №№ 31-39 складають четвертий модуль.

У методичних вказівках розкривається актуальність теми, сформульовані загальні і конкретні цілі навчання, приводиться перелік теоретичних питань, які необхідно засвоїти студентові під час підготовки до заняття і перелік джерел інформації, де можна знайти відповіді на поставлені питання. Пропонуються увазі студента орієнтовна основа дії, зразок протоколу практичного заняття, інструкції до проведення певного дослідження. До кожної теми розроблені графи логічної структури, що дозволяють системно оцінити предмет вивчення і завдання у вигляді тестів формату А, по яких студент під час підготовки може самостійно перевірити вміння застосовувати отримані знання для вирішення ситуаційних завдань, що реалізують конкретні цілі навчання. Такі методичні вказівки сприятимуть підвищенню якості професійної підготовки майбутніх лікарів.

Модуль 4. Вірусологія загальна та спеціальна.

Цілі модуля. 1. Інтерпретувати біологічні властивості патогенних та непатогенних вірусів та закономірності їх взаємодії з макроорганізмом, з популяцією людини і зовнішнім середовищем.

2. Трактувати основи вірусологічної діагностики, етіотропної терапії та специфічної профілактики вірусних інфекцій

Змістові модулі:

10. Загальні властивості вірусів. Механізми взаємодії вірусів з макроорганізмом. Методи культивування вірусів. Лабораторна діагностика вірусних інфекцій.

11. Спеціальна вірусологія. Біологічні властивості. Лабораторна діагностика етіотропна терапія та специфічна профілактика.

Змістовий модуль 10. Загальна вірусологія.

Цілі змістового модуля:

- Трактувати морфологію і ультраструктуру вірусів.

- Аналізувати особливості взаємодії вірусів з живими системами.

- Оцінювати результати розмноження вірусів в живих системах.

- Аналізувати методи культивування вірусів в лабораторних умовах.

- Характеризувати противірусні хіміотерапевтичні препарати та механізм їх дії.

ТЕМА №31: «Загальні властивості вірусів. Методи культивування вірусів.

Культури клітин»

I. АКТУАЛЬНІСТЬ ТЕМИ

Віруси є мікроскопічні хвороботворні агенти, що широко розповсюджені в природі, які вражають всі живі істоти, що населяють нашу планету. Це стосується всіх представників царства тварин, (найпростіших, комах, риб, птахів, звірів, у тому числі людину), і царства рослин (бактерій і вищих рослин). Віруси є виключно внутрішньоклітинними паразитами, репродукція яких на всіх стадіях їхнього розвитку тісно пов'язана з клітинними структурами й метаболізмом клітин, в яких вони паразитують. Віруси – облігатні внутрішньоклітинні паразити, що не мають клітинної структури. У них відсутні білоксинтезуючі системи, власні джерела енергії і є лише один тип нуклеїнової кислоти – або РНК або ДНК.

Успіхи медичної науки і практичної охорони здоров'я сприяли зниженню захворюваності більшістю бактеріальних інфекцій. У зв'язку з цим у загальній структурі захворюваності людини і домашніх тварин зросла питома вага захворювань, що обумовлені вірусами. Так, захворюваність тільки грипом і ГРВІ досягає сьогодні 60-70%.

В останні роки, завдяки впровадженню нових методів діагностики, відкриті збудники цілого ряду інфекцій (віруси гепатитів С, Е, F, G, TTV, герпесвіруси людини HHV6, HHV7, HHV8) описані раніше невідомі інфекції й

ізолювані їхні збудники (збудники людських Т- клітинних лейкозів -HTLV1, HTLV2, віруси імунодефіциту людини HIV1 і HIV2 та ряд інших). Останнім часом з'являються повідомлення про етіологічну роль вірусів у виникненні ряду таких захворювань, як підгострий склерозуючий паненцефаліт, ішемічна хвороба серця, цукровий діабет. Стає зрозумілим, що роль вірусів у патології людини незрівнянно більша за ту, що визначалась уявленнями про їх значення лише як етіологічних агентів відомих інфекцій.

Істотних успіхів досягла противірусна хіміотерапія. У лікуванні цілого ряду вірусних інфекцій відбувається поступовий відхід від симптоматичної терапії і переключення на етіотропну.

Для постановки діагнозу недостатньо одного епідеміологічного анамнезу та клінічного обстеження хворого, а необхідне визначення збудника. Це особливо актуально у випадку коли для лікування захворювання, що викликано вірусом, медицина має специфічні противірусні препарати. Призначення противірусної терапії повинне базуватися на чіткому уявленні про її необхідність, шляхи й конкретний час її використання, що неможливо без знання патогенезу інфекції на клітинному і субклітинному рівнях.

2. МЕТА НАВЧАННЯ

Загальна мета. Вміти розрізняти патогенні віруси за їхніми властивостями (будовою, етапам взаємодії вірусів з клітиною), визначати методи їхнього культивування для добору тактики вірусологічної діагностики і хіміотерапії.

Конкретні цілі:

Вміти

1. Визначати принципи будови й класифікації вірусів.
2. Диференціювати віруси за типом їхньої взаємодії з чутливою клітиною.
3. Визначати особливості стратегії вірусного геному в ДНК і та РНК- вірусів.
4. Розрізняти методи культивування вірусів і різних клітинних культур, які використовуються для діагностики у вірусології.
5. Готувати первинно - трипсинізовану культуру клітин.

3. ОСНОВНІ ТЕОРЕТИЧНІ ПИТАННЯ

До конкретної мети 1. Визначати принципи будови й класифікації вірусів.

1. Принципова відмінність вірусів від мікроорганізмів.
2. Ультраструктура і хімічний склад віріону.

До конкретної мети 2. Диференціювати віруси за типом їхньої взаємодії з чутливою клітиною.

3. Варіанти взаємодії вірусного і клітинного геномів – альтернативний й інтегративний.
4. Типи взаємодії вірусів з чутливою клітиною (продуктивна, абортівна інфекція).
5. Фази взаємодії вірусів з чутливою клітиною при альтернативному типі взаємодії геномів (продуктивної інфекції).

До конкретної мети 3. Визначати особливості стратегії вірусного геному у ДНК- і РНК вірусів.

6. Стратегія вірусного геному у різних типів вірусів (РНК, ДНК, «однониткових», «двохниткових»).

До конкретної мети 4. Розрізняти методи культивування вірусів і різновидності клітинних культур, що використовуються в діагностичній вірусології.

7. Біологічні об'єкти, що використовуються для культивування вірусів.

До конкретної мети 5. Приготувати первинно - трипсинізовану культуру клітин.

8. Етапи отримання первинно-трипсинізованої культури клітин.

4. ЗМІСТ НАВЧАННЯ

Джерела інформації

Література, що рекомендується:

1. Гайдаш І.С., Флегонтова В.В. Медична Вірологія.- Луганськ, 2002.-С.31-91.
2. Пяткін К.Д., Кривошеїн Ю.С. Мікробіологія з вірусологією та імунологією. - Київ: Вища школа, 1992.-С. 38-40, 44-45, 69-70.
3. Букринская А.Г. Вирусология. - М.: Медицина, 1986. - С. 30-87, 150-159.
4. Коротяев А.И., Бабичев С.А. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология.-Санкт-Петербург: Специальная литература, 1998.-С.239-253.
5. Поздеев О.К. Медицинская микробиология: Москва: ГЭОТАР-Мед, 2001.-С. 89-107.
6. Руководство к практическим занятиям по медицинской микробиологии и лабораторной диагностике инфекционных болезней/ Под ред. Проф. Ю.С.Кривошеина.-Киев:Вища школа, 1986.-С.191 – 204, 211-213.
7. Лекція.
8. Стенд у навчальному музеї кафедри.

Додаткова література

1. Фролов А.Ф., Шевченко Л.Ф., Ширококов В.П. Практическая вирусология. - Киев: Здоровья, 1989. - С. 13-23.
2. Посібник з медичної вірусології/ за редакцією В.М.Гіріна.-Київ: Здоров'я, 1995.-С.8-23, 44-54.

При роботі з підручниками та іншою літературою користуйтеся графом логічної структури до даної теми. Якщо в процесі самопідготовки у Вас виникнуть питання, запишіть їх і з'ясуйте на початку заняття у викладача.

5. ОРІЄНТОВНА ОСНОВА ДІЇ

Протокол практичного заняття за темою: „**Загальні властивості вірусів. Методи культивування вірусів. Культури клітин**”

1. Розібрали біологічні об'єкти, що використовуються для культивування вірусів (лабораторні тварини, курячі ембріони що розвиваються, культури клітин).
2. Розібрали класифікацію і загальну характеристику культур клітин і тканин, які використовуються у вірусології. Мікроскопіювали препарати клітинних культур, що пофарбовані гематоксилін-еозином.
3. Вивчили етапи одержання первинно-трипсинізованої культури клітин. Приготували первинно-трипсинізовану культуру курячих фібробластів.

Орієнтуючою основою дії, при вивченні і виконанні даної теми є інструкція.

ІНСТРУКЦІЯ З ВИГОТОВЛЕННЯ ПЕРВИННО-ТРИПСИНИЗОВАНОЇ КУЛЬТУРИ КЛІТИН КУРЯЧИХ ФІБРОБЛАСТІВ

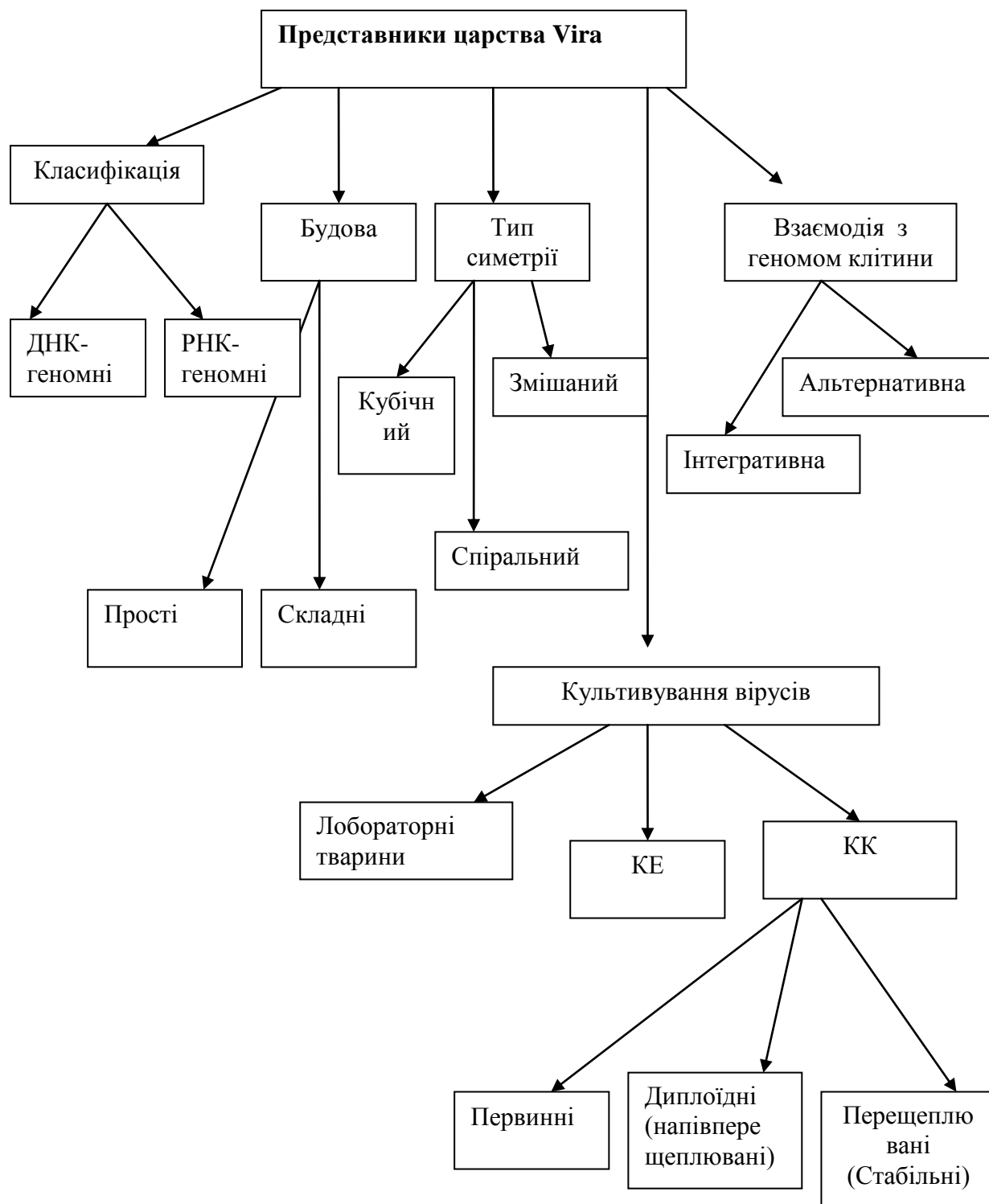
Оснащення заняття:

1. Подрібнені й відмиті від крові фрагменти тканини курячого ембріона в стерильному пеніциліновому флаконі з гумовою пробкою.
2. Фізіологічний розчин.
3. Розчин трипсину 0,25 % в флаконі з гумовою пробкою.
4. Суміш із середовища 199, сироватки великої рогатої худоби, антибіотиків для культивування клітин (культуральна суміш).
5. Градуйовані піпетки на 1,0 мл.
6. Градуйовані центрифужні пробірки, позначені номерами.
7. Стерильні бактеріологічні пробірки з промаркованим «верхом».

ХІД РОБОТИ

1. До подрібнених й відмитих від крові фрагментів тканини курячого ембріону біля полум'я пальника мірною стерильною піпеткою додати рівний об'єм 0,25% розчину трипсину.
2. Закрити пробкою і струснути суспензію тканини в трипсині до помутніння.
3. Дати суспензії відстоятися 1 хв.
2. Перенести суміш трипсинізованих фрагментів тканини курячого ембріона у центрифужні пробірки. Запам'ятати номер відповідної пробірки.
3. Осадити центрифугуванням клітини після трипсинізації.
4. Надібрати надосад (суміш розчину трипсину і фізіологічного розчину) у ємність з дезінфікуючим розчином у зоні полум'я пальника.
5. Додати до осаду клітин у центрифужній пробірці культуральну суміш в об'ємі 1,0 мл.
6. Ресуспендувати клітини у культуральній суміші.
7. Перенести суспензію клітин у культуральну суміші в стерильні бактеріологічні пробірки з промаркованим «верхом».
8. На пробірки надягти етикетки з написом: П.І.Б. студентів, що виконували роботу, курс, факультет, група, число й місяць проведення роботи.
9. Черговий збирає пробірки і здає їх лаборанту для інкубації в термостаті в положенні «лежачи» під кутом 10-15 градусів, маркіруванням пробірки догори.

ГРАФ ЛОГІЧНОЇ СТРУКТУРИ ДО ТЕМИ:» «Загальні властивості вірусів. Методи культивування вірусів. Культури клітин»



МЕТОДИКА ПРОВЕДЕННЯ ЗАНЯТТЯ

Заняття практичне. На початку заняття викладач проводить перевірку й корекцію рівня підготовки студентів до заняття. За запропонованою схемою

записується протокол. Студенти виконують самостійну роботу з виготовлення первинно-трипсинізованої культури курячих фібробластів, оформлюють протокол. У ході заняття студенти вирішують ситуаційні задачі з посібника „Завдання для самостійної роботи студентів вищих медичних закладів освіти III –IV рівня акредитації”, зі збірника «Задания для самостоятельной работы студентов по курсу общей и специальной микробиологии», знайомляться зі «Схемою виготовлення первинно-трипсинізованої культури клітин» і «Схемою перещеплення стабільної (перещеплюваної) лінії клітин» у навчальному посібнику. Викладач проводить підсумковий тестовий контроль, підписує протоколи, підводить підсумки.

Завдання для перевірки досягнення конкретних цілей навчання

До питання 1. *Принципова відмінність вірусів від мікроорганізмів.*

Тест 1

Віруси-це особлива форма життя. За цілим рядом властивостей віруси відрізняються від всього живого, але принциповою відмінністю їх від мікроорганізмів є особлива форма паразитизму -паразитизм на генетичному рівні. Що мають на увазі під таким типом паразитизму, що притаманий тільки вірусам?

- А.Репродукцію вірусів в ядрі клітин з використанням клітинної ДНК-полімерази
- В.Фізичний зв'язок вірусного і клітинного геномів
- С.Обов'язкову інтеграцію геному вірусу з геномом клітин і стадію «провіруса»
- Д.Реалізацію генетичної програми вірусу в збиток реалізації генетичної програми клітини
- Е.Використання енергетичних ресурсів клітин

До питання 2. *Ультроструктура і хімічний склад віріону.*

Тест 2

Складні віруси мають на відміну від простих додаткову оболонку – суперкапсид. Чим є дана оболонка у складних вірусів?

- А.Фрагментом цитоплазматичної або ядерної мембрани клітини, ліпідним шаром
- В. Фрагментом клітинної стінки, полісахарідним шаром
- С.Другою білковою оболонкою, синтезованою в клітці
- Д.Липопротеїною оболонкою, кодованою геномом вірусу
- Е. Фрагментом цитоплазматичної або ядерної мембрани клітки, білковим шаром

До питання 3. *Варіанти взаємодії вірусного і клітинного геномів – альтернативний й інтегративний.*

Тест 3

При проникненні вірусу в клітину відбувається депротейнізація, транспортування вірусного генома в ядро (або він залишається в цитоплазмі), транскрипція і реплікація вірусного геному, синтез вірусних білків, збірка дочірніх віріонів. Як називають такий взаємодії вірусного і клітинного геномів?

- А.Продуктивною

- В.Корпоративною
- С.Альтернативною
- Д.Абортивною
- Е.Інтегративною

До питання 4. *Типи взаємодії вірусів з чутливою клітиною (продуктивна, абортивна інфекція).*

Тест 4

Віруси є паразитами на генетичному рівні. При проникненні вірусу в клітку відбувається депротейнізація, транспортування вірусного геному в ядро (або він залишається в цитоплазмі), синтезу вірусних білків збірки дочірніх віріонів не відбувається. Як називають такий варіант **вірусної інфекції клітини**?

- А.Продуктивним
- В.Корпоративним
- С.Абортивним
- Д.Альтернативним
- Е.Інтегративним

До питання 5. *Фази взаємодії вірусів з чутливою клітиною при альтернативному типі взаємодії геномів (продуктивної інфекції).*

Тест 5

Даний етап взаємодії вірусу з клітиною забезпечується наявністю на поверхні цитоплазматичної мембрани відповідних рецепторів і у вірусу – т.з. „прикріплювальних” білків. Як називається такий етап взаємодії вірусу з клітиною?

- А.Специфічна адсорбція
- В.Проникнення шляхом злиття
- С. Проникнення шляхом рецепторного ендоцитозу
- Д. Проникнення шляхом інокуляції
- Е. Неспецифічна адсорбція

До питання 6. *Стратегія вірусного геному у різних типів вірусів (РНК, ДНК, «однониткових», «двохниткових».*

Тест 6

При проникненні вірусу в клітину відбувається депротейнізація, транспортування вірусного геному в ядро. За участю клітинних полімераз здійснюється реплікація вірусного геному, клітинні транскриптази забезпечують утворення віруспецифічної іРНК. У цитоплазмі відбувається синтез вірусних білків. Для кого властива така стратегія експресії вірусного геному?

- А. «+ ниткоподібних» РНК-геномних вірусів.
- В.ДНК – геномних вірусів
- С.Ретровірусів
- Д. «- ниткоподібних» РНК-геномних вірусів.
- Е.РНК – геномних вірусів з фрагментарним геномом

До питання 7. *Біологічні об'єкти, що використовуються для культивування вірусів.*

Тест 7

У пацієнта з підозрою на вірусну інфекцію був відібраний і направлений в лабораторію матеріал для вірусологічної діагностики. Яким чином можна буде ізолювати вірус з матеріалу, отриманого від даного хворого?

- A. Якщо посіяти матеріал на живильне середовище з високим вмістом сироватки.
- B. Якщо посіяти отриманий матеріал в живильне середовище з високим вмістом CO₂.
- C. Культивувати матеріал від хворого в анаеробних умовах.
- D. Заразити отриманим матеріалом культуру клітин.
- E. Дослідити отриманий від хворого матеріал під електронним мікроскопом

До питання 8. *Етапи отримання первинно-трипсинізованої культури клітин.*

Тест 8

В процесі приготування первинно-трипсинізованої культури клітин виконали механічне подрібнення ембріональної тканини, відмили розчином Хенкса і для отримання клітинної суспензії використали певний засіб. Як називається цей засіб?

- A. Розчин трипсину
- B. Розчин Ерла
- C. Розчин Версена
- D. Фосфатно-буферний розчин
- E. Фізіологічний розчин

ТЕМА №32: «Методи лабораторної діагностики вірусних інфекцій»

1. АКТУАЛЬНІСТЬ ТЕМИ

За останні роки різко зросла питома вага захворювань вірусної етіології. Завдання лікаря, що здійснює етіологічну діагностику окремих захворювань чи розшифровку причини (етіологічної) спалахів та епідемій, в сучасних умовах незмірно ускладнилося. Останнє обумовлено відсутністю чи складністю методів ранньої (експрес) діагностики для певних вірусних інфекцій, та їхньою надмірністю для інших, що утруднює вибір тактики етіологічної діагностики вірусних захворювань. Вибір методу лабораторної діагностики визначається, в основному, характером захворювання, імовірним збудником та визначається в кожному окремому випадку в залежності від періоду хвороби і можливостей лабораторії.

Лікар будь-якої спеціальності повинен володіти загальними принципами лабораторної діагностики вірусних інфекцій для того, щоб вірно провести добір матеріалу для дослідження з метою встановлення імовірного діагнозу. При цьому необхідно засвоїти, що лабораторна діагностика вірусних інфекцій складається з трьох основних напрямків:

- вірусологічний метод діагностики - ізоляція (виділення) вірусу з клінічного матеріалу і його ідентифікація;
- серологічний метод діагностики вірусних інфекцій;
- група експрес-методів – рання діагностика вірусних інфекцій, що заснована на виявленні вірусних антигенів у матеріалі, який досліджується, виявленні «ранніх» специфічних противірусних Ig M- антитіл, виявленні специфічних фрагментів вірусних геномів у клінічному матеріалі, який досліджується за допомогою гібридизації нуклеїнових кислот та полімерної ланцюгової реакції (ПЛР).

Вірусологічний метод є найбільш вірогідним доказом вірусної етіології інфекції.

Серологічний метод - це виявлення за допомогою різних реакцій специфічних противірусних антитіл у сироватках людей, які обстежуються. Застосування даного методу при діагностиці масових вірусних інфекцій має свої особливості й обмеження – у сироватках більшості осіб є антитіла до ряду респіраторних і кишкових вірусів, що часто зустрічаються. В зв'язку з цим факт виявлення специфічних противірусних антитіл до якого -небудь вірусного антигену не може розглядатися як підтвердження вірусної етіології захворювання. Для підтвердження вірусної природи захворювання за допомогою серологічного методу діагностики необхідна констатація збільшення (наростання) титрів антитіл у динаміці.

Для цього добір сироваток у пацієнта для серологічної діагностики проводять протягом захворювання – на початку й у період реконвалесценції (але не раніш чим через 10-14 днів після забору першої сироватки) – так званий «метод парних сироваток». Ця обставина прирікає серологічний метод діагностики вірусних інфекцій на ретроспективність.

Для лікаря будь-якої спеціальності важливе знання можливостей лабораторної діагностики вірусних інфекцій для ефективного використання її, організації забору матеріалу від хворого й уміння інтерпретувати результати лабораторних досліджень.

2. МЕТА НАВЧАННЯ

Загальна мета. Вміти вибрати метод лабораторної діагностики вірусних інфекцій з урахуванням особливостей взаємодії збудника та ураженого організму, а також періоду інфекційного процесу, організувати відбір матеріалу для відповідного методу обстеження та інтерпретувати отримані в лабораторії результати.

Конкретні цілі. Вміти:

1. Розрізняти методи лабораторної діагностики вірусних інфекцій (чутливість, придатність у залежності від стадії захворювання).
2. Вибирати метод лабораторної діагностики вірусних захворювань.
3. Організувати добір матеріалу для відповідного методу лабораторного обстеження.
4. Інтерпретувати отримані в лабораторії результати.

3. ОСНОВНІ ТЕОРЕТИЧНІ ПИТАННЯ, ЩО РОЗГЛЯНУТІ ПРИ ВИВЧЕННІ ДАНОЇ ТЕМИ.

До конкретної мети 1. Розрізняти методи лабораторної діагностики вірусних інфекцій (чутливість, придатність у залежності від стадії захворювання).

1. Особливості лабораторної діагностики вірусних інфекцій.
2. Застосування мікроскопії в діагностиці вірусних інфекцій.

До конкретної мети 2. Вибирати метод лабораторної діагностики вірусних захворювань.

3. Вірусологічний метод діагностики вірусних інфекцій – індикація та ідентифікація вірусів.
4. Серологічний метод діагностики вірусних інфекцій. Реакції, що використовуються: РЗК, РПГА, РГГА.
5. Загальні принципи експрес-діагностики вірусних інфекцій.

До конкретної мети 3. Організувати відбір матеріалу для відповідного методу лабораторного обстеження.

6. Схема підготовки (обробки) матеріалу для вірусологічного дослідження.
7. Вимоги до організації добору матеріалу для серологічної діагностики вірусних інфекцій.

До конкретної мети 4. Інтерпретувати отримані в лабораторії результати.

8. Другий етап вірусологічного методу діагностики – ідентифікація вірусів.
9. Експрес-методи діагностики, засновані на виявленні специфічних «ранніх» антитіл.
10. Експрес-діагностика, заснована на виявленні вірусних антигенів.
11. Виявлення фрагментів вірусного геному за допомогою гібридизації нуклеїнових кислот й полімеразної ланцюгової реакції.
12. Ретроспективний характер серологічної діагностики вірусних інфекцій.

4. ЗМІСТ НАВЧАННЯ

Джерела інформації

Література, що рекомендується:

1. Гайдаш І.С., Флегонтова В.В. Медична Вірологія.- Луганськ, 2002.-С.97-118.
2. Букринская А.Г.. Вирусология. - М.: Медицина, 1986. - С. 165-181.
3. 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.
4. Лекція.

5.Стенд у навчальному музеї кафедри.

Додаткова література

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

2.Посібник з медичної вірусології/За редакцією проф. В.М.Гиріна.-Київ: Здоров'я, 1995.-С.43 - 148.

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

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

Під час роботи з літературою користуйтеся графом логічної структури до даної теми. Якщо в процесі самопідготовки у Вас виникнуть питання, запишіть їх і з'ясуйте на початку заняття у викладача.

5.ОРІЄНТОВНА ОСНОВА ДІЇ

Протокол практичного заняття за темою: «Методи лабораторної діагностики вірусних інфекцій. Індикація й ідентифікація вірусів»

- 1.Розібрали вимоги до матеріалу, призначеного для ізоляції вірусів.
- 2.Вивчили схеми підготовки (обробки) матеріалу для вірусологічного дослідження. Обробили клінічний матеріал – випороження від хворого з підозрою на поліомієліт.
- 3.Інфікували культуру клітин курячих фібробластів підготовленою пробою фекалій від хворого з підозрою на поліомієліт.
- 4.Розібрали вимоги до організації відбору матеріалу для серологічної діагностики вірусних інфекцій.
- 5.Розібрали загальні принципи методів, що засновані на виявленні фрагментів вірусних геномів - гібридизації нуклеїнових кислот і полімеразної ланцюгової реакції.

Для реалізації поставленої мети й засвоєння навчального матеріалу розв'язували задачі № 204-206 зі збірника «Задания для самостоятельной работы студентов по курсу общей и специальной микробиологии».

Орієнтовною основою дії при вивченні і виконанні даної теми служить інструкція.

ІНСТРУКЦІЯ З ПІДГОТОВКИ ПРОБИ КЛІНІЧНОГО МАТЕРІАЛУ (ФЕКАЛІЙ) ДЛЯ ДОСЛІДЖЕННЯ І ЗАРАЖЕННЯ КУЛЬТУРИ КЛІТИН

1. Пробки пеніцилінових флаконів з навіскою калу обробіть серветкою, змоченою дезінфекційним розчином.

2. Відкрийте пробку флакона і до навіски фекалій додайте 2-3 мл стерильного фізіологічного розчину.

3. Закрийте пробкою флакон і енергійно струшуйте його протягом 1-2 хвилин. Отриману каламутну рідину перелийте в центрифужну пробірку. Запам'ятайте номер центрифужної пробірки і здайте їх черговому студенту для центрифугування.

4. У період центрифугування вивчіть ріст культури клітин під малим збільшенням мікроскопу.

5. Після центрифугування за допомогою 1,0 мл піпетки відберіть 0,5 мл надосадової рідини і внесіть її в окрему стерильну пробірку, додайте суміш антибіотиків.

6. Залишіть суміш для контакту на 5-7 хв. Відпрацьовану піпетку скиньте в дезінфікуючий розчин.

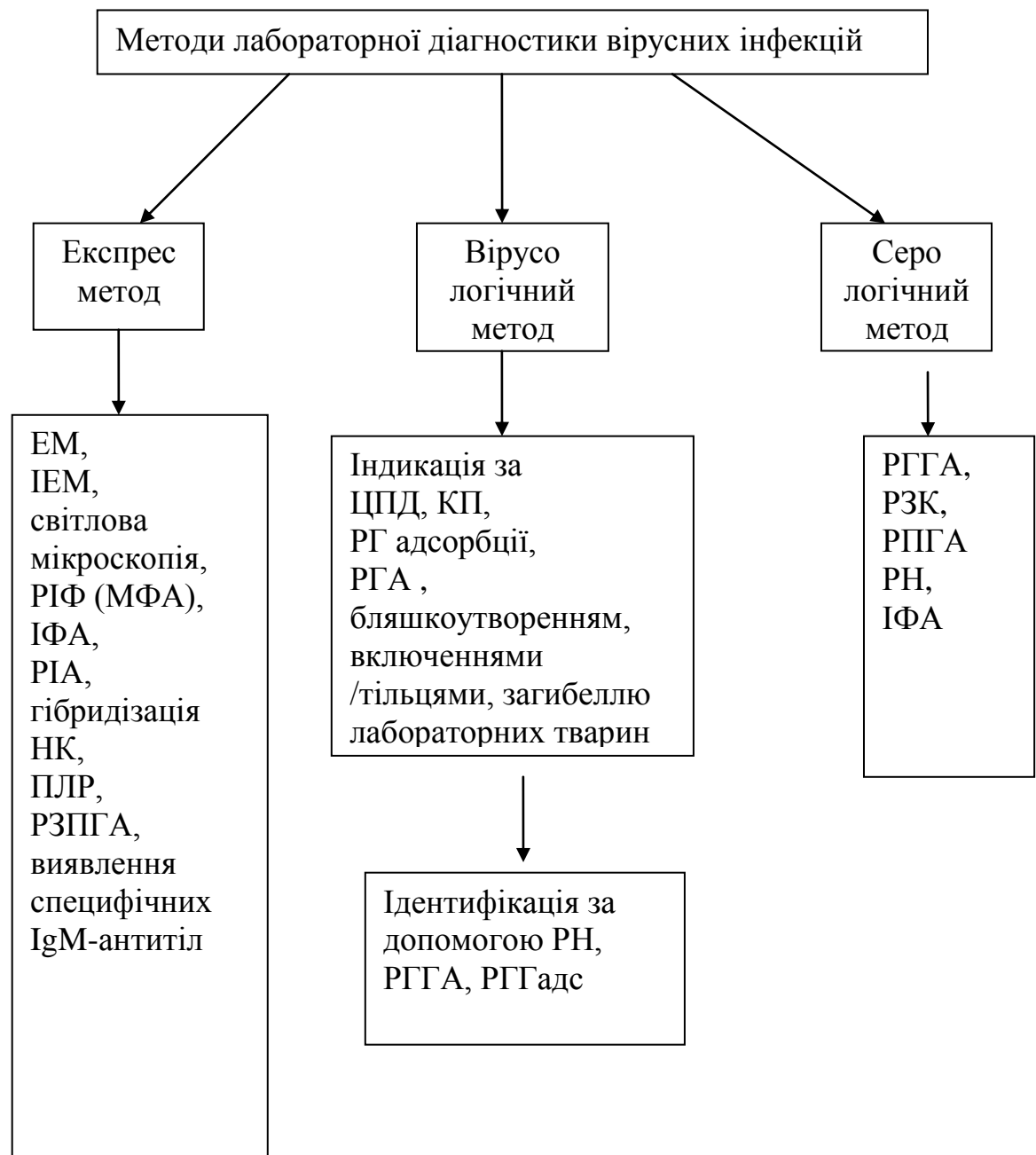
7. Після закінчення часу контакту, стерильною піпеткою внесіть 0,2 мл обробленого матеріалу в пробірку з культурою клітин, попередньо зливши з пробірки уже використане живильне середовище (культуральну суміш).

8. Помістіть пробірку на лоток під кутом 10-15 градусів міткою нагору на 3-5 хв. для контакту моношару клітин з матеріалом, що містить вірус. Відпрацьовану піпетку скиньте в дезінфікуючий розчин.

9. Після контакту моношару клітин з дослідним матеріалом, стерильною піпеткою додайте в пробірку 1,8 мл свіжої культуральної суміші (середовище 199 і 20% сироватки великої рогатої худоби).

10. На пробірки з зараженою культурою клітин надягніть етикетки з написом: прізвища студентів, що виконали роботу, № групи, факультет, дата виконання роботи.

ГРАФ ЛОГІЧНОЇ СТРУКТУРИ ДО ТЕМИ: «Методи лабораторної діагностики вірусних інфекцій. Індикація й ідентифікація вірусів»



Завдання для перевірки досягнення конкретних цілей навчання

До питання 1. *Особливості лабораторної діагностики вірусних інфекцій.*

Тест 1

Аналогом бактеріологічного методу (виділення чистої культури) у вірусології є вірусологічний (ізоляція вірусу). Проте у зв'язку з особливостями вірусів діагностика вірусних інфекцій відрізняється від мікробіологічної. Які властивості вірусів обумовлюють специфіку вірусологічної діагностики?

- A. Малі розміри
- B. Існування вірусів з РНК-геномом
- C. Існування вірусів з фрагментарним геномом
- D. Неможливість культивуватися на штучних живильних середовищах
- E. Здатність проходити крізь бактерійні фільтри

До питання 2. *Застосування мікроскопії в діагностиці вірусних інфекцій.*

Тест 2

При мікроскопії моношару клітин, ураженого вірусом та обробленого специфічною сироваткою, міченою флюорохромом, знайшли смарагдово-зелене випромінення в околядерній зоні клітин. Як називають такий різновид мікроскопії?

- A. Темнопольна
- B. Фазовоконтрастна
- C. Імерсійна
- D. Люмінесцентна
- E. Аноптральна

До питання 3. *Вірусологічний метод діагностики вірусних інфекцій – індикація та ідентифікація вірусів.*

Тест 3.

В основі одного з методів індикації (виявлення) вірусів лежить поява в моношарі заражених вірусом клітин під агаровим покриттям ділянок, що складаються з дегенерованих клітин. Ці ділянки моношару клітин, що загинули, називають «негативними колоніями». Як називається даний метод індикації вірусів?

- A. Цитопатична дія.
- B. Кольорова проба.
- C. Метод бляшок.
- D. Реакція гемаглютинації.
- E. Реакція гемадсорбції.

До питання 4. *Серологічний метод діагностики вірусних інфекцій. Реакції, що використовуються: РЗК, РПГА, РГГА.*

Тест 4.

При серологічному методі діагностики вірусних захворювань сироватку, що досліджують, дворазово розводять у лунках планшету. Вносять вірусний діагностикум і завись еритроцитів.

Як називається дана серологічна реакція?

- A. Реакція гемаглютинації.
- B. Реакція пасивної гемаглютинації.
- C. Реакція зворотної пасивний гемаглютинації.
- D. Реакція гальмування гемаглютинації.
- E. Реакція зв'язування комплекменту.

До питання 5. *Загальні принципи експрес-діагностики вірусних інфекцій.*

Тест 5

Досліджуваний матеріал обробили специфічною сироваткою, витримали 1 годину, центрифугували, з осаду приготували препарат і роздивились під мікроскопом з метою виявлення вірусів. Який це різновид мікроскопії?

- A. Електронна
- B. Імерсійна
- C. Фазовоконтрастна
- D. Імуноелектронна
- E. Аноптральная

До питання 6. *Схема підготовки (обробки) матеріалу для вірусологічного дослідження.*

Тест 6

Зараження курячих ембріонів є основним методом виділення вірусу грипу. При введенні в курячий ембріон досліджуваного матеріалу (змиву з носоглотки) з метою знищення мікробів до нього спочатку додають:

- A. Стрептомицин та пеніцилін
- B. Періодат калія
- C. Розчин Ігла
- D. Формалін
- E. Ефір

До питання 7. *Вимоги до організації добору матеріалу для серологічної діагностики вірусних інфекцій.*

Тест 7

Для лабораторного підтвердження діагнозу гострої респіраторної вірусної інфекції у пацієнта, лікар вирішив використати серологічний метод діагностики. Коли необхідно відібрати матеріал для даного методу діагностики у пацієнта?

- A. На початку захворювання, якомога раніше.
- B. Наприкінці захворювання, у період згасання клінічних симптомів.
- C. На піку захворювання, у момент прояву всіх клінічних симптомів.
- D. На початку захворювання (якомога раніше) і через 2-3 тижні.
- E. Під час максимального підвищення температури.

До питання 8. *Другий етап вірусологічного методу діагностики – ідентифікація вірусів.*

Тест 8

З метою ідентифікації вірусу в зараженій культурі клітин застосовують реакцію нейтралізації кольорової проби з використанням специфічної сироватки. Який буде колір живильного середовища при позитивній реакції нейтралізації кольорової проби?

- A. Жовтий
- B. Червоний
- C. Синій
- D. Коричневий
- E. Сірий

До питання 9. *Експрес-методи діагностики, засновані на виявленні специфічних «ранніх» антитіл.*

Тест 9

Для підтвердження діагнозу герпетичної інфекції у пацієнта, що захворів кілька днів тому, лікар призначив обстеження з метою виявлення протигерпетичних антитіл за допомогою ІФА. Виявлення антитіл якого класу може вірогідно підтвердити діагноз герпетичної інфекції у даного хворого?

- A. Імуноглобулінів А
- B. Імуноглобулінів М
- C. Імуноглобулінів D
- D. Імуноглобулінів Е
- E. Імуноглобулінів G

До питання 10. *Експрес-діагностика, заснована на виявленні вірусних антигенів.*

Тест 10

У дитячій установі зареєстрований спалах інфекції, імовірно вірусної етіології. Необхідно терміново намітити план протиепідемічних заходів.

Які реакції чи методи лабораторної діагностики необхідно підключити в першу чергу для швидкої і своєчасної розшифровки даного спалаху?

- A. Електронна мікроскопія.
- B. Вірусологічний метод.
- C. Серологічний метод.
- D. Імунофлюоресцентна мікроскопія.
- E. Світлова мікроскопія нативного матеріалу.

До питання 11. *Виявлення фрагментів вірусного геному за допомогою гібридизації нуклеїнових кислот й полімеразної ланцюгової реакції.*

Тест 11

В якості експрес-методів діагностики вірусних інфекцій все ширше використовуються методи, що дозволяють знайти в досліджуваному матеріалі слідові кількості нуклеїнових кислот. Яка з перерахованих методик відноситься до даної групи?

- A. ІФА.
- B. РІА.
- C. ІЕМ.
- D. ПЛР.
- E. РІФ.

До питання 12. *Ретроспективний характер серологічної діагностики вірусних інфекцій.*

Тест 12

У пацієнта з підозрою на аденовірусну інфекцію на початку захворювання і на третьому тижні від початку захворювання були відібрані сироватки. Після забору другої сироватки матеріал був переданий у вірусологічну лабораторію для постановки РЗК з аденовірусним антигеном. Як можна оцінити діагностику захворювання у даного хворого?

- A. Експрес-метод, що дозволяє в перші години підтвердити етіологію хвороби
- B. Метод, що дозволяє прогнозувати результат хвороби
- C. Метод, що дозволяє виділити збудник

D. Ретроспективний метод, що дозволяє підтвердити вірусну етіологію хвороби

E. Метод, що виявляє циркуляцію вірусних антигенів в організмі хворого

МЕТОДИКА ПРОВЕДЕННЯ ЗАНЯТТЯ

Заняття практичне. На початку заняття викладач проводить перевірку і корекцію рівня підготовки студентів до заняття. За запропонованою схемою записується протокол. Студенти виконують самостійну роботу з обробки клінічного матеріалу (випорожнень), підготовки матеріалу для вірусологічного дослідження і виконують зараження культури клітин - курячих фібробластів, мікроскопіюють препарати з проявами ЦПД і гемадсорбцією, оформляють протокол. У ході заняття студенти знайомляться зі схемою «Обробки матеріалу для вірусологічного методу дослідження» і таблицею «Вірусологічний метод діагностики» у навчальному посібнику. Закінчується заняття підсумковим тестовим контролем.

11.Змістовий модуль. Спеціальна вірусологія. Біологічні властивості. Лабораторна діагностика етіотропна терапія та специфічна профілактика.

Змістовий модуль 10. Загальна вірусологія.

Цілі змістового модуля:

-Аналізувати біологічні властивості патогенних для людей вірусів.

-Пояснювати роль вірусів в патології людини.

-Трактувати методи діагностики вірусних інфекцій, робити висновки за результатами досліджень.

-Аналізувати препарати, які використовують для специфічної профілактики вірусних захворювань.

Теми, що входять до змістового модулю:

33. Пікорнавіруси. Віруси поліомієліту, Коксакі, ЕСНО. Лабораторна діагностика.

34. Ретровіруси. Вірус імунодефіциту людини. Лабораторна діагностика.

35. Віруси грипу Лабораторна діагностика ГРВІ.

36. Рабдовіруси. Вірус сказу. Тогавіруси. Вірус кліщового енцефаліту. Лабораторна діагностика.

37. Герпесвіруси. Лабораторна діагностика герпесвірусних інфекцій.

38. Віруси гепатитів. Лабораторна діагностика вірусних гепатитів.

39. Поксвіруси. Вірус натуральної віспи.

ТЕМА № 33: «Ентеровіруси. Віруси поліомієліту, Коксакі та ЕКХО. Лабораторна діагностика ентеровірусних інфекцій».

1. АКТУАЛЬНІСТЬ ТЕМИ

Віруси поліомієліту, Коксакі й ЕКХО відносять до родини Picornaviridae, роду Enterovirus. Ентеровіруси викликають у людини важке ураження нервової

системи та інших органів і тканин. Поліомієліт як захворювання, відомий з найдавніших часів - є зображення єгипетського жерця в одному з храмів Мемфіса зі слідами перенесеного захворювання. У той же час, незважаючи на застосування високо ефективних вакцин (інактивованої – Солка і живої атенуйованої вакцини Себіна), продовжують реєструватися поодинокі випадки захворювання поліомієлітом, в тому числі і в Україні. Віруси Коксаки та ЕКХО, відкриті порівняно недавно (50-і роки ХХ сторіччя). Вони викликають як поліомієлітоподібні захворювання (паралічі, серозний менінгіт), так і міалгії, герпангину, лихоманки, енцефаліти, гепатит, диарею, стоматити, й інші синдроми. Віруси Коксаки В3 і В4 розглядаються як етіологічні агенти інсулінозалежного цукрового діабету I типу. Наявні дані, що вказують на роль деяких ентеровірусів у виникненні інфаркту міокарда.

Велику роль у відкритті ряду вірусів (ЕКХО), вивченні, класифікації ентеровірусів відіграв видатний американський вірусолог українського походження Джозеф Мельник.

Знання й вміння, отримані при вивченні даної теми, допоможуть лікарю загальклінічного профілю правильно вибрати матеріал для обстеження, метод діагностики й оцінити результати дослідження.

2. МЕТА НАВЧАННЯ.

Загальна мета. Вміти правильно вибрати матеріал для лабораторного дослідження при підозрі на ентеровірусну інфекцію, трактувати отримані результати й вибирати препарати для профілактики поліомієліту.

Конкретні цілі:

Вміти:

1. Вибрати, в залежності від стадії захворювання, метод діагностики (вірусологічний, серологічний чи експрес-метод).

2. Правильно добирати матеріал для вірусологічного дослідження (режим збереження, терміни доставки).

3. Трактувати отримані результати.

4. Правильно вибрати препарати для специфічної профілактики поліомієліту.

3. ОСНОВНІ ТЕОРЕТИЧНІ ПИТАННЯ, ЩО РОЗГЛЯДАЮТЬСЯ ПРИ ВИВЧЕННІ ДАНОЇ ТЕМИ

До конкретної мети 1. Вміти вибирати, в залежності від стадії захворювання, метод діагностики (вірусологічний, серологічний чи експрес-метод).

1. Сучасна класифікація й основні властивості ентеровірусів.

2. Джерело інфекції, патогенез захворювання в людини на прикладі поліомієліту.

До конкретної мети 2. Вміти правильно відібрати матеріал для вірусологічного дослідження - режим збереження, терміни доставки.

3. Терміни, правила добору і транспортування матеріалу для дослідження від хворих з ентеровірусною інфекцією.

До конкретної мети 3. Вміти трактувати отримані результати.

4. Вірусологічний метод лабораторної діагностики ентеровірусної інфекції.

5. Серологічний метод лабораторної діагностики ентеровірусної інфекції.

До конкретної мети 4. Правильно вибрати препарати для специфічної профілактики поліомієліту.

6.Діагностичні і профілактичні препарати, що використовуються при ентеровірусних інфекціях.

4. ЗМІСТ НАВЧАННЯ

Джерела інформації

Література, що рекомендується:

1.Гайдаш І.С., Флегонтова В.В. Медична Вірологія.- Луганськ, 2002.- С.284-296.

2. Пяткін К.Д., Кривошеїн Ю.С. Мікробіологія з вірусологією та імунологією.- Київ: Вища школа, 1992.-С. 363-367.

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

4.Коротяев А.И., Бабичев С.А. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология.-Санкт-Петербург: Специальная литература,1998.-С.279-283.

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

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

7.Лекція.

8.Стенд у навчальному музеї кафедри.

Додаткова література

1.Фролов А.Ф., Шевченко Л.Ф., Ширококов 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.Посібник з медичної вірусології//За редакцією В.М.Гіріна.- Київ: Здоров'я,1995.-С.148-166.

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

При роботі з підручниками користуйтеся графом логічної структури до даної теми. Якщо в процесі самопідготовки у Вас виникнуть питання, запишіть їх і з'ясуєте на початку заняття з викладачем.

5.ОРІЄНТОВНА ОСНОВА ДІЇ

Протокол практичного заняття за темою: «Ентеровіруси. Віруси поліомієліту, Коксакі й ЕКХО. Лабораторна діагностика ентеровірусних інфекцій».

1.Вивчили лабораторну діагностику ентеровірусів на прикладі лабораторної діагностики поліомієліту, заповнили схему діагностики в підручнику.

- 2.Поставили дослід з ізоляції (виділення) вірусу з клінічного матеріалу.
- 3.Ознайомилися з демонстрацією цитопатогенетичної дії (ЦПД) вірусу поліомієліту в культурі клітин (демонстраційні препарати).
- 4.Ознайомилися з демонстрацією препаратів мишей-сисунців, інфікованих вірусами Коксакі А.
- 5.Вивчили біологічні препарати, що використовуються для діагностики й профілактики ентеровірусних інфекцій.

Для реалізації поставленої мети й засвоєння навчального матеріалу вирішить задачу № 214 зі збірника «Задание для самостоятельной работы студентов по курсу общей и специальной микробиологии» й задач №№. 153-156 з посібника „Завдання для самостійної роботи студентів вищих медичних закладів освіти III –IV рівня акредитації”.

ІНСТРУКЦІЯ З ПРОВЕДЕННЯ ДРУГОГО ЕТАПУ ВІРУСОЛОГІЧНОГО ДОСЛІДЖЕННЯ - ІДЕНТИФІКАЦІЇ ЦИТОПАТОГЕННИХ АГЕНТІВ (ВІРУСІВ ПОЛІОМІЄЛІТУ), ІЗОЛЬОВАНИХ ВІД ХВОРОГО

ХІД РОБОТИ

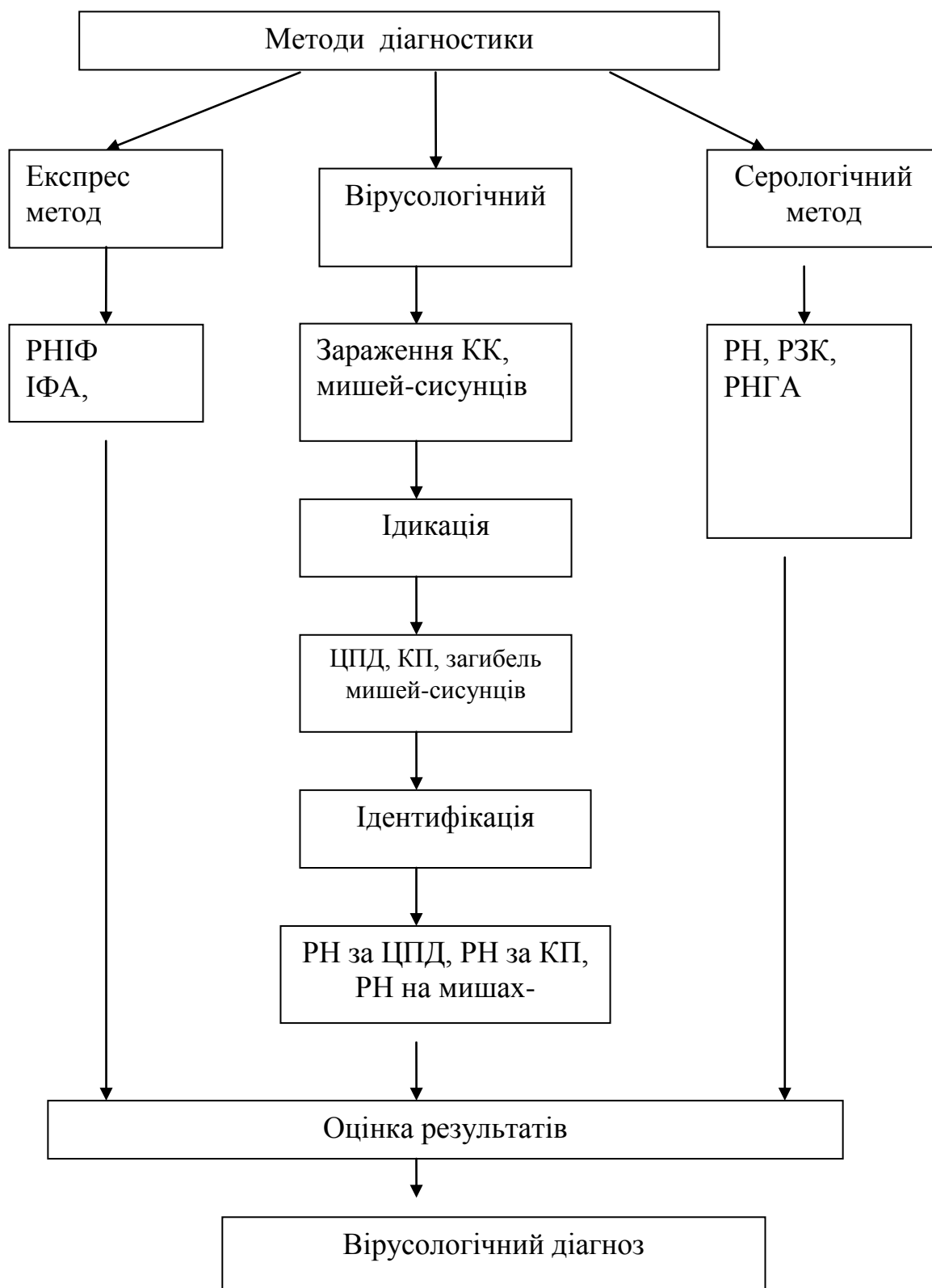
У вогнищі пальника стерильною 2-х кубіковою піпеткою візьміть 0,6 мл рідини, яка містить вірус, (ЦПА) із пробірки з зараженою культурою клітин. Внесіть її в пеніцилінові флакони із специфічними антиполіомієлітними сироватками до 1, 2, 3 типам (по 0,2 мл у кожний флакон). Залишіть суміш " рідина з вірусом + специфічна сироватка" для контакту на 10 хв. Відпрацьовану піпетку скиньте в дезінфікуючий розчин.

Після закінчення часу контакту, інфікуйте кожною сумішшю свіжу культуру клітин. З цією метою видаліть ростове, вже виснажене живильне середовище і внесіть 0,2 мл суміші -" рідина з вірусом + специфічна сироватка".

У заражені культури клітин в пробірках додайте 1,8 мл підтримуючого живильного середовища №199.

На пробірки з зараженими культурами клітин надягніть етикетки/бірки, на яких вкажіть суміш (1, 2, 3), а також ПІБ виконавців.

ГРАФ ЛОГІЧНОЇ СТРУКТУРИ ДО ТЕМИ: «Ентеровіруси. Віруси поліомієліту, Коксакі й ЕКХО. Лабораторна діагностика ентеровірусних інфекцій».



Завдання для перевірки досягнення конкретних цілей навчання

До питання 1. *Сучасна класифікація й основні властивості ентеровірусів.*

Тест 1

Дрібні за розміром (22-32 нм) РНК – віруси, що позбавлені ліпідних компонентів, патогенні для людини і тварин, мають кубічний тип симетрії і нуклеокапсид у формі ікосаедра. До якої таксономічної групи можуть відноситись такі віруси?

- A. *Rovviridae*
- B. *Retroviridae*
- C. *Picornaviridae*
- D. *Orthomyxoviridae*
- E. *Togaviridae*

До питання 2. *Джерело інфекції, патогенез захворювання в людини на прикладі поліомієліту.*

Тест 2

У 1909 р. шляхом введення емульсії спинного мозку померлої від поліомієліту дитини мавпам було викликано у них гарячкове захворювання і доведена вірусна етіологія поліомієліту. Які вчені вперше виділили вірус поліомієліту?

- A. Дж. Уотсон і Ф. Крік
- B. Дж. Мельник і Бенъеш-Мельник.
- C. Г. Долдорф і Р. Сіклс.
- D. К. Ландштейнер і Е. Поппер
- E. Ф. Леффлер і П. Фрош

До питання 3. *Терміни, правила добору і транспортування матеріалу для дослідження від хворих з ентеровірусною інфекцією.*

Тест 3

У померлого з підозрою на поліомієліт необхідно забрати матеріал для вірусологічного дослідження. Який матеріал необхідно відібрати протягом перших годин після смерті?

- A. Фрагменти тканин печінки і селезінки.
- У. Фрагменти тканин спинного мозку (шийний і поперековий відділи)
- З. Шматочки низхідної петлі товстого кишечника
- D. Фрагменти тканин головного мозку.
- E. Ліквор

До питання 4. *Вірусологічний метод лабораторної діагностики ентеровірусної інфекції.*

Тест 4

У хворого хлопчика 5 років на п'ятий день після початку захворювання із носоглотки і мигдалин виділений вірус. На підставі наявних даних лікар-вірусолог припустив, що це вірус поліомієліту. Яку з перерахованих нижче реакцій слід використовувати для визначення серотипу збудника?

- A. Реакція гальмування гемаглютинації
- B. Реакція нейтралізації цитопатичної дії
- З. Реакція гальмування гемадсорбції
- D. Реакція непрямой гемаглютинації
- E. Реакція зв'язування комплементу

До питання 5. Серологічний метод лабораторної діагностики ентеровірусної інфекції.

Тест 5

Для серологічної діагностики поліомієліту досліджуються парні сироватки хворого в реакції нейтралізації цитопатичної дії. Що слід використовувати як антиген в цій реакції?

- A. Антигени - гемаглютинини.
- B. Комплемент зв'язуючи антигени вірусу.
- З. Антигени, що інактивовані формаліном.
- D. Живі віруси трьох антигенних типів.
- E. Антигени з капсидних білків вірусу.

До питання 6. Діагностичні і профілактичні препарати, що використовуються при ентеровірусних інфекціях.

Тест 6

Для специфічної профілактики поліомієліту в Україні застосовують вакцину, отриману зараженням первинних культур клітин нирок ембріона мавпи аттенуйованими штамми вірусу поліомієліту трьох серотипов. Яка це вакцина?

- A. Солка
- B. Себіна
- C. Фермі
- D. БЦЖ
- E. АКДС

МЕТОДИКА ПРОВЕДЕННЯ ЗАНЯТТЯ

Заняття практичне. На початку заняття викладач проводить перевірку і корекцію рівня підготовки студентів до заняття. За запропонованою схемою записується протокол. Студенти виконують самостійну роботу з обробки клінічного матеріалу для вірусологічного дослідження. Проводять перший етап індикації вірусу поліомієліту – зараження культури клітин. На другому етапі дослідження проводиться робота з ідентифікації вірусу в реакції нейтралізації в культурі клітин. Під час заняття студенти мікроскопіюють препарати культури клітин з ЦПД, знайомляться з препаратами, призначеними для специфічної профілактики поліомієліту, оформлюють протокол. У ході заняття студенти вирішують ситуаційні задачі з посібника „Завдання для самостійної роботи студентам вищих медичних закладів освіти III –IV рівня акредитації”. Заповнюють схеми лабораторної діагностики ентеровірусних інфекцій, що є у посібнику. Закінчується заняття підсумковим тестовим контролем.

ТЕМА №34: «Ретровіруси. Вірус імунодефіциту людини. Лабораторна діагностика ВІЛ-інфекції»

I. АКТУАЛЬНІСТЬ ТЕМИ

Боротьба зі СНІД (синдромом набутого імунодефіциту) є всесвітньою та надзвичайно складною проблемою охорони здоров'я, що вимагає глибоких знань у медичних працівників, санітарно-гігієнічних знань у населення й урядових програм з боротьби з "чумою 20-го століття", як охрестили це захворювання.

За даними медичної статистики на підставі розрахункових даних (екстраполяція результатів вибіркового дослідження на всю популяцію України) ВІЛ-інфікованих у країні близько 1%, тобто кожен сотий житель. Число і питома вага таких осіб у популяції постійно зростають.

Прогнози розвитку епідемії/пандемії ВІЛ-інфекції у світі й в Україні надзвичайно песимістичні. З огляду на розрахункову поширеність інфекції в нашій країні, відсутність протягом тривалого часу клінічних проявів захворювання (на стадії ВІЛ-інфікованості) із хворими з даною патологією найближчим часом будуть зіштовхуватися медики всіх спеціальностей. ВІЛ-інфіковані в багатьох випадках не знають про свій стан і можуть звертатися за медичною допомогою в рядові установи охорони здоров'я. Медики всіх спеціальностей повинні бути чітко інформовані про біологічні властивості, резистентність, особливості патогенезу ВІЛ-інфекції, запобіжних заходах, тактиці ведення хворих як у стадії ВІЛ-інфікування, так і в стадії СНІД (останнім допомога повинна надаватись в спеціалізованих медичних установах).

2. МЕТА НАВЧАННЯ

Загальна мета. Вміти правильно призначати обстеження, інтерпретувати результати лабораторної діагностики для постановки діагнозу і вибору препаратів для лікування ВІЛ-інфекції/СНІД.

Конкретні цілі:

Уміти

1. Вибрати матеріал для дослідження і метод лабораторної діагностики ВІЛ-інфекції/СНІД, в залежності від стадії захворювання.

2. Інтерпретувати результати лабораторної діагностики.

3. Вибрати засоби профілактики ВІЛ-інфекції/СНІД.

4. Вибрати препарати для лікування ВІЛ-інфекції/СНІД з врахуванням особливостей патогенезу інфекції на рівні клітини.

3. ОСНОВНІ ТЕОРЕТИЧНІ ПИТАННЯ, РОЗГЛЯНУТІ ПРИ ВИВЧЕННІ ДАНОЇ ТЕМИ.

До конкретної мети 1. (Вибрати матеріал для дослідження і метод лабораторної діагностики ВІЛ-інфекції/СНІД, в залежності від стадії захворювання).

1. Загальна характеристика ретровірусів: особливості будови, резистентність.

2. Патогенез захворювання на рівні організму, стадії захворювання, ВІЛ-інфекція і СНІД.

До конкретної мети 2. (Інтерпретувати результати лабораторної діагностики).

3.Методи лабораторної діагностики ВІЛ-інфекції. Імуноферментний (ІФА), імуноблотінг, гібридизація нуклеїнових кислот, полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР).

До конкретної мети 3. (Вибрати способи профілактики ВІЛ-інфекції/СНІД).

4.Неспецифічна профілактика ВІЛ-інфекції. Проблема ВІЛ/СНІД для різних медичних спеціальностей.

До конкретної мети 4. (Вибрати препарати для лікування ВІЛ-інфекції/СНІД, з врахуванням особливостей патогенезу інфекції на рівні клітини).

5.Патогенез на рівні клітини, роль зворотної транскриптази, вірусспецифічної протеази.

6.Перспективи специфічної терапії ВІЛ-інфекції.

4. ЗМІСТ НАВЧАННЯ

Джерела інформації

Література, що рекомендується:

1.Гайдаш І.С., Флегонтова В.В. Медична Вірологія.- Луганськ, 2002.-С.195-211.

2. Пяткін К.Д., Кривошеїн Ю.С. Мікробіологія з вірусологією та імунологією.- Київ: Вища школа, 1992.-С. 385-391.

3.Букринская А.Г.. Вирусология. - М.: Медицина, 1986. - С. 309-313.

4.Коротяев А.И., Бабичев С.А. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология.-Санкт-Петербург: Специальная литература, 1998.-С.319-326.

5. Поздеев О.К. Медицинская микробиология: Москва: ГЭОТАР-Мед, 2001.-С. 489 – 492.

6.Лекція.

7.Стенд у навчальному музеї кафедри.

Додаткова література

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

2.Посібник з медичної вірусології/За редакцією В.М.Гиріна.- Київ: Здоров'я,1995.-С.301-331.

При роботі з підручниками користуйтеся графом логічної структури до даної теми. Якщо в процесі самопідготовки у Вас виникнуть питання, запишіть їх і з'ясуйте на початку заняття з викладачем.

ОРІЄНТОВНА ОСНОВА ДІЇ

Протокол практичного заняття за темою: «Ретровіруси. Вірус імунодефіциту людини. Лабораторна діагностика ВІЛ-інфекції»

1.Розібрали методи лабораторної діагностики ВІЛ-інфекції: імуноферментний (ІФА), імуноблотінг, гібридизацію нуклеїнових кислот, полімеразну ланцюгову реакцію (ПЛР).

2.Вивчили неспецифічну профілактику ВІЛ-інфекції. Ознайомилися з проблемою ВІЛ/СНІД для різних медичних спеціальностей.

3. Вивчили патогенез ВІЛ-інфекції на рівні клітини, роль зворотної транскриптази, віруспецифічної протеази, принципи й перспективи хіміотерапії ВІЛ/СНІД (за стендом учбового музею).

Для реалізації поставленої мети й засвоєння навчального матеріалу вирішіть задачі № 216 - 218 із збірника «Задания для самостоятельной работы студентов по курсу общей и специальной микробиологии» і задачі №№. 157 - 159 з посібника „Завдання для самостійної роботи студентів вищих медичних закладів освіти III –IV рівня акредитації”.

ІНСТРУКЦІЯ З ПРОВЕДЕННЯ ОБЛІКУ РЕЗУЛЬТАТІВ ЛАБОРАТОРНОЇ ДІАГНОСТИКИ ВІЛ-ІНФЕКЦІЇ

Прочитайте інструкцію, як необхідно провести облік реакції прямого і конкурентного ІФА, реакцію імуноблотінгу.

Вказівки до виконання самостійної роботи на практичному занятті:

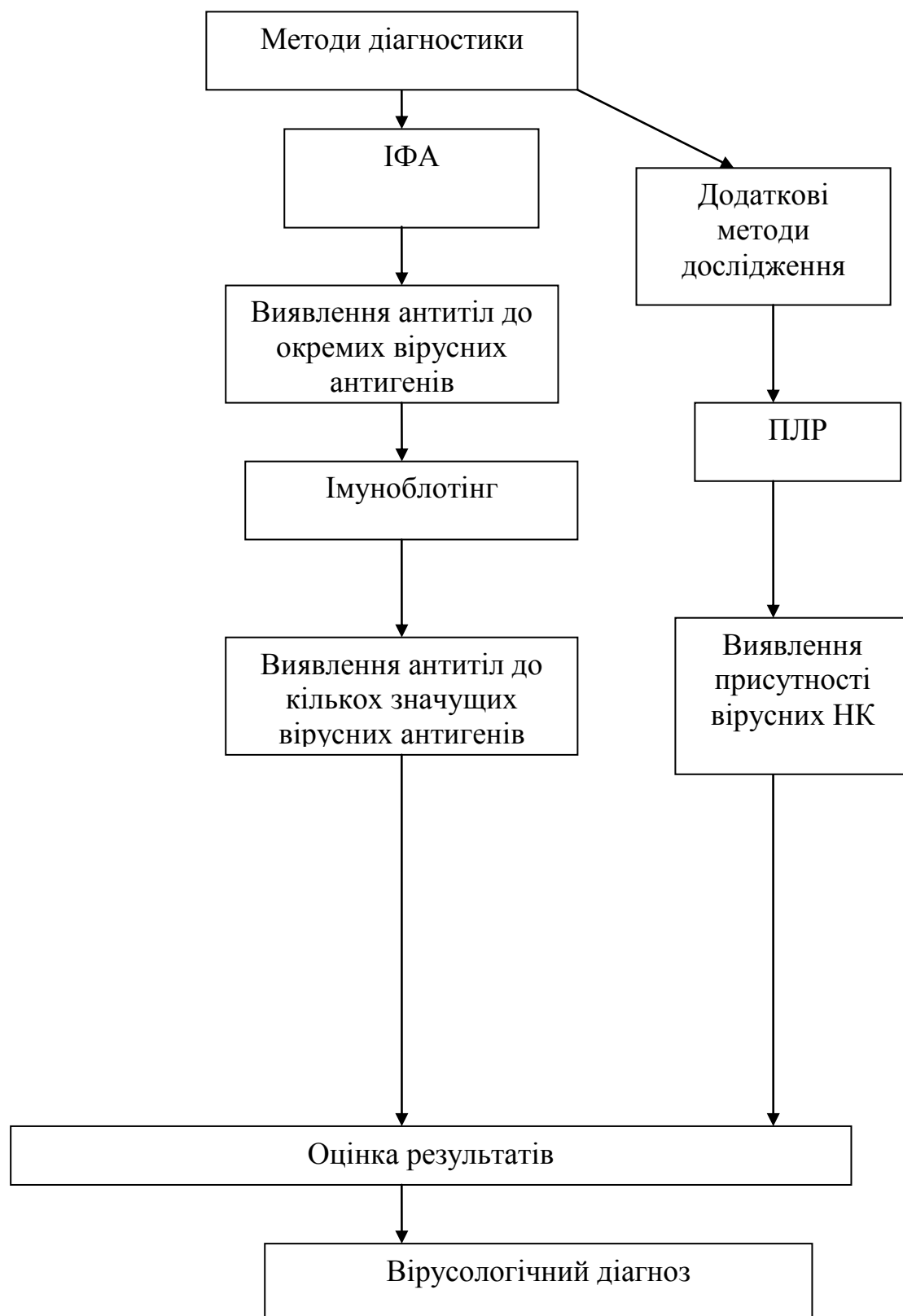
1. Візьміть карту, на якій зображені полістиролові планшети з результатами дослідження методом прямого ІФА сироваток крові у 4 осіб, підозрілих на СНІД, і вкажіть, у яких з обстежених осіб реакція позитивна, що свідчить про наявність антитіл до ВІЛ. Замалюйте в альбомі для протоколів і позначте стрілками, у яких з обстежених реакція ІФА позитивна й в яких - негативна.

2. Проведіть аналіз результатів дослідження сироваток крові осіб, у яких двічі методом ІФА виявлялися антитіла до ВІЛ, у зв'язку з чим проведене їх обстеження методом імуноблотінгу. Порівняйте забарвлені білкові треки позитивного контролю, звертаючи увагу на білки ВІЛ 120, 41 і 24, з результатами, отриманими у осіб, які обстежувались.

Порівняйте дані осіб, які обстежувались, з даними негативного контролю (сироваткою здорової людини).

Результати дослідження 6 сироваток методом імуноблотінгу замалюйте в протокол. Позначте стрілками, хто з обстежених осіб має антитіла до ВІЛ, а отже, є носіями ВІЛ чи страждає на СНІД з відповідними клінічними проявами.

ГРАФ ЛОГІЧНОЇ СТРУКТУРИ ДО ТЕМИ: «Ретровіруси. Вірус імунодефіциту людини. Лабораторна діагностика ВІЛ-інфекції»



Завдання для перевірки досягнення конкретних цілей навчання

До питання 1. Загальна характеристика ретровірусів: особливості будови, резистентність.

Тест 1

Структура ВІЛ утворена зовнішньою оболонкою – суперкапсидом, який складається з двошарової мембрани, що походить з цитоплазматичної мембрани клітини, в якій відбувається репродукція вірусу. Таку двошарову мембрану пронизують вірусні глікопротеїди. Які поверхневі трансмембранні глікопротеїди має даний вірус?

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

До питання 2. Патогенез захворювання на рівні організму, стадії захворювання, ВІЛ-інфекція і СНІД.

Тест 2

Хворий К., тривалий час лікувався з приводу пневмонії неясної етіології, резистентної до стандартної антибіотикотерапії. З анамнезу встановлено, що пацієнт тривалий час знаходився в службовому відрядженні за кордоном, у південно-східній Африці. Знаходячись у відрядженні, одержав травму, лікувався в госпіталі. При зборі анамнезу життя вказав ряд сексуальних контактів під час перебування у відрядженні в Африці. Оцінюючи дані анамнезу, клінічну картину захворювання лікар запідозрив у хворого-інфекцію - СНІД. Який найбільш вірогідний міг бути механізм інфікування ВІЛ-вірусом даного хворого?

- A. Фекально-оральний.
- B. Повітряно-краплинний.
- C. Трансмисивний.
- D. Статевий.
- E. Парентеральний ятрогенний

До питання 3. Методи лабораторної діагностики ВІЛ-інфекції. Імуноферментний (ІФА), імуноблотінг, гібридизація нуклеїнових кислот, полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР).

Тест 3

Хворий К., тривалий час лікувався з приводу пневмонії неясної етіології, резистентної до стандартної антибіотикотерапії. З анамнезу встановлено, що пацієнт тривалий час знаходився в службовому відрядженні за кордоном, у південно-східній Африці. Знаходячись у відрядженні, одержав травму, лікувався в госпіталі. При зборі анамнезу життя вказав ряд сексуальних контактів під час перебування у а відрядженні в Африці. Оцінюючи дані анамнезу, клінічну картину захворювання лікар запідозрив у хворого-інфекцію -

СНІД. Якими дослідженнями можна підтвердити чи спростувати діагноз, поставлений лікарем даному хворому?

- А.Визначити наростання титру антитіл до ВІЛ у реакції Відаля.
- В.Виявити в ІФА наявність ІgМ-антитіл.
- С.Виявити в ІФА наявність антитіл до ВІЛ.
- Д.Виявити в реакції імуноблотінгу наявність антитіл до ВІЛ.
- Е.Виявити наявність антитіл до ВІЛ у РЗК.

До питання 4. Неспецифічна профілактика ВІЛ-інфекції. Проблема ВІЛ/СНІД для різних медичних спеціальностей.

Тест 4

У зв'язку з випадками виявлення ВІЛ-інфекції у пацієнтів стоматологічних поліклінік і кабінетів, було проведено медичну нараду, на якій з рекомендаціями виступили лікарі-епідеміологи центру профілактики СНІД. Які запобіжні заходи вони могли рекомендувати лікарям-стоматологам для запобігання можливості власного професійного інфікування?

- А.Мити руки після відвідування кожного пацієнта.
- В.Працювати в засобах індивідуального захисту (рукавички, окуляри).
- С.Для кожного пацієнта використовувати новий стерильний набір інструментів.
- Д.Вимагати від кожного пацієнта пред'явлення медичного сертифікату.
- Е.Кварцювати (озоніювати) приміщення

До питання 5. Патогенез на рівні клітини, роль зворотної транскриптази, вірусспецифічної протеази.

Тест 5

Глікопротеїди взаємодіють з рецепторами CD4 . З'єднання цих двох молекул викликає злиття оболонки вірусу з клітинною мембраною. Які клітки містять ці рецептори?

- А. Т-супресори
- В. Т-хелпери, макрофаги, моноцити
- С. Нейтрофіли, базофіли.
- Д. Еозинофіли, тромбоцити
- Е. Плазматичні клітки

Тест 6

У ВІЛ вірусу існує особливий фермент, який синтезує на віріонній РНК мінус ланцюг ДНК. Який це фермент?

- А. Зворотня транскриптаза
- В. ДНК-полімераза
- С. Вірусная інтеграза
- Д. РНК-полімераза
- Е. Протеаза

До питання 6. Перспективи специфічної терапії ВІЛ-інфекції.

Тест 7

ВІЛ-інфікованому хворому з розвиненою опортуністичною інфекцією – кандидозною пневмонією було призначено лікування. Який варіант лікування необхідний даному хворому, з врахуванням особливостей патогенезу основного захворювання?

А. Протигрибкова хіміотерапія.

В. Трикомпонентна антиретровірусна терапія.

С. Комбінація імуномодуляторів й протигрибкових антибіотиків.

Д. Комбінація імуномодуляторів й трикомпонентної антиретровірусної терапії.

Е. Комбінація трикомпонентної антиретровірусної терапії й протигрибкових антибіотиків.

МЕТОДИКА ПРОВЕДЕННЯ ЗАНЯТТЯ

Заняття проводиться в навчальній лабораторії і навчальному музеї. На початку заняття викладач проводить перевірку і корекцію рівня підготовки студентів до заняття. За запропонованою схемою записується протокол. У навчальному музеї з залученням навчальних стендів, студенти знайомляться з загальною характеристикою ретровірусів, розбирають особливості будови, патогенезу на клітинному рівні і на рівні цілого організму, розбирають методи лабораторної діагностики і перспективи лікування і специфічної профілактики. У навчальній лабораторії студенти виконують самостійну роботу – заповнюють схему лабораторної діагностики ВІЛ-інфекції, знайомляться з препаратами, призначеними для лабораторної діагностики захворювання, розбирають інструкцію з проведення ІФА. У ході заняття студенти вирішують завдання для самостійної роботи з даного посібника і ситуаційні задачі №№ 157 - 159 з посібника „Завдання для самостійної роботи студентів вищих медичних закладів освіти III –IV рівня акредитації” і №№ 216 - 218 із збірника «Задания для самостоятельной работы студентов по курсу общей и специальной микробиологии». Закінчується заняття підсумковим тестовим контролем.

Додаток

ДЕЯКИ ОСОБЛИВОСТІ ПАТОГЕНЕЗУ ВІЛ

ВІЛ-інфекцію/СНІД викликає ретровірус, що одержав назву вірус імунодефіциту людини (ВІЛ).

Ретровіруси – родина вірусів, у яких є унікальний вірусний фермент – ревертаза (зворотна транскриптаза, РНК-залежна ДНК-полімераза). Подібного ферменту немає ні в рослинному, ні у тваринному світі, немає й у представників інших сімейств вірусів (за винятком гепадновірусів). Ревертаза - фермент, що дозволяє на матриці РНК сформувати копію ДНК. Наявність ревертази дозволяє РНК-геномним ретровірусам, точніше ДНК – копіям їх геномів інтегруватися у геном клітин, вражених цими ретровірусами.

Головною мішенню ВІЛ є клітини-хелпери CD 4+- субпопуляції лімфоцитів (CD – кластери диференціації). CD 4+ –лімфоцити виконують в імунній системі організму регуляторну роль, так званих, лімфоцитів-помічників, що регулюють запуск імунної відповіді.

Крім лімфоцитів-помічників (хелперів) ВІЛ уражують, проте в меншій мірі моноцити, макрофаги, клітки нейроглії. Всі вони мають на своїй поверхні CD4+білки-рецептори. Вірус імунодефіциту людини проникає в клітини, що мають на своїй мембрані CD 4+рецептори, до яких приєднується gp 120-прикріпний білок ВІЛ.

Після проникнення вірусу ВІЛ у клітину (лімфоцити-хелпери, моноцити, макрофаги та ін.), відбувається утворення за допомогою ферменту ревертази ДНК-копії геному вірусу й інтеграція цієї копії геному в геном клітини. Настає стан, що на рівні цілого організму одержав назву ВІЛ-інфікування. Такий стан може продовжуватися досить довго (місяці і роки), поки не відбувається функціональна активація ураженого лімфоцита. Активація клітини призводить до активації ДНК-копії «сплячого» геному ретровірусу. Ці процеси ведуть до порушення функції, а частіше до загибелі ураженої вірусом клітини. Все це призводить до порушення регуляції в імунній системі – захисній системі організму.

Настає стадія СНІД. Через певні проміжки часу (близько 7 років, іноді більше, але нерідко – менше) стан ВІЛ-інфікованості, що не виявляється клінічно, переходить у клінічно виражений синдром набутого імунодефіциту (СНІД). Організм ВІЛ-інфікованого на стадії СНІД стає вразливий для цілого ряду агентів, до яких не чутливий організм з нормально функціонуючою імунною системою.

У хворих у стадії СНІД виникає велика кількість різноманітних, так званих опортуністичних інфекцій (агентами, що їх викликають є такі, що звичайно не патогенні для осіб з нормально функціонуючою імунною системою) і злоякісних новоутворень (саркома Капоші, лімфоми). Спостерігається також ураження центральної нервової системи в зв'язку з тим, що вражаються клітини нейроглії.

ЛАБОРАТОРНА ДІАГНОСТИКА ВІЛ-ІНФЕКЦІЇ

Схема підготовки, проведення й обліку результатів **прямого імуноферментного аналізу (ІФА)** у осіб з підозрою на ВІЛ-інфекцію.

Етапи дослідження, що передують проведенню аналізу.

У плоскодонні лунки («плашки») полістиролового планшету підприємством-виготовлювачем внесені окремі білки вірусу ВІЛ, отримані за допомогою біотехнології. Тест-системи для ІФА, що використовують в присутній час, для діагностики ВІЛ безпечні. Після адсорбції на внутрішній поверхні полістиролових «плашок», останні ретельно промиваються забуференим фізіологічним розчином. Полістиролова поверхня має високу сорбцію до білків, тому додатково обробляється нейтральним білком (альбуміном), щоб екранувати ділянки полістиролової поверхні, які не зв'язалися з білками-антигенами ВІЛ. У такому вигляді тест-система готов до роботи.

ПРИНЦИП МЕТОДУ ІФА: якщо в сироватці обстежуваного містяться антитіла до білків-антигенів ВІЛ, вони специфічно й міцно зв'язуються з антигеном: **[ВІЛ Ag - Ab обстежуваного]**.

Додавання кон'югату «антитіла до глобулінів людини-пероксидаза» призводить до специфічного зв'язування противовидових антитіл кон'югату з антитілами (людськими глобулінами) обстежуваного, якщо такі були в сироватці, яка досліджувалась, і зв'язалися з ВІЛ-антигеном:

[ВІЛ Ag - Ab обстежуваного] – [антивидові Ab – пероксидаза].

Внесення субстрату – суміші перекису водню й ортофенілєндіаміну дозволяє виявити в «плашці» присутність ферменту пероксидази. При наявності пероксидази відбувається прискорене розкладання перекису водню, що на світлі викликає зміну кольору нейтрально-безбарвного ортофенілєндіаміну.

Зміна кольору ортофенілєндіаміну реєструється за допомогою фотоелектрокалориметра, який зв'язаний з комп'ютером. Комп'ютер співпоставляє екстинції, що отримані при дослідженні сироваток пацієнтів з екстинціями позитивних і негативних контролів. Потік світла перед тим, як потрапити у «віконце» фотоелектрокалориметру, проходить через «плашку» з досліджуваним матеріалом. Щоб уникнути оптичних переключень дно «плашки» пласке.

Постановка реакції прямого ІФА.

У «плашки» вносять сироватки обстежуваних з підозрою на ВІЛ/СНІД. Після годинного контакту в умовах термостатування, роблять перше промивання забуференим фізіологічним розчином з додаванням Твіну-80 (поверхнево-активна речовина). Задача промивання - вимити всі білки, що специфічно не зв'язалися із сорбованими на поверхні полістиролу білками-антигенами ВІЛ. Після видалення білків сироватки обстежуваного, що не зв'язалися, в плашки вводиться антивидова сироватка, що містить антитіла до глобулінів людини, кон'юговані з пероксидазою т.зв. «кон'югат». Контакт протягом однієї години в умовах термостатування. Друге ретельне промивання «плашок» забуференим фізіологічним розчином з Твіном-80. Після видалення промиваючого розчину, з яким вимивається весь «кон'югат», який не зв'язався, вносять безбарвний субстрат для пероксидази. Субстрат складається з ортофенілєндіаміну й перекису водню. Жовто-жовтогаряче забарвлення, яке з'являється в позитивному випадку, свідчить, що в сироватці досліджуваного пацієнта містяться антитіла до ВІЛ.

Схема підготовки, проведення й обліку результатів методом імуноблотінгу у осіб з підозрою на ВІЛ-інфекцію.

ПРИНЦИП МЕТОДУ ІМУНОБЛОТІНГУ

Проводиться фракціонування білків ВІЛ за допомогою електрофорезу в поліакриламідному гелі (ПААГ) в присутності додецилсульфату натрію (ДСН) з наступною імуноіндикацією білкових фракцій методом ІФА. Виявлення в сироватці особи, що обстежується, антитіл до білків ВІЛ на смужці нітроцелюлозної мембрани (НМ) здійснюється імуноферментним методом.

Підготовка тест-системи.

Суміш вірусних білків під дією постійного електричного струму в гелі (ПААГ) в зв'язку з різною молекулярною масою проходить різний за довжиною шлях – формуються т.зв. «треки білків». Місце розташування окремих білків по відношенню один до одного відомо. За допомогою електрофорезу «треки білків» переносять (передруковують) з пластини ПААГ на нітроцелюлозну мембрану. Білки ВІЛ, що розташовані у визначеній послідовності на нітроцелюлозній мембрані – це є тест система для постановки реакції імуноблотінгу.

Схема постановки реакції.

Для виявлення антитіл до білків ВІЛ у сироватці особи, яка обстежується, смужку нітроцелюлозної мембрани з «треками білків» занурюють у розчин сироватки обстежуваного. Якщо в сироватці є антитіла до білків-антигенів ВІЛ, безпосередньо на нітроцелюлозній мембрані, в місцях локалізації відповідних вірусних білків, утвориться комплекс антиген-антитіло: **[ВІЛ Ag - Ab особи, що обстежується]**.

Смужку нітроцелюлозної мембрани ретельно промивають і видаляють усі білки, що не зв'язалися.

Комплекси антиген-антитіло виявляють, занурюючи смужку нітроцелюлозної мембрани з «треками білків», до яких прикріпилися сироваткові антитіла, у розчин «кон'югату» - антивидової сироватки, антитіла якої з'єднані з пероксидазою:

[ВІЛ Ag - Ab особи, яку обстежують] – [антивидові Ab – пероксидаза].

Після контакту з розчином «кон'югату» смужку нітроцелюлозної мембрани ретельно промивають і видаляють частину «кон'югату», що не зв'язалася.

Після другого промивання смужку нітроцелюлозної мембрани з вірусними білками занурюють у суміш перекису водню й ортофенілендіаміну. В місцях приєднання до білків ВІЛ антитіл із сироватки особи, яку обстежують, і, до яких у свою чергу приєднався кон'югат «антивидові антитіла до глобулінів людини-пероксидаза», після контакту з перекисом водню й ортофенілендіаміном на світлі проступають забарвлені плями («блот»). Інтенсивність їх забарвлення залежить від кількості протівірусних антитіл в сироватці обстежуваної особи.

Облік проводиться при порівнянні забарвлення смуг, оброблених сироваткою хворого та позитивного (сироватка хворого на ВІЛ) й негативного (сироватка здорового) контролів.

У зв'язку з тим, що локалізація на смужці нітроцелюлозної мембрани білків ВІЛ відома, при постановці реакції імуноблотінгу виявляють не лише факт наявності антитіл до вірусних білків, але і специфічність антитіл – до яких антигенів наявні ці антитіла.

Особлива увагу звертають на забарвлення смуг, що відповідають локалізації білків віріонів ВІЛ - gp120, gp 41, p24.

При виконанні цього завдання студенти повинні порівняти результати дослідження методом імуноблотінгу сироваток крові ряду осіб, підозрілих на носійство ВІЛ чи СНІД, з відповідними даними, які отримані в сироватках осіб, із встановленим СНІД (позитивний контроль), і аналогічних досліджень, проведених із сироваткою здорової людини (негативний контроль).

ТЕМА №35: «Віруси грипу. Віруси, що викликають ОРВІ. Лабораторна діагностика грипу».

I. АКТУАЛЬНІСТЬ ТЕМИ

Грип - найпоширеніша вірусна інфекція людства. З грипозною інфекцією чи її наслідками (постгрипозними ускладненнями, обтяженням плин хронічних захворювань, так званою "надлишковою смертністю" як наслідком грипозної епідемії) доводиться зіштовхуватися лікарям усіх спеціальностей.

Гострі респіраторні вірусні інфекції - дуже розповсюджена група інфекційних захворювань, що подібні до грипу за клінікою, проте всі вони відрізняються за етіологією. Крім грипу, клініку гострих респіраторних захворювань може обумовлювати велика група вірусів (аденовіруси –більш 10 серотипів, віруси парагрипу 1-3 типів, респіраторно-синцитіальний вірус, реовіруси -3 серотипи, респіраторні коронавіруси, віруси Коксаки А й В, ЕКХО, герпесвіруси, риновіруси – більш 100 серотипів й ряд інших - усього близько 200 вірусів), а також мікоплазми пневмонії й ряд інших бактерій. Незважаючи на велику кількість збудників, найчастіше респіраторні захворювання вірусної природи викликають аденовіруси, віруси парагрипу і респіраторно-синцитіальний вірус. Частіше й у найбільш важкій клінічній формі цими інфекціями хворіють діти, особливо першого року життя.

В сумі грип і гострі респіраторні вірусні інфекції за показниками захворюваності займають перше місце у світі серед інфекційних захворювань.

Вміння, отримані при вивченні даної теми, допоможуть лікарю загально клінічного профілю правильно вибрати матеріал для обстеження, метод діагностики, оцінити результати лабораторної діагностики, і підібрати препарати, що призначені для специфічної профілактики і лікування.

2. МЕТА НАВЧАННЯ

Загальна мета. Вміти призначити й оцінити результати вірусологічного, серологічного й експрес - методів досліджень для діагностики, вибрати препарати для етіотропного лікування і специфічної профілактики грипу, ГРВЗ.

Конкретні цілі:

Вміти:

1.Вибрати відповідний (вірусологічний, серологічний чи експрес-методи) метод дослідження для діагностики грипу, відібрати й організувати доставку матеріалу.

2.Інтерпретувати результати вірусологічного методу діагностики грипу.

3.Оцінити результати експрес - і серологічних досліджень при діагностиці грипу та ГРВЗ.

4.Призначити препарати, які використовуються для специфічної профілактики і лікування грипу.

3.ОСНОВНІ ТЕОРЕТИЧНІ ПИТАННЯ, ЩО БУДУТЬ РОЗГЛЯНУТІ ПРИ ВИВЧЕННІ ДАНОЇ ТЕМИ.

До конкретної мети 1. (Вибрати відповідний метод дослідження для діагностики грипу та ГРВІ, відібрати й організувати доставку матеріалу).

1.Систематичне положення вірусів - збудників ГРВІ (аденовіруси, параміксовіруси, риновіруси, реовіруси, реовіруси, коронавіруси).

До конкретної мети 2. (Інтерпретувати результати вірусологічного методу діагностики грипу та ГРВІ).

2. Культуральні властивості вірусів грипу, вірусологічна діагностика грипу.

3. Вірусологічна діагностика збудників ГРВІ.

До конкретної мети 3. (Оцінити результати експрес - і серологічних досліджень при діагностиці грипу та ГРВІ).

4. Серологічний метод діагностики – РЗК, РПГА, РГГА.

5. Експрес-методи діагностики: РІФ (МФА), ІФА, РЗПГА.

До конкретної мети 4. (Призначити препарати, які використовуються для специфічної профілактики і лікування грипу, ГРВІ).

6. Патогенез грипозної інфекції на рівні клітини і перспективи хіміотерапії грипу.

7. Особливості епідеміології грипозної інфекції – роль поверхневих антигенів гемаглютиніну й нейрамінідази, популяційного імунітету, мінливості вірусів (антигенний шифт і дрейф).

8. Специфічна профілактика грипозної інфекції.

4. ЗМІСТ НАВЧАННЯ

Джерела інформації

Література, що рекомендується:

1. Гайдаш І.С., Флегонтова В.В. Медична Вірологія.- Луганськ, 2002.-С. 170-175, 219-220, 228-242, 252-266, 309-311.

2. Пяткін К.Д., Кривошеїн Ю.С. Мікробіологія з вірусологією та імунологією.- Київ: Вища школа, 1992.-С. 351-354, 354-357, 370, 381-382.

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

4. 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.

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

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

7. Лекція.

8. Стенд у навчальному музеї кафедри.

Додаткова література

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

2. Посібник з медичної вірусології/За редакцією В.М.Гіріна.- Київ: Здоров'я, 1995.-С.222-232, 232-236, 242-256.

При роботі з підручниками користуйтеся графом логічної структури до даної теми. Якщо в процесі самопідготовки у Вас виникнуть питання, запишіть їх і з'ясуйте на початку заняття з викладачем.

5.ОРІЄНТОВНА ОСНОВА ДІЇ

Протокол практичного заняття з теми: «Грип. Лабораторна діагностика грипу та ГРВІ».

- 1.Розібрали особливості вірусологічної діагностики грипу – методами індикації (РГА) і ідентифікації (РГГА). Поставили РГГА з алантоїсною рідиною з метою ідентифікації вірусу грипу.
- 2.Вивчили серологічний метод діагностики грипу (РЗК, РПГА, РГГА), принцип дослідження сироватки в динаміці («парні сироватки»), оцінку результатів серологічної діагностики (4-х кратний приріст антитіл). Провели оцінку результатів серологічної діагностики грипу за допомогою РГГА (демонстрація).
- 3.Вивчили експрес-методи діагностики грипу та ГРВІ: РІФ (МФА), ІФА, РЗПГА за стендом учбового музею).
- 4.Заповнили схему лабораторної діагностики грипової інфекції в навчальному посібнику.
- 5.Ознайомилися з біологічними препаратами, що використовуються для специфічної профілактики, діагностики і лікування грипової інфекції.

Для реалізації поставленої мети і засвоєння навчального матеріалу вирішіть задачі №№ 207, 210, №211 із збірника «Задання для самостійної роботи студентів по курсу общей и специальной микробиологии» і задачі №№. 146 – 148, 160-161 з посібника „Завдання для самостійної роботи студентам вищих медичних закладів освіти III –IV рівня акредитації”.)

Завдання для перевірки досягнення конкретних цілей навчання

До питання 1. Систематичне положення вірусів - збудників ГРВІ (аденовіруси, параміксовіруси, риновіруси, реовіруси, коронавіруси).

Тест 1

У населеному пункті Н. у січні місяці зареєстрований епідемічний підйом захворювань, що клінічно діагностуються, як ГРВІ. Для з'ясування й уточнення етіології захворювань було вирішено провести ряд досліджень. Які віруси могли викликати захворювання, що клінічно діагностуються, як ГРВІ?

- А Ретровіруси
- В.Вірус паротиту
- С.Віруси поліомієліту
- Д.Вірус сказу
- Е.Вірус кліщового енцефаліту

До питання 2 .Культуральні властивості вірусів грипу, вірусологічна діагностика грипу.

Тест 2

Хворий М., що занедужав напередодні (занедужав гостро), госпіталізований в інфекційне відділення. У хворого висока температура (38,8 – 39,0° С), сильний головний біль, ломота в суглобах, нежить. Черговий лікар поставив діагноз "грип"? Які з цих методів можна застосувати на даній стадії захворювання у хворого?

- А.Вірусологічний (ізоляція вірусу)

- В. Експрес-метод (ІФА, виявлення Іg - антитіл)
- С.Алергологічний (РБТЛ, виявлення сенсibiliзації)
- Д.Алергологічний (внутрішньокірнa проба, виявлення сенсibiliзації)
- Е.Експрес метод (непряма РІФ, виявлення антитіл)

До питання 3. Вірусологічна діагностика збудників ГРВІ.

Тест 3

У населеному пункті Н. 15 січня зареєстровано епідемічний підйом захворювань, що клінічно діагностуються, як ГРВІ. Для з'ясування й уточнення етіології захворювань **на другий день після реєстрації епідемічного підйому** було вирішено провести ряд досліджень. Які методи лабораторної діагностики доцільно використовувати для розшифровки етіології ГРВІ у мешканців даного населеного пункту?

- А.Мікроскопічний (ріноцитоскопія)
- В.Імуноелектронна мікроскопія
- С.Електронномікроскопічний.
- Д.Серологічний (виявлення 4-х кратного наростання титру антитіл).
- Е.Вірусологічний

До питання 4. Серологічний метод діагностики – РЗК, РПГА, РГГА.

Тест 4

Хворий М., що занедужав напередодні (занедужав гостро), госпіталізований в інфекційне відділення. У хворого висока температура (38,8 – 39,0° С), озноб, сильний головний біль, ломота в суглобах, нежить. Черговий лікар поставив діагноз "грип"? Чому не можна використовувати для діагностики захворювання у даного хворого на момент надходження серологічний метод?

- А.Ще не виробилися антитіла, хворіє тільки другу добу
- В.Необхідно виявити 2-х кратний приріст антитіл
- С.Необхідно виявити 4-х кратний приріст антитіл
- Д.Вірогідним буде визначення титрів антитіл у динаміці
- Е.У перший день захворювання не була відібрана сироватка

До питання 5. Експрес-методи діагностики: РІФ (МФА), ІФА, РЗПГА.

Тест 5

У населеному пункті Н. наприкінці січня зареєстрований епідемічний підйом захворювань, що клінічно діагностуються, як ГРВІ. Для з'ясування й уточнення етіології захворювань на початку лютого було вирішено провести ряд досліджень. Які методи лабораторної діагностики доцільно використовувати для розшифровки етіології ГРВІ у мешканців даного населеного пункту для оперативного планування епідемічних заходів?

- А.Мікроскопічний (ріноцитоскопія).
- В.Експрес – метод (імунофлюоресцентний, імуноферментний).
- С.Електронномікроскопічний.
- Д.Серологічний (виявлення 4-х кратного наростання титру антитіл).
- Е.Вірусологічний.

До питання 6. Патогенез грипозної інфекції на рівні клітини і перспективи хіміотерапії грипу.

Тест 6

Для лікування хворого з клінікою грипу лікар призначив йому прийом хіміотерапевтичного препарату, що зможе призупинити ураження клітин вірусом грипу на ранньому етапі інфекції. Який препарат має подібну дію?

- A. Ремантадин.
- B. Ацикловір.
- C. Інтерферон
- D. Аскорбінова кислота.
- E. Мефенамінова кислота.

До питання 7. Особливості епідеміології грипозної інфекції – роль поверхневих антигенів гемаглютиніну й нейрамінідази, популяційного імунітету, мінливості вірусів (антигенний шифт і дрейф).

Тест 7

Від осіб із клінікою респіраторної інфекції – жителів південно-східної Азії був ізольований вірус грипу із значно зміненими поверхневими глікопротеїдами – гемаглютиніном і нейрамінідазою. Співробітники лабораторії розцінили даний вірус як вірус з пандемічними потенціями. У результаті якого процесу міг утворитися даний антигенний варіант вірусу грипу?

- A. Антигенного шифту.
- Антигенного дрейфу.
- C. Кон'югації.
- D. Трансдукції.
- E. Трансформації.

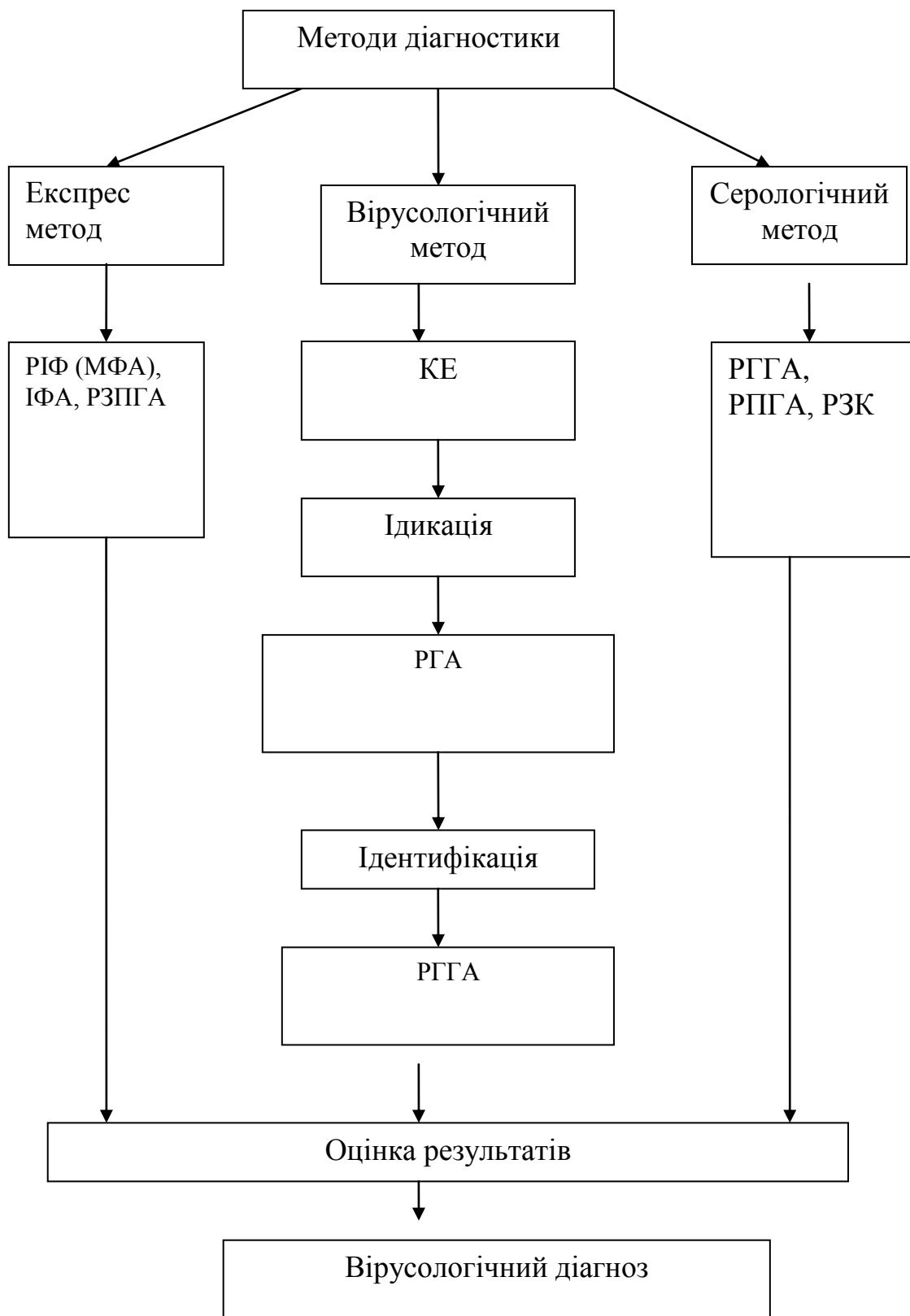
До питання 8. Специфічна профілактика грипозної інфекції.

Тест 8

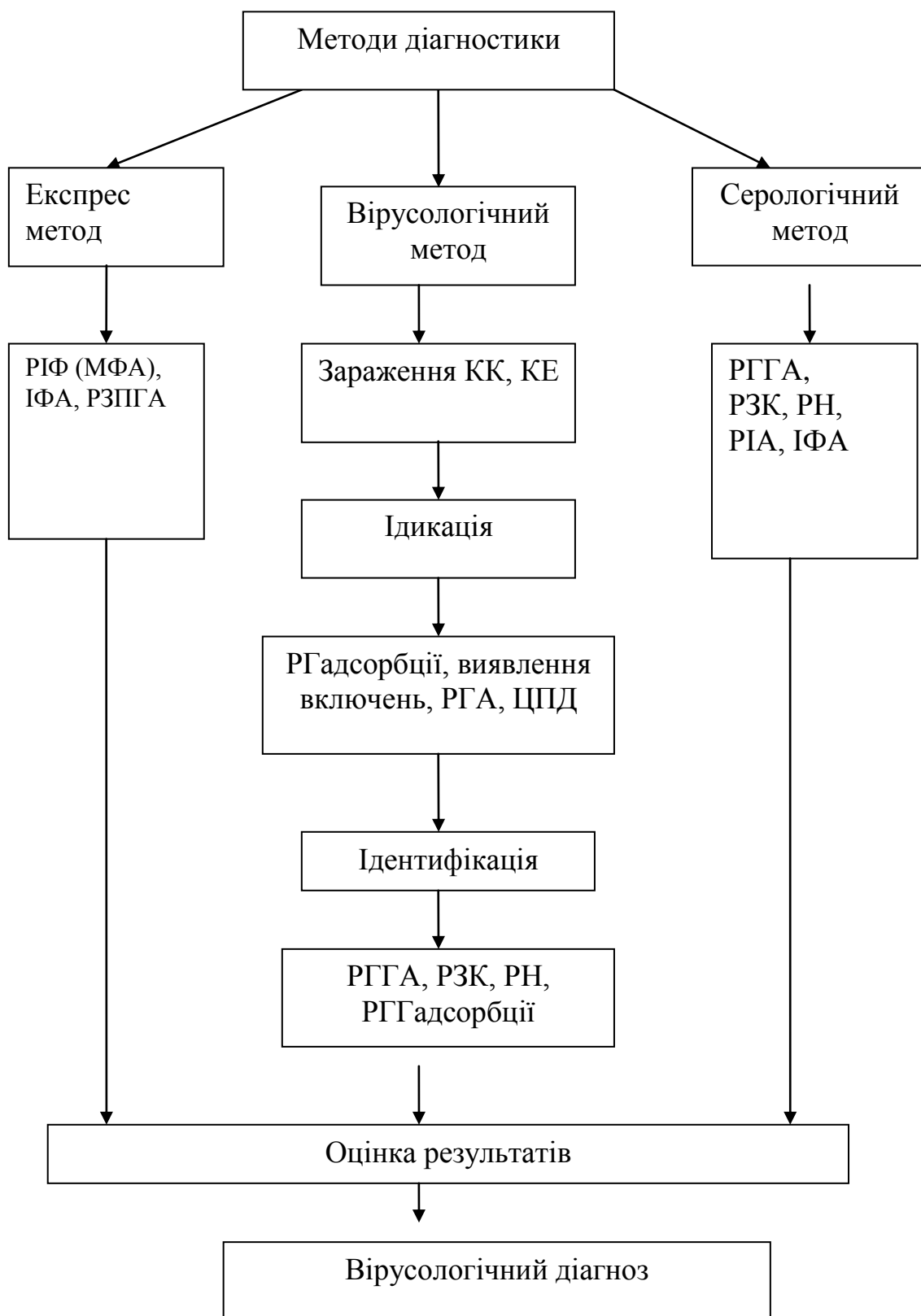
У закритому дитячому колективі планується з метою профілактики грипозної інфекції провести вакцинацію з метою виключити (знизити) циркуляцію вірусів грипу серед членів колективу. Який вид імунного захисту має найбільше ймовірно знизити циркуляцію вірусів грипу серед членів колективу?

- A. Місцевий імунітет слизової носоглотки (IgA- антитіла).
- B. Циркулюючі антитіла в крові (IgM- і IgG-антитіла).
- C. Мігруючі макрофаги в легеневій тканині.
- D. Цитотоксичні лімфоцити (Т- цтк у селезінці)
- E. Природні кілери.

ГРАФ ЛОГІЧНОЇ СТРУКТУРИ ДО ТЕМИ: «Грип. Лабораторна діагностика грипу».



ГРАФ ЛОГІЧНОЇ СТРУКТУРИ ДО ТЕМИ: «Гострі респіраторні вірусні інфекції (ГРВІ). Лабораторна діагностика ГРВІ»



МЕТОДИКА ПРОВЕДЕННЯ ЗАНЯТТЯ

Заняття практичне. На початку заняття викладач проводить перевірку і корекцію рівня підготовки студентів до заняття. За запропонованою схемою записується протокол. Студенти виконують самостійну роботу з постановки РГГА з метою серологічної діагностики парагрипозної інфекції, мікроскопіюють препарати культури клітин із ЦПД і феноменом гемадсорбції, знайомляться з препаратами, призначеними для діагностики ГРВІ, оформлюють протокол. У ході заняття студенти вирішують ситуаційні задачі з посібника „Завдання для самостійної роботи студентам вищих медичних закладів освіти III –I рівня акредитації” та із збірника «Задания для самостоятельной работы студентов по курсу общей и специальной микробиологии». заповнюють схему лабораторної діагностики ГРВІ, що є в посібнику. Закінчується заняття підсумковим тестовим контролем.

ТЕМА №36: «Рабдовіруси. Лабораторна діагностика сказу. Тогавіруси. Лабораторна діагностика кліщового енцефаліту»

1.АКТУАЛЬНІСТЬ ТЕМИ:

Рабдовіруси одержали свою назву у зв'язку зі своєю кулеподібною (прутоподібною) формою. У патології людини грають роль представники родини, що викликають захворювання у теплокровних тварин і передаються через переносників чи без них. Особливе місце займають представники роду *Lyssavirus* (від грецького *lyssa*-водобоязнь), до яких відносяться віруси сказу (вуличний і фіксований) вірус дикування (арктичного сказу у песців), вірус сказу кажанів та інші. Вірус сказу викликає в людини гостру інфекцію. Людині захворювання передається від тварин. При укусах хворих тварин, через ушкоджені шкірні покриви вірус сказу зі слиною попадає в м'які тканини. Можлива передача інфекції при «ослиненні» слизових оболонок. В Україні джерелом зараження людей були червоні лиси (у 50% випадків), кішки (32%), собаки (9%). Захворювання абсолютно смертельне і констатація в людини типової клінічної картини сказу фактично є вироком. У літературі в відношенні до людини це захворювання прийнято називати гідрофобією (водобоязню).

Арбовіруси - це велика група вірусів, поєднаних на основі екологічного принципу - здатності розмножуватися в організмі членистоногих – кровососів та при кровососні інфікувати організм хребетних хазяїв.

Серед інфекцій арбовірусної етіології кліщовий енцефаліт (синоніми – весняно-літній, російський кліщовий енцефаліт) має найбільше значення, як за поширеністю захворюваності, так і за важкістю плин. Виділення вірусу і спорадичні випадки захворювання описані в Україні. Після проведеної широкої вакцино-профілактики серед населення в природних вогнищах захворюваність різко зменшилася, але поодинокі випадки ще реєструються.

2.МЕТА НАВЧАННЯ

Загальна мета. Вміти використовувати результати лабораторної діагностики для підтвердження діагнозу і вибору препаратів для профілактики сказу та кліщового енцефаліту.

Конкретні цілі:

Вміти

- 1.Взяти матеріал для дослідження.
- 2.Інтерпретувати результати діагностики.
- 3.Правильно вибрати препарати для специфічної профілактики сказу в залежності від даних анамнезу та препарати для специфічної профілактики і лікування кліщового енцефаліту.

3 ОСНОВНІ ТЕОРЕТИЧНІ ПИТАННЯ, РОЗГЛЯНУТІ ПРИ ВИВЧЕННІ ДАНОЇ ТЕМИ:

До конкретної мети 1. (Взяти матеріал для дослідження).

- 1.Основні біологічні властивості рабдовирусів і їх класифікація.
- 2.Фіксований і вуличний віруси сказу, їхні відмінні властивості.
- 3.Патогенез сказу.
- 4.Джерело інфекції, механізм зараження, патогенез і клінічні прояви арбовірусних інфекцій на прикладі весняно-літнього кліщового енцефаліту і жовтої лихоманки.

До конкретної мети 2. (Інтерпретувати результати діагностики).

- 5.Особливості лабораторної діагностики сказу.
- 6.Лабораторна діагностика арбовірусних інфекцій на прикладі діагностики весняно-літнього кліщового енцефаліту.

До конкретної мети 3. (Правильно вибрати препарати для специфічної профілактики сказу, в залежності від даних анамнезу, специфічної профілактики і лікування кліщового енцефаліту).

- 7.Препарати, які використовують для профілактики сказу, профілактики і лікування кліщового енцефаліту.

4. ЗМІСТ НАВЧАННЯ

Джерела інформації

Література, що рекомендується:

- 1.Гайдаш І.С., Флегонтова В.В. Медична Вірологія.- Луганськ, 2002.-С. 243 - 250, 312-316.
2. Пяткін К.Д., Кривошеїн Ю.С. Мікробіологія з вірусологією та імунологією.- Київ: Вища школа, 1992.-С. 360-363, 371-376.
- 3.Букринская А.Г.. Вирусология. - М.: Медицина, 1986. - С. 240-253, 288-294.
- 4.Коротяев А.И., Бабичев С.А. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология.-Санкт-Петербург: Специальная литература,1998.-С. 240-253, 312-315.
- 5.Поздеев О.К. Медицинская микробиология: Москва: ГЭОТАР-Мед, 2001.-С. 476-480, 486-488.
- 6.Руководство к практическим занятиям по медицинской микробиологии и лабораторной диагностике инфекционных болезней/Под ред. Проф. Ю.С.Кривошеина. -Киев:Вища школа, 1986.-С. 232 – 238, 248 – 249.
- 7.Лекція.

8.Стенд у навчальному музеї кафедри.

Додаткова література

- 1.Фролов А.Ф., Шевченко Л.Ф., Широбоков В.П. Практическая вирусология. - Киев: Здоров'я, 1989. - С. 156 – 161, 172 - 176.
- 2.Общая и частная вирусология. Т.2. /Под. ред. В.М. Жданова.- М.: Медицина, 1982. - С. 49 – 92, 220 – 239.
- 3.Посібник з медичної вірусології/За редакцією В.М.Гиріна.- Київ: Здоров'я,1995.-С.267-281.

При роботі з підручниками користуйтеся графами логічної структури до даної теми. Якщо в процесі самопідготовки у Вас виникнуть питання, запишіть їх і з'ясуйте на початку заняття з викладачем.

5.ОРІЄНТОВНА ОСНОВА ДІЇ.

Протокол практичного заняття за темою «Рабдовіруси. Лабораторна діагностика сказу. Тогавіруси. Лабораторна діагностика кліщового енцефаліту.»

- 1.Ознайомилися з будовою вірусу сказу. Замалювали включення Бабеша-Негрі.
- 2.Вивчили методи лабораторної діагностики сказу (за стендом учбового музею).
- 3.Вивчили методи лабораторної діагностики кліщового енцефаліту, заповнили схему лабораторної діагностики в учбовому посібнику.
- 4.Поставили реакцію РГГА з метою індикації вірусу кліщового енцефаліту.
- 5.Вивчили препарати, які використовуються для специфічної профілактики кліщового енцефаліту та сказу.

Для засвоєння навчального матеріалу вирішіть задачі №№ 150 -152 із посібника „Завдання для самостійної роботи студентам вищих медичних закладів освіти III –IV рівня акредитації”.

Завдання для перевірки досягнення конкретних цілей навчання

До питання 1.Основні біологічні властивості рабдовірусів і їх класифікація.

Тест 1

При електронній мікроскопії досліджуваного матеріалу знайдені середні за розміром (150 нм) віруси кульоподібної форми, складні за будовою. Яка це може бути родина вірусів?

- A. Picornaviridae
- B. Poxviridae
- C. Rhabdoviridae
- D. Retroviridae
- E. Ortomyxoviridae

До питання 2. Фіксований і вуличний віруси сказу, їхні відмінні властивості.

Тест 2

У 1885 р. шляхом 133 послідовних заражень кроликів в мозок були змінені властивості збудника сказу; вірус став нешкідливим для людини і здатним попереджати розвиток хвороби при введенні його особам, що були вкушені скаженими тваринами. Яку назву отримав даний препарат?

- A. Вуличний вірус сказу
- B. Фіксований вірус сказу
- C. Атенуйований вірус
- D. Вакцинальний вірус Селімова
- E. Вакцинальний вірус Фермі

До питання 3. Патогенез сказу.

Тест 3

У санепідстанцію (СЕС) надійшло екстрене повідомлення від лікаря травматологічного пункту, у якому повідомлялося, що по медичну допомогу звернувся потерпілий після нападу безпритульного собаки. Потерпілий припускає, що тварина могла бути скаженою. Яким чином тварина могла заразитися сказом?

- A. При укусі хворої тварини.
- B. При укусі кліщів від хворої тварини.
- C. При розчісуванні місць укусів від комах.
- D. При користуванні загальною поїлкою.
- E. При попаданні слини хворої тварини на підлогу.

До питання 4. Джерело інфекції, механізм зараження, патогенез і клінічні прояви арбовірусних інфекцій на прикладі весняно-літнього кліщового енцефаліту і жовтої лихоманки.

Тест 4

На початку вересня студент медінституту, що три тижні тому повернувся з подорожі по гірському Алтаю, був госпіталізований з діагнозом «кліщовий енцефаліт». Яким шляхом міг заразитися даний хворий?

- A. Повітряно-краплинним шляхом при спілкуванні.
- B. Повітряно-пиловим при вдиханні висохлих випорожнень кліщів.
- C. Аліментарним при вживанні в їжу місцевих харчів (овочів, фруктів)
- D. Трансмівним при укусі кліщів
- E. Трансмівним при укусі комарів, гедзів.

До питання 5. Особливості лабораторної діагностики сказу.

Тест 5

При посмертній діагностиці в мозковій тканині хворого, що загинув при типовій клінічній картині гідрофобії, виявили специфічні вірусні включення. Які включення можуть бути виявлені в мозковій тканині даного хворого?

- A. Тільця Каудрі.

- В.Тільця Бабеша-Негрі.
- С.Включення Гварнієрі.
- Д.Елементарні тільця Пашена.
- Е.Тільця Ліпшютца.

До питання 6. Лабораторна діагностика арбовірусних інфекцій на прикладі діагностики весняно-літнього кліщового енцефаліту.

Тест 6

На початку вересня студент медінституту, що три тижні тому повернувся з подорожі по гірському Алтаю, був госпіталізований з діагнозом «кліщовий енцефаліт». Який матеріал необхідно використовувати для експрес діагностики у даного хворого?

- А.Сироватки для виявлення ІgМ-антитіл.
- В.Сироватки для виявлення ІgА -антитіл.
- С.Спинномозкову рідину для виявлення ІgА -антитіл.
- Д.Спинномозкову рідину для виявлення вірусного антигену.
- Е. Сироватки для виявлення вірусного антигену

До питання 7. Препарати, які використовують для профілактики сказу, профілактики і лікування кліщового енцефаліту.

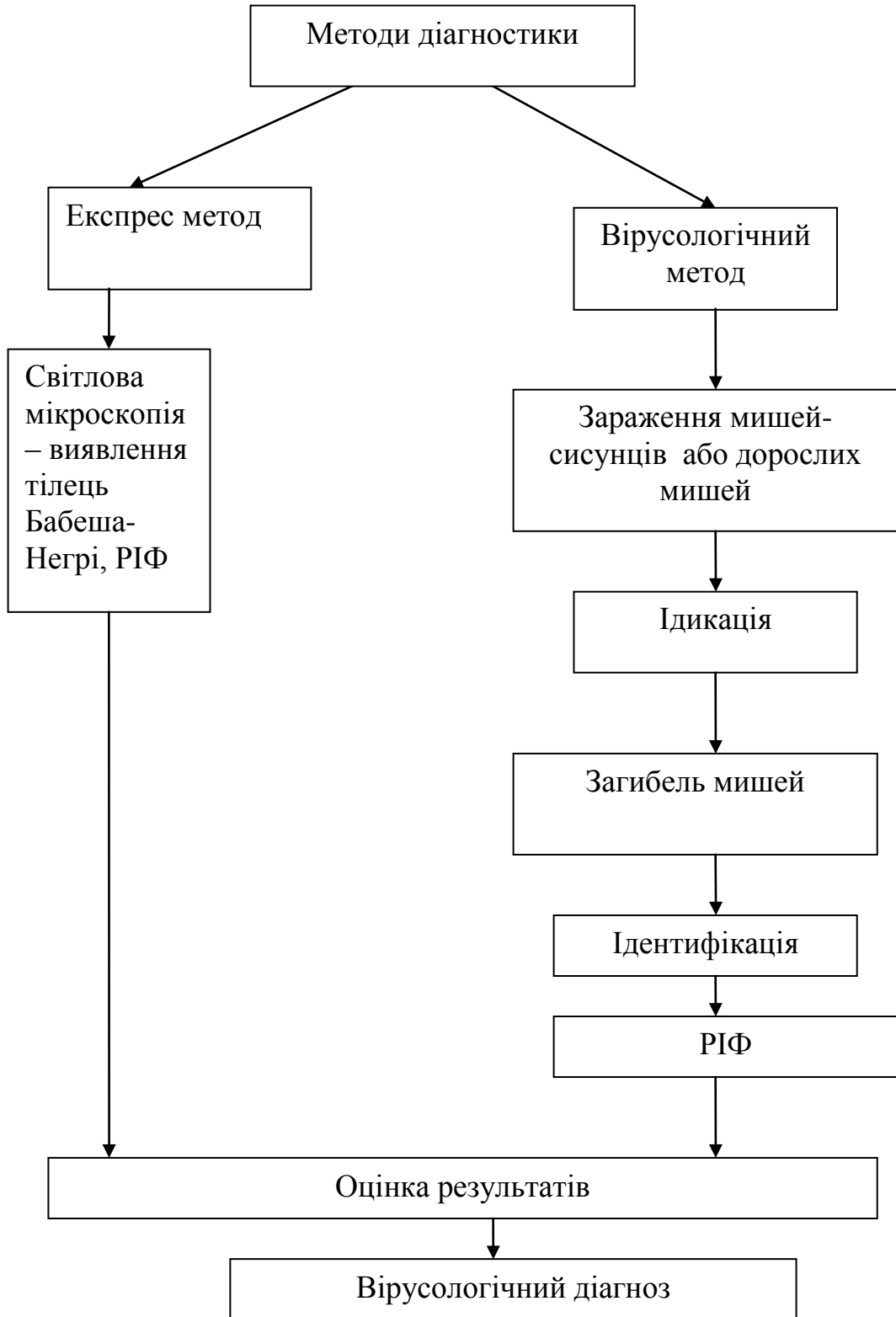
Тест 7

У хірургічний кабінет звернувся потерпілий, якого вкусив невідомий собака. При огляді потерпілого лікар констатував великі рвані рани обличчя, ніг. Яку лікувально-профілактичну допомогу необхідно надати потерпілому для запобігання захворювання сказом/гідрофобією?

- А.Зробити первинну хірургічну обробку рани.
- В.Ввести правцевий анатоксин.
- С.Ввести вакцину АКДС.
- Д.Ввести антирабійний γ -глобулін.
- Е.Ввести нормальний (плацентарний) γ -глобулін.

ГРАФ ЛОГІЧНОЇ СТРУКТУРИ ДО РОЗДІЛУ ТЕМИ: «Рабдовіруси.

Лабораторна діагностика сказу»



ІНСТРУКЦІЯ З ПРОВЕДЕННЯ ІНДИКАЦІЇ ВІРУСУ КЛІЩОВОГО ЕНЦЕФАЛІТУ У КУЛЬТУРАЛЬНІЙ РІДИНІ

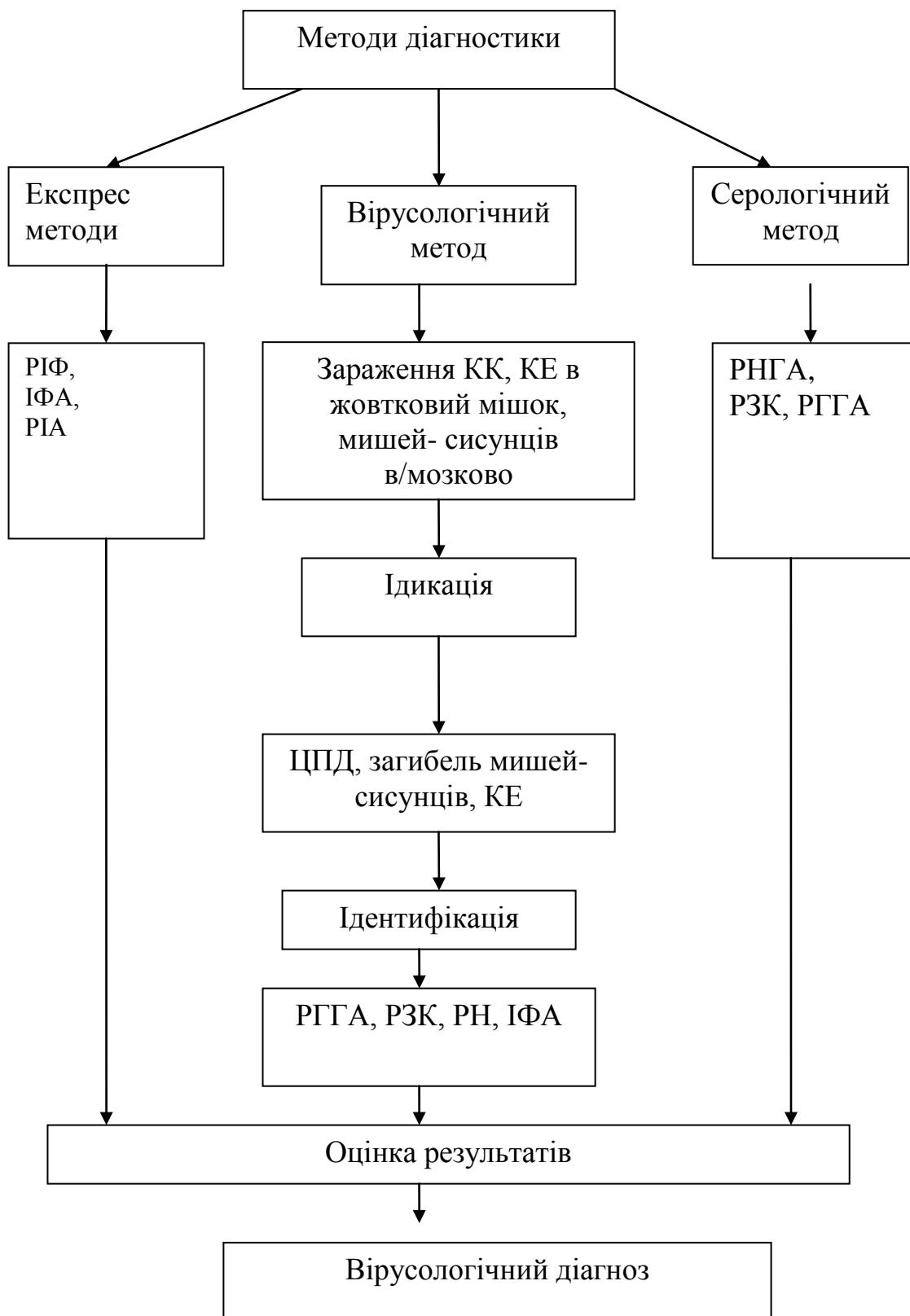
Оснащення заняття

1. 1,0 мл культуральної рідини в пеніциліновому флаконі.
2. 1 % завесь гусячих еритроцитів.
3. Плексиглазова панель з U-подібними лунками.
4. 1,0 і 2,0 мл –мірні піпетки без шкідливого простору.
5. Стерильний фізіологічний розчин на ФСБ із рН 6,8-7,2.

ХІД РОБОТИ

Візьміть 0,4 мл культуральної рідини, отриманої при зараженні культури клітин матеріалом для дослідження, взятим від хворого з підозрою на кліщовий енцефаліт і внесіть у лунку плексиглазової панелі. В іншу лунку внесіть рівний об'єм стерильного фізіологічного розчину. Іншою піпеткою в обидві лунки внесіть по 0,4 мл 1% суспензії гусячих еритроцитів. Струсніть і залишіть стояти на 40 хвилин при кімнатній температурі. Врахуйте реакцію. Результати занесіть до протоколу.

ГРАФ ЛОГІЧНОЇ СТРУКТУРИ ДО РОЗДІЛУ ТЕМИ: «Арбовіруси.
Лабораторна діагностика кліщового енцефаліту».



МЕТОДИКА ПРОВЕДЕННЯ ЗАНЯТТЯ

Заняття практичне. На початку заняття викладач проводить перевірку і корекцію рівня підготовки студентів до заняття. За запропонованою схемою записується протокол. Студенти виконують самостійну роботу з індикації вірусу кліщового енцефаліту в культуральній рідині, знайомляться з препаратами, призначеними для специфічної активної і пасивної профілактики захворювання, оформлюють протокол. У ході заняття студенти вирішують ситуаційні задачі з посібника „Завдання для самостійної роботи студентів вищих медичних закладів освіти III – IV рівня акредитації”, заповнюють схеми лабораторної діагностики арбовірусних інфекцій, що є в посібнику. Закінчується заняття підсумковим тестовим контролем.

Тема № 37: «Герпесвіруси. Лабораторна діагностика герпесвірусних інфекцій»

I. АКТУАЛЬНІСТЬ ТЕМИ.

На посутній момент описано 8 вірусів цієї родини що викликають різну патологію у людини: віруси простого герпеса I і II типів (ВПГ), вірус вітряної віспи, віспи-оперізуючого лишая, цитомегаловіруси (ЦМВ) людини, вірус Епштейн-Барр, герпесвіруси людські 6, 7 і 8 типів.

Представникам родини герпесвірусів притаманні: убіквітарність поширення, схильність до латенції, здатність передаватися горизонтально й вертикально (від матері до плоду), у тому числі через біоматеріали (кров, продукти її переробки, тканини й органи). З більшістю герпес-вірусів людина зіштовхується на самому початку життя.

Типовим представником цієї родини є вірус-Herpes simplex чи ВПГ типу I, до якого за морфологічними, антигенними і фізико-хімічними властивостями є близьким ВПГ II –типу.

Лікаряю необхідні знання про віруси, що входять у дану родину, знання про захворювання, що вони викликають, з метою організації правильного добору матеріалу для лабораторної діагностики, підтвердження діагнозу й призначення ефективних методів лікування та профілактики рецидивів.

2. МЕТА НАВЧАННЯ.

Загальна мета. Вміти призначити лабораторну діагностику захворювань, викликаних герпесвірусами, інтерпретувати отримані результати і вибрати препарати для профілактики і лікування герпесвірусних інфекцій.

Конкретні цілі:

Вміти

1.Правильно провести добір матеріалу для дослідження при різних патології, що обумовлена вірусами родини герпесу.

2.Вибирати методи лабораторної діагностики, в залежності від варіантів ураження й стадії захворювань, і інтерпретувати результати діагностики.

3.Правильно вибрати препарати для специфічної профілактики і лікування герпетичної інфекції.

3. ОСНОВНІ ТЕОРЕТИЧНІ ПИТАННЯ, ЩО РОЗГЛЯНУТІ ПРИ ВИВЧЕННІ ДАНОЇ ТЕМИ:

До конкретної мети 1.(Правильно провести відбір досліджуваного матеріалу при різній патології, що обумовлена вірусами родини герпесу).

1.Загальна характеристика і класифікація вірусів родини герпесу.

2.Джерело інфекції, механізм зараження, патогенез і клінічні прояви захворювань, викликаних ВПГ.

3.Принципи забору матеріалу для лабораторної діагностики.

До конкретної мети 2. (Вибирати методи лабораторної діагностики в залежності від варіантів ураження і стадії захворювання і інтерпретувати результати діагностики).

4.Лабораторна діагностика герпесвірусних інфекцій на прикладі діагностики захворювань, що викликані ВПГ.

До конкретної мети 3. (Правильно вибрати препарати для специфічної профілактики і лікування герпетичних інфекцій).

5.Вірусологічні принципи специфічної профілактики і лікування герпесвірусних захворювань.

4. ЗМІСТ НАВЧАННЯ

Джерела інформації

Література, що рекомендується:

- 1.Гайдаш І.С., Флегонтова В.В. Медична Вірологія.- Луганськ, 2002.-С.150-169.
2. Пяткін К.Д., Кривошеїн Ю.С. Мікробіологія з вірусологією та імунологією. - Київ: Вища школа, 1992.-С. 339-345.
- 3.Букринская А.Г.. Вирусология. - М.: Медицина, 1986. - С.198-209.
- 4.Коротяев А.И., Бабичев С.А. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология.-Санкт-Петербург: Специальная литература,1998.-С.294-299.
5. Поздеев О.К. Медицинская микробиология: Москва: ГЭОТАР-Мед, 2001.-С. 466-471.
- 6.Руководство к практическим занятиям по медицинской микробиологии и лабораторной диагностике инфекционных болезней/ Под ред. Проф. Ю.С.Кривошеина. -Київ:Вища школа, 1986.-С.225 – 232.
7. Лекція.
8. Стенд у навчальному музеї кафедри.

Додаткова література

- 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.Посібник з медичної вірусології/За редакцією В.М.Гиріна.-Київ: Здоров'я,1995.-С.256-266.

При роботі з підручниками користуйтеся графом логічної структури до даної теми. Якщо в процесі самопідготовки у Вас виникнуть питання, запишіть їх і з'ясуйте на початку заняття з викладачем.

5.ОРІЄНТОВНА ОСНОВА ДІЇ.

Протокол практичного заняття за темою «Герпесвіруси. Лабораторна діагностика герпесвірусних інфекцій».

- 1.Вивчили методи лабораторної діагностики захворювань, викликаних ВПГ (за стендом учбового музею).
- 2.Поставили РЗК з метою ідентифікації вірусу, що був ізольований від хворого герпетичним кератитом.
- 3.Заповнили схему лабораторної діагностики захворювань, викликаних ВПГ у навчальному посібнику.
- 4.Вивчили препарати, що використовують для специфічної профілактики і лікування захворювань, викликаних ВПГ (за стендом учбового музею).

ІНСТРУКЦІЯ З ПРОВЕДЕННЯ ІДЕНТИФІКАЦІЇ ЦИТОПАТОГЕННОГО АГЕНТУ (ВІРУСУ ПРОСТОГО ГЕРПЕСУ) У РЕАКЦІЇ ЗВ'ЯЗУВАННЯ КОМПЛЕМЕНТУ (РЗК)

Оснащення заняття

- 1.Пеніциліновий флакон з культуральною рідиною, що містить ЦПА (ВПГ).
- 2.Діагностична герпетична сироватка.
- 3.Комплемент.
- 4.1 % завись баранячих еритроцитів.
- 5.Гемолітична сироватка.
- 6.Герпетичний антиген (контроль).
- 7.1,0 мл, 2,0 мл і 5,0 мл –мірні піпетки без шкідливого простору.
- 8.Стерильний фізіологічний розчин на ФСБ із рН 6,8-7,2.
- 9.Пробірки бактеріологічні.

ХІД РОБОТИ

Внести в пробірки інгредієнти по 0,5 мл, згідно схеми (табл.1):.

- 1.Спочатку вносяться ЦПА (1 та 4 пробірки), контрольний діагностикум (2-а пробірка) і культуральна рідина (3 пробірка).
- 2.Внести діагностичну сироватку у 1, 2, 3 і 5 пробірки.
- 3.Внести фізіологічний розчин у 4 і 5 пробірки.
- 4.В усі пробірки вносять комплемент.
- 5.Приготувати гемолітичну систему - з'єднати рівні об'єми 1% суспензії баранячих еритроцитів і гемолітичної системи.
- 6.Внести гемолітичну систему по 1,0 мл у кожену з пробірок.

Таблиця 1.Схема постановки РЗК для ідентифікації ВПГ.

№	Реагенти	Номер пробірки				
		1	2	3	4	5
1.	ЦПА	0,5			0,5	
2.	Контрольний антиген (герпетичний діагностикум)		0,5			
3.	Культуральна рідина			0,5		
4.	Діагностична сироватка	0,5	0,5	0,5		0,5
5.	Фізіологічний розчин				0,5	0,5
6.	Комплемент	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
7.	Гемолітична система	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
8.	Облік					

Завдання для перевірки досягнення конкретних цілей навчання

До питання 1. Загальна характеристика і класифікація вірусів родини герпесу.

Тест 1

До лікаря привели дитину трьох років. Дитина скаржиться на біль у роті, відмовляється від їжі, температура підвищена. При огляді на слизовий губ виявлені тріщини, на – слизовий оболонці щік і ясен - виразки, слина грузла, відзначається неприємний запах з рота. Лікар припустив, що в дитини герпетичний стоматит. Які віруси із родини герпесвірусів можуть викликати дане захворювання?

- A. Вірус простого герпесу (ВПГ-I чи ВПГ-II).
- B. Цитомегаловірус (ЦМВ).
- C. Вірус Епштейн-Бар (ЕБВ).
- D. Вірус вітряної віспи –герпес зостер (ВГЗ).
- E. Герпесвірус людини 8 (ГВЛ-8).

До питання 2. Які захворювання викликають герпесвіруси у людини, шлях інфікування.

Тест 2

На лекції, присвяченій профілактиці онкологічних захворювань, лікар звернув увагу слухачів на роль герпесвірусів у виникненні одного з найпоширеніших онкозахворювань – раку шийки матки.

Який вірус - представник родини герпесвірусів мав на увазі лектор?

- A. Вірус простого герпесу I типу.
- B. Вірус простого герпесу II типу.
- C. Вірус вітряної віспи-герпес зостер.
- D. Цитомегаловірус.
- E. Вірус герпесу людини 7.

До питання 3. Принципи забору матеріалу для лабораторної діагностики.

Тест 3

До лікаря звернувся хворий зі скаргами на високу температуру, різкий пекучий біль на правій бічній поверхні тіла, загальне нездужання. На шкірі за ходом міжреберних проміжків лікар знайшов висип з пухирців. На підставі клінічних симптомів і даних анамнезу лікар поставив діагноз « оперізуючий лишай (герпес зостер)». Який матеріал необхідно дібрати у даного хворого для вірусологічного методу діагностики?

- A. Вміст пухирців.
- B. Носоглотковий змив.
- C. Сироватку.
- D. Ліквор.
- E. Слину.

До питання 4. Лабораторна діагностика герпесвірусних інфекцій на прикладі діагностики захворювань, що викликані ВПГ.

Тест 4

Для діагностики генералізованої герпетичної інфекції досліджували сироватку крові хворого з метою виявлення антитіл визначеного класу. Антитіла якого класу будуть свідчити про гострий період інфекції у даного хворого?

- A. Ig M.
- B. Ig G.
- C. Ig A.
- D. Ig E.
- E. Ig D.

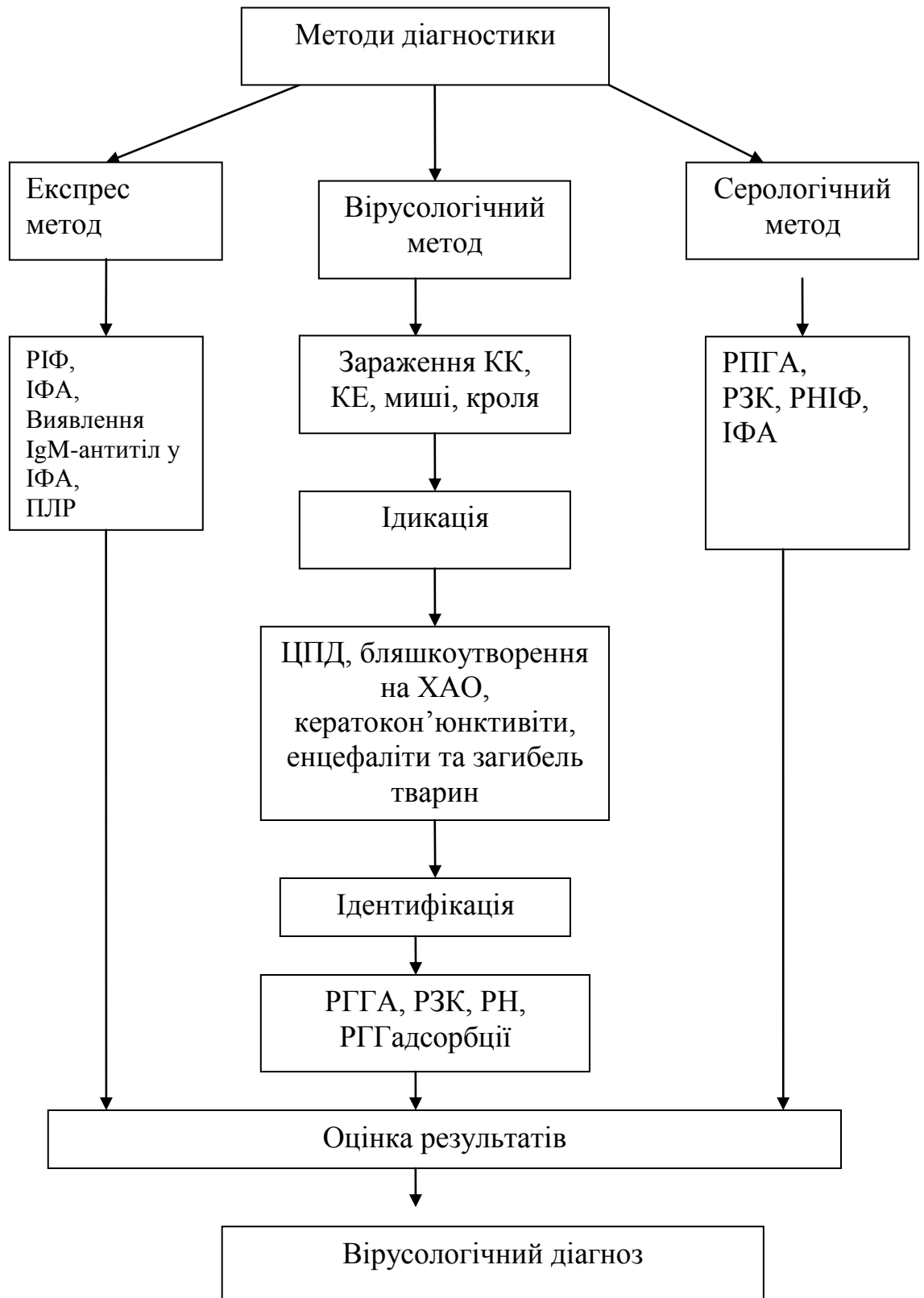
До питання 5. Вірусологічні принципи специфічної профілактики і лікування герпесвірусних захворювань.

Тест 5

Для специфічної терапії деяких герпетичних інфекцій запропоновані високоефективні хімеотерапевтичні препарати – ацикловір (завіракс) і фамцикловір. Інфекції, викликані якими герпетичними вірусами будуть ефективно лікуватись даними препаратами?

- A. Вірусом простого герпесу 1
- B. Вірусом простого герпесу 1 і вірусом простого герпесу 2
- C. Цитомегаловірусом
- D. Вірусом Епштейна-Барр і цитомегаловірусом
- E. Людськими герпес вірусами 6 і 7 типів

ГРАФ ЛОГІЧНОЇ СТРУКТУРИ ДО ТЕМИ: «Герпесвіруси. Лабораторна діагностика герпесвірусних інфекцій»



МЕТОДИКА ПРОВЕДЕННЯ ЗАНЯТТЯ

Заняття практичне. На початку заняття викладач проводить перевірку і корекцію рівня підготовки студентів до заняття. За запропонованою схемою записується протокол. Студенти виконують самостійну роботу з постановки РЗК із метою ідентифікації вірусу простого герпесу з культуральної рідини, знайомляться з препаратами, призначеними для специфічної профілактики й лікування захворювання, оформлюють протокол. У ході заняття студенти вирішують ситуаційні задачі з посібника „Завдання для самостійної роботи студентів вищих медичних закладів освіти III – IV рівня акредитації”, заповнюють схеми лабораторної діагностики захворювань, викликаних ВПГ, що є в посібнику. Закінчується заняття підсумковим тестовим контролем.

ТЕМА № 38: «Вірусні гепатити. Лабораторна діагностика вірусних гепатитів»

АКТУАЛЬНІСТЬ ТЕМИ

Вірусні гепатити – група захворювань з однаковою клінікою і різною етіологією. В зв'язку з цілою низкою обставин, захворюваність вірусними гепатитами, переважно тими, що передаються т.зв. «парентеральним» шляхом в усьому світі неухильно зростає. Щорічно близько 50 млн. осіб інфікується тільки вірусним гепатитом В. Близько 1 млрд. осіб у світі є носіями вірусу гепатиту В та понад 2 млн. осіб у рік гине від даної інфекції. Антитіла, що свідчать про перенесену інфекцію вірусу гепатиту В зустрічаються у 2-4% населення. З вірусами гепатитів В й С пов'язують виникнення первинного раку печінки (гепатокарциноми). Збільшується число осіб з цирозом печінки, що призводить до печінкової недостатності й коми. Подібний результат особливо часто (у 50% випадків) спостерігається при вірусному гепатиті С. В даний час описано 8 вірусів – збудників гепатитів (А, В, С, D, E, F, G та так званий агент TTV – transfusion transmitted virus) однак можна припустити ймовірність виявлення нових невідомих досі збудників.

2.МЕТА НАВЧАННЯ

Загальна мета: Уміти вибирати метод лабораторної діагностики, інтерпретувати результати аналізів і використовувати результати отриманих даних у клінічній практиці.

Конкретні цілі:

Вміти

- 1.Інтерпретувати механізм передачі і етіологію вірусних гепатитів.*
- 2. Вибирати досліджуваний матеріал.*
- 3. Обґрунтовувати метод лабораторної діагностики й інтерпретувати результати.*

3. ОСНОВНІ ТЕОРЕТИЧНІ ПИТАННЯ, ЩО РОЗГЛЯНУТІ ПРИ ВИВЧЕННІ ДАНОЇ ТЕМИ.

До конкретної мети 1. (Інтерпретувати механізм передачі і етіологію вірусних гепатитів).

1. Класифікація вірусних гепатитів.
2. Будова вірусу гепатиту В.
3. Шляхи передачі, які характерні для гепатитів, що передаються парентеральним шляхом (на прикладі епідеміології гепатиту В).
4. Особливість патогенезу гепатиту D.
5. Епідеміологія гепатитів А та Е.

До конкретної мети 2. (Вибирати матеріал для дослідження)

6. Маркери інфекції, що викликана вірусом гепатиту В – антитіла й антигени.

До конкретної мети 3: (Обґрунтовувати метод лабораторної діагностики й інтерпретувати результати).

7. Діагностика вірусних гепатитів на прикладі діагностики гепатиту В.
8. Методи діагностики гепатитів А та Е.

4. ЗМІСТ НАВЧАННЯ

Джерела інформації

Література, що рекомендується:

1. Гайдаш І.С., Флегонтові В.В. Медична вірологія. Луганськ, 2002.-С.188-194, 296-298, 327-330, 341-345.
2. Пяткін К.Д., Кривошеїн Ю.С. Мікробіологія з вірусологією та імунологією. К., Вища школа, 1992.-С.348-351, 367-369.
3. Букринская А.Г. Вирусология. М. «Медицина», 1986.-С.209-216, 327-331.
4. Коротяев А.И., Бабичев С.А. Медицинская микробиология, иммунология и вирусология. Санкт-Петербург, Специальная литература, 1998.-С.285-294.
5. Поздеев О.К. Медицинская микробиология: Москва: ГЭОТАР-Мед, 2001.-С. 459-465.
6. 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.
7. Руководство к практическим занятиям по медицинской микробиологии /Кривошеин Ю.С. и др. К.,Вища школа,1998.-С.245-247.
8. Лекція «Вірусні гепатити».
9. Стенд у навчальному музеї кафедри.

Додаткова література:

1. Фролов А.Ф., Шевченко Л.Ф., Широбоков В.П. Практическая вирусология. - Киев: Здоровья, 1989. - С. 212 - 225.
2. Посібник з медичної вірусології/За редакцією В.М.Гіріна.- Київ: Здоров'я, 1995.-С.175-221.

При роботі з підручниками користуйтеся графом логічної структури до даної теми. Якщо в процесі самопідготовки у Вас виникнуть питання, запишіть їх і з'ясуйте на початку заняття з викладачем.

5.ОРІЄНТОВНА ОСНОВА ДІЇ

Протокол практичного заняття за темою: «Вірусні гепатити. Лабораторна діагностика вірусних гепатитів».

- 1.Розібрали класифікацію вірусів – збудників вірусних гепатитів за стендами навчального музею.
- 2.Вивчили лабораторну діагностику вірусного гепатиту А та Е за навчальним посібником, заповнили схему діагностики.
- 3.Вивчили будову частки Дейна – вірусу гепатиту В за стендами навчального музею.
- 4.Ознайомилися з реакціями, які використовуються для діагностики гепатиту В, трьома поколіннями тест-систем для визначення HBs-Ag за стендами навчального музею.
- 5.Вивчили лабораторну діагностику вірусних гепатитів С, D за навчальним посібником, заповнили схему діагностики.
- 6.Поставили РЗПГА з метою індикації HBs-Ag у сироватці. Зробили висновок.

ІНСТРУКЦІЯ З ПРОВЕДЕННЯ ІНДИКАЦІЇ HBs –антигену ВІРУСУ ГЕПАТИТУ В. ПОСТАНОВКА РЗПГА

Оснащення заняття

- 1.Сироватка обстеженого в пеніциліновому флаконі
- 2.Еритроцитарний антигільний анти HBs -діагностикум.
- 3.Плексиглазова панель з U-подібними лунками.
- 4.1,0 мл – мірні піпетки без шкідливого простору.
- 5.Стерильний фізіологічний розчин на ФСБ із Р Н 6,8-7,2.

ХІД РОБОТИ

Візьміть 0,1 мл сироватки для дослідження, отриманої від хворого з підозрою на вірусний гепатит В й внесіть у лунку плексиглазової панелі. В іншу лунку внесіть рівний об'єм стерильного фізіологічного розчину. Іншою піпеткою в обидві лунки внесіть по 0,1 мл суспензії еритроцитарного антигільного анти-HBs - діагностикума. Обережно струсніть. Облік реакції через 30 хвилин. Позитивний результат – «парасолька», негативний – «гудзик». Врахуйте реакцію. Результати занесіть до протоколу.

Для реалізації поставленої мети й засвоєння навчального матеріалу вирішіть задачі №№ 208, 215 із збірника «Задания для самостоятельной работы студентов по курсу общей и специальной микробиологии».

Завдання для перевірки досягнення конкретних цілей навчання

До питання 1. Класифікація вірусних гепатитів.

Тест 1

У сироватці крові хворого при постановці імуноферментної реакції був визначений HBs-антиген. При якому вірусному гепатиті зустрічається даний антиген?

- А. Гепатиті В
- В. Гепатиті А
- З. Гепатиті Е

- D. Гепатиті С
- E. Гепатиті G

До питання 2. Будова вірусу гепатиту В. Особливості патогенезу на рівні організму.

Тест 2

Після планового обстеження вагітної N. лікар жіночої консультації повідомив, що в неї виявлені анти-НВ-сog антитіла. Клінічних проявів гепатиту у обстеженої не виявлено. Як можна розцінити результат лабораторного обстеження?

- A. У минулому перенесла вірусний гепатит В
- B. Знаходиться в стадії інкубаційного періоду
- C. У обстеженої безсимптомна форма гепатиту В
- D. Хронічна форма гепатиту В
- E. Носійство

До питання 3. Шляхи передачі, які характерні для гепатитів, що передаються парентеральним шляхом.

Тест 3

Маніпуляційна сестра, що працює у відділенні програмного гемодіалізу була госпіталізована в інфекційне відділення з клінічними проявами гепатиту. Які найбільш ймовірні агенти могли викликати гепатит у цієї хворої?

- A. Віруси гепатиту E
- B. Віруси гепатиту A.
- C. Віруси гепатиту A й E
- D. Віруси гепатиту A й D
- C. Віруси гепатиту C й B

До питання 4. Особливість патогенезу гепатиту D.

Тест 4

Після огляду хворого і збору анамнезу лікар поставив діагноз „гепатит D”. Виявлення в крові яких вірусів може підтвердити такий діагноз у цього хворого?

- A. Гепатиту A й B.
- B. Гепатиту E й D.
- C. Гепатиту B й D.
- D. Гепатиту C й D.
- E. Гепатиту F й D.

До питання 5. Епідеміологія гепатитів A і E.

Тест 5

На підставі скарг, клінічної картини й анамнезу, лікар запідозрила у хворого підлітка вірусний гепатит. Який збудник може бути причиною захворювання у даного підлітка, якщо виникнення інфекції пов'язують з вживанням питної води?

- A. Вірус гепатиту E.

- B. Вірус гепатиту В.
- C. Вірус гепатиту С.
- D. Вірус гепатиту G.
- E. Вірус гепатиту F

До питання 6. Маркери інфекції, викликані вірусом гепатиту В – антитіла й антигени.

Тест 6

Анамнез життя хворого – парентерального наркомана і клінічна картина, дозволили лікарю запідозрити вірусний гепатит В. Виявлення яких маркерів інфекції може підтвердити даний діагноз у цього хворого, якщо пацієнт відчув нездужання десять днів тому?

- A. HBs-Ag.
- B. Анти-HBs.
- C. HBcor- Ag.
- D. Анти-HBcor.
- E. Анти-HBe.

До питання 7. Діагностика вірусних гепатитів на прикладі діагностики гепатиту В.

Тест 7

Маніпуляційна сестра, що працює у відділенні програмного гемодіалізу була госпіталізована в інфекційне відділення з клінічними проявами гепатиту. Який матеріал для лабораторного обстеження необхідно відібрати у даної хворої?

- A. Жовч.
- B. Випорожнення.
- C. Сечу.
- D. Сироватку крові.
- E. Біоптат печінки.

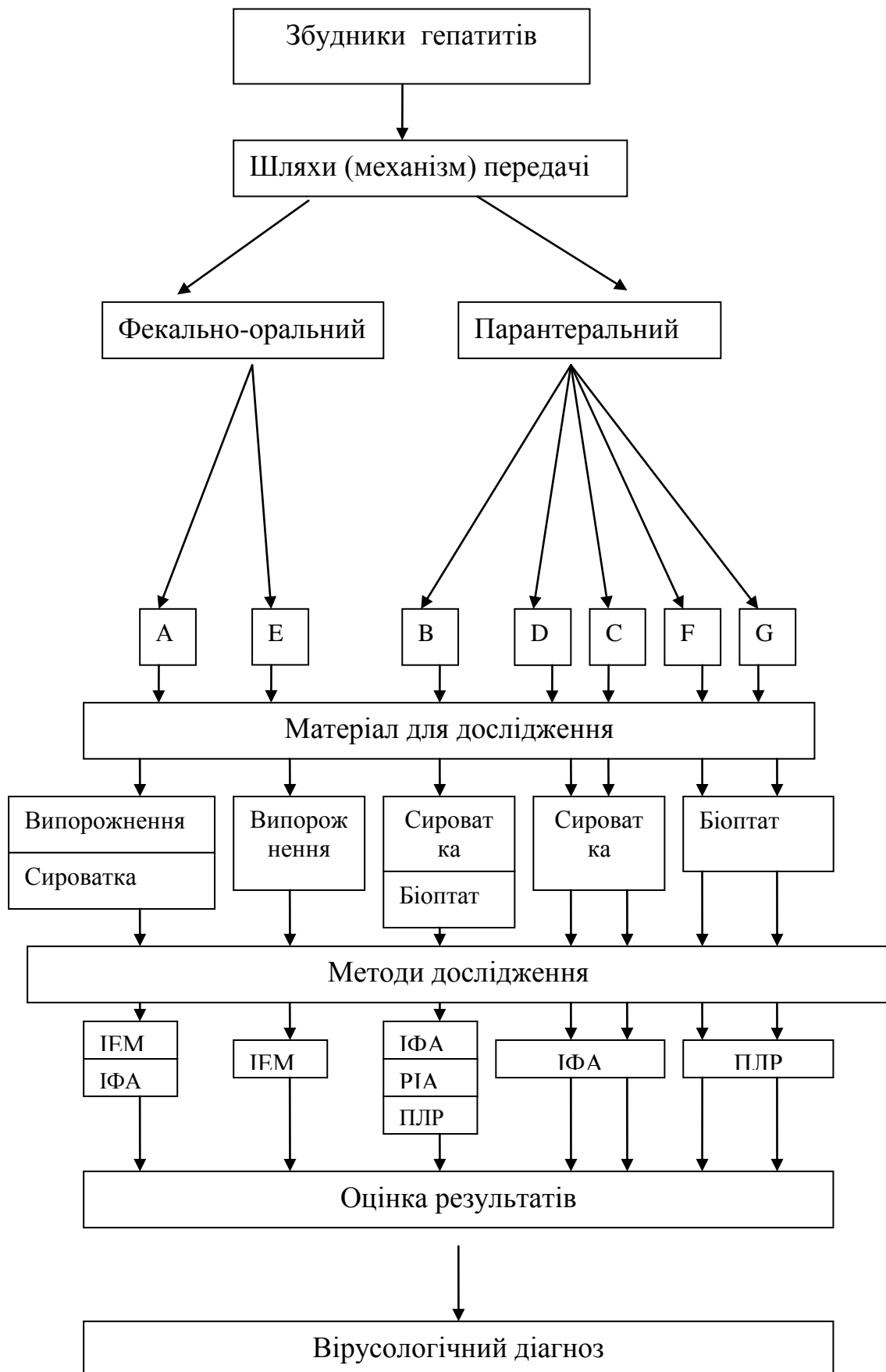
До питання 8. Методи діагностики гепатитів А та Е.

Тест 8

У місті Д. у літню пору почастишали випадки захворювання гепатитами. Епідеміолог, аналізуючи дані епіданамнезу у хворих виявив, що всі вони мешкають в одному районі міста. Місяць назад до появи перших випадків захворювань на одному з водоводів, що постачають у центральні райони міста воду відбувся порив. Який матеріал необхідно дібрати для встановлення етіології гепатиту у людей, що захворіли, якщо відомо, що з моменту виявлення першого випадку захворювання пройшло 20 днів?

- A. Випорожнення.
- B. Сечу.
- C. Носоглотковий змив.
- D. Жовч.
- E. Кров.

ГРАФ ЛОГІЧНОЇ СТРУКТУРИ ДО ТЕМИ: .
 «Вірусні гепатити. Лабораторна діагностика вірусних гепатитів».



МЕТОДИКА ПРОВЕДЕННЯ ЗАНЯТТЯ

Заняття практичне. Викладач проводить перевірку і корекцію рівня підготовки студентів до заняття, студенти виконують самостійну роботу вирішують ситуаційні задачі навчального типу, знайомляться з тест-системами для лабораторної діагностики гепатитів (ІФА, РІА), принципами діагностики вірусних гепатитів з використанням методу гібридизації нуклеїнових кислот і полімеразною ланцюговою реакцією (ПЛР) за стендами навчального музею, заповнюють схеми лабораторної діагностики вірусних гепатитів В й А, Е в навчальному посібнику, дають відповіді на підсумкові тестові завдання.

ТЕМА №39: «Поксвіруси. Лабораторна діагностика натуральної віспи»

1. АКТУАЛЬНІСТЬ ТЕМИ

Це одна з карантинних (конвенційних) інфекцій, що характеризується високою контагіозністю та летальністю. Натуральна віспа відома з стародавності (виявлені єгипетські мумії зі слідами натуральної віспи). За всю історію людства натуральна віспа забрала життя не менш ніж у 150 млн. людей. Завдяки відкриттю Е. Дженнера людство одержало засіб боротьби (профілактики) з цією страшною інфекцією. У 1957 р. ВООЗ була прийнята програма ліквідації віспи. У 1975 р. зареєстровані останні випадки *Variola major* у Бангладеш, у 1977 р. - останній випадок *Variola minor* у Сомалі. Через два роки генеральний секретар ВООЗ повідомив про ліквідацію захворювань натуральною віспою на земній кулі. Це поки єдина інфекція, захворюваність якою ліквідована в усьому світі. Але збудник натуральної віспи знаходиться в декількох лабораторіях світу, величезна кількість людей не вакциновані проти віспи (народилися після 1979 р. або в тих країнах, де вакцинація припинена ще раніше), є повідомлення про захворювання людей віспою мавп. У зв'язку з цим лікарі всіх спеціальностей повинні мати уявлення про клініку, лабораторну діагностику і засоби та міроприємства з профілактики натуральної віспи.

2. МЕТА НАВЧАННЯ

Загальна мета. Вміти використовувати результати лабораторної діагностики для постановки діагнозу і вибору препаратів для профілактики і лікування натуральної віспи.

Конкретна мета:

Вміти:

- 1. Вибрати, в залежності від стадії захворювання, матеріал для дослідження і метод лабораторної діагностики натуральної віспи.*
- 2. Інтерпретувати результати лабораторної діагностики.*
- 3. Правильно вибрати препарати для профілактики натуральної віспи.*

3. ОСНОВНІ ТЕОРЕТИЧНІ ПИТАННЯ, ЩО РОЗГЛЯНУТІ ПРИ ВИВЧЕННІ ДАНОЇ ТЕМИ.

До конкретної мети 1. (Вибрати матеріал для дослідження і метод лабораторної діагностики натуральної віспи, в залежності від стадії захворювання).

1. Загальна характеристика поксвірусів: морфологія, культивування, резистентність.

2. Патогенез захворювання в людини, клініка й епідеміологія. Матеріал для лабораторного обстеження в залежності від стадії патогенезу

До конкретної мети 2. (Інтерпретувати результати лабораторної діагностики).

3. Вірусологічна діагностика натуральної віспи.

4. Серологічна діагностика натуральної віспи.

5. Експрес-діагностика натуральної віспи

До конкретної мети 3. (Правильно вибрати препарати для профілактики натуральної віспи).

6. Історія питання специфічної профілактики віспи. Роботи Э. Дженнера.

4. ЗМІСТ НАВЧАННЯ

Джерела інформації

Література, що рекомендується:

1. Гайдаш І.С., Флегонтова В.В. Медична Вірологія.- Луганськ, 2002.-С.138-146.

2. Пяткін К.Д., Кривошеїн Ю.С. Мікробіологія з вірусологією та імунологією.- Київ: Вища школа, 1992.-С. 335-339.

3. Букринская А.Г.. Вирусология. - М.: Медицина, 1986. - С. 191-198.

4. Коротяев А.И., Бабичев С.А. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология.-Санкт-Петербург: Специальная литература, 1998.-С.316-319.

5. Поздеев О.К. Медицинская микробиология: Москва: ГЭОТАР-Мед, 2001.-С. 472-475.

6. 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.

7. Лекція.

8. Стенд у навчальному музеї кафедри.

Додаткова література

1. Фролов А.Ф., Шевченко Л.Ф., Ширококов 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. Посібник з медичної вірусології/За редакцією В.М.Гіріна.- Київ: Здоров'я, 1995.-С.292-297.

При роботі з підручниками користуйтеся графом логічної структури до даної теми. Якщо в процесі самопідготовки у Вас виникнуть питання, запишіть їх і з'ясуйте на початку заняття з викладачем.

5.ОРІЄНТОВНА ОСНОВА ДІЇ.

Протокол практичного заняття з теми : «Поксвіруси. Лабораторна діагностика натуральної віспи»

- 1.Ознайомилися з морфологію й ультраструктурою вірусу натуральної віспи. Замалювали елементарні тільця Пашена і включення Гварнієрі (за таблицями).
- 2.Розібрали епідеміологію, патогенез натуральної віспи. Ознайомилися з методами добору матеріалу в хворого, в залежності від періоду захворювання. (за стендом в навчальному музею).
- 3.Розібрали методи лабораторної діагностики натуральної віспи: експрес-метод, вірусологічний і серологічний метод. Заповнили схему діагностики в учбовому посібнику.
- 4.Ознайомилися з препаратами, що використовуються для профілактики натуральної віспи,

Для реалізації поставленої мети й засвоєння навчального матеріалу вирішіть задачу № 207 із збірника «Завдання для самостійної роботи студентів по курсу общей и специальной микробиологии».

Завдання для перевірки досягнення конкретних цілей навчання

До питання 1. Загальна характеристика поксвірусів: морфологія, культивування, резистентність.

Тест 1

При електронній мікроскопії рідини з везикули знайдені крупні за розміром (250 нм) віруси, що нагадують паралеліпіпед (цеглу), складні за будовою – нуклеоїд вкритий тришаровою білковою оболонкою. Як звуться представники родини, що мають таку будову віріонів?

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

До питання 2. Патогенез захворювання в людини, клініка й епідеміологія. Матеріал для лабораторного обстеження в залежності від стадії патогенезу.

Тест 2

Один з пасажирів чартерного рейсу, що повернувся з центральної Африки, ще під час польоту занедужав: висока температура, головний біль, висипання на тулубі. Після посадки й огляду, в пасажирів запідозрили натуральною віспу. Відомо, що хворий на натуральну віспу контагіозний вже в останні дні інкубаційного періоду і протягом усього захворювання (до відпадання скоринок). У зв'язку з цим виникла необхідність обстежити й піддати карантину пасажирів авіарейсу і співробітників аеропорту, що спілкувались із захворілим пасажиром. Який матеріал необхідно було б добрати у таких осіб на початку карантину?

- A. Сечу
- B. Вміст везикул.
- C.Жовч.

Д. Носоглотковий змив.

Е. Сироватку крові.

До питання 3 .Вірусологічна діагностики натуральної віспи.

Тест 3

Вірусологічна лабораторія готується до планового навчання з тестування вірусу натуральної віспи як потенційного збудника, що може бути використаний в якості біологічної зброї. Які феномени дозволяють констатувати присутність такого вірусу в заражених біологічних об'єктах, що будуть використані для діагностики?

А. Загибель морських свинок.

В. Параліч у курей

С. Параліч у морських свинок

Д. Блювота і кров'яний пронос у котенят.

Е. "Бляшки" на хоріоналантаїсній оболонці.

До питання 4 .Серологічна діагностики натуральної віспи.

Тест 4

Один з пасажирів чартерного рейсу, що повернувся з центральної Африки, ще під час польоту занедужав: висока температура, головний біль, висипання на тулубі. Після посадки й огляду, в пасажирів запідозрили натуральною віспу. Відомо, що хворий на натуральну віспу контагіозний вже в останні дні інкубаційного періоду і протягом усього захворювання (до відпадання скоринки). У зв'язку з цим виникла необхідність обстежити й піддати карантину пасажирів авіарейсу і співробітників аеропорту, що спілкувались із захворілим пасажиром. З огляду на тривалість карантину при натуральній віспі (14 днів) і можливість протікання хвороби у щеплених в легкій формі (без висипань), якими методами можна було б підтвердити випадки інфікування у таких осіб?

А. Серологічним.

В. Алергологічним.

С. Біологічним.

Д. Вірусологічним.

Е. Мікроскопічним.

До питання 5 .Експрес- діагностика натуральної віспи.

Тест 5

На початку 70-х років (до моменту глобальної ліквідації натуральної віспи в усьому світі) у країнах, вільних від натуральної віспи, продовжувала залишатися небезпека завізної віспи, що створювало настороженість з боку карантинних служб і органів охорони здоров'я. В аеропорту міста Д. був знятий з авіарейсу і госпіталізований у боксоване відділення інфекційної лікарні фахівець, який повернувся з тривалого відрядження в Африку, з діагнозом: "Натуральна віспа?". Якими методами лабораторної діагностики можна було б підтвердити або виключити такий діагноз у даного пасажирів з урахуванням можливості застосування карантинних заходів до всього великого міста ?

А. Бактеріологічним.

В. Алергологічним.

- С. Серологічним.
- Д. Вірусологічним.
- Е. Експрес методом.

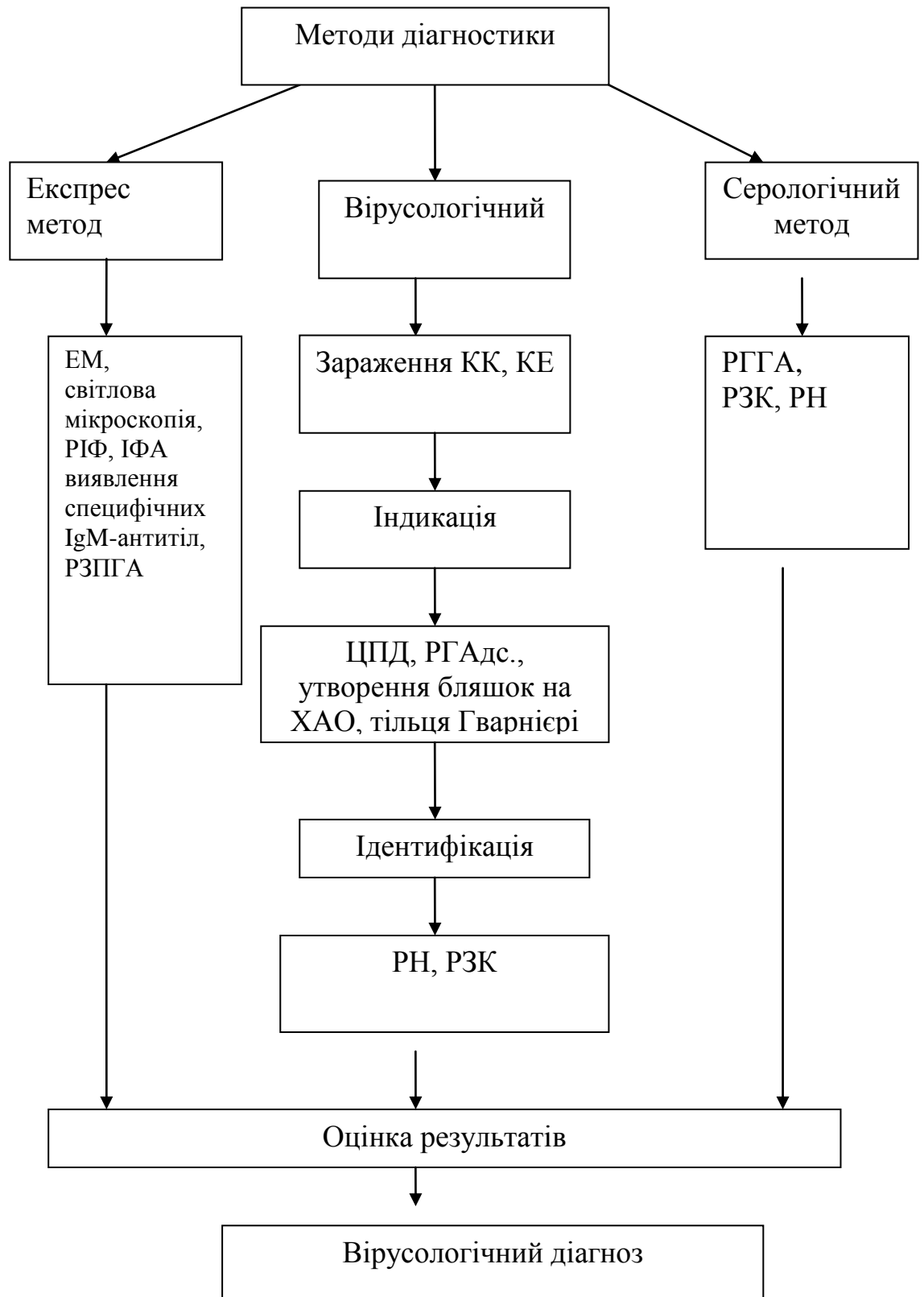
До питання 6. Історія питання специфічної профілактики віспи. Роботи Е. Дженера.

Тест 8

14 травня 1796 року сільський лікар узяв вміст пустули на руці селянки Сарі Нельмс, ураженої коров'ячою віспою, і прищепив на руку восьмірічного хлопчика Джемса Фіпса. Так було розпочато щеплення від натуральної віспи. Яке прізвище цього лікаря?

- А. Луї Пастер
- В. Роберт Кох
- С. Жюль Борде
- Д. Джіраламо Фракасторо
- Е. Едуард Дженнер

ГРАФ ЛОГІЧНОЇ СТРУКТУРИ ДО ТЕМИ: «Поксвіруси. Лабораторна діагностика натуральної віспи»



МЕТОДИКА ПРОВЕДЕННЯ ЗАНЯТТЯ

Заняття проводиться в навчальній лабораторії і навчальному музеї. Студенти вивчають класифікацію поксвірусів. На початку заняття викладач проводить перевірку і корекцію рівня підготовки студентів до заняття. За запропонованою схемою записується протокол. Студенти виконують самостійну роботу – заповнюють схему лабораторної діагностики натуральної віспи, знайомляться з препаратами, що призначені для специфічної профілактики натуральної віспи. У ході заняття студенти вирішують ситуаційні задачі з посібника „Завдання для самостійної роботи студентів вищих медичних закладів освіти III –IV рівня акредитації”, зі збірника «Задания для самостоятельной работы студентов по курсу общей и специальной микробиологии». Закінчується заняття підсумковим тестовим контролем.

СПИСОК СКОРОЧЕНЬ

- ГРВІ – гострі респіраторні вірусні інфекції
- ЕМ - електронна мікроскопія
- ІЕМ - імуноелектронна мікроскопія
- ІФА - імуноферментний аналіз
- КК - культура клітин
- КЕ - курячий ембріон
- КП – кольорова проба
- МФА – метод флуоресцентних антитіл
- НК - нуклеїнові кислоти
- ПЛР – полімеразна ланцюгова реакція
- РГА - реакція гемаглютинації
- РГАдс. – реакція гемадсорбції
- РГГАдс. – реакція гальмування гемадсорбції
- РЗПГА – реакція зворотної пасивної гемаглютинації
- РІА – радіоімунний аналіз
- РІФ – реакція імунофлуоресценції
- РКА – реакція коаглютинації
- РН - реакція нейтралізації
- РНГА (РПГА) – реакція непрямой гемаглютинації, реакція пасивної гемаглютинації
- РНІФ – реакція непрямой імунофлуоресценції
- РРГ – реакція радіальної гемадсорбції
- РТГА - реакція гальмування гемаглютинації
- ХАО – хоріоналантаїсна оболонка
- ЦПЕ – цитопатогенний ефект
- ЦПА - цитопатогенний агент
- ЦПД - цитопатогенна дія

ЗМІСТ

Вступ.	3
Змістовий модуль. Загальні властивості вірусів. Механізми взаємодії вірусів з макроорганізмом. Лабораторна діагностика вірусних інфекцій.	4
Тема 31. Загальні властивості вірусів. Методи культивування вірусів. Культури Клітин.	4
Тема 32. Методи лабораторної діагностики вірусних інфекцій.	11
Змістовий модуль. Спеціальна вірусологія	
Тема 33. Ентеровіруси. Віруси поліомієліту, Коксакі й ЕКХО. Лабораторна діагностика ентеровірусних інфекцій	20
Тема 34. Ретровіруси. Вірус імунодефіциту людини. Лабораторна діагностика ВІЛ-інфекції	27
Тема 35. Віруси грипу. Віруси, що викликають ОРВІ. Лабораторна діагностика грипу та ГРВІ	37
Тема 36. Рабдовіруси. Лабораторна діагностика сказу. Тогавіруси.Лабораторна діагностика кліщового енцефаліту.	44
Тема 37. Герпесвіруси. Лабораторна діагностика герпесвірусних інфекцій	52
Тема 38. Вірусні гепатити. Лабораторна діагностика вірусних гепатитів	59
Тема 39. Поксвіруси. Лабораторна діагностика натуральної віспи	65
Список скорочень	72