

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Кафедра загальної і клінічної епідеміології та біобезпеки
з курсом мікробіології та вірусології

ЗАТВЕРДЖУЮ

Проректор з науково-педагогічної роботи

Едуард БУРЯЧКІВСЬКИЙ

«01» вересня 2024 р.



МЕТОДИЧНА РОЗРОБКА
ДО ПРАКТИЧНИХ З НАВЧАЛЬНОЇ ДИСЦИПЛІНИ
ЗМІСТОВИЙ МОДУЛЬ 3.
ЗАГАЛЬНА ТА СПЕЦІАЛЬНА ВІРУСОЛОГІЯ.

Факультет, курс Фармацевтичний, 4 курс, заочна форма

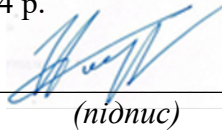
Навчальна дисципліна «Мікробіологія з основами імунології»

Затверджено:

Засіданням кафедри загальної і клінічної епідеміології та біобезпеки
з курсом мікробіології та вірусології
Одеського національного медичного університету

Протокол № 1 від “26” серпня 2024 р.

Завідувач кафедри _____



(підпис)

Микола ГОЛУБЯТНИКОВ

Розробники:

Голубятников М.І., зав. кафедри, д.мед.н., професор, Грузевський О.А., д.мед.н., професор, Головатюк О.Л., к.мед.н., доцентка; Кольцова І.Г., к.мед.н., доцентка, Куртова М.М., к.мед.н., доцентка, Шевчук Г.Ю., к.б.н., доцентка, Дениско Т.В., асистентка, Дубіна А.В., асистентка, Кагляк М.Д., асистентка, Кобильник С.Н., асистентка, Табуліна А.М., асистентка, Тарасов Є.В., асистент.

Практичне заняття

Тема: Загальна вірусологія. Класифікація вірусів.

Мета: Ознайомати студентів із загальною характеристикою вірусів, з морфологією, з циклами розвитку, будовою, з основними вірусами людини. Способи культивування вірусів та особливості лабораторної діагностики.

Основні поняття: ДНК- віруси, РНК- віруси, форма віріонів, прості або безоболонкові віруси, складні або оболонкові, капсид та суперкапсид, тип симетрії.

Обладнання: Структурно- логічні схеми, таблиці, відеоматеріали, ситуаційні задачі, одноразові рукавички, дезрозчин.

План:

1. Організаційні заходи (привітання, перевірка присутніх, повідомлення теми, мети заняття, мотивація здобувачів вищої освіти щодо вивчення теми):

Серед інфекційної патології 90% припадає на вірусні інфекції. У зв'язку з цим, перед медичною вірусологією встають важливі завдання по кваліфікованій діагностиці, лікуванню вірусних інфекційних захворювань, удосколаненню організації та діяльності вірусологічних лабораторій, розробці профілактичних засобів. Вивчення типів взаємодії вірусів з клітинами макроорганізму дозволяє зрозуміти механізму розвитку не тільки інфекційних, а й онкологічних захворювань.

Віруси були відкриті наприкінці XIX стріччя. Роком відкриття вважається 1892р., коли Д. І. Ивановський результати своїх досліджень по вивченню мозаїчної хвороби тютюну. В основі цього відкриття лежав вимір єдиної фізико-хімічної характеристики вірусів – здатність до фільтрування. Разом з тим їх не вдавалося культивувати на живильних середовищах.

З вірусом пов'язують важливу умову еволюції – горизонтальне перенесення генів, при якому генетичний матеріал передається не нащадкам, а іншим видом організмів. По суті, вірус значною мірою забезпечив генетичну різноманітність. Наприклад, дослідження показали, що геном людини на 6-7% складається з різних вірусоподібних елементів та їх частинок. Віруси-мікроорганізми, складові царство Uіga. Найчисленіша біологічна група.

В основу сучасної класифікації покладено такі основні критерії:

1. Тип нуклеїнової кислоти, її структура (кількість ниток)
2. наявність ліпопротеїдної оболонки
3. Стратегі вірусного геному
4. Розмір і морфологія віріона, тип симетрії, число капсомерів
5. Феномени генетичних взаємодій
6. Коло сприйнятливих господарів
7. Патогенність, у тому числі патологічні зміни в клітинах та утворення внутрішньоклітинних включень.
8. Географічне поширення
9. Шлях передачі
10. Антигенні властивості

На підставі перелічених ознак вірусу поділяються на родини, підродини, роди та типи. Розподіл на сімейства здійснено за критеріями, викладеними у пунктах 1 і 2. Розподіл на пологи і типи, виходячи з інших ознак.

Класифікація вірусів

Родина	Представники	Хвороби
Група I: ДНК (двониткові) - віруси		
Poxviridae	Вірус натуральної віспи	Натуральна віспа
Herperviridae	Віруси простого герпесу Вірус вітряної віспи- оперізуючого герпесу Цитомегаловірус Вірус Епштейна- Барр та інш.	Герпес, енцефаліт та ін. Вітряна віспа, герпес жостер Цитомегалія Інфекційний моноклеоз
Adenoviridae	Аденовіруси людини	ОРВІ та ін.
Poliomaviridae	Поліомавіруси людини	Лейкоенцефалопатія
Papilomaviridae	Папіломавіруси людини	Бородавки(папіломи), рак
Група II: ДНК (двониткові) - віруси		
Parvoviridae	Парвовірус людини B19	Інфекційна еритема та ін.
Cirinoviridae	ТТ- вірус	Гепатит ТТ
Група III: РНК (двониткові) - віруси		
Reoviridae	Віруси: Кемерово, Ротавіруси людини	Кемеровська лихоманка Гастроентерит
Група IV: РНК (плюс-однониткові) - віруси		
Picornaviridae	Віруси: поліомієліту Вірус гепатиту А та ін.	Поліомієліт
Calicviridae	Віруси гастроентериту	Гастроентерит
Гепатит Е подібні віруси	Віруси гепатиту Е	Гепатит Е
Astroviridae	Астровірус людини 1	Гастроентерит
Coronaviridae	Коронавірус людини, SARS	ОРВІ, SARS
Flaviviridae	Віруси: жовтої лихоманки, японського енцефаліту, денге, кліщового енцефаліту, та ін. Вірус гепатиту С	Віруси: Японський енцефаліт, Кліщовий енцефаліт, Гепатит С
Некласифіковані віруси	Вірус гепатиту G	Гепатит G
Togaviridae	Вірус краснухи та ін.	Краснуха

2. Контроль опорних знань:

2.1. Вимоги до теоретичної готовності студентів до виконання практичних занять.

Вимоги до знань:

1. Дати загальну характеристику РНК- та ДНК- вірусів
2. Пояснити, що таке віруси.
3. Пояснити, які відмінні ознаки у вірусів на відміну від бактерій.
4. Пояснити, у яких формах можуть існувати віруси.
5. Пояснити, яким головним критерієм у таксономії вірусів є
6. Описати будову вірусів.
7. Пояснити, за допомогою чого можна вивчити морфологію та структуру вірусів.
8. Пояснити, чим відрізняються методи культивування вірусів від методів культивування

бактерій.

9. Описати, які існують методи культивування вірусів.

Перелік дидактичних одиниць:

1. Дати загальну характеристику вірусів.
2. Пояснити кардинальні відмінності вірусів від інших живих істот.
3. Пояснити структуру та хімічний склад вірусів.
4. Описати типи нуклеїнових кислот.
5. Описати типи симетрії вірусів.
6. Описати прості та складні (оболонкові) віруси.
7. Дати характеристику етапів репродукції вірусу.
8. Пояснити методи культивування вірусів

2.2. Питання (тестові завдання, задачі, клінічні ситуації) для перевірки базових знань за темою заняття):

Тестові завдання (правильна відповідь А):

Яким може бути результат вірусної інфекції в клітині?

- A. Будь-яким перерахованим
- B. Латентна форма
- C. Вірогенія
- D. Пухлинна трансформація
- E. Літична активність

Що з наступного є правильним щодо РНК-вірусів?

- A. Усе перераховане вірно
- B. РНК деяких вірусів інфекційна
- C. Нуклеїнова кислота, РНК, перебуває завжди в лінійній формі
- D. РНК деяких вірусів фрагментована на кілька молекул
- E. РНК деяких вірусів пов'язана з поліпептидами

Віруси не можуть розмножуватися на:

- A. Спеціальних поживних середовищах
- B. Лабораторних тваринах
- C. Перещеплюваних культурах клітин
- D. Курячих ембріонах
- E. Первинних культурах клітин клітин клітин

Для профілактики вірусних інфекцій застосовують такі препарати, за винятком:

- A. Антибіотиків
- B. Ремантадину
- C. Інтерферону
- D. Імуноглобуліну
- E. Вакцин

Структурно-морфологічною одиницею вірусу є:

- A. Віріон
- B. Клітина
- C. Нуклеон
- D. Тканина
- E. Капсомер

РНК-геноми вірусів можуть бути представлені:

- A. Усім перерахованим
- B. Однотієва сегментована РНК
- C. Однониткова кільцева РНК
- D. Однониткова несегментована +РНК
- E. Однониткова несегментована –РНК

У ДНК- геномні вірусу може входити:

- A. Будь-яке з перелічених
- B. Дволанцюжкова кільцева ДНК
- C. Одноланцюжкова лінійна ДНК
- D. Одноланцюжкова кільцева ДНК
- E. Дволанцюжкова лінійна ДНК

Найсуттєвішою відмінністю вірусних інфекцій від бактеріальних є:

- A. Недостатність антивірусної терапії
- B. Неєфективність вакцинопрофілактики
- C. Своєрідні шляхи передачі
- D. Особливі джерела інфекції
- E. Відсутність імунної перебудови

Віруси на відміну від інших інфекційних агентів здатні до:

- A. Паразитування на генетичному рівні
- B. Проникнення в центральну нервову систему
- C. Ураження різних органів і систем
- D. Проникненню в кров
- E. Поширенню з током лімфи

Мінус- ниткова РНК як вірусний геном - це:

- A. Однонитчаста РНК, нездатна виконувати функцію мРНК
- B. Однонитчаста РНК, здатна транслюватися на рибосомах
- C. Двонитчаста РНК
- D. Кільцева РНК
- E. Дефектна РНК

Обов'язкова інтеграція в геном клітини відбувається під час репродукції:

- A. Ретровірусів
- B. Гепадновірусів
- C. Паповавірусів
- D. Герпесвірусів
- C. Аденовтрівусів

Зазвичай вірусні капсиди мають правильну симетрію. Це зумовлено:

- A. Повторюваною структурою морфологічних одиниць, що складаються з невеликої кількості специфічних білків
- B. Захисною реакцією клітини-господаря, яка забезпечує складання вірусної частинки
- C. Ліпідним компонентом капсиду
- D. Складною архітектурою віріона на основі великої кількості різних білків
- E. Кристалічною природою вірусної частинки

Екліпс-фаза - прихований період репродукції вірусу - це період:

- A. Після зараження клітини-господаря, але до дозрівання віріонів
- B. Під час прикріплення вірусу до клітини
- C. Безпосередньо після періоду дозрівання
- D. До зараження клітини-господаря
- E. Безпосередньо після вивільнення віріонів із клітини

Наявність ферменту зворотної транскриптази характерна для:

- A. Ретровірусів
- B. Гепадновірусів
- C. Герпесвірусів
- D. Аденовірусів
- E. Паповавірусів

3.Формування професійних вмінь, навичок (оволодіння навичками, проведення курації, визначення схеми лікування, проведення лабораторного дослідження тощо):

- 1.Описати морфологію і ультраструктуру вірусів.
- 2.Описати хімічний состав вірусів.
3. Описати цикл репродукції вірусу.
4. Описати класифікацію вірусів.
5. Аналізувати особливості взаємодії вірусів з живими системами.
6. Надати загальну характеристику ДНК- вмісним вірусам.
7. Надати загальну характеристику РНК- вмісним вірусам.
8. Описати методи культивування вірусів.

3.1 Зміст завдань (задачі, клінічні ситуації тощо):

Задача № 1

Етіологічними чинниками інфекційних захворювань можуть бути інфекційні агенти з різною ультраструктурою. Які групи не мають клітинної структури, ферментативної та енергетичної систем

- A. Віруси
- B. Найпростіші
- C. Гриби
- D. Бактерії
- E. Рикетсії

3.2 Рекомендації (інструкції) щодо виконання завдань (професійні алгоритми, орієнтуючі карти для формування практичних вмінь та навичок тощо):

1. Пояснити, які існують методи культивування вірусів.
2. Пояснити будову курячого ембріона і техніку розтину курячих ембріонів.
3. Пояснити техніку отримання первинно-трипсинізованих культур клітин.
4. Пояснити техніку зараження
5. Пояснити, які існують серологічні методи для ідентифікації вірусів.

3.3 Вимоги до результатів роботи, в т.ч. до оформлення:

1. Знати будову курячого ембріона
2. Знати техніку та розтин курячого ембріона
3. Замалювати будову курячого ембріона в альбомі для практичних занять
4. Знати відповіді на запитання з методички та з орієнтовної карти альбому.

3.4 Матеріали контролю для заключного етапу заняття: задачі, завдання, тести тощо (у

разі необхідності):

4. Підведення підсумків:

Поточний контроль: усне опитування, тестування, оцінювання виконання практичних навичок, розв'язання ситуаційних завдань, вміння аналізувати і інтерпретувати результати досліджень і правильно зробити обґрунтовані висновки, оцінювання активності на занятті.

Оцінювання поточної навчальної діяльності на практичному занятті:

2. Оцінювання теоретичних знань з теми заняття:

- методи: індивідуальне опитування, виконання тестових завдань, перевірка ведення протоколу досліджень;

- максимальна оцінка – 5, мінімальна оцінка – 3, незадовільна оцінка – 2.

1. Оцінка практичних навичок з теми заняття:

- методи: оцінювання правильності виконання практичних робіт (досліджень)

- максимальна оцінка – 5, мінімальна оцінка – 3, незадовільна оцінка – 2.

Оцінка за одне практичне заняття є середньоарифметичною за всіма складовими і може мати лише цілу величину (5, 4, 3, 2), яка округлюється за методом статистики.

Критерії поточного оцінювання на практичному занятті

Оцінка	Критерії оцінювання
«5»	Здобувач бере активну участь у практичному занятті, демонструє глибокі знання, дає повні та детальні відповіді на запитання. Бере активну участь у обговоренні проблемних ситуацій, демонструє гарні навички та вміння при виконанні практичного завдання, правильно оцінює отримані результати. Тестові завдання виконані в повному обсязі.
«4»	Здобувач бере участь у практичному занятті; добре володіє матеріалом. Демонструє необхідні знання, але дає відповіді на запитання з деякими помилками; бере участь у обговоренні проблемних ситуацій. Тестові завдання виконані в повному обсязі, не менш ніж 70% відповідей на запитання є правильними.
«3»	Здобувач іноді бере участь в практичному занятті; частково виступає і задає питання; допускає помилки під час відповідей на запитання; показує пасивну роботу на практичних заняттях. Демонструє навички та вміння при виконанні практичного завдання, однак оцінює отримані результати недостатньо повно і точно. Тестування виконано в повному обсязі, не менш ніж 50% відповідей є правильними, відповіді на відкриті питання - не логічні, з явними суттєвими помилками у визначеннях.
«2»	Здобувач не бере участь у практичному занятті, є лише спостерігачем; ніколи не виступає і не задає питання, незацікавлений у вивченні матеріалу; дає неправильні відповіді на запитання, демонструє недостатні навички та вміння, не може впоратися з практичною роботою і оцінкою отриманих результатів.. Тестування не виконано.

5. Список рекомендованої літератури (основна, додаткова, електронні інформаційні ресурси):

Основна:

1. Абул К. Аббас, Ендрю Г. Ліхтман & Шив Піллай. Основи імунології: функції та розлади імунної системи: 6-е видання. Київ: Медицина, 2020, 328 с.

2. Майкл Р Барер, Вілл Ірвінг, Ендрю Свонн & Нелюн Перера. Медична мікробіологія, Посібник з мікробних інфекцій: патогенез, імунітет, лабораторна діагностика та контроль: 19-е видання: у двох томах. Київ: Медицина, 2021, 434 с.
3. Медична мікробіологія, вірусологія та імунологія - 3-тє видання, оновлено та доповнено // Ширококов В.П за ред. – Вінниця: «Нова книга», 2021. 920 с.

Додаткова:

1. Abbas, A., Litchman, A. H. & Pillai, S. Basic Immunology - 6th Edition. (Elsevier Ltd, 2019).
2. Anantharyan R. Jayaram Paniker C. K. Textbook of Microbiology. 12-th Edition.- Orient Longman, 2022.
3. Barer, M. & Irving, W. L. Medical Microbiology 19th Edition A Guide to Microbial Infections: Pathogenesis, Immunity, Laboratory Investigation and Control. vol. 19 (2018).
4. Burrell, C. J., Howard, C. R. & Murphy, F. A. Fenner and White's Medical Virology: Fifth Edition. Fenner and White's Medical Virology: Fifth Edition (Elsevier Inc., 2016).
5. Cann, A. J. Principles of Molecular Virology: Sixth Edition. Principles of Molecular Virology: Sixth Edition (Elsevier Inc., 2015). doi:10.1016/C2014-0-01081-7.
6. Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology, 26th Edition, 2012, English. 880 p.
7. Louten, J. & Reynolds, N. Essential Human Virology. (2016).
8. Male, D., Peebles, S. & Male, V. Immunology. (2020).
9. Marsh D, P., Lewis A O, M., Rogers, H., Williams W, D. & Wilson, M. Marsh and Martin's Oral Microbiology. (Elsevier Limited, 2016).
10. Nath, S. K. & Revankar, S. G. Problem-based microbiology. (Saunders, 2006).
11. Ream, Walt. Molecular microbiology laboratory : a writing-intensive course. (Academic Press, 2013).
12. Review of Medical Microbiology and Immunology, 12 edition/ Warren E. Levinson. McGraw-Hill Prof Med.-Tech., 2012. 688 p.
13. Rich, R. R. & Fleisher, T. A. Clinical Immunology (Fifth Edition) Principles and Practice. Clinical Immunology (2018).
14. Sandle, T. Pharmaceutical Microbiology: Essentials for Quality Assurance and Quality Control. Pharmaceutical Microbiology: Essentials for Quality Assurance and Quality Control (Elsevier Inc., 2015). doi:10.1016/C2014-0-00532-1.
15. Wilson, J. (Nurse) & Stucke, V. A. Clinical microbiology : an introduction for healthcare professionals. (Baillière Tindall, 2000).

Електронні інформаційні ресурси

1. <http://moz.gov.ua> – Міністерство охорони здоров'я України
2. <http://www.microbiologybook.org> - Microbiology and immunology on-line
3. <http://www.microbiologyinfo.com> - On-line microbiology note
4. www.cdc.gov - Centers for diseases control and prevention
5. www.ama-assn.org – Американська медична асоціація / American Medical Association
6. www.who.int – Всесвітня організація охорони здоров'я
7. www.dec.gov.ua/mtd/home/ - Державний експертний центр МОЗ України

Практичне заняття

Тема: Культивування вірусів.

Мета: Ознайомити студентів з основними методами культивування вірусів, зробивши наголос на сучасних методах культивування, розглянути класифікацію культур клітин, цитопатичної дії вірусів на клітини.

Основні поняття: Вірус, віріон, пріони, клітинні культури, курячий ембріон, цитопатична дія, бляшкоутворення, реакція гемаглютинації, реакція гемадсорбції, індикація та ідентифікація вірусів.

Обладнання: Структурно-логічні схеми, таблиці, відеоматеріали, результати лабораторних досліджень, ситуаційні задачі.

План:

1. Організаційні заходи (привітання, перевірка присутніх, повідомлення теми, мети заняття, мотивація здобувачів вищої освіти щодо вивчення теми).

Вірусологія, як самостійна наука, посідає авангардне положення в біології та медицині і розвивається доволі швидкими темпами завдяки сучасним методам дослідження. Вірусним хворобам належить головне місце в інфекційній патології людини. Гостро постає проблема масових вірусних інфекцій – респіраторних та кишкових. Еволюція вірусів продовжується, що призводить до виникнення нових вірусних захворювань, таких як коронавірусна хвороба, СНІД та ін. Тому майбутні лікарі мають бути обізнані у питаннях будови та класифікації вірусів, можливостей культивування вірусів, діагностики вірусних інфекцій, особливостей протівірусного імунітету, напрямків лікування та профілактики вірусних хвороб.

Вивчення даної теми дозволить зрозуміти відмінності у культивуванні вірусів в порівнянні з бактеріями, зрозуміти поняття індикація та ідентифікація вірусів, мати уявлення про сучасні методи культивування вірусів. Слід зауважити, що культивування вірусів проводять з метою лабораторної діагностики вірусних інфекцій, для вивчення питань патогенезу та імунітету, отримання діагностичних та вакцинних препаратів, в науково-дослідницькій роботі.

2. Контроль опорного рівня знань

2.1. вимоги до теоретичної готовності студентів до виконання практичних завдань

Вимоги до знань:

1. Назвіть основні біологічні моделі, які можуть бути використані для культивування вірусів.
2. Надайте пояснення поняття «клітинна культура» та назвіть типи клітинних культур.
3. Назвіть ознаки розвитку вірусів у культурах клітин (індикація вірусів).
4. Опишіть варіанти цитопатичної дії вірусів.

Перелік дидактичних одиниць:

1. Клітинні культури в вірусології, класифікація, методи отримання.
2. Індикація та ідентифікація вірусів.
3. Індикація вірусної репродукції у клітинах: ЦПД, реакція гемадсорбції та гемаглютинації.

2.2. Питання для перевірки базових знань за темою заняття:

Теоретичні питання:

1. Поняття про клітинні культури. Класифікація (первинні, перещеплювальні, напівперещеплювальні).
2. Техніка отримання первинно-трипсинізованих культур клітин.
3. Методика отримання та переваги використання перещеплювальних культур. Приклади перещеплювальних клітинних ліній.
4. Поживні середовища для клітинних культур. Приклади.
5. Ознаки вірусної репродукції в культурі клітин. Поняття про ЦПД.
6. Інші методи індикації вірусної репродукції – реакція гемадсорбції, гемаглютинації, вірусні включення.

7. Феномен бляшко утворення.
8. Механізм тесту «кольорова проба».
9. Особливості лабораторної діагностики вірусних інфекцій (призначення, мета, методи).
10. Швидкі методи вірусологічної діагностики, в т.ч. експресдіагностка.
11. Вірусологічний метод діагностики, заснований на виділенні та ідентифікації віруса.

Тестові завдання (правильна відповідь А)

Для виготовлення вакцин проводять вирощування бактерій на штучних поживних середовищах. Які мікроорганізми не зростають на штучних живильних середовищах?

- A. Віруси
- B. Найпростіші
- C. Мікоплазми
- D. Актиноміцети
- E. Гриби

З метою індикації вірусів в культурі клітин використовують метод, заснований на зміні рН культурального поживного середовища в процесі культивування вірусів *in vitro*. Яка назва цього методу індикації

- A. Кольорова проба
- B. Реакція бляшко утворення
- C. Цитопатична дія
- D. Реакція гемаглютинації
- E. Реакція гемадсорбції

В лабораторії запланована робота по культивуванню вірусів. Які середовища необхідні для вирощування клітинних культур у вигляді моношля?

- A. Середовище Ігла
- B. Середовище Ендо
- C. Середовище Гіса
- D. Кров'яний агар
- E. Жовчний бульон

Для кількісного визначення вірусів у пробі використовують :

- A. Метод бляшек (негативних колоній)
- B. Кольорову пробу
- C. РГА
- D. РГАдс
- E. Визначення включень

З метою діагностики вірусного захворювання, проведено зараження клітинних культур вірусним матеріалом з подальшим вивченням ЦПД. В чому може проявитися цитопатична дія вірусу?

- A. Все перераховане
- B. Каріопікноз
- C. Формування симпластів
- D. Лізис клітин
- E. Вакуолізація цитоплазми

В вірусології використовують наступні види клітинних культур, ОКРІМ

- A. Еритроцитарні
- B. Первинні
- C. Перещеплювальні
- D. Одношарові
- E. Напівперещеплювальні

Основним методом вірусологічної діагностики є виділення вірусу в культурі клітин. О наявності вірусу судять по його специфічній дії на уражену клітину. Як називається ця дія?

- A. ЦПД
- B. РН
- C. РА
- D. ІФА
- E. РІФ

3.Формування професійних вмінь, навичок

3.1. зміст завдань (задачі, клінічні ситуації тощо)

Задача 1

В інфекційну лікарню поступив хворий з клінічними ознаками енцефаліту. Із анамнеза відомо про укуси кліща тиждень тому.

3.2. рекомендації (інструкції) щодо виконання завдань (професійні алгоритми, орієнтуючі карти для формування практичних вмінь та навичок тощо)

Для репродукції вірусів необхідна їхня взаємодія з живою клітиною. Отже, культивувати віруси можна тільки в клітинах.

На першому етапі вивчення вірусів використовувався тільки один спосіб їхнього культивування - в сприйнятливому організмі. Цей метод застосовується до справжнього часу, оскільки деякі віруси, наприклад віруси Коксаки А, можуть репродукуватися лише в організмі одно- дводенних мишенят. Культивування в організмі лабораторних тварин у ряді випадків є зручним способом, але у цього методу є істотні недоліки. Не завжди можна обрати сприйнятливую тварину для певного вірусу. При культивуванні *in vivo* важко отримати чисті популяції вірусів, оскільки тварини часто контаміновані багатьма вірусами і бактеріями.

Другий метод культивування вірусів - в курячих ембріонах. Цей метод широко використовується у вірусології у зв'язку з його простотою і доступністю, але не всі віруси можуть репродукуватися в курячих ембріонах.

Дуже перспективний і широко використовується метод культивування вірусів в одношарових культурах клітин. У вірусології частіше за всього застосовуються **первинні** і **перещеплювальні** культури клітин. Цей метод дозволяє легко стежити за розвитком вірусу в моношарі і має низку інших переваг. Використовуючи культури клітин різних видів можна визначити, в яких саме культурах вірус репродукується, що є однією з ознак для ідентифікації вірусу, що виділяється.

Важливо зупинитись на тому, що при репродукції вірусів можуть наступати характерні зміни в інфікованих клітинах. У лабораторних тварин розвиваються симптоми захворювання, з'являються ознаки поразки курячих ембріонів, виявляються зміни в моношарі культур клітин. Ці зміни називають **цитопатичним ефектом (ЦПЕ)** або **цитопатичною дією вірусів (ЦПД)**. Наприклад, ЦПД вірусів в культурі клітин може виявлятися в загибелі кліток, порушенні цілісності моношара, утворенні гігантських багатоядерних кліток, клітинних сінцитіїв та

симпластів та ін. Характер ЦПД різних вірусів відрізняється, що служить ознакою для групової ідентифікації вірусу, що репродукується.

В клітинах, уражених вірусом, часто виявляються **вірусні включення**, які можуть розташовуватися в ядрі (ядерні) або в цитоплазмі (цитоплазматичні). Включення полягають з частин формуючихся віріонів і клітинних елементів. Деякі вірусні включення можуть мати діагностичне значення, як наприклад тельця Бабеша-Негрі в клітинах головного мозку при сказі. Вірусні включення можуть виявлятися при гістохімічному забарвленні, а також при люмінесцентній мікроскопії - при забарвленні акридиновим померанчевим, або з використанням відомої вам реакції імунофлюоресценції - РІФ.

Феномен бляшкоутворення також використовується для індикації вірусної репродукції. Бляшки («негативні колонії») – ділянки зруйнованих вірусом клітин, їх можна спостерігати при культивуванні вірусів на одношарових клітинних культурах, вкритих тонким шаром агару. Бляшки, утворені різними вірусами відрізняються за розміром, формою, часом появи та ін., що також використовують для ідентифікації вірусів.

Реакція гемадсорбції – це здатність клітинних культур, заражених вірусом, адсорбувати на своїй поверхні еритроцити. Механізм реакції гемаглютинації є дуже схожим. Багато вірусів мають гемадсорбуючу властивість.

«Кольорова проба» заснована на зміні кольору індикатору поживного середовища, який використовують для живлення культур клітин. При зростанні клітин, які не уражені вірусом, в середовищі накопичуються продукти метаболізму, що веде до зміни кольору індикатору у поживному середовищі. Однак при репродукції вірусів в культурі порушується нормальний метаболізм клітин і середовище збережує колір.

3.3. вимоги до результатів роботи, в т.ч. до оформлення

1. Ознайомитися з технікою отримання первинно-трипсинізованих клітинних культур
2. Вивчити характер ЦПД вірусів в культурах клітин (за демонстраційними препаратами)
3. Вивчити феномен бляшкоутворення під агаровим покриттям (за демонстраційним препаратом)
4. Пояснити розрахунок титру вірусу (БУО/мл) методом бляшок під агаровим покриттям
5. Оцінка та облік результатів РГА для титрування вірусу грипу.
6. Облік результатів РІФ за демонстраційними препаратами
7. Оцінка та облік результатів РГГА в парних сироватках пацієнта для діагностики грипу.
8. Ознайомитися з технікою проведення та обліком результатів імунної хроматографії для експресдіагностики вірусних захворювань.

4. Підведення підсумків

Усне опитування, тестування, оцінювання виконання практичних навичок, розв'язання ситуаційних завдань, оцінювання активності на занятті тощо.

Поточний контроль: усне опитування, тестування, оцінювання виконання практичних навичок, розв'язання ситуаційних завдань, вміння аналізувати і інтерпретувати результати досліджень і правильно зробити обґрунтовані висновки, оцінювання активності на занятті.

Оцінювання поточної навчальної діяльності на занятті:

1. Оцінювання теоретичних знань з теми заняття:

- методи: індивідуальне опитування, виконання тестових завдань, перевірка ведення протоколу досліджень;

- максимальна оцінка – 5, мінімальна оцінка – 3, незадовільна оцінка – 2.

2. Оцінка практичних навичок з теми заняття:

- методи: оцінювання правильності виконання практичних робіт (досліджень)

- максимальна оцінка – 5, мінімальна оцінка – 3, незадовільна оцінка – 2.

Оцінка за одне практичне заняття є середньоарифметичною за всіма складовими і може мати лише цілу величину (5, 4, 3, 2), яка округлюється за методом статистики.

Критерії поточного оцінювання на практичному занятті

Оцінка	Критерії оцінювання
«5»	Здобувач бере активну участь у практичному занятті, демонструє глибокі знання, дає повні та детальні відповіді на запитання. Бере активну участь у обговоренні проблемних ситуацій, демонструє гарні навички та вміння при виконанні практичного завдання, правильно оцінює отримані результати. Тестові завдання виконані в повному обсязі.
«4»	Здобувач бере участь у практичному занятті; добре володіє матеріалом. Демонструє необхідні знання, але дає відповіді на запитання з деякими помилками; бере участь у обговоренні проблемних ситуацій. Тестові завдання виконані в повному обсязі, не менш ніж 70% відповідей на запитання є правильними.
«3»	Здобувач іноді бере участь в практичному занятті; частково виступає і задає питання; допускає помилки під час відповідей на запитання; показує пасивну роботу на практичних заняттях. Демонструє навички та вміння при виконанні практичного завдання, однак оцінює отримані результати недостатньо повно і точно. Тестування виконано в повному обсязі, не менш ніж 50% відповідей є правильними, відповіді на відкриті питання - не логічні, з явними суттєвими помилками у визначеннях.
«2»	Здобувач не бере участь у практичному занятті, є лише спостерігачем; ніколи не виступає і не задає питання, незацікавлений у вивченні матеріалу; дає неправильні відповіді на запитання, демонструє недостатні навички та вміння, не може впоратися з практичною роботою і оцінкою отриманих результатів.. Тестування не виконано.

5. Список рекомендованої літератури (основна, додаткова, електронні інформаційні ресурси):

Основна:

1. Абул К. Аббас, Ендрю Г. Ліхтман & Шив Піллай. Основи імунології: функції та розлади імунної системи: 6-е видання. Київ: Медицина, 2020, 328 с.
2. Майкл Р Барер, Вілл Ірвінг, Ендрю Свонн & Нелюн Перера. Медична мікробіологія, Посібник з мікробних інфекцій: патогенез, імунітет, лабораторна діагностика та контроль: 19-е видання: у двох томах. Київ: Медицина, 2021, 434 с.
3. Медична мікробіологія, вірусологія та імунологія» - 3-тє видання, оновлено та доповнено // Ширококов В.П за ред. – Вінниця: «Нова книга», 2021. 920 с.

Додаткова:

1. Abbas, A., Litchman, A. H. & Pillai, S. Basic Immunology - 6th Edition. (Elsevier Ltd, 2019).
2. Anantharyan R. Jayaram Paniker C. K. Textbook of Microbiology. 12-th Edition.- Orient Longman, 2022.
3. Barer, M. & Irving, W. L. Medical Microbiology 19th Edition A Guide to Microbial Infections: Pathogenesis, Immunity, Laboratory Investigation and Control. vol. 19 (2018).
4. Burrell, C. J., Howard, C. R. & Murphy, F. A. Fenner and White's Medical Virology: Fifth Edition. Fenner and White's Medical Virology: Fifth Edition (Elsevier Inc., 2016).
5. Cann, A. J. Principles of Molecular Virology: Sixth Edition. Principles of Molecular Virology: Sixth Edition (Elsevier Inc., 2015). doi:10.1016/C2014-0-01081-7.
6. Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology, 26th Edition, 2012, English. 880 p.

7. Louten, J. & Reynolds, N. Essential Human Virology. (2016).
8. Male, D., Peebles, S. & Male, V. Immunology. (2020).
9. Marsh D, P., Lewis A O, M., Rogers, H., Williams W, D. & Wilson, M. Marsh and Martin's Oral Microbiology. (Elsevier Limited, 2016).
10. Nath, S. K. & Revankar, S. G. Problem-based microbiology. (Saunders, 2006).
11. Ream, Walt. Molecular microbiology laboratory : a writing-intensive course. (Academic Press, 2013).
12. Review of Medical Microbiology and Immunology, 12 edition/ Warren E. Levinson. McGraw-Hill Prof Med.-Tech., 2012. 688 p.
13. Rich, R. R. & Fleisher, T. A. Clinical Immunology (Fifth Edition) Principles and Practice. Clinical Immunology (2018).
14. Sandle, T. Pharmaceutical Microbiology: Essentials for Quality Assurance and Quality Control. Pharmaceutical Microbiology: Essentials for Quality Assurance and Quality Control (Elsevier Inc., 2015). doi:10.1016/C2014-0-00532-1.
15. Wilson, J. (Nurse) & Stucke, V. A. Clinical microbiology : an introduction for healthcare professionals. (Baillière Tindall, 2000).

Електронні інформаційні ресурси

1. <http://moz.gov.ua> – Міністерство охорони здоров'я України
2. <http://www.microbiologybook.org> - Microbiology and immunology on-line
3. <http://www.microbiologyinfo.com> - On-line microbiology note
4. www.cdc.gov - Centers for diseases control and prevention
5. www.ama-assn.org – Американська медична асоціація / American Medical Association
6. www.who.int – Всесвітня організація охорони здоров'я
7. www.dec.gov.ua/mtd/home/ - Державний експертний центр МОЗ України

Практичне заняття

Тема: Методи лабораторної діагностики вірусних інфекцій. Пріони.

Мета: Ознайомити студентів з основними сучасними методами діагностики вірусних інфекцій.

Основні поняття: Вірус, віріон, пріони, клітинні культури, курячий ембріон, цитопатична дія, бляшкоутворення, реакція гемаглютинації, реакція гемадсорбції, реакція гальмування гемаглютинації, реакція нейтралізації (кольорова проба), індикація та ідентифікація вірусів.

Обладнання: Структурно-логічні схеми, таблиці, відеоматеріали, результати лабораторних досліджень, ситуаційні задачі.

План:

1. Організаційні заходи (привітання, перевірка присутніх, повідомлення теми, мети заняття, мотивація здобувачів вищої освіти щодо вивчення теми).

Вірусологія, як самостійна наука, посідає авангардне положення в біології та медицині і розвивається доволі швидкими темпами завдяки сучасним методам дослідження. Вірусним хворобам належить головне місце в інфекційній патології людини. Гостро постає проблема масових вірусних інфекцій – респіраторних та кишкових. Еволюція вірусів продовжується, що призводить до виникнення нових вірусних захворювань, таких як коронавірусна хвороба, СНІД та ін. Тому майбутні лікарі мають бути обізнані у питаннях будови та класифікації вірусів, можливостей культивування вірусів, діагностики вірусних інфекцій, особливостей противірусного імунітету, напрямків лікування та профілактики вірусних хвороб.

Вивчення даної теми дозволить зрозуміти відмінності у культивуванні вірусів в порівнянні з бактеріями, зрозуміти поняття індикація та ідентифікація вірусів, мати уявлення про сучасні методи культивування вірусів та лабораторної діагностики вірусних інфекцій. Слід зауважити, що культивування вірусів проводять з метою лабораторної діагностики вірусних інфекцій, для вивчення питань патогенезу та імунітету, отримання діагностичних та вакцинних препаратів, в науково-дослідницькій роботі.

2. Контроль опорного рівня знань

2.1. вимоги до теоретичної готовності студентів до виконання практичних завдань

Вимоги до знань:

1. Назвіть методи індикації та ідентифікації вірусів.
2. Назвіть основні методи лабораторної діагностики вірусних інфекцій.
3. Серологічні реакції, що використовуються у вірусології.
4. Реакція віруснейтралізації, гемаглютинації та гемадсорбції, гальмування гемаглютинації, РЗК, РІФ, ІФА.

Перелік дидактичних одиниць:

1. Індикація та ідентифікація вірусів.
2. Індикація вірусної репродукції у клітинах: ЦПД, реакція гемадсорбції та гемаглютинації.
3. Методи лабораторної діагностики вірусних інфекцій (вірусологічний, серологічний, молекулярно-генетичний, мікроскопічний).

2.2. Питання для перевірки базових знань за темою заняття:

Теоретичні питання:

1. Особливості лабораторної діагностики вірусних інфекцій (призначення, мета, методи).
2. Швидкі методи вірусологічної діагностики, в т.ч. експресдіагностка.
3. Вірусологічний метод діагностики, заснований на виділенні та ідентифікації віруса.
4. Методи індикації та ідентифікації вірусів.
5. Серологічний метод діагностики вірусних захворювань. Критерії серологічного діагнозу.
6. Механізм та застосування РГГА.
7. Молекулярно-генетичні методи діагностики вірусних інфекцій як сучасна діагностика.

Тестові завдання (правильна відповідь А)

Серологічна діагностика грипу передбачає виявлення зростання титру антитіл до збудника в сироватці крові хворого. В скількі разів має зрости титр антитіл у парних сироватках, щоб результат вважався достовірним?

- A. В 4 і більшу разів
- B. В 2 рази
- C. В 3 рази
- D. На пів-титру
- E. В 10 разів

Для діагностики генералізованої герпетичної інфекції досліджено сироватку крові з метою виявлення специфічних антитіл певного класу. Антитіла якого класу свідчать про гостру стадію вірусної інфекції?

- A. IgM
- B. IgE
- C. IgG
- D. IgA
- E. IgD

При серологічній діагностиці захворювання було встановлено присутність у сироватці крові антитіл до передбачуваного збудника. У якому разі отриманий результат може вважатися основою постановки діагнозу?

- A. Якщо антитіла виявлені у діагностичному титрі
- B. Під час дослідження однієї проби сироватки достовірний серологічний діагноз поставити неможливо
- C. Якщо антитіла виявлені в титрі, вище діагностичного
- D. Виявлення антитіл немає діагностичного значення у разі
- E. Виявлення антитіл до збудника має діагностичне значення незалежно від їх титру.

З метою індикації вірусів при мікроскопії обробленої досліджуваним матеріалом культури клітин виявили клітини, на яких знаходилися скупчення еритроцитів. Назвіть вказаний за умов тест індикації вірусів.

- A. Реакція гемадсорбції
- B. Кольорова проба
- C. Реакція гемаглютинації
- D. Бляшкоутворення
- E. Цитопатичну дію

З роگیвки кролика зараженої вмістом везикули хворого з підозрою на натуральну віспу, приготували мазок-відбиток. При мікроскопії препарату, забарвленого за Романовським, виявили тільця різної величини та форми, розташовані у цитоплазмі. Назвіть ці тільця.

- A. Гварнієрі
- B. Люпшютца
- C. Бабеша-Негрі
- D. Пашена
- E. Арагао

3. Формування професійних вмінь, навичок

3.1. зміст завдань (задачі, клінічні ситуації тощо)

Задача 1

В інфекційну лікарню поступив хворий з клінічними ознаками енцефаліту. Із анамнеза відомо про укуси кліща тиждень тому.

3.2. рекомендації (інструкції) щодо виконання завдань (професійні алгоритми, орієнтуючі карти для формування практичних вмінь та навичок тощо)

Для репродукції вірусів необхідна їхня взаємодія з живою клітиною. Отже, культивувати віруси можна тільки в клітинах.

На першому етапі вивчення вірусів використовувався тільки один спосіб їхнього культивування - в сприйнятливому організмі. Цей метод застосовується до справжнього часу, оскільки деякі віруси, наприклад віруси Коксаки А, можуть репродукуватися лише в організмі одно- дводенних мишенят. Культивування в організмі лабораторних тварин у ряді випадків є зручним способом, але у цього методу є істотні недоліки. Не завжди можна обрати сприйнятливую тварину для певного вірусу. При культивуванні *in vivo* важко отримати чисті популяції вірусів, оскільки тварини часто контаміновані багатьма вірусами і бактеріями.

Другий метод культивування вірусів - в курячих ембріонах. Цей метод широко використовується у вірусології у зв'язку з його простотою і доступністю, але не всі віруси можуть репродукуватися в курячих ембріонах.

Дуже перспективний і широко використовується метод культивування вірусів в одношарових культурах клітин. У вірусології частіше за всього застосовуються **первинні і перещеплювальні** культури клітин. Цей метод дозволяє легко стежити за розвитком вірусу в моношарі і має низку інших переваг. Використовуючи культури клітин різних видів можна визначити, в яких саме культурах вірус репродукується, що є однією з ознак для ідентифікації вірусу, що виділяється.

Важливо зупинитись на тому, що при репродукції вірусів можуть наступати характерні зміни в інфікованих клітинах. У лабораторних тварин розвиваються симптоми захворювання, з'являються ознаки поразки курячих ембріонів, виявляються зміни в моношарі культур клітин. Ці зміни називають **цитопатичним ефектом (ЦПЕ)** або **цитопатичною дією вірусів (ЦПД)**. Наприклад, ЦПД вірусів в культурі клітин може виявлятися в загибелі кліток, порушенні цілісності моношара, утворенні гігантських багатоядерних кліток, клітинних сінцитіїв та симпластів та ін. Характер ЦПД різних вірусів відрізняється, що служить ознакою для групової ідентифікації вірусу, що репродукується.

В клітинах, уражених вірусом, часто виявляються **вірусні включення**, які можуть розташовуватися в ядрі (ядерні) або в цитоплазмі (цитоплазматичні). Включення полягають з частин формуючихся віріонів і клітинних елементів. Деякі вірусні включення можуть мати діагностичне значення, як наприклад тельця Бабеша-Негрі в клітинах головного мозку при сказі. Вірусні включення можуть виявлятися при гістохімічному забарвленні, а також при люмінесцентній мікроскопії - при забарвленні акридиновим померанчевим, або з використанням відомої вам реакції імунофлюоресценції - РІФ.

Феномен бляшкоутворення також використовується для індикації вірусної репродукції. Бляшки («негативні колонії») – ділянки зруйнованих вірусом клітин, їх можна спостерігати при культивуванні вірусів на одношарових клітинних культурах, вкритих тонким шаром агару.

Бляшки, утворені різними вірусами відрізняються за розміром, формою, часом появи та ін., що також використовують для ідентифікації вірусів.

Реакція гемадсорбції – це здатність клітинних культур, заражених вірусом, адсорбувати на своїй поверхні еритроцити. Механізм реакції гемаглютинації є дуже схожим. Багато вірусів мають гемадсорбуючу властивість.

«Кольорова проба» заснована на зміні кольору індикатору поживного середовища, який використовують для живлення культур клітин. При зростанні клітин, які не уражені вірусом, в середовищі накопичуються продукти метаболізму, що веде до зміни кольору індикатору у поживному середовищі. Однак при репродукції вірусів в культурі порушується нормальний метаболізм клітин і середовище збережує колір.

Таблиця 1. Методи лабораторної діагностики вірусних інфекцій

Час отримання діагнозу	Мета методу	Основні реакції і методи для діагностики
Експрес-діагностика	Виявлення збудника або його компонентів в досліджуваному матеріалі	Електронна мікроскопія (ЕМ), імуноелектронна мікроскопія (ІЕМ), реакція імунофлюоресценції (РІФ), реакція зворотної непрямой гемаглютинації (РЗНГА), радіоімунний аналіз (РІА), імуноферментний аналіз (ІФА), зустрічний імуноелектрофорез (ВІЕФ), реакція преципітації в гелі (РПГ), реакція зв'язування комплементу (РЗК). Полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР). Молекулярна гібридизація (МГ)
Рання діагностика	Виділення та ідентифікація вірусу (вірусологічна діагностика)	Зараження культур клітин, курячих ембріонів, лабораторних тварин досліджуваним матеріалом Індикація вірусу: ЦПД, патологічні зміни КЕ та лабораторних тварин, РГ _{адс} , РГА; Індикація одночасно з ідентифікацією: РІФ, РЗНГА, РП, РЗК, ВІЕФ, ІФА, РІА, МГ, ПЛР, Ідентифікація вірусу: РГГА, РГГ _{адс} , РЗК, РН, ІФА, РІА.
Пізня діагностика	Виявлення антитіл до вірусу у сироватці крові хворого (серологічна діагностика)	РГГА, РНГА, зворотня РІФ, РЗК, РН, РІА, ІФА, імуноблот для: - виявлення діагностичного титру антитіл, - виявлення діагностичного наростання титрів антитіл в парних сироватках, - виявлення антитіл класу IgM.

3.3. вимоги до результатів роботи, в т.ч. до оформлення

1. Ознайомитися з технікою отримання первинно-трипсинізованих клітинних культур
2. Вивчити характер ЦПД вірусів в культурах клітин (за демонстраційними препаратами)
3. Вивчити феномен бляшкоутворення під агаровим покриттям (за демонстраційним препаратом)
4. Пояснити розрахунок титру вірусу (БУО/мл) методом бляшок під агаровим покриттям
5. Оцінка та облік результатів РГА для титрування вірусу грипу.
6. Облік результатів РІФ за демонстраційними препаратами
7. Оцінка та облік результатів РГГА в парних сироватках пацієнта для діагностики грипу.
8. Ознайомитися з технікою проведення та обліком результатів імуноної хроматографії для

експресдіагностики вірусних захворювань.

4. Підведення підсумків

Усне опитування, тестування, оцінювання виконання практичних навичок, розв'язання ситуаційних завдань, оцінювання активності на занятті тощо.

Поточний контроль: усне опитування, тестування, оцінювання виконання практичних навичок, розв'язання ситуаційних завдань, вміння аналізувати і інтерпретувати результати досліджень і правильно зробити обґрунтовані висновки, оцінювання активності на занятті.

Оцінювання поточної навчальної діяльності на занятті:

1. Оцінювання теоретичних знань з теми заняття:

- методи: індивідуальне опитування, виконання тестових завдань, перевірка ведення протоколу досліджень;

- максимальна оцінка – 5, мінімальна оцінка – 3, незадовільна оцінка – 2.

2. Оцінка практичних навичок з теми заняття:

- методи: оцінювання правильності виконання практичних робіт (досліджень)

- максимальна оцінка – 5, мінімальна оцінка – 3, незадовільна оцінка – 2.

Оцінка за одне практичне заняття є середньоарифметичною за всіма складовими і може мати лише цілу величину (5, 4, 3, 2), яка округлюється за методом статистики.

Критерії поточного оцінювання на практичному занятті

Оцінка	Критерії оцінювання
«5»	Здобувач бере активну участь у практичному занятті, демонструє глибокі знання, дає повні та детальні відповіді на запитання. Бере активну участь у обговоренні проблемних ситуацій, демонструє гарні навички та вміння при виконанні практичного завдання, правильно оцінює отримані результати. Тестові завдання виконані в повному обсязі.
«4»	Здобувач бере участь у практичному занятті; добре володіє матеріалом. Демонструє необхідні знання, але дає відповіді на запитання з деякими помилками; бере участь у обговоренні проблемних ситуацій. Тестові завдання виконані в повному обсязі, не менш ніж 70% відповідей на запитання є правильними.
«3»	Здобувач іноді бере участь в практичному занятті; частково виступає і задає питання; допускає помилки під час відповідей на запитання; показує пасивну роботу на практичних заняттях. Демонструє навички та вміння при виконанні практичного завдання, однак оцінює отримані результати недостатньо повно і точно. Тестування виконано в повному обсязі, не менш ніж 50% відповідей є правильними, відповіді на відкриті питання - не логічні, з явними суттєвими помилками у визначеннях.
«2»	Здобувач не бере участь у практичному занятті, є лише спостерігачем; ніколи не виступає і не задає питання, незацікавлений у вивченні матеріалу; дає неправильні відповіді на запитання, демонструє недостатні навички та вміння, не може впоратися з практичною роботою і оцінкою отриманих результатів.. Тестування не виконано.

5. Список рекомендованої літератури (основна, додаткова, електронні інформаційні ресурси):

Основна:

1. Абул К. Аббас, Ендрю Г. Ліхтман & Шив Піллай. Основи імунології: функції та розлади імунної системи: 6-е видання. Київ: Медицина, 2020, 328 с.

2. Майкл Р Барер, Вілл Ірвінг, Ендрю Свонн & Нелюн Перера. Медична мікробіологія, Посібник з мікробних інфекцій: патогенез, імунітет, лабораторна діагностика та контроль: 19-е видання: у двох томах. Київ: Медицина, 2021, 434 с.
3. Медична мікробіологія, вірусологія та імунологія - 3-тє видання, оновлено та доповнено // Ширококов В.П за ред. – Вінниця: «Нова книга», 2021. 920 с.

Додаткова:

1. Abbas, A., Litchman, A. H. & Pillai, S. Basic Immunology - 6th Edition. (Elsevier Ltd, 2019).
2. Anantharyan R. Jayaram Paniker C. K. Textbook of Microbiology. 12-th Edition.- Orient Longman, 2022.
3. Barer, M. & Irving, W. L. Medical Microbiology 19th Edition A Guide to Microbial Infections: Pathogenesis, Immunity, Laboratory Investigation and Control. vol. 19 (2018).
4. Burrell, C. J., Howard, C. R. & Murphy, F. A. Fenner and White's Medical Virology: Fifth Edition. Fenner and White's Medical Virology: Fifth Edition (Elsevier Inc., 2016).
5. Cann, A. J. Principles of Molecular Virology: Sixth Edition. Principles of Molecular Virology: Sixth Edition (Elsevier Inc., 2015). doi:10.1016/C2014-0-01081-7.
6. Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology, 26th Edition, 2012, English. 880 p.
7. Louten, J. & Reynolds, N. Essential Human Virology. (2016).
8. Male, D., Peebles, S. & Male, V. Immunology. (2020).
9. Marsh D, P., Lewis A O, M., Rogers, H., Williams W, D. & Wilson, M. Marsh and Martin's Oral Microbiology. (Elsevier Limited, 2016).
10. Nath, S. K. & Revankar, S. G. Problem-based microbiology. (Saunders, 2006).
11. Ream, Walt. Molecular microbiology laboratory : a writing-intensive course. (Academic Press, 2013).
12. Review of Medical Microbiology and Immunology, 12 edition/ Warren E. Levinson. McGraw-Hill Prof Med.-Tech., 2012. 688 p.
13. Rich, R. R. & Fleisher, T. A. Clinical Immunology (Fifth Edition) Principles and Practice. Clinical Immunology (2018).
14. Sandle, T. Pharmaceutical Microbiology: Essentials for Quality Assurance and Quality Control. Pharmaceutical Microbiology: Essentials for Quality Assurance and Quality Control (Elsevier Inc., 2015). doi:10.1016/C2014-0-00532-1.
15. Wilson, J. (Nurse) & Stucke, V. A. Clinical microbiology : an introduction for healthcare professionals. (Baillière Tindall, 2000).

Електронні інформаційні ресурси

1. <http://moz.gov.ua> – Міністерство охорони здоров'я України
2. <http://www.microbiologybook.org> - Microbiology and immunology on-line
3. <http://www.microbiologyinfo.com> - On-line microbiology note
4. www.cdc.gov - Centers for diseases control and prevention
5. www.ama-assn.org – Американська медична асоціація / American Medical Association
6. www.who.int – Всесвітня організація охорони здоров'я
7. www.dec.gov.ua/mtd/home/ - Державний експертний центр МОЗ України

Практичне заняття

Тема: Ортоміксовіруси

Мета: Вивчити фізико-хімічні властивості, ультраструктуру, антигенну будову види та механізми антигенної мінливості представників родини *Ortomyxoviridae*, засвоїти особливості вірусологічної та серологічної діагностики, ознайомитися з принципами лікування та специфічної профілактики грипу.

Основні поняття: віруси грипу, *Influenzavirus A*, *Influenzavirus B*, *Influenzavirus C*, гемаглютинін, нейрамінідаза, антигенний шифт, антигенний дрейф.

Обладнання: структурно-логічні схеми, таблиці, відеоматеріали, результати лабораторних, ситуаційні задачі.

План

1. Організаційні заходи (привітання, перевірка присутніх, повідомлення теми, мети заняття, мотивація студентів щодо вивчення теми).

Зростаюча роль вірусів в інфекційній патології людини надає все більшої актуальності вченню про віруси. Вірусологія набуває все більшого значення як у патології людини, так і у фундаментальній науці. Зниження захворюваності, викликані збудниками іншої етіології, питома вага вірусних інфекцій неухильно росте. Знання з спеціальної вірусології необхідні при вивченні курсу інфекційних хвороб, дитячих інфекцій і інших дисциплін.

Представники родини *Ortomyxoviridae* швидко розповсюджуються серед населення, оскільки передаються переважно повітряно-крапельним шляхом. Можуть призводити до епідемічних та пандемічних спалахів, й викликати захворювання різного ступеню важкості. Грип – гостре респіраторне захворювання людини, яке характеризується катаральним запаленням верхніх дихальних шляхів, гарячкою, вираженою загальною інтоксикацією. Часто грип супроводжується виникненням тяжких ускладнень – вторинних бактеріальних пневмоній, загостренням хронічних захворювань легень. Знання загальної характеристики представників родини ортоміксовірусів буде сприяти розумінню питань патогенезу грипу, особливостей противірусного імунітету, методів терапії, профілактики та лабораторної діагностики.

2. Контроль опорного рівня знань:

2.1. Вимоги до теоретичної готовності студентів до виконання практичних занять.

Вимоги до знань:

1. Знати морфо-біологічні властивості вірусів родини *Ortomyxoviridae*;
2. Знати класифікацію ортоміксовірусів;
3. Знати загальну схему лабораторної діагностики грипу;
4. Знати патогенез, основні клінічні прояви грипу та особливості імунітету;
5. Знати особливості специфічної, неспецифічної профілактики та принципи терапії вірусних захворювань, викликаних ортоміксовірусами.

Перелік дидактичних одиниць:

1. Характеристика ортоміксовірусів. Загальні та відмінні властивості. Патогенні для людини представники.
2. Віруси грипу людини. Класифікація. Структура віріонів. Антигенна структура (гемаглютинін та нейрамінідаза).
3. Культивування та репродукція вірусу грипу.
4. Антигенна мінливість вірусів грипу та її значення в епідеміології та профілактиці захворювання. Гіпотези про механізм антигенної мінливості вірусу грипу (рекомбінації з ортоміксовірусами тварин, селекції антигенних варіантів з гетерогенних популяцій в імунному організмі).
5. Принципи терапії та специфічної профілактики грипу.
6. Лабораторна діагностика ортоміксовірусних інфекцій: експрес-діагностика. Вірусологічний

та серологічний методи діагностики.

2.2. Питання для перевірки базових знань за темою заняття:

Питання:

1. Морфологія ортоміксовірусів, їх систематичне положення, назва українською та латинською мовами.
2. Ультраструктура ортоміксовірусів. Апарат адгезії.
3. Форми взаємодії ортоміксовірусів і клітини.
4. Культивування ортоміксовірусів. Особливості.
5. Антигенна структура збудників грипу.
6. Причини антигенної мінливості вірусу грипу. Поняття про антигенний дрейф та шифт.
7. Резистентність ортоміксовірусів по відношенню до чинників навколишнього середовища і дезинфектантів.
8. Патогенність ортоміксовірусів для диких і лабораторних тварин.
9. Епідеміологія грипу (джерела інфекції, механізм, шляхи і фактори передачі, сприйнятливий організм). Заразливість хворих в різні періоди захворювання. Роль вірусоносіїв.
10. Патогенез та основні клінічні прояви грипу.
11. Особливості імунітету при ортоміксовірусних інфекціях, його напруженість, спрямованість і тривалість.
12. Методи лабораторної діагностики.
13. Принципи терапії та специфічної профілактики грипу.

Тестові завдання (правильна відповідь А):

В вірусологічну лабораторію доставлено патологічний матеріал - виділення слизової оболонки носових ходів, який взяли від хворого з попереднім діагнозом "грип". Який експрес-метод дасть змогу виявити специфічний вірусний антиген у досліджуваному матеріалі?

- A. Пряма та непряма РІФ
- B. Пряма і непряма ІФА
- C. РГГА
- D. РЗНГА
- E. РІА

Матеріал від хворого з попереднім діагнозом "Грип" направлений до лабораторії. Під час проведення вірусологічного дослідження було використано реакція гемадсорбції. Для виявлення яких вірусів можна використовувати ця реакція?

- A. Вірусів, які мають гемаглютиніни
- B. ДНК-геномних вірусів
- C. Усіх простих вірусів
- D. Будь-яких вірусів
- E. Усіх складних вірусів

З метою індикації вірусів, при мікроскопії обробленої досліджуваного матеріалом культури клітин виявили клітини, на яких знаходилися скупчення еритроцитів. Назвіть зазначений в умовах тест індикації вірусів.

- A. Реакція гемадсорбції
- B. Реакція гемаглютинації
- C. Цитопатичну дію
- D. Бляшкоутворення
- E. Кольорова проба

На 6-й день захворювання на грип у пацієнта розвинулася пневмонія. Який метод найнадійніше підтверджує грипозну етіологію пневмонії?

- A. Виявлення антигенів вірусу грипу в харкотинні методом ІФА.
- B. Зараження курячих ембріонів.
- C. Дослідження парних сироваток.
- D. Виявлення антитіл проти ге-маглютинінів вірусу грипу.
- E. Імунолюмінесцентне дослідження мазків-відбитків з носових ходів

У зв'язку з тим, що наближається епідемія грипу, районний епідеміолог складає заявку на профілактичні препарати. Який з них сприятиме формуванню активного специфічного імунітету і є найменш реактогенним?

- A. Субодиночна вакцина
- B. Лейкоцитарний інтерферон
- C. Жива вакцина
- D. Донорський гамма-глобулін
- E. Вбіта вакцина

У хворого діагностована ГРВІ. У сироватці крові виявлено імуноглобуліни класу М. Який період інфекційного процесу в даному випадку?

- A. Гострий
- B. Реконвалесценція
- C. Мікробоносійство
- D. Продромальний
- E. Інкубаційний

Серологічна діагностика грипу передбачає виявлення наростання титру антитіл до збудника в сироватці крові хворого. У скільки разів має вирости титр антитіл із парною сироваткою, щоб результат вважався достовірним?

- A. У 4 рази і більше
- B. У пів-титра
- C. Одного разу
- D. У 3 рази
- E. У 2 рази

Від хворого з підозрою на грип було взято патологічний матеріал (слиз носоглотки), яким заразили курячі ембріони у хоріоналантаїсній порожнині. За допомогою якої реакції найдоцільніше довести, що в алантаїсній рідині дійсно накопичився вірус грипу та визначити тип вірусу?

- A. Гальмування гемаглютинації
- B. Преципітації
- C. Подвійний імунодифузії
- D. Імунофлуоресценції
- E. Нейтралізації

Вірус грипу, тип А має один із перерахованих поверхневих антигенів:

- A. Нейрамінідазу
- B. Гіалуронідаза
- C. Лецитіназа

- D. Фібринолізин
- E. Плазмокоагулаза

3. Формування професійних вмінь, навичок:

3.1. зміст завдань.

1. Вивчити схеми лабораторної діагностики ортоміксовірусних інфекцій.
2. Розглянути РНК-включення вірусу грипу в люмінесцентному мікроскопі (або по мікрофотографіям).
3. Ознайомитись з РІФ для експресдіагностики грипу (за мікрофотографіями).
4. Врахувати результати РГГА для ідентифікації вірусу грипу.
5. Врахувати результати РГГА для серодіагностики грипу.
6. Ознайомитися з препаратами для діагностики та профілактики ортоміксовірусних інфекцій.

3.2. рекомендації (інструкції) щодо виконання завдань (професійні алгоритми, орієнтуючі карти для формування практичних вмінь та навичок тощо)

Вірусологічний метод діагностики. Матеріалом для дослідження є змиви з носоглотки, виділення з носа, які беруть сухими або вологими стерильними ватними тампонами в перші дні захворювання, харкотиння. Віруси можна також знайти в крові, спинномозковій рідині. При летальних випадках забирають шматочки уражених тканин верхніх і нижніх дихальних шляхів, головного мозку тощо.

Найчутливішим методом виділення вірусів є зараження 10-11-денних курячих ембріонів. Матеріал в об'ємі 0,1-0,2 мл вводять в амніотичну або алантоїсну порожнини. Заражають, як правило, 3-5 ембріонів. Ембріони інкубують при оптимальній температурі 33-34 °С протягом 72 год. З метою збільшення кількості віріонів у досліджуваному матеріалі його попередньо концентрують. Для цього використовують методи адсорбції вірусів на курячих еритроцитах, обробку 0,2 % розчином трипсину з метою підсилення інфекційних властивостей вірусів або осаджують їх за спеціальними методиками.

Після інкубації курячі ембріони охолоджують при температурі 4 °С протягом 2-4 год, потім відсмоктують стерильними піпетками або шприцем алантоїсну чи амніотичну рідину. У ній за допомогою РГА визначають наявність інфекційного вірусу. Для цього змішують рівні об'єми (0,2 мл) вірусмісткого матеріалу і 1% зависі еритроцитів курей. Про позитивну реакцію (наявність вірусу в матеріалі) свідчить осідання еритроцитів у вигляді парасольки. За умови наявності в матеріалі вірусу, який має гемаглютинуючі властивості, його титрують за допомогою розгорнутої РГА, визначаючи титр гемаглютинуючої активності. За допомогою цієї реакції визначають титр гемаглютинуючого вірусу – найбільше розведення матеріалу, яке ще дає реакцію гемаглютинації. Цю кількість вірусу приймають за одну гемаглютинуючу одиницю (ГАО). Ідентифікують віруси грипу за допомогою РГГА. Для цього спочатку готують робоче розведення вірусного матеріалу, яке містить 4 ГАО вірусу в певному об'ємі. Облік реакції проводять після утворення осаду еритроцитів в контрольних лунках. Про позитивну реакцію свідчить затримка гемаглютинації в досліджуваних лунках.

Виділяти віруси грипу можна, використовуючи різноманітні лінії культур клітин – ембріону людини, нирок мавп, перещеплювані лінії клітин нирок собаки тощо. У клітинних культурах проявляється цитопатична дія вірусів (поява клітин з фестончастими краями, вакуолями, формування внутрішньоядерних і цитоплазматичних включень), яка завершується дегенерацією моношару клітин.

Для ідентифікації виділених вірусів використовують РГГА (за умови, якщо титр гемаглютининів становить у культуральній рідині не менше 1:8). Крім цієї реакції, можна використати РГГадс, однак вона є менш чутливою і вимагає титру імунної сироватки не менше, ніж 1:160, а також РЗК, РН тощо.

Серологічне дослідження використовують для підтвердження діагнозу грипу. Воно ґрунтується на визначенні чотирикратного зростання титру антитіл у сироватці хворого. Першу сироватку отримують на початку хвороби в гострому періоді (2-5-й день хвороби), другу – після 10-14-го дня захворювання. Оскільки сироватки досліджують одночасно, першу з них зберігають у холодильнику при температурі -20°C . Найчастіше використовують РГГА, РЗК, РНГА. Ці реакції ставлять із спеціальними наборами стандартних вірусних діагностикумів (еталонні штами вірусів грипу різних серологічних типів). Оскільки сироватки хворих можуть містити неспецифічні інгібітори гемаглютинації, їх спочатку прогрівають при температурі 56°C , а також обробляють спеціальним ферментом (наприклад, нейрамінідазою) або розчинами перйодату калію, риванолу, хлориду марганця, суспензією білої глини тощо за спеціальними схемами.

Реакцію гальмування гемаглютинації можна ставити в пробірках (макрометод) або в спеціальних планшетах для імунологічних досліджень (мікрометод). Реакція вважається позитивною при утворенні компактного, щільного осаду еритроцитів з рівними краями.

Експрес-діагностика. Метод базується на виявленні в досліджуваному матеріалі специфічних вірусних антигенів за допомогою імунофлуоресценції в прямій або непрямій РІФ. Слиз отримують із носових ходів або задньої стінки глотки, центрифугують і з осаду клітин циліндричного епітелію слизової оболонки готують мазки на предметних скельцях. Їх обробляють імунофлуоресцентними сироватками, кон'югованими з флуорохромами, наприклад, ФІЦ (флуоресцеїнізотіоціанат). При дослідженні препаратів за допомогою люмінесцентного мікроскопа спостерігають характерне зелено-жовтувате світіння вірусів грипу, які локалізуються на початку хвороби в ядрах епітеліальних клітин.

Діагностика грипу під час епідемії не викликає особливих труднощів і базується на клініко-епідеміологічних даних. У міжепідемічний період грип реєструється рідше, переважають випадки легкого клінічного перебігу і його важко диференціювати з іншими гострими респіраторними захворюваннями. В таких випадках діагноз можна встановити на основі лабораторних методів:

1. Люмінесцентної мікроскопії мазків-відбитків із слизової носа, забарвлених акридин-оранжевим, і виявлення РНК вірусів;
2. Імунофлуоресценції (експрес-метод) – виявлення антигену вірусу грипу в мазках із слизової носа, із ротоглотки за допомогою флуоресціюючих імунних сироваток (типоспецифічних);
3. Швидких імунохроматографічних тестів для якісного виявлення антигенів вірусів грипу А, В у назальному секреті;
4. Серологічних реакцій (РЗК, РГГА, ІФА з грипозними діагностикумами) методом парних сироваток (першу беруть до 6-го дня хвороби, другу – через 8-14 днів); діагностичне значення має наростання титру антитіл у 4 рази і більше;
5. Вірусологічного дослідження змивів із ротоглотки, крові з виділенням вірусів грипу на курячих ембріонах, культурі тканин (має переважно ретроспективне значення);
6. Для ідентифікації вірусного геному із визначенням типу і субтипу вірусу грипу в клінічних зразках рекомендовано застосовувати зворотну транскриптазну полімеразну ланцюгову реакцію (ЗТ-ПЛР).

3.3. вимоги до результатів роботи

Практичні заняття з мікробіології, вірусології та імунології є структурованими та передбачають комплексне оцінювання в балах усіх видів навчальної діяльності (навчальних завдань), які студенти виконують під час практичного заняття:

1. На початковому етапі практичного заняття здійснюється усний та/або тестовий контроль відповідно до переліку найбільш важливих теоретичних та практичних питань з орієнтовної карти заняття. Тести містять 10 тестових завдань вибіркового типу з однією правильною відповіддю. Його результати оцінюються позитивно, якщо студент дав не менше ніж 8

правильних відповідей; студент не отримує балів, якщо кількість правильних відповідей менша за 8. Оцінка цього етапу є комплексною з результатів тестування та усного опитування. У загальній оцінці заняття цей етап студент отримує 1 - 0,5 бала.

2. На основному етапі практичного заняття оцінюється:

Виконання практичних робіт (досліджень), якість ведення протоколу досліджень відповідно до вимог, уміння аналізувати та інтерпретувати результати досліджень та правильно зробити обґрунтовані висновки, вирішення ситуаційних завдань, конструктивних тестів. У загальній оцінці поточної навчальної діяльності цей етап становить приблизно 50%

Якщо студент правильно виконав практичні роботи (дослідження), записав протокол досліджень у відповідності до вимог, зумів проаналізувати та інтерпретувати результати дослідження, зробити обґрунтовані висновки, правильно відповів на всі теоретичні питання, вирішив усі запропоновані ситуаційні та інші завдання, він отримує максимальну оцінку в 2 бали.

Якщо студент правильно виконав практичні роботи (дослідження), записав протокол досліджень відповідно до вимог, зумів проаналізувати та інтерпретувати результати досліджень, зробити обґрунтовані висновки, відповів не менше ніж на половину теоретичних питань та вирішив не менше половини запропонованих завдань та інших завдань, він отримує 1,5 бали.

Якщо студент правильно виконав практичні роботи (дослідження), записав протокол дослідження відповідно до вимог, зумів проаналізувати та інтерпретувати результати досліджень, зробити обґрунтовані висновки, відповів менш ніж на половину теоретичних питань та не вирішив жодного із запропонованих завдань, він отримує 1 бал.

Студент не набирає балів на основному етапі навчальної діяльності, якщо він не зумів правильно виконати практичні роботи (дослідження), записати протокол досліджень відповідно до вимог, проаналізувати та інтерпретувати результати досліджень, зробити обґрунтовані висновки, відповісти на теоретичні питання, вирішити запропоновані завдання та інші завдання.

3. На кінцевому етапі практичного заняття контроль теоретичної та практичної підготовки здійснюється за результатами виконання практичного завдання, оформлення протоколу лабораторної роботи, вирішення комплексних ситуаційних завдань та тестових завдань та інших завдань, що дозволяють оцінити ступінь досягнення навчальної мети. Він оцінюється максимально в 1 бал за умови, що студент правильно вирішив не менше 90% тестових завдань та/або вирішив усі ситуаційні завдання та інші завдання. За умови, що студент правильно вирішив не менше, ніж 70% тестових завдань, та/або запропонованих ситуаційних завдань студент отримує 0,5 бала, інакше студент не отримує балів за цей етап заняття.

4. Підведення підсумків

Поточний контроль: усне опитування, тестування, оцінювання виконання практичних навичок, розв'язання ситуаційних завдань, вміння аналізувати і інтерпретувати результати досліджень і правильно зробити обґрунтовані висновки, оцінювання активності на занятті.

Підсумковий контроль: тестування за типом Крок-1, іспит.

Оцінювання поточної навчальної діяльності на практичному занятті:

1. Оцінювання теоретичних знань з теми заняття:

- методи: індивідуальне опитування, виконання тестових завдань, перевірка ведення протоколу досліджень;
- максимальна оцінка – 5, мінімальна оцінка – 3, незадовільна оцінка – 2.

2. Оцінка практичних навичок з теми заняття:

- методи: оцінювання правильності виконання практичних робіт (досліджень)
- максимальна оцінка – 5, мінімальна оцінка – 3, незадовільна оцінка – 2.

Оцінка за одне практичне заняття є середньоарифметичною за всіма складовими і може мати

лише цілу величину (5, 4, 3, 2), яка округлюється за методом статистики.

Критерії поточного оцінювання на практичному занятті

Оцінка	Критерії оцінювання
Відмінно «5»	Здобувач бере активну участь у практичному занятті, демонструє глибокі знання, дає повні та детальні відповіді на запитання. Бере активну участь у обговоренні проблемних ситуацій, демонструє гарні навички та вміння при виконанні практичного завдання, правильно оцінює отримані результати. Тестові завдання виконані в повному обсязі.
Добре «4»	Здобувач бере участь у практичному занятті; добре володіє матеріалом. Демонструє необхідні знання, але дає відповіді на запитання з деякими помилками; бере участь у обговоренні проблемних ситуацій. Тестові завдання виконані в повному обсязі, не менш ніж 70% відповідей на запитання є правильними.
Задовільно «3»	Здобувач іноді бере участь в практичному занятті; частково виступає і задає питання; допускає помилки під час відповідей на запитання; показує пасивну роботу на практичних заняттях. Демонструє навички та вміння при виконанні практичного завдання, однак оцінює отримані результати недостатньо повно і точно. Тестування виконано в повному обсязі, не менш ніж 50% відповідей є правильними, відповіді на відкриті питання - не логічні, з явними суттєвими помилками у визначеннях.
Незадовільно «2»	Здобувач не бере участь у практичному занятті, є лише спостерігачем; ніколи не виступає і не задає питання, незацікавлений у вивченні матеріалу; дає неправильні відповіді на запитання, демонструє недостатні навички та вміння, не може впоратися з практичною роботою і оцінкою отриманих результатів. Тестування не виконано.

5.Список рекомендованої літератури

Основна:

1. Абул К. Аббас, Ендрю Г. Ліхтман & Шив Піллай. Основи імунології: функції та розлади імунної системи: 6-е видання. Київ: Медицина, 2020, 328 с.
2. Майкл Р Барер, Вілл Ірвінг, Ендрю Свонн & Нелюн Перера. Медична мікробіологія, Посібник з мікробних інфекцій: патогенез, імунітет, лабораторна діагностика та контроль: 19-е видання: у двох томах. Київ: Медицина, 2021, 434 с.
3. Медична мікробіологія, вірусологія та імунологія» - 3-тє видання, оновлено та доповнено // Ширококов В.П за ред. – Вінниця: «Нова книга», 2021. 920 с.

Додаткова:

1. Ширококов В.П., Климнюк С.І. Практична мікробіологія: навчальний посібник. Вінниця: Нова Книга, 2018, 576 с.
2. Abbas, A., Litchman, A. H. & Pillai, S. Basic Immunology - 6th Edition. (Elsevier Ltd, 2019).
3. Anantharyan R. Jayaram Paniker C. K. Textbook of Microbiology. 12-th Edition.- Orient Longman, 2022.
4. Barer, M. & Irving, W. L. Medical Microbiology 19th Edition A Guide to Microbial Infections: Pathogenesis, Immunity, Laboratory Investigation and Control. vol. 19 (2018).

5. Burrell, C. J., Howard, C. R. & Murphy, F. A. Fenner and White's Medical Virology: Fifth Edition. Fenner and White's Medical Virology: Fifth Edition (Elsevier Inc., 2016).
6. Cann, A. J. Principles of Molecular Virology: Sixth Edition. Principles of Molecular Virology: Sixth Edition (Elsevier Inc., 2015). doi:10.1016/C2014-0-01081-7.
7. Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology, 26th Edition, 2012, English. 880 p.
8. Louten, J. & Reynolds, N. Essential Human Virology. (2016).
9. Male, D., Peebles, S. & Male, V. Immunology. (2020).
10. Marsh D, P., Lewis A O, M., Rogers, H., Williams W, D. & Wilson, M. Marsh and Martin's Oral Microbiology. (Elsevier Limited, 2016).
11. Nath, S. K. & Revankar, S. G. Problem-based microbiology. (Saunders, 2006).
12. Ream, Walt. Molecular microbiology laboratory : a writing-intensive course. (Academic Press, 2013).
13. Review of Medical Microbiology and Immunology, 12 edition/ Warren E. Levinson. McGraw-Hill Prof Med.-Tech., 2012. 688 p.
14. Rich, R. R. & Fleisher, T. A. Clinical Immunology (Fifth Edition) Principles and Practice. Clinical Immunology (2018).
15. Sandle, T. Pharmaceutical Microbiology: Essentials for Quality Assurance and Quality Control. Pharmaceutical Microbiology: Essentials for Quality Assurance and Quality Control (Elsevier Inc., 2015). doi:10.1016/C2014-0-00532-1.
16. Wilson, J. (Nurse) & Stucke, V. A. Clinical microbiology : an introduction for healthcare professionals. (Baillière Tindall, 2000).

Електронні інформаційні ресурси

1. <http://moz.gov.ua> – Міністерство охорони здоров'я України
2. <http://www.microbiologybook.org> - Microbiology and immunology on-line
3. <http://www.microbiologyinfo.com> - On-line microbiology note
4. www.cdc.gov - Centers for diseases control and prevention
5. www.ama-assn.org – Американська медична асоціація / American Medical Association
6. www.who.int – Всесвітня організація охорони здоров'я
7. www.dec.gov.ua/mtd/home/ - Державний експертний центр МОЗ України

Практичне заняття

Тема: Параміксовірус

Мета: Сформувати у здобувачів вищої освіти знання та необхідні практичні навички щодо використання актуальних методів мікробіологічної діагностики вірусних інфекцій в практичній діяльності лікаря. Допомогти створити у студентів уявлення про механізми розвитку інфекційних захворювань спричинених параміксовірусами. Виробити у здобувачів вищої освіти здатність до визначення методів діагностики вірусних інфекцій; навчити інтерпретації результатів вірусологічних, серологічних та ін. досліджень, специфічної профілактики та лікування захворювань, що викликають параміксовіруси.

Основні поняття: вірус кору, вірус парагрипу, вірус паротиту, утворення синцитій у культурах клітин, плями Копліка, плямисто-папульозний висип із тенденцією до злиття

Обладнання: бланк направлення матеріалу на мікробіологічне дослідження, демонстраційні результати з ІФА, РІФ, ПЛР, лікувально - профілактичні та діагностичні демонстраційні препарати (діагностикуми, вакцини, противірусні препарати), таблиці, схеми, відеоматеріали, тести, ситуаційні задачі, мультимедійні презентації.

План

1. Організаційні заходи (привітання, перевірка присутніх, повідомлення теми, мети заняття, мотивація студентів щодо вивчення теми).

Актуальність теми визначається необхідністю мати загальне уявлення про методи діагностики параміксовірусів для поглибленого вивчення інфекційних захворювань та застосування знань у практичній діяльності лікаря. Мета заняття полягає в тому, щоб студенти ознайомились, проаналізували та вивчили матеріал стосовно родини Paramyxoviridae, виникнення нових штамів, перспективних напрямків імунотерапії хворих на кір, паротит. Аналіз лабораторної діагностики, лікування, профілактичної вакцинації та її ефективність.

2. Контроль опорних знань:

2.1. Вимоги до теоретичної готовності студентів до виконання практичних занять.

Вимоги до знань:

- знати сучасну таксономічну класифікацію Paramyxoviridae;
- знати загальну схему лабораторної діагностики Paramyxoviridae;
- знати будову параміксовірусів;
- знати правила забору і доставки в лабораторію досліджуваного матеріалу;
- знати режим роботи в вірусологічній лабораторії;
- знати , що таке вроджений противірусний імунітет;
- знати цикл розвитку вірусу парагрипу, кору (Morbilli), паротиту;
- знати патогенез та клінічні прояви;
- знати принципи лікування та профілактики інфекцій.

Перелік дидактичних одиниць:

1. Таксономія параміксовірусів.
2. Морфологія параміксовірусів.
3. Епідеміологія кору, парагрипу, паротиту.
4. Цикл розвитку вірусу кору, парагрипу, паротиту.
5. Патогенез та клінічні прояви під час кору, парагрипу, паротиту.
6. Імунітет. Імунна відповідь у разі кору, парагрипу, паротиту.
7. Методи лабораторної діагностики. Характеристика методів за видом діагностики та часу встановлення діагнозу. Досліджуваний матеріал. Вибір, правила взяття, транспортування, оформлення направлення до лабораторії.
8. Лікування хворого на кір, парагрип, паротит.
9. Специфічна профілактика.

2.2. Питання для перевірки базових знань за темою заняття:

Питання:

1. Таксономія Paramyxoviridae. Поясніть назви: параміксовіруси, кір, парагрип, паротит.
2. Поясніть, хто такі віруси ssРНК(-) ?
3. Шляхи та механізми передачі вірусів кору, парагрипу, паротиту.
4. Резистентність вірусів кору, парагрипу, паротиту.
5. Культивування Paramyxoviridae.
6. Структура та антигенні властивості вірусів кору, парагрипу, паротиту.
7. Назвіть клітини-мішені та з якими рецепторами взаємодіють віруси кору, парагрипу, паротиту в організмі людини?
8. Цикл розвитку вірусів кору, парагрипу, паротиту.
9. Вірус підгострого склерозуючого паненцефаліту. Особливості патогенезу
10. Що таке вроджений противірусний імунітет, клітинний та гуморальний?
11. Поясніть особливості набутого противірусного імунітету.
12. Характерні клінічні прояви у періоді розпалу кору, парагрипу, паротиту .
13. Методи лабораторної діагностики Paramyxoviridae
14. Досліджуваний матеріал. Вибір, правила взяття, транспортування, оформлення направлення до лабораторії.
15. Симптоматична та іміномодуюча терапія. Застосування рекомбінантного IFN.
16. Вакцинація за календарем щеплень проти кору та паротиту.

Тестові завдання (правильна відповідь А):

У хлопчика 6 років помірне підвищення температури, привушні залози збільшені. Зі слини хворого був виділений вірус, який розмножується в курячих ембріонах і тканинних культурах, має гемаглютинуючі властивості та викликає утворення симпластів у культурі клітин. Які ще органи найімовірніше можуть бути уражені внаслідок інфекції, спричиненої цим вірусом?

- A. Статеві залози
- B. Глоткові мигдалики
- C. Головний мозок
- D. Легкі
- E. Печінка

У дитячому садку проведено планові щеплення вакциною проти кору. Яким способом можна перевірити формування поствакцинального імунітету?

- A. Серологічним
- B. Алергічним
- C. Бактеріологічним
- D. Бактеріоскопічним
- E. Вірусологічним

Дворічний хлопчик, який не був імунізований проти кору, мав контакт з хворою на кір людиною. Лікар призначив дитині імуноглобулін. Який вид імунітету формується у людини після запровадження імуноглобулінів?

- A. Штучний пасивний
- B. Видовий
- C. Штучний активний
- D. Природний активний
- E. Природний пасивний

До хірурга-стоматолога звернувся хворий з припухлою привушною слинною залозою. Які віруси спричиняють такі симптоми?

- A. Вірус епідемічного паротиту
- B. Вірус грипу
- C. Вірус кору
- D. Ентеровіруси
- E. Віруси гепатиту В

Підгострий склерозуючий паненцефаліт – пізні ускладнення, що асоціюється з

- A. Вірусом кору
- B. Вірусом парагрипу 1 типу
- C. Респіраторно-синцитіальний вірус
- D. Вірусом епідемічного паротиту
- E. Вірусом парагрипу 4 типу

У хворого діагностовано ГРВІ. Під час обстеження виявлено лікарем виявлено симптоми, характерні для даного захворювання. Встановлено, що хворий виділяє збудника у зовнішнє середовище. Ця картина відповідає гострому періоду захворювання. Імуноглобуліни якого класу, ймовірно, будуть присутні в крові хворого?

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

У дитини, яка одужує після кору, розвинулася пневмонія, спричинена умовно-патогенними бактеріями. Яка найімовірніша форма цієї інфекції?

- A. Вторинна інфекція
- B. Реінфекція
- C. Госпітальна інфекція
- D. Персистуюча інфекція
- E. Суперінфекція

При огляді дитини 7 років педіатр зазначив, що слизова оболонка зів гіперемірована, набрякла, покрита великою кількістю слизу. На слизовій оболонці щік білуваті плями. На наступну добу у дитини з'явився крупноп'ятнистий висип на шкірі обличчя, тулуба. Про яке захворювання можна думати?

- A. Кір
- B. Скарлатина
- C. Менінгококцемія
- D. Алергічний дерматит
- E. Дифтерія

Які діти можуть мати природний пасивний імунітет до кору?

- A. Новонароджені
- B. Старше 14 років
- C. Отримані планові щеплення
- D. Ті, чий батьки не хворіли на кір
- E. Перенесли кір на першому році життя

У пацієнта відзначається головний біль, загальна слабкість, кашель, підвищення температури. Поставлено клінічний діагноз ГРВІ. Який з перелічених вірусів може бути збудником цього захворювання?

- A. Будь-який із перерахованих
- B. Аденовірус
- C. Вірус грипу
- D. Коронавірус
- E. Респіраторно-синцитіальний вірус

В аллантаїсній рідині зараженого курячого зародка лікар виявив вірус. Яку реакцію він використав для цього?

- A. Гемаглютинації
- B. Зв'язування комплементу
- C. Гальмування гемадсорбції
- D. Гальмування гемадсорбції
- E. Нейтралізації

Які зміни викликає респіраторно-синцитіальний вірус у культурі клітин?

- A. Утворення багатоядерних клітин
- B. Тотальна деструкція клітинного моношару
- C. Відшаровування моношару
- D. Круглоклітинна дегенерація
- E. Наявність тілець Бабеша-Негрі

Підгострий склерозуючий паненцефаліт викликається:

- A. Вірусом кору
- B. Цитомегаловірусом
- C. Вірусом Епштейна-Барр
- D. Вірусом простого герпесу
- E. Вірусом імунодефіциту людини

До стаціонару з дитячого дошкільного закладу доставлено дитину з діагнозом "кір". Виберіть найефективніший захід для екстреної профілактики кору в дитячому садку:

- A. Введення імуноглобуліну людського нормального
- B. Превентивне введення інтерферону
- C. Дезінфекційні заходи
- D. Введення антибіотиків
- E. Активна імунізація контактних

При вірусоскопії клітинного моношару, зараженого інфекційним матеріалом, лікар-лаборант поставив діагноз – респіраторно-синцитіальна вірусна інфекція. Які зміни викликає цей вірус у культурі клітин?

- A. Утворення багатоядерних клітин
- B. Відшаровування моношару
- C. Круглоклітинна дегенерація
- D. Наявність тілець Бабеша-Негрі
- E. Тотальна деструкція клітинного моно шару

3. Формування професійних вмінь, навичок (оволодіння навичками, проведення курації, визначення схеми лікування, проведення лабораторного дослідження:

3.1 зміст завдань (задачі, клінічні ситуації)

1. Ситуаційна задача.

Хворий 22 років поступив до інфекційного відділення на 4 день хвороби зі скаргами на лихоманку, головний біль, кашель, висип, нудоту, блювання. Захворювання почалося гостро, з підвищення температури тіла до 38,9 °С, головного болю, слабкості. На другий день приєднався кашель, нежить, слезотеча. Сьогодні стан погіршився - зросла слабкість, помітив висип на обличчі, з'явилися нудота, багаторазове блювання, одноразове послаблення випорожнень. Звернувся до лікаря, був госпіталізований. *Об'єктивно:* температура тіла - 40⁰С, млявий, адекватний, свідомість ясна, патологічної неврологічної симптоматики немає. Обличчя гіперемоване, набрякле. Виражений склерит і кон'юнктивіт. На шкірі обличчя та шії рясний плямисто-папульозний висип із тенденцією до злиття. Слизова оболонка рота гіперемована, на м'якому піднебінні яскрава енантема, на щоках - плями Копліка. Язик сухий, рясно обкладений жовтим нальотом. Пальпуються чутливі шийні лімфовузли. Поодинокі елементи висипу на грудях і плечах. Тони серця гучні, пульс - 100 уд/хв, АТ - 110/60 мм.рт.ст. Живіт м'який, болючий в епігастрії та лівому підребер'ї, ослаблена пульсація черевного відділу аорти.

Попередній діагноз. Кір. Типова форма, стан середньої тяжкості, період висипу. *Ускладнення:* гострий панкреатит

Спец.діагностика: ан.крові ІФА на ІgМ до збудників

2. Ситуаційна задача.

Хворий 18 років поступив в інфекційне відділення на 3 день хвороби зі скаргами на сухість у роті, лихоманку, набряк привушної ділянки справа.

Об'єктивно: у свідомості, адекватний. Температура тіла - 39,0⁰С, шкірні покриви без висипу, бліді. Обличчя і шия асиметричні за рахунок м'якуватого набряку безболісної правої привушної залози. Мигдалини не збільшені, нашарувань немає. Тони серця звучні, ритм правильний. Живіт м'який, болючий в епігастрії під час під час пальпації, печінка і селезінка не збільшені.

Попередній діагноз: Епідемічний паротит, типова форма, середній ступінь тяжкості.

Панкреатит

Спец.діагностика:

1. ан.крові ІФА на ІgМ до збудників

3. Ситуаційна задача.

Хвора 35 років поступила до лікарні на 7 добу захворювання з діагнозом «грип». Скаржиться на кашель, осиплість голосу, нежить, підвищення температури тіла. Захворювання починалось поступово, з'явився гавкаючий кашель, нежить. Продовжувала працювати, температуру не вимірювала.

Об'єктивно: температура тіла 37,2⁰С, в ротоглотці – легка гіперемія дужок. Голос осиплий. Носове дихання утруднене. В легенях дихання з жорстким відтінком. Серце

без змін. Печінка і селезінка не збільшені. Пульс – 76 уд/хв, АТ – 120/80 мм рт.ст.

Попередній діагноз: Парагрип, типова форма, середній ступінь тяжкості

Специфічна

діагностика:

Аналіз мазка з носоглотки на РНІФ вірусу парагрипу

Аналіз крові на РНГА з парагрипозним Ag в динаміці

4. Ситуаційна задача.

Хворий 19 років, студент, поступив в інфекційне відділення на 5 день хвороби зі скаргами на нежить, кашель, відчуття дертя в горлі. Захворювання почалося гостро з підвищення

температури тіла, кашлю. Гарячка постійного типу тривала 3 дні. На 4 день спостерігалось короткочасне зниження температури, після чого на обличчі з'явився висип, який наступного дня поширився на шию і грудну клітку. Висип супроводжувався підвищенням температури до 39,5°C.

Об'єктивно: температура тіла 39,9°C, хворий кволий. Обличчя набрякле. На шкірі обличчя, шиї, грудей – плямисто-папульозний висип. Виражений кон'юнктивіт і склерит, пальпуються помірно болісні задньошийні лімфовузли розміром до 1 см. Слизова оболонка ротоглотки гіперемійована. Дихання жорсткувате, поодинокі сухі хрипи. Пульс 110 уд/хв., ритмічний. Тони серця приглушені. АТ 105/70 мм рт. ст. Язик вологий, обкладений нашаруванням. Печінка і селезінка не пальпуються.

Попередній діагноз: Кір, період розпалу, типова форма, середній ступінь тяжкості:

Специфічна діагностика: Аналіз крові на ІФА IgM до збудника кору

3.2 Рекомендації (інструкції) щодо виконання завдань (професійні алгоритми, орієнтуючі карти для формування практичних вмінь та навичок тощо)

Завдання.

З метою з'ясування орієнтовної основи дій під час обстеження хворих на кір, проаналізуйте алгоритми, схеми та таблиці, розташовані відповідно до поетапного лікувально-діагностичного пошуку.

1. Алгоритм з діагностики кору.

Метод	Показання
Серологічний метод (ІФА)	Пацієнти з клінічними симптомами кору для ідентифікації специфічних антитіл до збудника
Молекулярно-біологічний метод (ПЛР)	Пацієнти з клінічними симптомами кору для ідентифікації збудника, визначення генотипу
Гематологічний метод	Пацієнти з клінічними симптомами кору для уточнення гостроти запальної реакції

2. Оцінка ступеню важкості кору.

Ознака	Легка форма	Середня форма	Важка форма
Лихоманка	<38,5°C, 1-5 днів	38,5°C-39,5°C, 6-7 днів	>39,5°C, >7 днів
Інтоксикація	відсутня або слабка	помірна	сильна
Катаральний синдром	виражений помірно	виражений яскраво	виражений яскраво
Екзантема	не рясний, неяскравий плямисто-папульозний висип, що не зливається, бліда пігментація	рясний, яскравий плямисто-папульозний висип, схильний до злиття	рясний, яскравий, великий плямисто-папульозний висип, схильний до злиття + геморагічний синдром
Ураження очей	помірний кон'юнктивіт (або відсутній)	катаральний кон'юнктивіт, світлобоязнь, набряк повік	катаральний/гнійний кон'юнктивіт, світлобоязнь, склерит
Ускладнення	відсутті	можливі	присутні

3. Специфічні особливості Paramyxoviridae

Загальна характеристика	Типові представники	Специфічні особливості
<p>Paramyxoviridae Параміксовіруси</p> <p>У перекладі: "пара" - близько, "міксо" - слиз.</p> <p>ф - ○, плеоморфні від гіллястої;</p> <p>d - 150-800 нм;</p> <p>т.с. - ;</p> <p>об (+) HN - гемаглютинін, нейрамінідаза</p> <p>F - цитопатична активність - глікопротеїд</p> <p>M білок - формує внутрішній шар оболонки;</p> <p>ssРНК(-), несеgmentована; транскриптаза - (+); Навк. серед. - нестійкі.</p> <p>При кімнатній температурі гинуть через кілька годин, чутливі до високої температури, УФО, добре зберігаються при заморожуванні. Добре культивуються в культурах клітин людини і мавп, погано - в курячих ембріонах.</p>	<p>Є 3 роди:</p> <p>1) рід Paramyxovirus вірус епідемічного паротиту (1934 р. США). Ураження всіх залоз внутрішньої секреції, особливо привушних, статевих (у хлопчиків - орхіт), підшлункової залози, висококонтагіозний.</p> <p>віруси паразиту (США, 1956-1958 р.р.) людини і тварин (ВРХ, примати). 1-4 тип спричиняють ларингіти, бронхіти, трахеїти, особливо важкі бронхопневмонії у дітей 2-5 років, коли вже материнські антитіла не захищають від зараження</p> <p>2) рід Morbillivirus віруси кору, розсіяного склерозу, чуми ВРХ і собак. Вірус кору (1954 р. Ендерс). Хворіють люди і примати, важкі ускладнення - бронхопневмонія, енцефаліти</p> <p>3) рід Pneumovirus РС-вірус - риносинцитіальний вірус пневмонії у людини, мишей, ВРХ, виділив у 1957 р. учений Ченок. Групи ризику два полюси життя: у дітей I року життя і літніх людей уражаються нижні відділи легень, частота 16% серед дорослих - бронхіти, ГРВІ.</p>	<p>Містить:</p> <p>1) гемаглютинін - Н (+) (склеювання еритроцитів);</p> <p>2) нейрамінідаза - N (+).</p> <p>Відсутні:</p> <p>пептид F (-), M (-).</p> <p>Вакцина (+), жива, діти 12-18 місяців, ревакцинація - хлопчики 14-15 років.</p> <p>Містить:</p> <p>1) нейрамінідазу N (+),</p> <p>2) гемаглютиніни Н (+),</p> <p>3) а 1 і 4 серотипи - цитопатичну активність (глікопротеїд) F (+),</p> <p>Відсутній: M (-).</p> <p>Вакцина (-).</p> <p>Містить: 1) гемаглютинін Н (+);</p> <p>2) пептид F (+),</p> <p>Відсутні: 1) нейрамінідаза N (-);</p> <p>3) білок матричний M (-).</p> <p>Загальні перехресні серологічні реакції. У перехворілих з'являються антитіла до чуми ВРХ і собак. Вакцина (+), жива, у 12 місяців. Ревакцинація - 6 років. Протикоровий Ig.</p> <p>Містить:</p> <p>1) нейрамінідазу N (+);</p> <p>2) білок M (+) і F (+);</p> <p>Відсутній: гемаглютинін Н (-).</p> <p>Вакцина (-), але є аерозоль рибавірин.</p>

3.3 Вимоги до результатів роботи, в т.ч. до оформлення

1. Знати схеми лабораторної діагностики параміксовірусів.
2. Розглянути і обґрунтувати демонстраційні результати ІФА та ПЛР, проведених з метою виявлення в досліджуваному матеріалі параміксовірусів. Знати алгоритм проведення.
3. Заповнити таблиці та схеми в робочому альбомі.
4. Знати відповіді на питання з методички та з орієнтовної карти альбому.
5. Розібрати ситуаційні завдання та вивчити схему патогенезу.
6. Знати алгоритм забору досліджуваного матеріалу.

Практичні заняття з мікробіології, вірусології та імунології є структурованими та передбачають комплексне оцінювання в балах усіх видів навчальної діяльності (навчальних завдань), які студенти виконують під час практичного заняття:

1. На початковому етапі практичного заняття здійснюється усний та/або тестовий контроль відповідно до переліку найбільш важливих теоретичних та практичних питань з орієнтовної карти заняття. Тести містять 10 тестових завдань вибіркового типу з однією правильною відповіддю. Його результати оцінюються позитивно, якщо студент дав не менше ніж 8 правильних відповідей; студент не отримує балів, якщо кількість правильних відповідей менша за 8. Оцінка цього етапу є комплексною з результатів тестування та усного опитування. У загальній оцінці заняття цей етап студент отримує 1 - 0,5 бала.

2. На основному етапі практичного заняття оцінюється:

Виконання практичних робіт (досліджень), якість ведення протоколу досліджень відповідно до вимог, уміння аналізувати та інтерпретувати результати досліджень та правильно зробити обґрунтовані висновки, вирішення ситуаційних завдань, конструктивних тестів. У загальній оцінці поточної навчальної діяльності цей етап становить приблизно 50%

Якщо студент правильно виконав практичні роботи (дослідження), записав протокол досліджень у відповідності до вимог, зумів проаналізувати та інтерпретувати результати дослідження, зробити обґрунтовані висновки, правильно відповісти на всі теоретичні питання, вирішив усі запропоновані ситуаційні та інші завдання, він отримує максимальну оцінку в 2 бали.

Якщо студент правильно виконав практичні роботи (дослідження), записав протокол досліджень відповідно до вимог, зумів проаналізувати та інтерпретувати результати досліджень, зробити обґрунтовані висновки, відповісти не менше ніж на половину теоретичних питань та вирішив не менше половини запропонованих завдань та інших завдань, він отримує 1,5 бали.

Якщо студент правильно виконав практичні роботи (дослідження), записав протокол дослідження відповідно до вимог, зумів проаналізувати та інтерпретувати результати досліджень, зробити обґрунтовані висновки, відповісти менш ніж на половину теоретичних питань та не вирішив жодного із запропонованих завдань, він отримує 1 бал.

Студент не набирає балів на основному етапі навчальної діяльності, якщо він не зумів правильно виконати практичні роботи (дослідження), записати протокол досліджень відповідно до вимог, проаналізувати та інтерпретувати результати досліджень, зробити обґрунтовані висновки, відповісти на теоретичні питання, вирішити запропоновані завдання та інші завдання.

На кінцевому етапі практичного заняття контроль теоретичної та практичної підготовки здійснюється за результатами виконання практичного завдання, оформлення протоколу лабораторної роботи, вирішення комплексних ситуаційних завдань та тестових завдань та інших завдань, що дозволяють оцінити ступінь досягнення навчальної мети. Він оцінюється максимально в 1 бал за умови, що студент правильно вирішив не менше 90% тестових завдань та/або вирішив усі ситуаційні завдання та інші завдання. За умови, що студент правильно

вирішив не менше, ніж 70% тестових завдань, та/або запропонованих ситуаційних завдань студент отримує 0,5 бала, інакше студент не отримує балів за цей етап заняття.

4. Підведення підсумків

Поточний контроль: усне опитування, тестування, оцінювання виконання практичних навичок, розв'язання ситуаційних завдань, оцінювання активності на занятті.

Структура поточного оцінювання на практичному занятті:

Оцінювання теоретичних знань з теми заняття:

- методи: опитування, вирішення ситуаційної клінічної задачі;
- максимальна оцінка – 5, мінімальна оцінка – 3, незадовільна оцінка – 2.

Оцінка практичних навичок з теми заняття:

- методи: оцінювання правильності виконання практичних навичок;
- максимальна оцінка – 5, мінімальна оцінка – 3, незадовільна оцінка – 2.

Критерії поточного оцінювання на практичному занятті:

«5»	Студент вільно володіє матеріалом, приймає активну участь в обговоренні та вирішенні ситуаційної клінічної задачі, впевнено демонструє практичні навички та інтерпритує дані клінічного обстеження та лабораторних досліджень, висловлює свою думку з теми заняття, демонструє клінічне мислення.
«4»	Студент добре володіє матеріалом, приймає участь в обговоренні та вирішенні ситуаційної задачі, демонструє практичні навички та інтерпритує дані клінічного обстеження та лабораторних досліджень з деякими помилками, висловлює свою думку з теми заняття, демонструє клінічне мислення.
«3»	Студент недостатньо володіє матеріалом, невпевнено приймає участь в обговоренні та вирішенні ситуаційної задачі, демонструє практичні навички та інтерпритує дані клінічного обстеження та лабораторних досліджень з суттєвими помилками.
«2»	Студент не володіє матеріалом, не приймає участь в обговоренні та вирішенні ситуаційної задачі, не демонструє практичні навички та інтерпритує дані клінічного обстеження та лабораторних досліджень.

5.Список рекомендованої літератури

Основна:

1. Абул К. Аббас, Ендрю Г. Ліхтман & Шив Піллай. Основи імунології: функції та розлади імунної системи: 6-е видання. Київ: Медицина, 2020, 328 с.
2. Майкл Р Барер, Вілл Ірвінг, Ендрю Свонн & Нелюн Перера. Медична мікробіологія, Посібник з мікробних інфекцій: патогенез, імунітет, лабораторна діагностика та контроль: 19-е видання: у двох томах. Київ: Медицина, 2021, 434 с.
3. Медична мікробіологія, вірусологія та імунологія» - 3-тє видання, оновлено та доповнено // Ширококов В.П за ред. – Вінниця: «Нова книга», 2021. 920 с.

Додаткова:

1. Abbas, A., Litchman, A. H. & Pillai, S. Basic Immunology - 6th Edition. (Elsevier Ltd, 2019).
2. Anantharyan R. Jayaram Paniker C. K. Textbook of Microbiology. 12-th Edition.- Orient Longman, 2022.
3. Barer, M. & Irving, W. L. Medical Microbiology 19th Edition A Guide to Microbial Infections: Pathogenesis, Immunity, Laboratory Investigation and Control. vol. 19 (2018).
4. Burrell, C. J., Howard, C. R. & Murphy, F. A. Fenner and White's Medical Virology: Fifth Edition. Fenner and White's Medical Virology: Fifth Edition (Elsevier Inc., 2016).
5. Cann, A. J. Principles of Molecular Virology: Sixth Edition. Principles of Molecular Virology: Sixth Edition (Elsevier Inc., 2015). doi:10.1016/C2014-0-01081-7.

6. Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology, 26th Edition, 2012, English. 880 p.
7. Louten, J. & Reynolds, N. Essential Human Virology. (2016).
8. Male, D., Peebles, S. & Male, V. Immunology. (2020).
9. Marsh D, P., Lewis A O, M., Rogers, H., Williams W, D. & Wilson, M. Marsh and Martin's Oral Microbiology. (Elsevier Limited, 2016).
10. Nath, S. K. & Revankar, S. G. Problem-based microbiology. (Saunders, 2006).
11. Ream, Walt. Molecular microbiology laboratory: a writing-intensive course. (Academic Press, 2013).
12. Review of Medical Microbiology and Immunology, 12 edition/ Warren E. Levinson. McGraw-Hill Prof Med.-Tech., 2012. 688 p.
13. Rich, R. R. & Fleisher, T. A. Clinical Immunology (Fifth Edition) Principles and Practice. Clinical Immunology (2018).
14. Sandle, T. Pharmaceutical Microbiology: Essentials for Quality Assurance and Quality Control. Pharmaceutical Microbiology: Essentials for Quality Assurance and Quality Control (Elsevier Inc., 2015). doi:10.1016/C2014-0-00532-1.
15. Wilson, J. (Nurse) & Stucke, V. A. Clinical microbiology: an introduction for healthcare professionals. (Baillière Tindall, 2000).

Електронні інформаційні ресурси

1. <http://moz.gov.ua> – Міністерство охорони здоров'я України
2. <http://www.microbiologybook.org> - Microbiology and immunology on-line
3. <http://www.microbiologyinfo.com> - On-line microbiology note
4. www.cdc.gov - Centers for diseases control and prevention
5. www.ama-assn.org – Американська медична асоціація / American Medical Association
6. www.who.int – Всесвітня організація охорони здоров'я
7. www.dec.gov.ua/mtd/home/ - Державний експертний центр МОЗ України

Практичне заняття

Тема: Пікорнавіруси

Мета: Ознайомити студентів з загальною характеристикою та класифікацією родини, поділом на роди, загальною структурою вірусів родини, представниками родів *Enterovirus*, *Hepatovirus*, *Parechovirus*, *Kobuvirus*, *Cardiovirus*, *Aphthovirus* викликають захворювання у людини.

Основні поняття: *Enterovirus*, *Hepatovirus*, *Parechovirus*, *Kobuvirus*, *Cardiovirus*, *Aphthovirus*, вірус поліомієліту, віруси Коксакі, ЕСНО.

Обладнання: Структурно-логічні схеми, таблиці, відеоматеріали, результати лабораторних, ситуаційні задачі.

План:

1. Організаційні заходи (привітання, перевірка присутніх, повідомлення теми, мети заняття, мотивація студентів щодо вивчення теми).

Ентеровіруси викликають у людини важке ураження нервової системи та інших органів і тканин. Незважаючи на застосування високо ефективних вакцин (інактивованої – Солка і живої атенуйованої вакцини Себіна), продовжують реєструватися поодинокі випадки захворювання поліомієлітом і в Україні. Віруси Коксакі та ЕСНО, відкриті порівняно недавно (50-і роки ХХ сторіччя). Вони викликають, як поліомієлітоподібні захворювання (паралічі, серозний менінгіт), так і міалгії, герпангину, лихоманки, енцефаліти, гепатит, діарею, стоматити, й інші синдроми. Віруси Коксакі 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 (ЕСНО), 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. Контроль опорного рівня знань:

2.1. Вимоги до теоретичної готовності студентів до виконання практичних занять.

Вимоги до знань:

1. Описати загальну характеристику пікорнавірусів, класифікацію, роль в патології людини.
2. Описати морфологію, антигенну структуру, особливості культивування вірусів поліомієліту.
3. Охарактеризувати стійкість поліовірусів до несприятливих умов
4. Описати методи лабораторної діагностики поліомієліту.
5. Описати специфічну профілактику поліомієліту, оцінити ефективність вакцин різних типів.
6. Описати морфологію та антигенну структуру вірусів ЕСНО, Коксакі.
7. Патогенез поліомієліту, ЕСНО, Коксакі.

Перелік дидактичних одиниць:

1. Загальна характеристика та класифікація родини. Поділ на роди.
2. Рід Ентеровірусів. Класифікація: віруси поліомієліту, Коксакі, ЕСНО, ентеровіруси 68 – 72-ого типів. Характеристика віріонів. Антигени. Культивування. Патогенність для тварин. Чутливість до фізичних і хімічних факторів. Значення генетичної гетерогенності популяцій ентеровірусів у розвитку захворювання. Роль ентеровірусів у патології людини.
3. Патогенез поліомієліту та інших ентеровірусних інфекцій. Імунітет. Специфічна профілактика і терапія.
4. Лабораторна діагностика ентеровірусних інфекцій.

5. Вірус гепатиту А, особливості. Підходи до специфічної профілактики гепатиту А. Лабораторна діагностика гепатиту А.
6. Рід Риновірусів. Загальна характеристика. Класифікація. Патогенез риновірусної інфекції. Лабораторна діагностика.
7. Рід Афтовірусів (Aftovirus). Віруси ящура. Біологічні властивості. Класифікація. Патогенез інфекції у людини. Лабораторна діагностика, специфічна профілактика.
8. Рід Кардіовірусів (Cardiovirus). Загальна характеристика. Роль в патології людини.

Питання:

1. Морфологія ентеровірусів, їх систематичне положення, назва українською та латинською мовами.
2. Ультраструктура ентеровірусів. Апарат адгезії.
3. Форми взаємодії ентеровірусів і клітини.
4. Культивування ентеровірусів. Особливості.
5. Антигенна структура збудника поліомієліту. Види антигенів, їхня специфічність залежно від хімічної природи.
6. Резистентність ентеровірусів по відношенню до факторів навколишнього середовища і дезинфектантів.
7. Патогенність ентеровірусів для диких і лабораторних тварин.
8. Епідеміологія ентеровірусних інфекцій (джерела інфекції, механізм, шляхи і фактори передачі, сприйнятливий організм). Заразливість хворих в різні періоди захворювання. Роль вірусоносіїв.
9. Патогенез поліомієліту. Можливі вхідні ворота.
10. Основні органи-мішені і танатогенез при ентеровірусних інфекціях.
11. Імунітет при ентеровірусних інфекціях, його напруженість, спрямованість і тривалість. Специфічна та неспецифічна профілактика поліомієліту.
12. Особливості вірусів Коксакі, ЕСНО

Тестові завдання (правильна відповідь А)

Останнім часом в Україні зареєстровані випадки паралітичного поліомієліту. Який препарат використовується для специфічної профілактики поліомієліту?

- А. Поліомієлітна вакцина
- В. АДС
- С. БЦЖ
- Д. СТІ
- Е. АКДП

Для профілактики ентеровірусних інфекцій застосовують наступні препарати, за винятком:

- А. антибіотиків
- В. вакцин
- С. інтерферону
- Д. імуноглобуліну
- Е. ремантадину

Від хворого гострою кишковою інфекцією виділений вірус, який віднесений до роду ентеровірусів. Для встановлення серотипу вірусу застосовують діагностичні сироватки. Укажіть, які антитіла повинні містити ці сироватки?

- А. проти білків капсида
- В. проти білків суперкапсидної оболонки
- С. проти неструктурних білків вірусу

- D. проти вірусних ферментів
- E. проти вірусних гемаглютининів

Для специфічної профілактики поліомієліту застосовують :

- A. живу вакцину
- B. вакцину АКДС
- C. анатоксин
- D. бактеріофаг
- E. хімічну вакцину

Ентеровіруси - етіологічні агенти всіх перерахованих хвороб, за винятком

- A. оперезуючого лишая
- B. асептичного менінгіту
- C. гастроінтестинальної інфекції
- D. міокардиту
- E. плевродинії

Загальний групоспецифічний антиген для трьох серотипів вірусу поліомієліту

- A. комплементзв'язуючий
- B. гемаглютинин
- C. нейрамінідаза
- D. групоспецифічні антигенні епітопи

Не відносяться до ентеровірусів

- A. аденовіруси
- B. віруси поліомієліту
- C. ЕСНО - віруси
- D. Коксаки А
- E. Коксаки В

3. Формування професійних вмінь, навичок:

3.1. зміст завдань

Сімейство Picornaviridae включає велику кількість дуже дрібних (рісо - маленький) Вірусів, що містять +РНК. Всі вони – безоболонкові віруси, розміром 20-30 нм, стійкі до ефіру і інших розчинників ліпідів. Пікорнавіруси, мають значення для людини, це, перш за все, ентеровіруси, паразитуючі в кишковому тракті і риновіруси, які інфікують слизову оболонку носа. Два інших роду пікорнавірусів мають значення для ветеринарії – афтовіруси, збудники ящура крупної рогатої худоби і кардіовіруси мишей, включаючи вірус енцефаломієлітиту.

Ентеровіруси

Ентеровіруси включають: поліовіруси типу 1-3, віруси Коксаки А - типи 1-24 (тип 23 аналогічний ЕСНО 9), віруси Коксаки В - типи 1-6, ЕСНО віруси типи 1-34 (ЕСНО 10 тепер класифікується як реовірус 1 типу, ЕСНО 28- як риновірус ІА, і ЕСНО 34 як Коксаки А 24) і ентеровіруси типів 68-72.

Поліомієліт був відомий з давніх часів як паралітична хвороба дітей (дитячий параліч). Проте, тільки до кінця від 19-ого сторіччя він був охарактеризований як самостійна нозологічна форма, здатна викликати епідемії, при яких число прихованих безсимптомних інфекцій значно перевищує число паралітичних випадків. Landsteiner і Popper (1909) повідомили про експериментальну передачу захворювання мавпам шляхом ведення інтрацеребрально суспензії спинного мозку від безнадійних хворих поліомієлітом. Експериментальне вивчення

хвороби було обмежено тим, що мавпи були єдиними лабораторними тваринами, чутливими до вірусу. Прогрес також гальмувався догмою, у той час загальноприйнятою, що поліовіруси строго нейтротропні і здатні розмножуватися тільки в нервовій тканині. Головним великим досягненням було виявлення Ендерсом, Уеллером і Роббінсом (1949) здатності поліовірусів розмножуватися в культурах клітин ембріонів людини, що не відносяться до нервової тканини, викликаючи цитопатичну дію. Вони були удостоєні Нобелівської премії на знак визнання основоположної важливості цього відкриття в розвитку вірусології загалом.

Новий тип вірусів був виділений Долдорфом і Сиклсом (1948) з калу дітей з паралітичним поліомієлітом, від яких був також виділений і поліовірус 1 типу. Вірус викликав паралічі у мишенят-сисунців. Цей вірус був названий вірусом Коксаки, оскільки хворі прибули до Нью-Йорка з селища Коксаки. З тих пір було виділено багато подібних вірусів з калу і зіва хворих з різними захворюваннями і здорових. Їх назвали вірусами Коксаки, розділеними на групи А і В на підставі патологічних змін, що розвиваються у мишенят-сисунців.

Введення методів культури тканин у вірусологічну діагностику призвело до виділення декількох цитопатогенних вірусів з калу як хворих, так і здорових людей. Вони були названі вірусами «сиротами», оскільки вони не могли бути пов'язані з яким-небудь певним захворюванням. Вони тепер відомі під описовим терміном «enteric cytopathogenic human orphan - цитопатогенні людські віруси-сироти» (ЕСНО).

Класифікація ентеровірусів на віруси Коксаки і ЕСНО не зовсім задовольняє, але назви так добре укорінилися, що їх не можна вже було замінити. Тому було вирішено, що з 1969 р. будь-який новий ідентифікований ентеровірус не буде визначатися в яку-небудь з цих груп, а були просто призначені номери типів ентеровірусів, починаючи з 68 типу (тому що 67 типів ентеровірусів вже на той час було класифіковано - три типи вірусів поліомієліту, 30 – вірусів Коксаки і 34 – вірусів ЕСНО). Отже тепер є п'ять нових типів ентеровірусів, 68-72. Ентеровірус 72 - вірус, що викликає інфекційний гепатит (гепатит типу А).

Більшість ентеровірусів специфічні для господарів, вражають один або декілька родинних видів. Немає загального групового антигена для ентеровірусів, хоча деякі з них виявляють перехресні антигенні реакції.

Поліовіруси

Морфологія. Віріон - сферична частка, приблизно 27 нм в діаметрі, капсид утворений 60 субодиницями (капсомерами), кожна з яких складається з чотирьох білків (VP1-VP4). Вірус має кубічну симетрію. Геном – однитчаста РНК. Вірус може кристалізуватися, і в цитоплазмі інфікованих клітин може бути виявлено безліч вірусних кристалів.

Стійкість. Поліовірус стійкий до ефіру, хлороформу, жовчі, протеолітичних ферментів кишкового вмісту і детергентам. Він стійкий за рН 3, може виживати протягом місяців при 4 °С і декілька років в при –20 °С. Залежно від умов – температури, вологості, рН і кількості вірусу, його виживання в калі при кімнатній температурі може мінатися від одного дня до декількох тижнів. Вірус повністю інактивується високою температурою (при 55 °С - протягом 30 хвилин). Молоко або морозиво забезпечують захист вірусу. Формальдегід і дезинфікуючі засоби–окислювачі руйнують вірус. Хлорування знищує вірус у воді, але органічні речовини затримують інактивацію. Фенолові дезинфікуючі засоби не ефективні. Поліовірус погано переносить ліофіліза-цію.

Антигенні властивості. По реакції нейтралізації штами поліовірусів розділені на три типи, 1, 2 і 3. Тип 1 найбільш поширений і викликає більшість епідемій. Всередині типів в реакції нейтралізації виявляється відмінність між штамами, але вони неістотні для розвитку імунітету супроти захворювання. Віруси мають загальний комплементів'язуючий антиген.

Коло господарів і культивування. Природна інфекція відбувається тільки у людей. Мавпи можуть бути інфіковані експериментально при зараженні інтрацеребрально або в спинний мозок. Шимпанзе і мавпи циномольтус можуть бути інфіковані також пероральний. Деякі

музейні штами були пристосовані до розмноження в гризунах і курячих ембріонах курчати, але щойно ізольовані віруси не розвиваються в них.

Вірус легко культивується в різних культурах клітин приматів. Первинні культури нирок мавпи використовуються для діагностичного культивування і вакцинного виробництва. Інфіковані клітки округляються, скорочуються і стають пікнотичними. В забарвлених препаратах можуть бути виявлені еозинофільні внутріядерні включення. В зараженому моношарі під агаровим або бентонитовим покриттям розвиваються добре оформлені бляшки. Патогенез. Єдине природне джерело поліовірусу - людина. Вірус розповсюджується безпосередньо від людини до людини без проміжного господаря. Резервуар інфекції полягає з людей, виділяючих вірус з фекаліями і, рідко, з відокремлюваним ротоглотки.

Все ентеровіруси виділяються у великих кількостях з кишечника: передача інфекції полегшується недотримання норм гігієни і санітарії. Найбільш часто відбувається пряма передача руками, але чинником передачі можуть бути також посуд і харчові продукти або напої. Іноді може відбуватися зараження через кон'юнктиву око. Спалахи частіше відбуваються в закритих колективах і школах.

В гострій фазі інфекції вірус знаходиться в горлі і, хоча в цей час можлива краплинна передача, звичайною є фекально-оральний путь. Після гострої фази він є єдино можливим. Найвища заразливість буває в останні дні інкубаційного періоду, на 7 – 10 день після зараження, але передача інфекції може відбуватися значно більш тривалий період, часто протягом декількох тижнів, за рахунок виділення вірусу з фекаліями.

У різних представників групи ентеровірусів є відмінності в органах-мішенях, наприклад центральна нервова система, шкіра або м'язи. Через потенційну серйозність інфекції і наявності моделі на тваринах, найбільше вивчений поліомієліт, хоча ймовірно передбачати, що такі ж особливості виявляються і у з вірусів ЕСНО і Коксаки.

Після попадання вірусу в рот йде його розмноження спочатку в лимфоїдній тканині мигдалин або Пейєрових бляшок тонкої кишки і потім в регіональних лімфатичних вузлах, наприклад, шийних і кишкових. В летальних випадках, при раптовій смерті, виявляються набряклі і запалені Пейєрови бляшки і кишкові лимфовузли, містять великі кількості вірусу.

Вірус, що виходить з лимфовузлів, поступає в кров і потім в центральну нервову систему безпосередньо або після розмноження в лимфоїдній тканині. Паралітичний ефект поліовірусу пов'язаний з поразкою рухових нейронів в передніх рогах спинного мозку або бульбарних центрах. Локалізація в мото-нейронах, вочевидь, обумовлена присутністю в них рецепторів для поліовірусу. В межах головного і спинного мозку розповсюдження вірусу може відбуватися безпосередньо по сусідніх клітках або через цереброспінальну рідину до більш віддалених областей.

Фаза віремії знаменує кінець інкубаційного періоду і виявляється лихоманкою і симптомами загальної інтоксикації. Після періоду близько 48 годинників відносно гарного стану (захворювання двофазне) вірус проникає в нервову тканину і потім, у важких випадках з'являються ознаки паралічу. Наявність віремії доведена при експериментальній інфекції у мавп і кілька разів виявлялася у людей. Ймовірно, процес може бути зупинений на різних стадіях, причому вірус може розмножуватися в кишечнику без проникнення в кровотік. Якщо в крові є присутнім антитіла, вірус може не досягти центральної нервової системи.

Ентеровіруси володіють літичною дією і знищують інфіковану клітку за декількох годин або днів. Вони не мають повторної оболонки, так що навряд чи здатні стимулювати відповіді цитотоксичних Т-клітин. Проте, пошкодження клітин викликає запальну реакцію, а набряк, що розвивається, може впливати і на неінфіковані вірусом нейрони. Проте, оскільки набряк з часом проходить, функція цих клітин відновлюється, ніж і пояснюється зниження паралічів протягом тижнів або місяців після гострої стадії.

Експериментально, показано, що вірус може просуватися по нервах. В більшості випадків, ймовірно це не є головним шляхом розповсюдження до центральної нервової системи, але може пояснювати підвищений ризик паралічу, пов'язаний з м'язовою активністю, тонзиллектомією і застосуванням ад'ювантних вакцин.

Унаслідок широко поширеного застосування вакцин проти поліомієліту, починаючи з 1950-их років в Західній Європі, на Північноамериканському континенті і в Австралії, поліомієліт, який був ендемічним в цих країнах, фактично зник, і випадки захворювання в цих регіонах звичайно були в результаті зараження в інших регіонах, типу тропіків, де хвороба все ще ендемічна. Кількість зареєстрованих випадків значне менше за істинну поширеність хвороби, і в Індії і країнах Африки все ще спостерігається високий рівень захворюваності. В інших країнах з низьким обхватом імунізації, типу Алжіру і Марокко, продовжуються випадки захворювання з піком захворюваності кожні декілька років. В тропіках хвороба спостерігається протягом всього року рівномірно, без якої-небудь тенденції до сезонних коливань.

До використання вакцин хвороба була ендемічна у маленьких дітей з періодичними епідеміями, звичайно пізнім літом в Європі, Америці і Австралії. Там, де санітарно-гігієнічні норми дотримуються, розповсюдження вірусу утруднене і окремі особи і цілі колективи багато років вільні від інфекції. Таким чином, велика частина населення може не мати ніякого імунітету, і коли заноситься вірус поліомієліту, епідемія може швидко розповсюджуватися. В 1978 в Нідерландах серед релігійної групи в 70 000 осіб, які відмовилися від імунізації, був спалах в 110 випадків поліомієліту, з яких у 80 хворих розвинувся параліч. Додатково до цих випадків захворювання, поліовірус 1 типу був виділений також з фекалій 70 % контактних неприщеплених, але не виділявся від прищеплених осіб.

ЕСНО- і Коксаки-вірусні інфекції епідеміологічно подібні поліомієліту, хоча немає доступних вакцин для профілактики цих інфекцій. Серотипів цих вірусів існує набагато більше, і, хоча імунітет створюється до кожного типу вірусу, послідовні хвилі інфекції з переважаючим типом оголошуються з інтервалом в 1 або декілька років. Навіть в роки епідемічних спалахів виявляються також і інші типи вірусів, хоча й не так часто, як епідемічний тип. Більшість інфекцій виявляється у дітей, часто як спалахи в дитячих садах і яслах. Захворювання у дорослих можуть бути спорадичними в результаті зараження при контакті з дітьми.

Зараженість може досягати 100 % в закритих колективах і сім'ях, особливо якщо заражаються діти. Мають значення також соціальні чинники, типу дотримання гігієнічних норм, скупченості і віку контактуючих. Стічні води можуть містити поліовіруси, особливо, коли серед населення є інфекція. Ентеровіруси можуть виживати протягом декількох місяців в річковій воді, але маловірогідно збереження вірусу в хлорованій воді або воді плавальних басейнів, в яких досягається рекомендований рівень хлорування (у відсутності білкового забруднення). Сезонний зв'язок з роком і восени не завжди виявляється, оскільки спалахи спостерігалися взимку серед ескімосів, але цей, ймовірно, є результатом ізоляції людей і недостатності їхнього імунітету до багатьох вірусів. Віруси виявляються у мух і тарганів, але їхня роль в передачі інфекції мінімальна. Тісний контакт і гігієнічні умови залишаються найважливішими чинниками.

Імунітет. Після перенесеної інфекції розвивається тривалий імунітет. Віруснейтралізуючі антитіла формуються рано протягом хвороби (часто до 7-го дня) і зберігаються протягом декількох десятиріч. Віруси 1 і 2 типів створюють деякий перехресний імунітет друг до друга. Лікування. Специфічної терапії ентеровірусних інфекцій немає. Раніше було випробувано велике число антивірусних агентів для лікування паралітичного поліомієліту, але вони не мали ніякої практичної цінності через швидку появу стійкості до лікарських засобів.

Профілактика. Активна імунізація супроти поліовірусної інфекції може проводитися:

1. Інактивованою поліомієлітною вакциною (Солка)

2. Живою ослабленою поліомієлітною вакциною (Себіна).

Інактивована поліомієлітна вакцина (ПІВ) Солка було застосовано для широкої імунізації в 1956 р.. Вакцина містить штами трьох типів вірусу, які вирощують в культурі клітин нирок мавп і інактивована формаліном. Партії вакцини перевіряються на присутність залишкового живого поліовірусу і повинні бути вільні від бактерій, грибів, мікоплазм і вірусу SV40 (мавпячий вірус 40), який є онкогенним для хом'яків. Інактивовані вакцини використовуються майже виключно в Швеції, Фінляндії, Ісландії і Голландії. З досягненням обхвату вакцинацією більше 90 % ці країни фактично усунули циркуляцію поліовірусу. Циркуляція поліовірусу, серед населення була різко знижена, не дивлячись на те, що інактивована вакцина не викликає вироблення секреторних ІgА в травному тракті. Високий рівень обхвату імунізацією є необхідним для підтримки достатнього рівня антитіл, оскільки було встановлено, що захворюваність прямо пов'язана з рівнем антитіл до вірусу під час зараження.

Вакцина повинна застосовуватися шляхом глибокого підшкірного або внутрішньом'язового введення і не дає місцевих або загальних реакцій. Курс з трьох ін'єкцій з інтервалами 6-8 тижнів між першою і другою дозами і 4-6 місяців між другою і третьою створюють тривалий імунітет до всіх трьох типів поліовірусу. Інактивована вакцина рекомендується для імунокомпетентних осіб і контактуючих з ними, а також для всіх, кому протипоказане введення живої вакцини.

ПІВ може використовуватися одночасно з вакциною супроти дифтерії, кашлюку і правця. Ревакцинацію можна проводити одночасно з вакциною супроти дифтерії і правця, а також з асоційованою вакциною супроти паротиту, кору і краснухи.

Жива ослаблена поліомієлітна вакцина (ЖВП). А. Себін в США отримав ослаблені варіанти вірусів поліомієліту. З них А.А.Смородінцев і М.П.Чумаков в кінці 1950-х років отримали живу поліомієлітну вакцину для орального застосування. Вона містить живі але ослаблені штами поліовірусу типів 1, 2 і 3, вирощені в культурах клітин бруньки мавпи або діплоїдних клітин людини. Штами були отримані шляхом культивування виділених «диких» (виділених з природних джерел) маловірулентних вірусів поліомієліту і селекції штамів, що втратили нейровірулентність.

Вакцина застосовується перорально і аналогічно природній інфекції викликає утворення місцевих секреторних ІgА в глотці і травному тракті і циркулюючих ІgG, викликаючи таким чином місцеву стійкість до подальшої інфекції дикими вірусами поліомієліту. Колективний імунітет важливий в запобіганні циркуляції вірусу дикого типу, і необхідний високий рівень обхвату імунізацією. Цьому допомагає широка циркуляція вакцинного вірусу, який допомагає підтримувати імунітет серед населення. Проте, вакцинні штами не є стабільними, і вивчення наступних ізолятів вірусу від вакцинованих осіб свідчить про те, що зміни вакцинних вірусів можливі. Тому є теоретична можливість того, що вакцинний вірус, ослаблений послідовним пасажем на культурі клітин, може знов придбати нейровірулентність в результаті багатократних циклів реплікації у вакцинованих і після передачі контактним особам.

Випадки поліомієліту, що асоціюються з вакцинацією, були виявлені у отримавших ЖПВ в дозі 1 – на 2 мільйона, такі випадки були також виявлені і у контактних.

Неможливо передбачити, хто буде уражений, хоча потрібно попередити розширену репродукцію вірусу у імунокомпромісних осіб, оскільки ризик вакцино-асоційованого поліомієліту у таких людей в 10 000 раз вище, ніж у нормальних осіб. Тому не-імунізовані батьки і члени сім'ї, контактуючі з дітьми, одержуючими первинну вакцинацію, повинні бути імунізовані супроти поліомієліту одночасно з дітьми.

ЖПВ рекомендується для дітей з 3-х місячного віку (у Великобританії – з 2-х місяців). Первинний курс полягає з трьох окремих доз, одночасно з вакциною АКДС. Кожна доза містить всі три штами. Немовлятам капають три краплі на ложку безпосередньо в рот, який може бути відчинений у відповідь на одночасне введення внутрішньом'язовий або підшкірно вакцини АКДС. Грудасте вигодовування не заважає гуморальній імунній відповіді на ЖПВ і

повинне продовжуватися. Ревакцинація проводиться під час вступу до школи, але вона не є необхідною для дорослих, якщо тільки немає особливого ризику, як наприклад при подорожі або професійному ризику. Ефективність живої вакцини дуже висока.

Якщо виявляється випадок паралітичного поліомієліту, дозу ЖПВ потрібно давати всім імунокомпетентним особам в безпосередньому оточенні, незалежно від відомостей про попередню вакцинацію супроти поліомієліту. Неімунізованим особам вакцинація повинна проводитися повним первинним курсом. Якщо джерело спалаху неясне, його потрібно вважати викликаним вірусом «дикого типу», поки не доведено інше.

- вимоги до результатів роботи, в т.ч. до оформлення;

4. Підведення підсумків: усне опитування, тестування, оцінювання виконання практичних навичок, розв'язання ситуаційних завдань, оцінювання активності на занятті тощо.

Оцінювання поточної навчальної діяльності на практичному занятті:

1. Оцінювання теоретичних знань з теми заняття:

- методи: індивідуальне опитування, виконання тестових завдань, перевірка ведення протоколу досліджень;

- максимальна оцінка – 5, мінімальна оцінка – 3, незадовільна оцінка – 2.

2. Оцінка практичних навичок з теми заняття:

- методи: оцінювання правильності виконання практичних робіт (досліджень)

- максимальна оцінка – 5, мінімальна оцінка – 3, незадовільна оцінка – 2.

Критерії поточного оцінювання на практичному занятті

Оцінка	Критерії оцінювання
«5»	Здобувач бере активну участь у практичному занятті, демонструє глибокі знання, дає повні та детальні відповіді на запитання. Бере активну участь у обговоренні проблемних ситуацій, демонструє гарні навички та вміння при виконанні практичного завдання, правильно оцінює отримані результати. Тестові завдання виконані в повному обсязі.
«4»	Здобувач бере участь у практичному занятті; добре володіє матеріалом. Демонструє необхідні знання, але дає відповіді на запитання з деякими помилками; бере участь у обговоренні проблемних ситуацій. Тестові завдання виконані в повному обсязі, не менш ніж 70% відповідей на запитання є правильними.
«3»	Здобувач іноді бере участь в практичному занятті; частково виступає і задає питання; допускає помилки під час відповідей на запитання; показує пасивну роботу на практичних заняттях. Демонструє навички та вміння при виконанні практичного завдання, однак оцінює отримані результати недостатньо повно і точно. Тестування виконано в повному обсязі, не менш ніж 50% відповідей є правильними, відповіді на відкриті питання - не логічні, з явними суттєвими помилками у визначеннях.
«2»	Здобувач не бере участь у практичному занятті, є лише спостерігачем; ніколи не виступає і не задає питання, незацікавлений у вивченні матеріалу; дає неправильні відповіді на запитання, демонструє недостатні навички та вміння, не може впоратися з практичною роботою і оцінкою отриманих результатів.. Тестування не виконано.

5.Список рекомендованої літератури

Основна:

1. Абул К. Аббас, Ендрю Г. Ліхтман & Шив Піллай. Основи імунології: функції та розлади імунної системи: 6-е видання. Київ: Медицина, 2020, 328 с.
2. Майкл Р Барер, Вілл Ірвінг, Ендрю Свонн & Нелюн Перера. Медична мікробіологія, Посібник з мікробних інфекцій: патогенез, імунітет, лабораторна діагностика та контроль: 19-е видання: у двох томах. Київ: Медицина, 2021, 434 с.
3. Медична мікробіологія, вірусологія та імунологія» - 3-тє видання, оновлено та доповнено // Ширококов В.П за ред. – Вінниця: «Нова книга», 2021. 920 с.

Додаткова:

1. Abbas, A., Litchman, A. H. & Pillai, S. Basic Immunology - 6th Edition. (Elsevier Ltd, 2019).
2. Anantharyan R. Jayaram Paniker C. K. Textbook of Microbiology. 12-th Edition.- Orient Longman, 2022.
3. Barer, M. & Irving, W. L. Medical Microbiology 19th Edition A Guide to Microbial Infections: Pathogenesis, Immunity, Laboratory Investigation and Control. vol. 19 (2018).
4. Burrell, C. J., Howard, C. R. & Murphy, F. A. Fenner and White's Medical Virology: Fifth Edition. Fenner and White's Medical Virology: Fifth Edition (Elsevier Inc., 2016).
5. Cann, A. J. Principles of Molecular Virology: Sixth Edition. Principles of Molecular Virology: Sixth Edition (Elsevier Inc., 2015). doi:10.1016/C2014-0-01081-7.
6. Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology, 26th Edition, 2012, English. 880 p.
7. Louten, J. & Reynolds, N. Essential Human Virology. (2016).
8. Male, D., Peebles, S. & Male, V. Immunology. (2020).
9. Marsh D, P., Lewis A O, M., Rogers, H., Williams W, D. & Wilson, M. Marsh and Martin's Oral Microbiology. (Elsevier Limited, 2016).
10. Nath, S. K. & Revankar, S. G. Problem-based microbiology. (Saunders, 2006).
11. Ream, Walt. Molecular microbiology laboratory : a writing-intensive course. (Academic Press, 2013).
12. Review of Medical Microbiology and Immunology, 12 edition/ Warren E. Levinson. McGraw-Hill Prof Med.-Tech., 2012. 688 p.
13. Rich, R. R. & Fleisher, T. A. Clinical Immunology (Fifth Edition) Principles and Practice. Clinical Immunology (2018).
14. Sandle, T. Pharmaceutical Microbiology: Essentials for Quality Assurance and Quality Control. Pharmaceutical Microbiology: Essentials for Quality Assurance and Quality Control (Elsevier Inc., 2015). doi:10.1016/C2014-0-00532-1.
15. Wilson, J. (Nurse) & Stucke, V. A. Clinical microbiology : an introduction for healthcare professionals. (Baillière Tindall, 2000).

Електронні інформаційні ресурси

1. <http://moz.gov.ua> – Міністерство охорони здоров'я України
2. <http://www.microbiologybook.org> - Microbiology and immunology on-line
3. <http://www.microbiologyinfo.com> - On-line microbiology note
4. www.cdc.gov - Centers for diseases control and prevention
5. www.ama-assn.org – Американська медична асоціація / American Medical Association
6. www.who.int – Всесвітня організація охорони здоров'я
7. www.dec.gov.ua/mtd/home/ - Державний експертний центр МОЗ України

Практичне заняття

Тема: Рабдовіруси

Мета: Ознайомити студентів з характеристикою сімейства Rhabdoviridae, з родами Vesiculovirus і Lyssavirus та з патогенними представниками.

Основні поняття: РНК, Rhabdoviridae, вірус сказу, тільця Бабеша-Негрі, Vesiculovirus, Lyssavirus.

Обладнання: Структурно-логічні схеми, таблиці, відеоматеріали, результати лабораторних, ситуаційні задачі. Одноразові рукавички, дезрозчин.

План:

1. Організаційні заходи (привітання, перевірка присутніх, повідомлення теми, мети заняття, мотивація здобувачів вищої освіти щодо вивчення теми)

Вірус сказу викликає сказ. Це вірусна інфекційна хвороба, що розвивається після укусу або ослинення рани інфікованою твариною. Уражаються нейрони ЦНС із розвитком симптомів збудження, паралічем дихальної та ковтальної мускулатури. Хвороба закінчується летально. Вірусну етіологію сказу довів П. Ремленже в 1903 р.

2. Контроль опорного рівня знань:

2.1. Вимоги до теоретичної готовності студентів до виконання практичних занять.

Вимоги до знань:

1. Описати таксономію віруса сказу
2. Описати структуру та морфологію віруса
3. Описати стратегію вірусного генома
4. Описати резистентність віруса
5. Описати епідеміологію віруса
6. Описати патогенез, який викликає вірус сказу
7. Описати прояви захворювання
8. Описати імунітет після перенесеного захворювання
9. Описати вісурологічну діагностику
10. Описати лікування
11. Описати специфічну профілактику проти сказу. Які вакцини використовують

Перелік дидактичних одиниць:

1. Описати структуру віріона
2. Описати морфологію та антигенні властивості
3. Описати культуральні властивості
4. Описати епідеміологію захворювання
5. Описати патогенез та клініку захворювання
6. Описати імунітет після перенесеного захворювання
7. Описати мікробіологічну діагностику захворювання. Особливості проведення.
8. Описати лікування та профілактику

Тестові завдання (правильна відповідь А):

Для якого захворювання характерна наявність у клітинах тілець Бабеша-Негрі?

- A. Сказ
- B. Вітряна віспа
- C. Інфекційний мононуклеоз
- D. Аденовірусна інфекція

Серед перелічених сімейств ДНК-геномних вірусів виберіть РНК-геномне сімейство

- A. Рабдовіруси
- B. Аденовіруси

- C. Герпесвіруси
- D. Паповіруси
- E. Парвовіруси

Досліджуючи забарвлений препарат, приготований із тканини мозку при сказі, можна виявити такий цитологічний феномен:

- A. Тельця Бабеша- Негрі
- B. Голі ядра
- C. Тельця Гварнієрі
- D. Тельця Клоудрі
- E. Зерна валютина

Який фактор сказу забезпечує контроль за поширенням сказу?

- A. Імунізація домашніх і сільськогосподарських тварин
- B. Імунізація людей, починаючи з підліткового періоду
- C. Імунізація диких тварин- природних господарів вірусу
- D. Дератизаційні заходи
- E. Знищення кажанів

До хірурга-стоматолога звернувся пацієнт у зв'язку з укусами собаки на обличчі. Тварину спіймати та ізолювати не вдалося. Що призначають хворому в цьому випадку?

- A. Антирабічну сироватку
- B. Гамма-глобулін
- C. Антибіотики
- D. Сульфаніламід
- E. Інтерферон

У районі, де зареєстровано епіцентр сказу серед диких тварин, до поліклініки звернувся чоловік, якого покусав бродячий пес. З профілактичною метою йому почали вводити антирабічну вакцину. До якого типу вакцин належить цей препарат?

- A. Атенуїваним
- B. Синтетичним
- C. Іннактивованим
- D. Молекулярним
- E. Анатоксином

До лікарні поступив хворий із рваною раною гомілки, внаслідок укусу хворої на сказ тварини. Яку вакцину необхідно ввести для попередження сказу?

- A. Антирабічну сироватку
- B. ТАВте
- C. АКДС
- D. БЦЖ
- E. АДС

Хворий звернувся в поліклініку з приводу укусів собаки. Собаку вдалося зловити, і виявилось, що тварина хвора на сказ. Яку вакцину необхідно використовувати для специфічної профілактики?

- A. Живу
- B. Анатоксин

- C. Хімічну
- D. Рекомбінантну
- E. Синтетичну

У клітинах мозку лисиці, виловленої в межах міста, виявлено включення у вигляді тілець Бабеша-Негрі. Джерелом якого захворювання була тварина?

- A. Кліщовий енцефаліт
- B. Вітряна віспа
- C. Грип
- D. Інфекційний мононуклеоз
- E. Сказ

Серед перелічених сімейств ДНК-геномних вірусів виберіть РНК-геномне сімейство:

- A. Рабдовіруси
- B. Аденовіруси
- C. Герпесвіруси
- D. Парвовіруси
- E. Паповавіруси

Промисловий мисливець був покусаний диким песцем. Можливий діагноз - сказ. Назвіть групу інфекційних хвороб, до якої належить це захворювання:

- A. Зооноз
- B. Сапроноз
- C. Зооантропоноз
- D. Зоосапроноз
- A. Антропоноз

До хірургічного кабінету звернувся чоловік, якого покусав невідомий собака. Широкі рвані рани локалізовані на обличчі. Яку лікувально-профілактичну допомогу потрібно надати?

- A. Призначити імунізацію антирабічною вакциною
- B. Терміново ввести вакцину АКДП
- C. Призначити комбіновану антибіотикотерапію
- D. Госпіталізувати хворого та утримувати під наглядом лікаря
- E. Терміново ввести нормальний гаммаглобулін

У НДІ вірусології вирішили налагодити випуск антирабічної вакцини. Який штам вірусусказу потрібно використовувати?

- A. Фіксований вірус
- B. Синтезований за допомогою методів генної інженерії
- C. Виділений від собак
- D. Іннактивований вірус
- E. Знешкоджений за допомогою УФ- променів

Яку з наступних груп осіб прищеплюють незалежно від епідеміологічної ситуації?

- A. Жодна з вищезазначених
- B. Усі вищезазначені
- C. Вагітні жінки
- D. Діти до 9 місяців життя
- C. Люди з імунодефіцитом

У районі, де зареєстровано епіцентр сказу серед диких тварин, до поліклініки звернувся чоловік, якого покусав бродячий пес. З профілактичною метою йому почали вводити антирабічну вакцину. До якого типу вакцин відносять цей препарат?

- A. Атенуйовані
- B. Анатоксини
- C. Синтетичні
- D. Молекулярні
- E. Іннактивовані

3. Формування професійних вмінь, навичок:

3.1. зміст завдань

1. Знати відповіді на питання з методички та з орієнтовної карти альбому
2. Розібрати ситуаційні завдання та вивчити схему патогенезу.
3. Знати алгоритм забору досліджуваного матеріалу.

Задача 1

49-річний чоловік відвідав невропатолога через 2 дні після зростаючого болю правої руки і парастезії. Невропатолог діагностував атипову невропатію. Симптоми збільшувалися і супроводжувалися спазмами рук і потовиділенням на правому боці обличчя і тіла. Пацієнта госпіталізували в лікарню через тиждень після розвитку дисфагії, збудження і генералізованих судом м'язів. Показники життєво важливих функцій і аналізи крові були нормальні, але через кілька годин пацієнт впав у несвідомий стан. Застосовували антирабічний імуноглобулін, вакцину, ацикловір. Наступного дня пацієнта під'єднали до апарату штучної вентиляції легенів. Розвинулася ниркова недостатність і пацієнт помер 3 дні потому. Результати дослідження на сказ були позитивні. Дружина пацієнта повідомила, що пацієнт не був укушений собаками або дикими тваринами. Найімовірніше пояснення невдачі лікування:

- A. Лікування було розпочато після початку клінічних симптомів сказу
- B. Замість призначеного лікування необхідно було застосовувати інтерферони
- C. Вакцина була спрямована проти сказу собаки, а пацієнт був заражений сказом кажана
- D. Результати дослідження на сказ було хибно позитивними, у пацієнта не було сказу
- C. Не можна було застосовувати антирабічну вакцину

4. Підведення підсумків

Поточний контроль: усне опитування, тестування, оцінювання виконання практичних навичок, розв'язання ситуаційних завдань, вміння аналізувати і інтерпретувати результати досліджень і правильно зробити обґрунтовані висновки, оцінювання активності на занятті.

Підсумковий контроль: тестування за типом Крок-1, іспит.

Оцінювання поточної навчальної діяльності на практичному занятті:

3. Оцінювання теоретичних знань з теми заняття:

- методи: індивідуальне опитування, виконання тестових завдань, перевірка ведення протоколу досліджень;
- максимальна оцінка – 5, мінімальна оцінка – 3, незадовільна оцінка – 2.

4. Оцінка практичних навичок з теми заняття:

- методи: оцінювання правильності виконання практичних робіт (досліджень)
- максимальна оцінка – 5, мінімальна оцінка – 3, незадовільна оцінка – 2.

Оцінка за одне практичне заняття є середньоарифметичною за всіма складовими і може мати лише цілу величину (5, 4, 3, 2), яка округлюється за методом статистики.

Критерії поточного оцінювання на практичному занятті

Оцінка	Критерії оцінювання
«5»	Здобувач бере активну участь у практичному занятті, демонструє глибокі знання, дає повні та детальні відповіді на запитання. Бере активну участь у обговоренні проблемних ситуацій, демонструє гарні навички та вміння при виконанні практичного завдання, правильно оцінює отримані результати. Тестові завдання виконані в повному обсязі.
«4»	Здобувач бере участь у практичному занятті; добре володіє матеріалом. Демонструє необхідні знання, але дає відповіді на запитання з деякими помилками; бере участь у обговоренні проблемних ситуацій. Тестові завдання виконані в повному обсязі, не менш ніж 70% відповідей на запитання є правильними.
«3»	Здобувач іноді бере участь в практичному занятті; частково виступає і задає питання; допускає помилки під час відповідей на запитання; показує пасивну роботу на практичних заняттях. Демонструє навички та вміння при виконанні практичного завдання, однак оцінює отримані результати недостатньо повно і точно. Тестування виконано в повному обсязі, не менш ніж 50% відповідей є правильними, відповіді на відкриті питання - не логічні, з явними суттєвими помилками у визначеннях.
«2»	Здобувач не бере участь у практичному занятті, є лише спостерігачем; ніколи не виступає і не задає питання, незацікавлений у вивченні матеріалу; дає неправильні відповіді на запитання, демонструє недостатні навички та вміння, не може впоратися з практичною роботою і оцінкою отриманих результатів.. Тестування не виконано.

5. Список рекомендованої літератури (основна, додаткова, електронні інформаційні ресурси):

Основна:

1. Абул К. Аббас, Ендрю Г. Ліхтман & Шив Піллай. Основи імунології: функції та розлади імунної системи: 6-е видання. Київ: Медицина, 2020, 328 с.
2. Майкл Р Барер, Вілл Ірвінг, Ендрю Свонн & Нелюн Перера. Медична мікробіологія, Посібник з мікробних інфекцій: патогенез, імунітет, лабораторна діагностика та контроль: 19-е видання: у двох томах. Київ: Медицина, 2021, 434 с.
3. Медична мікробіологія, вірусологія та імунологія» - 3-тє видання, оновлено та доповнено // Ширококов В.П за ред. – Вінниця: «Нова книга», 2021. 920 с.

Додаткова:

1. Abbas, A., Litchman, A. H. & Pillai, S. Basic Immunology - 6th Edition. (Elsevier Ltd, 2019).
2. Anantharyan R. Jayaram Paniker C. K. Textbook of Microbiology. 12-th Edition.- Orient Longman, 2022.
3. Barer, M. & Irving, W. L. Medical Microbiology 19th Edition A Guide to Microbial Infections: Pathogenesis, Immunity, Laboratory Investigation and Control. vol. 19 (2018).
4. Burrell, C. J., Howard, C. R. & Murphy, F. A. Fenner and White's Medical Virology: Fifth Edition. Fenner and White's Medical Virology: Fifth Edition (Elsevier Inc., 2016).
5. Cann, A. J. Principles of Molecular Virology: Sixth Edition. Principles of Molecular Virology: Sixth Edition (Elsevier Inc., 2015). doi:10.1016/C2014-0-01081-7.
6. Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology, 26th Edition, 2012, English. 880 p.
7. Louten, J. & Reynolds, N. Essential Human Virology. (2016).

8. Male, D., Peebles, S. & Male, V. Immunology. (2020).
9. Marsh D, P., Lewis A O, M., Rogers, H., Williams W, D. & Wilson, M. Marsh and Martin's Oral Microbiology. (Elsevier Limited, 2016).
10. Nath, S. K. & Revankar, S. G. Problem-based microbiology. (Saunders, 2006).
11. Ream, Walt. Molecular microbiology laboratory : a writing-intensive course. (Academic Press, 2013).
12. Review of Medical Microbiology and Immunology, 12 edition/ Warren E. Levinson. McGraw-Hill Prof Med.-Tech., 2012. 688 p.
13. Rich, R. R. & Fleisher, T. A. Clinical Immunology (Fifth Edition) Principles and Practice. Clinical Immunology (2018).
14. Sandle, T. Pharmaceutical Microbiology: Essentials for Quality Assurance and Quality Control. Pharmaceutical Microbiology: Essentials for Quality Assurance and Quality Control (Elsevier Inc., 2015). doi:10.1016/C2014-0-00532-1.
15. Wilson, J. (Nurse) & Stucke, V. A. Clinical microbiology : an introduction for healthcare professionals. (Baillière Tindall, 2000).

Електронні інформаційні ресурси

1. <http://moz.gov.ua> – Міністерство охорони здоров'я України
2. <http://www.microbiologybook.org> - Microbiology and immunology on-line
3. <http://www.microbiologyinfo.com> - On-line microbiology note
4. www.cdc.gov - Centers for diseases control and prevention
5. www.ama-assn.org – Американська медична асоціація / American Medical Association
6. www.who.int – Всесвітня організація охорони здоров'я
7. www.dec.gov.ua/mtd/home/ - Державний експертний центр МОЗ України

Практичне заняття

Тема: Арбовіруси: жовта гарячка, гарячка денге, Крим-Конго геморагічна гарячка, кліщовий енцефаліт, гарячка Західного Нілу

Мета: Ознайомити студентів з основними властивостями арбовірусів, класифікацією арбовірусів, екологією збудників та векторами передачі цих інфекцій, основними симптомами хвороб, спричинених арбовірусами. Вивчити мікробіологічну діагностику арбовірусних інфекцій, напрямки лікування та профілактики.

Основні поняття: Арбовіруси, геморагічні лихоманки, кліщовий енцефаліт, жовта гарячка, гарячки денге, Крим-Конго, Західного Нілу, родина Togaviridae, Flaviviridae, Rhabdoviridae, Reoviridae, Arenaviridae та ін.

Обладнання: Структурно-логічні схеми, таблиці, відеоматеріали, результати лабораторних досліджень, ситуаційні задачі.

План:

1. Організаційні заходи (привітання, перевірка присутніх, повідомлення теми, мети заняття, мотивація здобувачів вищої освіти щодо вивчення теми).

Арбовіруси (від англ. arthropod-borne viruses) – еколого-епідеміологічна група РНК-вмісних вірусів з декількох родин, що їх передають в природі між хребетними тваринами членистоногі переносники (кліщі, комарі тощо). Класифікація має еколого-епідеміологічний характер і поєднує в одну групу різні родини вірусів, різні хвороби та різні переносники. Для більшості характерна суворе ендемічність, хвороба існує на певній території, що відображається у назві інфекції. Але, незважаючи на конкретні ареали циркуляції збудників та переносників, все частіше ці інфекції зустрічаються і в нашій країні. На сьогодні через потепління клімату, міграцію населення багато арбовірусних хвороб значно поширилися. Приблизно 25% хвороб влітку, які перебігають з гарячкою, є арбовірусними. У першу чергу це Крим-Конго геморагічна гарячка, кліщовий енцефаліт, гарячка Західного Нілу та інші. Тож майбутні лікарі мають бути обізнані в питаннях хвороб, викликаних арбовірусами, методами лабораторного підтвердження цих інфекцій, лікувальними та профілактичними заходами.

2. Контроль опорного рівня знань:

2.1. Вимоги до теоретичної готовності студентів до виконання практичних занять.

Вимоги до знань:

1. Надати класифікацію арбовірусів. Назвати представників родин, які входять до складу групи арбовірусів.
2. Загальна характеристика арбовірусів як екогрупи вірусів, які об'єднані за ознакою єдності шляхів передачі та природній осередкованості викликаємих ними інфекцій.
3. Назвати приклади хвороб, які мають арбовірусну етіологію, та специфічного переносника
4. Принципи лабораторної діагностики арбовірусних інфекцій (вірусологічний, серологічний, експрес-діагностика).
5. Специфічна профілактика арбовірусних інфекцій.

Перелік дидактичних одиниць:

1. Розповсюдження та циркуляція арбовірусів у природі, характеристика переносників.
2. Епідеміологія та патогенез захворювання у людини.
3. Принципи лабораторної діагностики арбовірусних інфекцій.
4. Основні напрямки в лікуванні та профілактики арбовірусних інфекцій.

Теоретичні питання:

1. Загальна характеристика арбовірусів як екогрупи вірусів.

2. Класифікація арбовірусів, основні сімейства та представники групи арбовірусів.
3. Екологія збудників – циркуляція у природних вогнищах, основні вектори передачі.
4. Характеристика основних родин – Togaviridae, Flaviviridae, Bunyaviridae, Reoviridae та ін..
5. Основні методи лабораторної діагностики арбовірусних інфекцій (Вірусологічний, серологічний, експрес-діагностика, ПЛР).
6. Збудник кліщового енцефаліту – класифікація, будова, культивування.
7. Епідеміологія та патогенез кліщового енцефаліту. Основні симптоми хвороби.
8. Основні методи мікробіологічної діагностики кліщового енцефаліту.
9. Профілактика (специфічна та неспецифічна) кліщового енцефаліту.
10. Збудник жовтої лихоманки – класифікація, будова вірусу, культивування.
11. Епідеміологія та патогенез жовтої лихоманки. Основні клінічні прояви.
12. Методи лабораторної діагностики жовтої лихоманки.
13. Профілактика та лікування жовтої лихоманки.
14. Лихоманка денге – характеристика збудника, епідеміологія та патогенез захворювання.
15. Лабораторна діагностика лихоманки денге. Профілактика.

Тестові завдання (всі відповіді А)

У дитини 8 років лікар виявив симптоми кліщового енцефаліту. Який можливий шлях інфікування, окрім укуса кліща?

- A. Молоко кіз, інфіковане вірусом
- B. Повітряно-краплиний
- C. Контакт з хворою людиною
- D. Повітряно-пиловий
- E. Контакт з хворою твариною

Вірусологічна лабораторія отримала завдання виявити антигени вірусу кримської лихоманки в матеріалі від хворого, який містить інфіковані вірусом клітини. Який тест є найбільш ефективний для рішення цього завдання

- A. Реакція імунофлюоресценції
- B. Реакція зв'язування комплементу
- C. Реакція аглютинації
- D. Реакція пасивної гемаглютинації
- E. Реакція преципітації

Назвіть основний шлях передачі інфекції при кліщовому енцефаліті

- A. Трансмисивний
- B. Фекально-оральний
- C. Повітряно-краплиний
- D. Контактно-побутовий
- E. Трансплацентарний

Кліщовий енцефаліт є хворобою з трансмісивним механізмом передачі інфекції. Які саме кровососні комахи є переносниками даної інфекції?

- A. Іксодові кліщі
- B. Головні воші
- C. Мухи
- D. Блохи
- E. Комарі роду Anopheles

Вірус жовтої лихоманки відноситься до родини

- A. Флавівіруси
- B. Пікорнавіруси
- C. Ортоміксовіруси
- D. Параміксовіруси
- E. Ретровіруси

Хворий потрапив в лікарню з явищами енцефаліту після укусу кліща. Діагноз кліщового енцефаліту було підтверджено лабораторними дослідженнями. Виберіть препарат для лікування цього захворювання.

- A. Специфічний проти енцефалітний імуноглобулін
- B. Пеніцилін
- C. Тетрациклін
- D. Антирабічна вакцина
- E. Інтерферон

Вірус кліщового енцефаліту відноситься до групи арбовірусів та має наступні характеристики

- A. РНК-вмісний, має суперкапсид
- B. ДНК-вмісний, простий
- C. ДНК-вмісний, має суперкапсид
- D. Викликає захворювання тільки у людини
- E. Передається повітряно-краплиним шляхом

Для попередження інфікування на кліщовий енцефаліт використовують вакцину, яка відповідає наступним характеристикам

- A. Інактивована культуральна вакцина
- B. Анатоксин
- C. Антирабічна вакцина
- D. Вакцина входить до планової вакцинації
- E. Специфічна профілактика не розроблена

3. Формування професійних вмінь, навичок:

3.1. зміст завдань

Задача

В інфекційну лікарню поступив пацієнт з клінічними симптомами енцефаліту у вигляді високої температури, головний біль, неврологічною симптоматикою, млявими паралічами шийних м'язів. Із анамнеза відомо про укус кліща.

Питання

1. Який збудник викликає кліщовий енцефаліт

Вірус кліщового енцефаліту належить до родини Флавівірусів із групи Арбовірусів

2. Який шлях передачі інфекції

Трансмисивний, через укус іксодових кліщів, які є природним резервуаром збудника. Також можливий аліментарний шлях зараження при споживанні інфікованого козячого молока.

3. Якими лабораторними методами можна підтвердити діагноз кліщового енцефаліту

Використовують серологічний метод дослідження з метою пошуку антитіл до вірусу у сироватки крові хворого. Для цього ставлять реакції РГГА, РЗК, РН, ІФА.

4. Якщо при серологічному дослідженні титри антитіл у сироватці хворого менші за діагностичний титр, які дії слід зробити лікарю

Провести серологічне дослідження парних сироваток крові пацієнта з інтервалом 10 днів. Підтвердженням діагнозу є наростання титру антитіл в 4 та більше разів.

5.Що слід призначити хворому для лікування

Специфічний імуноглобулін.

3.2. рекомендації (інструкції) щодо виконання завдань (професійні алгоритми, орієнтуючі карти для формування практичних вмінь та навичок тощо)

Арбовіруси – багаточисленна екологічна група вірусів, що циркулюють в природних вогнищах між сприйнятливими хребетними тваринами та кровососними членистоногими. Арбовіруси не є єдиною таксономічною групою, а мають представників із різних родин. Найбільше представників арбовірусів відноситься до родини *Togaviridae* (більш ніж 30 представників), *Flaviviridae* (біля 60), *Bunyaviridae* (близько 200), *Reoviridae* (60), *Rhabdoviridae* (близько 50). Найбільше значення в патології людини мають віруси кліщового енцефаліту, омської геморагічної лихоманки, японського енцефаліту, кримської геморагічної лихоманки, жовтої лихоманки, лихоманки денге та ін..Арбовіруси широко розповсюджені у природі, ареал обмежений зоною циркуляції переносника. Специфічними переносниками арбовірусів є комарі, кліщі, москіти. Деякі види членистоногих зберігають віруси впродовж всього життя, тож є резервуаром інфекції.

Арбовіруси мають РНК-геном, білковий капсид, оточений зовнішньою ліпопротеїновою оболонкою, на поверхні якої розташовані шипики глікопротеїнової природи. Віруси мають групу специфічні антигени, які пов'язані з нуклеокапсидом та видоспецифічні антигени, пов'язані з глікопротеїнами. Більша частина арбовірусів має гемаглютинуючі властивості.

Арбовіруси культивують в організмі новонароджених білих мишей, в культурі клітин (первинних та перещеплювальних), іноді в курячому ембріоні. У мишей при зараженні в мозок виникає гостра інфекція з ураженням ЦНС, яка закінчується розвитком паралічів та загибеллю тварин. Цитопатичний ефект не виражений. Для лабораторного дослідження обирають кров, ліквор, трупний матеріал. Для діагностики розроблені експрес-тести – РІФ, ІФА, РІА, РНГА які використовують для пошуку вірусного Аг. Універсальним методом є зараження новонароджених мишей в мозок. Виділений вірус ідентифікують за допомогою РЗК, РГГА, РН. Такі ж реакції використовують для серодіагностики арбовірусних інфекцій.

Класифікація арбовірусів

Сімейства	Роди	Представники
Togaviridae Віріони сферичної форми, 40-70 нм, мають суперкапсид, однопіткова плюс-РНК	Alphavirus (21 вірус)	Віруси карельської лихоманки, кінських енцефаломієлітів
Flaviviridae Віріони сферичної форми, 40-50 нм, мають суперкапсид, однопіткова плюс-РНК		Віруси кліщового японського енцефалітів, денге, жовтої лихоманки
Bunyaviridae Віріони сферичної форми, 90-100 нм, фрагментарна однопіткова мінус-РНК мають суперкапсид.	Bunyavirus (145 вірусів)	Віруси Буньямвера Віруси Бвамба
	Plebovirus (60 вірусів)	Вірус каліфорнійського енцефаліту.

		Віруси сіцилійської, тосканської, неаполитанської лихоманки
	Nairobivirus (35 вірусів)	Віруси Аленквер, Кандиру, Кримської лихоманки
	Uukuvirus (22 вірусів)	Вірус укуниєми
Rhabdoviridae Віріони форми кулі, 170*70 нм, однострижкова лінійна мінус-РНК, мають суперкапсид.	Vesiculovirus	Вірус везикулярного стоматита
Reoviridae Віріони сферичної форми, 70-75 нм, двунитчата РНК, мінус-ниткова, суперкапсид.	Orbivirus (17 вірусів)	Вірус колорадської лихоманки Вірус кемеровської лихоманки
Arenaviridae Віріони овальної або сферичної форми 100-130 нм, однострижкова з двох фрагментів мінус-РНК, мають суперкапсид	Arenavirus (12 вірусів)	Вірус лімфоцитарного хориомеїнігіту Віруси Ласса, Хунін, Мачупо

3.3. вимоги до результатів роботи, в т.ч. до оформлення

- 1) Вивчити схему лабораторної діагностики арбовірусних інфекцій
- 2) Ознайомитися з ЦПД арбовірусів в культурах клітин (по демонстраційним матеріалам)
- 3) Надати характеристику методам експрес-діагностики арбовірусних інфекцій
- 4) Облік та оцінка результатів РГГА с парними сироватками для діагностики кліщового енцефаліту
- 5) Ознайомитися з препаратами для діагностики та специфічної профілактики арбовірусних інфекцій
- 6) Ознайомитися з методикою РІФ для експрес-діагностики кліщового енцефаліту

4. Підведення підсумків

Усне опитування, тестування, оцінювання виконання практичних навичок, розв'язання ситуаційних завдань, оцінювання активності на занятті тощо.

Поточний контроль: усне опитування, тестування, оцінювання виконання практичних навичок, розв'язання ситуаційних завдань, вміння аналізувати і інтерпретувати результати досліджень і правильно зробити обґрунтовані висновки, оцінювання активності на занятті.

Оцінювання поточної навчальної діяльності на практичному занятті:

Оцінювання теоретичних знань з теми заняття:

- методи: індивідуальне опитування, виконання тестових завдань, перевірка ведення протоколу досліджень;
- максимальна оцінка – 5, мінімальна оцінка – 3, незадовільна оцінка – 2.

2. Оцінка практичних навичок з теми заняття:

- методи: оцінювання правильності виконання практичних робіт (досліджень)

- максимальна оцінка – 5, мінімальна оцінка – 3, незадовільна оцінка – 2.

Оцінка за одне практичне заняття є середньоарифметичною за всіма складовими і може мати лише цілу величину (5, 4, 3, 2), яка округлюється за методом статистики.

Оцінка	Критерії оцінювання
«5»	Здобувач бере активну участь у практичному занятті, демонструє глибокі знання, дає повні та детальні відповіді на запитання. Бере активну участь у обговоренні проблемних ситуацій, демонструє гарні навички та вміння при виконанні практичного завдання, правильно оцінює отримані результати. Тестові завдання виконані в повному обсязі.
«4»	Здобувач бере участь у практичному занятті; добре володіє матеріалом. Демонструє необхідні знання, але дає відповіді на запитання з деякими помилками; бере участь у обговоренні проблемних ситуацій. Тестові завдання виконані в повному обсязі, не менш ніж 70% відповідей на запитання є правильними.
«3»	Здобувач іноді бере участь в практичному занятті; частково виступає і задає питання; допускає помилки під час відповідей на запитання; показує пасивну роботу на практичних заняттях. Демонструє навички та вміння при виконанні практичного завдання, однак оцінює отримані результати недостатньо повно і точно. Тестування виконано в повному обсязі, не менш ніж 50% відповідей є правильними, відповіді на відкриті питання - не логічні, з явними суттєвими помилками у визначеннях.
«2»	Здобувач не бере участь у практичному занятті, є лише спостерігачем; ніколи не виступає і не задає питання, незацікавлений у вивченні матеріалу; дає неправильні відповіді на запитання, демонструє недостатні навички та вміння, не може впоратися з практичною роботою і оцінкою отриманих результатів.. Тестування не виконано.

5. Список рекомендованої літератури (основна, додаткова, електронні інформаційні ресурси):

Основна:

1. Абул К. Аббас, Ендрю Г. Ліхтман & Шив Піллай. Основи імунології: функції та розлади імунної системи: 6-е видання. Київ: Медицина, 2020, 328 с.
2. Майкл Р Барер, Вілл Ірвінг, Ендрю Свонн & Нелюн Перера. Медична мікробіологія, Посібник з мікробних інфекцій: патогенез, імунітет, лабораторна діагностика та контроль: 19-е видання: у двох томах. Київ: Медицина, 2021, 434 с.
3. Медична мікробіологія, вірусологія та імунологія» - 3-тє видання, оновлено та доповнено // Широбоков В.П за ред. – Вінниця: «Нова книга», 2021. 920 с.

Додаткова:

1. Abbas, A., Litchman, A. H. & Pillai, S. Basic Immunology - 6th Edition. (Elsevier Ltd, 2019).
2. Anantharyan R. Jayaram Paniker C. K. Textbook of Microbiology. 12-th Edition.- Orient Longman, 2022.
3. Barer, M. & Irving, W. L. Medical Microbiology 19th Edition A Guide to Microbial Infections: Pathogenesis, Immunity, Laboratory Investigation and Control. vol. 19 (2018).
4. Burrell, C. J., Howard, C. R. & Murphy, F. A. Fenner and White's Medical Virology: Fifth Edition. Fenner and White's Medical Virology: Fifth Edition (Elsevier Inc., 2016).
5. Cann, A. J. Principles of Molecular Virology: Sixth Edition. Principles of Molecular Virology: Sixth Edition (Elsevier Inc., 2015). doi:10.1016/C2014-0-01081-7.
6. Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology, 26th Edition, 2012, English. 880 p.
7. Louten, J. & Reynolds, N. Essential Human Virology. (2016).
8. Male, D., Peebles, S. & Male, V. Immunology. (2020).

9. Marsh D, P., Lewis A O, M., Rogers, H., Williams W, D. & Wilson, M. Marsh and Martin's Oral Microbiology. (Elsevier Limited, 2016).
10. Nath, S. K. & Revankar, S. G. Problem-based microbiology. (Saunders, 2006).
11. Ream, Walt. Molecular microbiology laboratory : a writing-intensive course. (Academic Press, 2013).
12. Review of Medical Microbiology and Immunology, 12 edition/ Warren E. Levinson. McGraw-Hill Prof Med.-Tech., 2012. 688 p.
13. Rich, R. R. & Fleisher, T. A. Clinical Immunology (Fifth Edition) Principles and Practice. Clinical Immunology (2018).
14. Sandle, T. Pharmaceutical Microbiology: Essentials for Quality Assurance and Quality Control. Pharmaceutical Microbiology: Essentials for Quality Assurance and Quality Control (Elsevier Inc., 2015). doi:10.1016/C2014-0-00532-1.
15. Wilson, J. (Nurse) & Stucke, V. A. Clinical microbiology : an introduction for healthcare professionals. (Baillière Tindall, 2000).

Електронні інформаційні ресурси

1. <http://moz.gov.ua> – Міністерство охорони здоров'я України
2. <http://www.microbiologybook.org> - Microbiology and immunology on-line
3. <http://www.microbiologyinfo.com> - On-line microbiology note
4. www.cdc.gov - Centers for diseases control and prevention
5. www.ama-assn.org – Американська медична асоціація / American Medical Association
6. www.who.int – Всесвітня організація охорони здоров'я
7. www.dec.gov.ua/mtd/home/ - Державний експертний центр МОЗ України

Практичне заняття

Тема: Коронавіруси

Мета: Сформувати у здобувачів вищої освіти знання та необхідні практичні навички щодо використання актуальних методів мікробіологічної діагностики вірусних інфекцій в практичній діяльності лікаря. Допомогти створити у студентів уявлення про механізми розвитку інфекційних захворювань спричинених коронавірусами . Виробити у здобувачів вищої освіти здатність до визначення методів діагностики вірусних інфекцій; навчити інтерпретації результатів вірусологічних, серологічних та ін. досліджень, специфічної профілактики та лікування захворювань, що викликають коронавіруси.

Основні поняття: пандемія, SARS-CoV-2, MERS-CoV, COVID-19, віруси ssPHK (+), респіраторний дистрес-синдром, гіперпродукція прозапальних цитокінів, цитокиновий шторм, антицитокінова терапія, CD26, CD147.

Обладнання: бланк направлення матеріалу на мікробіологічне дослідження, демонстраційні результати з ІФА, РІФ, ПЛР, лікувально - профілактичні та діагностичні демонстраційні препарати (діагностикуми, вакцини, противірусні препарати), таблиці, схеми, відеоматеріали, тести, ситуаційні задачі, мультимедійні презентації.

План

1. Організаційні заходи (привітання, перевірка присутніх, повідомлення теми, мети заняття, мотивація студентів щодо вивчення теми).

Актуальність теми визначається необхідністю мати загальне уявлення про методи діагностики коронавірусів для поглибленого вивчення інфекційних захворювань та застосування знань у практичній діяльності лікаря. Інфікування коронавірусом SARS-CoV-2 у низці випадків призводить до розвитку тяжкого вірусного захворювання (COVID-19), іноді зі смертельними наслідками. Імунопатогенез COVID-19 пов'язаний із розвитком незбалансованої імунної відповіді на вірус із недостатнім синтезом інтерферону на початку захворювання, але з подальшою гіперпродукцією прозапальних цитокінів, яка спричиняє сильне запалення в легеневій тканині з розвитком гострого ураження легень і респіраторного дистрес-синдрому. Мета заняття полягає в тому, щоб студенти ознайомились, проаналізували та вивчили матеріал стосовно мутацій вірусу, виникнення нових штамів, перспективних напрямків імунотерапії хворих на COVID-19. Аналіз лікування препаратами інтраназального рекомбінантного інтерферону на початковій стадії інфекційного процесу, застосування антицитокінової терапії під час розвитку важкої пневмонії та цитокинового шторму, пасивна імунізація з використання плазми крові пацієнтів, що перехворіли, і препаратів терапевтичних моноклональних антитіл, профілактична вакцинація та її ефективність.

2. Контроль опорних знань:

2.1. Вимоги до теоретичної готовності студентів до виконання практичних занять.

Вимоги до знань:

- знати сучасну таксономічну класифікацію коронавірусів;
- знати загальну схему лабораторної діагностики SARS-CoV-2;
- знати будову коронавірусів;
- знати правила забору і доставки в лабораторію досліджуваного матеріалу;
- знати режим роботи в вірусологічній лабораторії;
- знати , що таке вроджений противірусний імунітет;
- знати цикл розвитку корона вірусів;
- знати патогенез та клінічні прояви;
- знати принципи лікування та профілактики коронавірусних інфекцій.

Перелік дидактичних одиниць:

10. Таксономія коронавірусів.
11. Морфологія коронавірусів.
12. Епідеміологія коронавірусів.
13. Цикл розвитку коронавірусів.
14. Патогенез та клінічні прояви при SARS-CoV-2.
15. Імунітет. Імунна відповідь при SARS-CoV-2.
16. Методи лабораторної діагностики. Характеристика методів за видом діагностики та часу встановлення діагнозу. Досліджуваний матеріал. Вибір, правила взяття, транспортування, оформлення направлення до лабораторії.
17. Лікування.
18. Специфічна профілактика.

2.2. Питання для перевірки базових знань за темою заняття:

Питання:

17. Таксономія коронавірусів. Поясніть назви – коронавіруси та SARS-CoV-2.
18. Поясніть, хто такі віруси ssPHK (+).
19. Шляхи та механізми передачі корона вірусів. Джерело коронавірусів.
20. Резистентність коронавірусів.
21. Культивування коронавірусів.
22. Морфологія коронавірусів.
23. Назвіть п'ять шляхів перенесення інформації патогенного коронавірусу в клітину господаря.
24. Цикл розвитку SARS-CoV-2.
25. Що таке вроджений противірусний імунітет, клітинний та гуморальний?
26. Поясніть особливості набутого противірусного імунітету.
27. Імунопатогенез ураження легень при тяжких респіраторних вірусних інфекціях.
28. Методи лабораторної діагностики. Характеристика методів за видом діагностики та часу встановлення діагнозу.
29. Досліджуваний матеріал. Вибір, правила взяття, транспортування, оформлення направлення до лабораторії.
30. Перспективи імунотерапії коронавірусної інфекції. Лікарські препарати на основі рекомбінантного IFN людини.
31. Антицитокінова терапія.
32. Дайте порівняльну характеристику сучасних вакцин проти коронавірусів.

Тестові завдання:

Складні віруси, до яких належать корона віруси, мають на відміну від простих додаткову оболонку - суперкапсид. Чим є ця оболонка у складних вірусів?

- A. Фрагментом цитоплазматичної або ядерної мембрани клітини, ліпідним шаром
- B. Фрагментом клітинної стінки, полісахаридним шаром
- C. Другою білковою оболонкою, синтезованою в клітині
- D. Ліпопротеїновою оболонкою, що кодується геномом вірусу
- E. Фрагментом цитоплазматичної або ядерної мембрани клітини, білковим шаром

Віруси є паразитами на генетичному рівні. Під час проникнення вірусу в клітину відбувається депротейнізація, транспортування вірусного геному в ядро, вбудовування цього геному в геном клітини, надалі, за певних умов, - транскрипція та реплікація вірусного геному, синтез вірусних білків, складання дочірніх віріонів. Така послідовність подій та їхній результат характерні для взаємодії вірусного і клітинного геномів, яку називають

- A. Інтегративною

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

Для зупинки коронавірусної пандемії, у низці різних заходів масово використовувалася вакцинація. Яка вакцина, яку застосовували для специфічної профілактики COVID-19, є рекомбінантною?

- А. AstraZeneca
- В. Інфлювак
- С. CoronaVac
- Д. ОПВ
- Е. Тіковак

Міжнародний комітет з таксономії вірусів (ICTV), станом на травень 2016 року, виділяє в підродині Orthocoronavirinae 4 роди. До якого роду належить SARS-CoV-2?

- А. Betacoronavirus
- В. Alphacoronavirus
- С. Gammacoronavirus
- Д. Deltacoronavirus
- Е. -

З перелічених характеристик, один варіант не притаманний коронавірусам. Який саме?

- А. Реплікуються в ядрі
- В. Реплікуються в цитоплазмі
- С. Як правило, інтерферон-чутливі
- Д. висока мінливість
- Е. Геномна ssРНК (+) вірусів безпосередньо транслюється в білки

Жінці, похилого віку встановлено діагноз: COVID-19. В її доньці цієї інфекційної хвороби не виявлено, хоча вони весь час контактували. Лікар з'ясував, донька перехворіла на COVID-19 півроку тому. Який вид імунітету сформувався у дівчини?

- А. Природний активний
- В. Видовий
- С. Штучний активний
- Д. Природний пасивний
- Е. Штучний пасивний

Серологічна діагностика коронавірусу передбачає виявлення наростання титру антитіл до збудника в сироватці крові хворого. У скільки разів повинен зрости титр антитіл із парною сироваткою, щоб результат вважався достовірним?

- А. У 4 рази і більше
- В. У 2 рази
- С. У 3 рази
- Д. У 1,5 рази
- Е. В 1 раз

У матеріалі від хворого вірусолог виявив РНК- вірусу SARS-CoV-2 . Який фермент необхідний для збільшення кількості молекул вірусної РНК?

- A. РНК-залежна РНК-полімераза.
- B. Зворотна транскриптаза.
- C. ДНК-залежна РНК-полімераза.
- D. Транслоказа.
- E. ДНК-лігаза

Після тестування понад 1000 зразків диких тварин встановлено, що геномна послідовність нового штаму коронавірусу, на 99% ідентична геному вірусу у хворих людей. Які тварини тестувались на SARS-CoV-2 та є його резервуаром?

- A. Кажани та панголіні
- B. Ховраки та бабаки
- C. Примати
- D. Кліщі
- E. Собаки

Наприкінці грудня 2019 року в Ухані (Китай) вперше виявлено новий патогенний бетакоронавірус людини. Який із перелічених вірусів викликав пандемію COVID-19 і став всесвітньою проблемою, в результаті чого було закрито багато кордонів і введені екстрені заходи безпеки?

- A. SARS-CoV-2
- B. MERS-CoV
- C. SARS-CoV-1
- D. HCoV-OC43
- E. HCoV-NKU1

Виступи розташовані удвічі рідше, ніж шипики на поверхні вірусу грипу, легко відламуються при зберіганні вірусу, руйнуються ферментами бромелайном (рослин) і трипсином, є оболонковими, одноланцюговими ssРНК (+) вірусами зоонозного походження. Якому з наведених прикладів вірусів відповідає ця характеристика?

- A. Coronavirus
- B. Vesiculovirus
- C. Orthohepadna-virus
- D. Hepatovirus
- E. Bunyavirus

У здійсненні гуморального противірусного імунітету на слизових основну роль відіграють:

- A. IgA
- B. IgD
- C. IgG
- D. IgE
- E. IgM

Серед перелічених родин ДНК-геномних вірусів, виберіть РНК-геномну родину.

- A. Коронавіруси
- B. Герпесвіруси
- C. Паповавіруси
- D. Парвовіруси
- E. Поксвіруси

Який із наведених нижче вірусів має булавоподібні шипи суперкапсиду і вражає дихальні шляхи?

- A. Коронавірус.
- B. Везикуловірус.
- C. Вірус герпесу
- D. Астровірус.
- E. Рубівірус.

Вірогенія - це

- A. Інтегративний тип взаємодії вірусного та клітинного геномів
- B. Продуктивна взаємодія із синтезом нових віріонів
- C. Обов'язкова пухлинна трансформація клітини
- D. Резистентність клітини до вірусної інфекції
- E. Перемикання біосинтетичних процесів у клітині на синтез компонентів віріона

3. Формування професійних вмінь, навичок:

3.1 міст завдань (задачі, клінічні ситуації тощо);

1. Коронавірус, що спричинив епідемію 2002 року?

Епідемія SARS-CoV-1 почалася в листопаді 2002 року в південній провінції Гуандун (Китай), звідки швидко поширилася на сусідні території. Останній випадок першого спалаху SARS-CoV-1 зафіксували в червні 2003-го. Загалом захворіло приблизно 8000 осіб, 9% загинуло. Наприкінці 2003 року, за півроку після завершення епідемії, у Китаї відбулися нові зараження SARS. Другий спалах швидко локалізували, захворіли всього чотири людини. SARS-CoV (severe acute respiratory syndrome) - Betacoronavirus B, збудник важкого гострого респіраторного синдрому, перший випадок захворювання яким був зареєстрований в 2002 році. Природним резервуаром SARS-CoV виявилися кажани. Від кажанів заразилися цивети - проміжні господарі коронавірусної інфекції, через контакт з якими SARS-CoV потрапив у людську популяцію. Вважається, що SARS - COV - 1 походить від Африканських цивет, їх розводили ферми Гонконгу. Збирали виділення їх залоз для виробництва арабських дорогих парфумів.

2. Які особливості коронавірусу MERS-CoV, відкритого 2012 року?

MERS-CoV (middle east respiratory syndrome) - Betacoronavirus C, збудник близькосхідного респіраторного синдрому, спалах-у 2012 р

У людей вірус має сильний тропізм до епітеліальних клітин бронхів, він ефективно ухиляється від вроджених імунних реакцій і протидіє виробленню інтерферону (ІФН) у цих клітинах. Цей тропізм унікальний тим, що більшість респіраторних вірусів націлені на війчасті клітини.

Через клінічну схожість між MERS-CoV і SARS-CoV було висловлено припущення, що вони можуть використовувати один і той самий клітинний рецептор. Але було виявлено, що нейтралізація ангіотензинперетворювального ферменту 2 (Angiotensin I converting enzyme 2, ACE2) рекомбінантними антитілами не запобігає інфекції MERS-CoV. Подальші дослідження виявили дипептидилпептидазу 4 (DPP 4; також відому як CD26) як функціональний клітинний рецептор для БВРС-КоВ. На відміну від інших відомих рецепторів коронавірусу, ферментативна активність DPP 4 (також відому як CD26) не потрібна для інфекції.

Природним резервуаром MERS-CoV виявилися кажани, а проміжними господарями - одnogорбі верблюди.

3. Опишіть структуру вірусу SARS-CoV-2.

Вони є оболонковими, одноланцюговими +РНК вірусами зоонозного походження. Діаметр різних вірусів — 80-220 нм, оточені поверхневими булавоподібними виступами завдовжки 12—24 нм і нагадують фігуру сонячної корони. Геномна (+)РНК коронавірусу безпосередньо слугує матрицею для трансляції вірусних білків. На відміну від РНК багатьох інших РНК-вірусів, РНК коронавірусів схожа на клітинну мРНК: має кап-структуру на 5'-кінці та поліаденіловий хвіст на 3'-кінці. Серед неструктурних білків основне значення мають репліказа, протеази та білки, що пригнічують імунну відповідь.

Нуклеокапсид вірусу представлений спіралью згорнутою геномною РНК у комплексі з білком N. Нуклеокапсид оточений фосфоліпідною мембраною, в яку вбудовані білки E, M, S. S-білок (spike) - утворює виступи-шипи в оболонці вірусу, що нагадують корону. За допомогою Spike-білка вірус прикріплюється до клітин і відбувається інфікування.

4. З якими рецепторами взаємодіють коронавіруси в організмі людини?

Клітинним рецептором, який використовується вірусами SARS-CoV-2 і SARS-CoV для входу в клітину-мішені, слугує ангіотензинперетворювальний фермент 2 (ACE2). Рецептором для MERS-CoV є молекула CD26 (або дипептидилпептидаза-4 (DPP-4)), представлена на епітеліальних клітинах бронхів і різних клітинах імунної системи. Усі три віруси зв'язуються з рецепторами за допомогою білка S. Вхід вірусу в клітину здійснюється через стадію ендцитозу віріонів. За допомогою білка S віруси можуть прикріплюватися до рецептора DC-SIGN (CD209) на поверхні дендритних клітин, не інфікуючи їх, унаслідок чого через дендритні клітини перетворюються на "рознощиків" вірусу по організму. Вірус SARS-CoV добре реплікується в епітеліальних клітинах дихальних шляхів і альвеол, тоді як інфекція гемопоетичних клітин має абортивний характер. Вірус MERS-CoV реплікується також у макрофагах, дендритних клітинах і в активованих Т-клітинах.

5. Як відбувається реплікація SARS-CoV-2

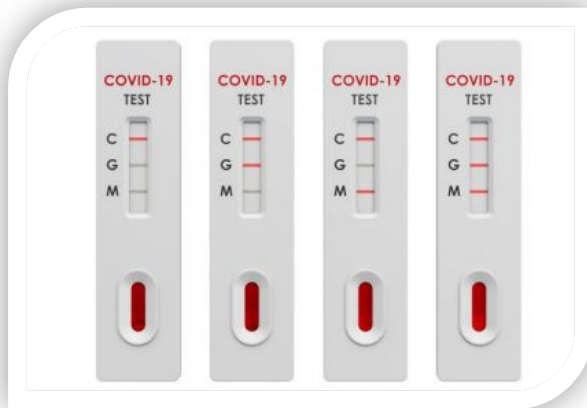
Після входу вірусу в клітину на матриці геномної (+)РНК вірусу транслюється вірусна репліказа (РНК-залежна РНК-полімераза), яка синтезує (-)РНК, комплементарну геномній РНК. До складу вірусного репліказного комплексу входять екзонуклеази, що виправляють помилки РНК-полімерази, у зв'язку з чим частота мутацій у геномі коронавірусів порівняно невелика. На матриці (-)РНК та сама репліказа синтезує нові копії геномної (+)РНК, які включаються до нових віріонів, а також коротші субгеномні (+)РНК, які слугують матрицями для трансляції вірусних білків. Продукція нових віріонів відбувається шляхом їх відбрунькування в просвіт клітинних везикулярних структур, які займають проміжне положення між ендоплазматичним ретикуломом і комплексом Гольджі. Віріони, що відбрунькувалися, екзоцитуються.

6. Як вірус SARS-CoV-2 використовує CD147?

Наразі COVID-19, спричинений коронавірусом 2 тяжкого гострого респіраторного синдрому (SARS-CoV-2), широко поширений в усьому світі; незважаючи на це, до цих пір не існує специфічних противірусних препаратів для лікування захворювання, що створює серйозну проблему для контролю та стримування вірусу. При дослідженні вірусу SARS-CoV-2 стало зрозуміло, механізм вторгнення в клітини господаря новим шляхом білка CD147-spike (SP). SP зв'язується з CD147, рецептором на клітинах-господарях, таким чином опосередковуючи вірусну інвазію. Антивірусні тести *in vitro* показали, що меплазумаб, гуманізоване антитіло проти CD147, суттєво пригнічує проникнення вірусів у клітини-господарі. За допомогою Ко-Імунопреципітації та ELISA також підтвердили зв'язування двох білків, також за допомогою імуноелектронного мікроскопа спостерігали локалізацію CD147 і SP у клітинах Vero E6, інфікованих SARS-CoV-2. Таким чином, відкриття нового шляху CD147-SP для SARS-CoV-2, що вторгається в клітини господаря, є критичною мішенню для розробки специфічних противірусних препаратів.

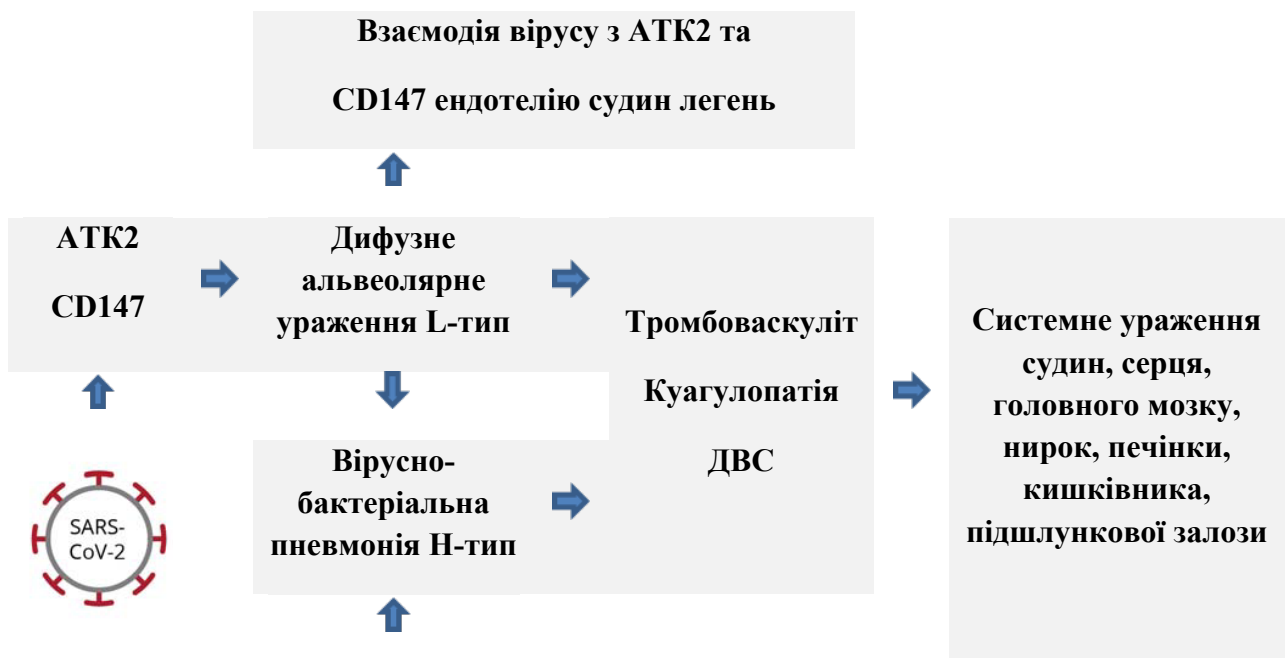
7. Назвіть варіант позитивної відповіді, обґрунтуйте.

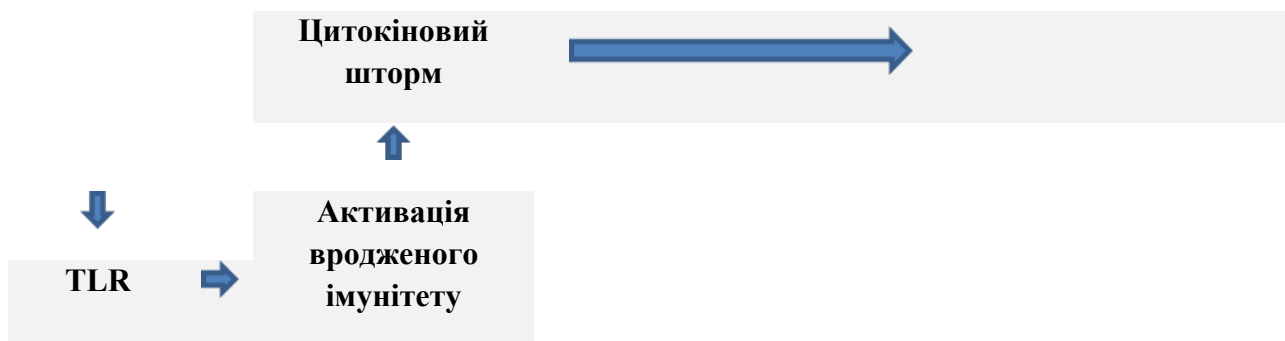
Наведемо приклад окремого випадку історії хвороби чоловіка 48 років. 28 березня звернувся в поліклініку за місцем проживання; напередодні повернувся з Мілана, його турбувала лихоманка. При надходженні у відділення - стан середньої тяжкості, напруга кисню в артерії - 62 мм рт. ст. (норма 75–100 мм рт. ст.), число лімфоцитів - 2%, на КТ легень, двосторонні консолидуючі інфільтрати. Були взяті проби на COVID-19. Під час проведення лабораторної діагностики, попередньо був проведений експрес тест на COVID-19, результат виявився позитивними.. Який саме варіант відповіді з наведених варіантів, належить даному хворому?



3.2 Рекомендації (інструкції) щодо виконання завдань (професійні алгоритми, орієнтуючі карти для формування практичних вмінь та навичок тощо)

1. Патогенез COVID-19 при повітряно-краплинному та повітряно-пиловому шляху передачі. Поясніть та обґрунтуйте схему патогенезу COVID-19.





2. Ознайомитись з протоколом.

Протокол «Надання медичної допомоги для лікування коронавірусної хвороби (COVID-19)» розроблено відповідно до Закону України від 30 березня 2020 року № 539-IX «Про внесення змін до деяких законів України щодо забезпечення лікування коронавірусної хвороби (COVID-19)» (зі змінами, внесеними Законом України від 04 грудня 2020 року № 1075-IX «Про внесення змін до деяких законів України щодо забезпечення профілактики коронавірусної хвороби (COVID-19)») та Порядку призначення та застосування лікарських засобів для лікування коронавірусної хвороби (COVID-19), затвердженого наказом Міністерства охорони здоров'я України від 30 червня 2020 року № 1482, зареєстрованого в Міністерстві юстиції України 08 липня 2020 року за № 641/34924.

3. Алгоритм забору матеріалу на SARS-CoV-2

- Забір мазка проводиться не раніше ніж через 2 години після прийому їжі.
- Матеріал для дослідження відбирають медичні працівники, які одягнені в засоби індивідуального захисту.
- Використовують тільки стерильні тампони з дакрону або віскози на пластиковій паличці.
- Тампони з альгінатом кальцію або бавовною, а також тампони з дерев'яними паличками можуть містити речовини, які інактивують деякі віруси та уповільнюють тестування в ПЛР, тому їх можна використовувати тільки за відсутності дакронівих або віскозних тампонів.

Послідовність забору матеріалу із зіву:

- Попросити пацієнта розкрити рот, щоб піднявся язичок на піднебінні (вимовити протяжний гучний звук); язик утримувати за допомогою шпателя; відбір мазків проводити, не торкаючись тампоном м'якого піднебіння.
- Взяти тампон і повільним рухом зробити мазок із задньої стінки глотки і мигдаликів.
- Після отримання матеріалу робочу частину тампона помістити в стерильну одноразову пробірку з кришкою об'ємом 1,5-2,0 мл із транспортним середовищем в об'ємі 0,5 мл. Занурити робочу частину тампона в транспортне середовище, обережно обламати пластиковий стрижень на відстані не більше 0,5 см від робочої частини, залишити робочу частину в транспортному середовищі.

Послідовність забору матеріалу з носа:

- Зразки з обох ніздрів набираються одним тампоном. Тампон вводити в ніздрю паралельно до носа піднебінню.
- Ввести кінчик тампона в ніздрю на 2-3 см від носового отвору, торкаючись передньої носової раковини та слизової оболонки перегородки, повертаючи тампон, щоб зібрати назальні слизові виділення.
- Після отримання матеріалу помістити тампон у стерильну пробірку з 2-3 мл транспортного середовища разом із мазком із зіву.
- Пробірку щільно закрити кришкою та промаркувати.

- Умови зберігання та транспортування матеріалу При $t +18 \dots 22 \text{ }^\circ\text{C}$ впродовж 6 год При $t +2 \dots 8 \text{ }^\circ\text{C}$ впродовж 3 діб При $t -20 \text{ }^\circ\text{C}$ впродовж 1 тиж.



Мал. Взяття мазка з носа.

3.3 Вимоги до результатів роботи, в т.ч. до оформлення

1. Знати схеми лабораторної діагностики коронавірусів.
2. Розглянути і обґрунтувати демонстраційні результати ІФА та ПЛР, проведених з метою виявлення в досліджуваному матеріалі SARS-CoV-2. Знати алгоритм проведення.
3. Заповнити таблиці та схеми в робочому альбомі.
4. Знати відповіді на питання з методички та з орієнтовної карти альбому.
5. Розібрати ситуаційні завдання та вивчити схему патогенезу.
6. Знати алгоритм забору досліджуваного матеріалу.
7. Ознайомитись з протоколом від 30 березня 2020 року № 539-IX IX «Про внесення змін до деяких законів України щодо забезпечення лікування коронавірусної хвороби (COVID-19)».

Практичні заняття з мікробіології, вірусології та імунології є структурованими та передбачають комплексне оцінювання в балах усіх видів навчальної діяльності (навчальних завдань), які студенти виконують під час практичного заняття:

1. На початковому етапі практичного заняття здійснюється усний та/або тестовий контроль відповідно до переліку найбільш важливих теоретичних та практичних питань з орієнтовної карти заняття. Тести містять 10 тестових завдань вибіркового типу з однією правильною відповіддю. Його результати оцінюються позитивно, якщо студент дав не менше ніж 8 правильних відповідей; студент не отримує балів, якщо кількість правильних відповідей менша за 8. Оцінка цього етапу є комплексною з результатів тестування та усного опитування. У загальній оцінці заняття цей етап студент отримує 1 - 0,5 бала.

2. На основному етапі практичного заняття оцінюється:

Виконання практичних робіт (досліджень), якість ведення протоколу досліджень відповідно до вимог, уміння аналізувати та інтерпретувати результати досліджень та правильно зробити обґрунтовані висновки, вирішення ситуаційних завдань, конструктивних тестів. У загальній оцінці поточної навчальної діяльності цей етап становить приблизно 50%

Якщо студент правильно виконав практичні роботи (дослідження), записав протокол досліджень у відповідності до вимог, зумів проаналізувати та інтерпретувати результати дослідження, зробити обґрунтовані висновки, правильно відповів на всі теоретичні питання, вирішив усі запропоновані ситуаційні та інші завдання, він отримує максимальну оцінку в 2 бали.

Якщо студент правильно виконав практичні роботи (дослідження), записав протокол досліджень відповідно до вимог, зумів проаналізувати та інтерпретувати результати досліджень, зробити обґрунтовані висновки, відповів не менше ніж на половину теоретичних питань та вирішив не менше половини запропонованих завдань та інших завдань, він отримує 1,5 бали.

Якщо студент правильно виконав практичні роботи (дослідження), записав протокол дослідження відповідно до вимог, зумів проаналізувати та інтерпретувати результати досліджень, зробити обґрунтовані висновки, відповів менш ніж на половину теоретичних питань та не вирішив жодного із запропонованих завдань, він отримує 1 бал.

Студент не набирає балів на основному етапі навчальної діяльності, якщо він не зумів правильно виконати практичні роботи (дослідження), записати протокол досліджень відповідно до вимог, проаналізувати та інтерпретувати результати досліджень, зробити обґрунтовані висновки, відповісти на теоретичні питання, вирішити запропоновані завдання та інші завдання.

На кінцевому етапі практичного заняття контроль теоретичної та практичної підготовки здійснюється за результатами виконання практичного завдання, оформлення протоколу лабораторної роботи, вирішення комплексних ситуаційних завдань та тестових завдань та інших завдань, що дозволяють оцінити ступінь досягнення навчальної мети. Він оцінюється максимально в 1 бал за умови, що студент правильно вирішив не менше 90% тестових завдань та/або вирішив усі ситуаційні завдання та інші завдання. За умови, що студент правильно вирішив не менше, ніж 70% тестових завдань, та/або запропонованих ситуаційних завдань студент отримує 0,5 бала, інакше студент не отримує балів за цей етап заняття.

4. Підведення підсумків

Поточний контроль: усне опитування, тестування, оцінювання виконання практичних навичок, розв'язання ситуаційних завдань, оцінювання активності на занятті.

Структура поточного оцінювання на практичному занятті:

Оцінювання теоретичних знань з теми заняття:

- методи: опитування, вирішення ситуаційної клінічної задачі;
- максимальна оцінка – 5, мінімальна оцінка – 3, незадовільна оцінка – 2.

Оцінка практичних навичок з теми заняття:

- методи: оцінювання правильності виконання практичних навичок;
- максимальна оцінка – 5, мінімальна оцінка – 3, незадовільна оцінка – 2.

Критерії поточного оцінювання на практичному занятті:

«5»	Студент вільно володіє матеріалом, приймає активну участь в обговоренні та вирішенні ситуаційної клінічної задачі, впевнено демонструє практичні навички та інтерпритує дані клінічного обстеження та лабораторних досліджень, висловлює свою думку з теми заняття, демонструє клінічне мислення.
«4»	Студент добре володіє матеріалом, приймає участь в обговоренні та вирішенні ситуаційної задачі, демонструє практичні навички та інтерпритує дані клінічного обстеження та лабораторних досліджень з деякими помилками, висловлює свою думку з теми заняття, демонструє клінічне мислення.
«3»	Студент недостатньо володіє матеріалом, невпевнено приймає участь в обговоренні та вирішенні ситуаційної задачі, демонструє практичні навички та інтерпритує дані клінічного обстеження та лабораторних досліджень з суттєвими помилками.
«2»	Студент не володіє матеріалом, не приймає участь в обговоренні та вирішенні ситуаційної задачі, не демонструє практичні навички та інтерпритує дані клінічного обстеження та лабораторних досліджень.

5.Список рекомендованої літератури (основна, додаткова, електронні інформаційні ресурси):

Основна:

1. Абул К. Аббас, Ендрю Г. Ліхтман & Шив Піллай. Основи імунології: функції та розлади імунної системи: 6-е видання. Київ: Медицина, 2020, 328 с.
2. Майкл Р Барер, Вілл Ірвінг, Ендрю Свонн & Нелюн Перера. Медична мікробіологія, Посібник з мікробних інфекцій: патогенез, імунітет, лабораторна діагностика та контроль: 19-е видання: у двох томах. Київ: Медицина, 2021, 434 с.

3. Медична мікробіологія, вірусологія та імунологія» - 3-тє видання, оновлено та доповнено // Ширококов В.П за ред. – Вінниця: «Нова книга», 2021. 920 с.

Додаткова:

1. Abbas, A., Litchman, A. H. & Pillai, S. Basic Immunology - 6th Edition. (Elsevier Ltd, 2019).
2. Anantharyan R. Jayaram Paniker C. K. Textbook of Microbiology. 12-th Edition.- Orient Longman, 2022.
3. Barer, M. & Irving, W. L. Medical Microbiology 19th Edition A Guide to Microbial Infections: Pathogenesis, Immunity, Laboratory Investigation and Control. vol. 19 (2018).
4. Burrell, C. J., Howard, C. R. & Murphy, F. A. Fenner and White's Medical Virology: Fifth Edition. Fenner and White's Medical Virology: Fifth Edition (Elsevier Inc., 2016).
5. Cann, A. J. Principles of Molecular Virology: Sixth Edition. Principles of Molecular Virology: Sixth Edition (Elsevier Inc., 2015). doi:10.1016/C2014-0-01081-7.
6. Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology, 26th Edition, 2012, English. 880 p.
7. Louten, J. & Reynolds, N. Essential Human Virology. (2016).
8. Male, D., Peebles, S. & Male, V. Immunology. (2020).
9. Marsh D, P., Lewis A O, M., Rogers, H., Williams W, D. & Wilson, M. Marsh and Martin's Oral Microbiology. (Elsevier Limited, 2016).
10. Nath, S. K. & Revankar, S. G. Problem-based microbiology. (Saunders, 2006).
11. Ream, Walt. Molecular microbiology laboratory : a writing-intensive course. (Academic Press, 2013).
12. Review of Medical Microbiology and Immunology, 12 edition/ Warren E. Levinson. McGraw-Hill Prof Med.-Tech., 2012. 688 p.
13. Rich, R. R. & Fleisher, T. A. Clinical Immunology (Fifth Edition) Principles and Practice. Clinical Immunology (2018).
14. Sandle, T. Pharmaceutical Microbiology: Essentials for Quality Assurance and Quality Control. Pharmaceutical Microbiology: Essentials for Quality Assurance and Quality Control (Elsevier Inc., 2015). doi:10.1016/C2014-0-00532-1.
15. Wilson, J. (Nurse) & Stucke, V. A. Clinical microbiology : an introduction for healthcare professionals. (Baillière Tindall, 2000).

Електронні інформаційні ресурси

1. <http://moz.gov.ua> – Міністерство охорони здоров'я України
2. <http://www.microbiologybook.org> - Microbiology and immunology on-line
3. <http://www.microbiologyinfo.com> - On-line microbiology note
4. www.cdc.gov - Centers for diseases control and prevention
5. www.ama-assn.org – Американська медична асоціація / American Medical Association
6. www.who.int – Всесвітня організація охорони здоров'я
7. www.dec.gov.ua/mtd/home/ - Державний експертний центр МОЗ України

Практичне заняття

Тема: Герпесвіруси.

Мета: вивчити біологічні властивості герпесвірусів, їх загальну характеристику, роль у патології людини, засвоїти особливості лабораторної діагностики захворювань, спричинених цими патогенами, ознайомитися з принципами специфічної профілактики та лікування захворювань, що вони спричинюють.

Основні поняття: ДНК-геномні вірусів, вірус простого герпесу тип 1, вірус простого герпесу тип 2, вірус вітряної віспи – оперізуючого герпесу, цитомегаловірус, вірус лімфотропного герпесу, вірус Епштейна-Барр

Обладнання: структурно-логічні схеми, таблиці, відеоматеріали, результати лабораторних, ситуаційні задачі.

План

1. Організаційні заходи (привітання, перевірка присутніх, повідомлення теми, мети заняття, мотивація студентів щодо вивчення теми).

Герпетична інфекція є однією з найпоширеніших у світі, що зумовлено високою сприйнятливістю людини до вірусів герпесу, різноманітністю шляхів передачі та здатністю вірусу до довічного персистування у клітинах нервової тканини.

Усі герпесвіруси – лімфопроліферативні, нейропатогенні, системні імунодепресанти, усі – пантропні. Системні герпесвірусні інфекції, здатні протягом десятиліть підтримувати хронічну персистенцію в організмі або протікати в латентній формі, при реактивації викликають бурхливу продуктивну клінічну маніфестацію, аж до розвитку менінгоенцефаліту, кератиту, гепатиту, панкреатиту або тиреоїдиту, що нерідко призводять до смерті, а при середньотяжкій або легкій течії – хронічну рецидивну або безсимптомну хронічну інфекцію (може призводити до безпліддя).

У переважній більшості населення планети герпесвіруси перебувають у стані так званого «здорового» носійства, ховаючись від імунної системи в структурах спинного або головного мозку, а також у гангліонарних тканинах, легко долаючи гематоенцефалічний бар'єр, що є малодоступним для специфічних противірусних препаратів.

Як імуносупресанти, герпесвіруси протягом всього людського життя надають постійний, з роками дедалі більший «пресинговий» вплив на імунну систему макроорганізму (процес старіння). Слід враховувати і той факт, що ~3% генетичного матеріалу герпесвірус представлені пухлинними генами (онкогени).

Дисемінація герпесвірусів в організмі людини відбувається різними способами: від клітини інфікованої до клітини неінфікованої, гематогенно, транслімфатично та трансневралью (трансаксонально). Зараження плода в інфікованому організмі матері може здійснюватися, крім гематогенного шляху, також трансплацентарно.

2. Контроль опорного рівня знань:

2.1. Вимоги до теоретичної готовності студентів до виконання практичних занять.

Вимоги до знань:

1. Знати загальну характеристику ДНК-геномних вірусів та їх класифікацію.
2. Знати класифікацію герпесвірусів, їх загальні властивості.
3. Знати морфологію та особливості репродукції герпесвірусів.
4. Знати епідеміологію, патогенез, клінічні прояви та імуногенез герпесвірусної інфекції.
5. Знати методи культивування герпесвірусів. Принципи та методи лабораторної діагностики
6. Принципи лікування та профілактики герпесвірусної інфекції.

Перелік дидактичних одиниць:

1. Герпесвіруси. Структура віріонів, культивування.
2. α -герпесвіруси (ВПП-1 та ВПП-2, вірус вітряної віспи - оперізувального герпесу).

3. β-герпесвіруси (цитомегаловірус, HHV 6, HHV 7, HHV 8 типів.).
4. γ-герпесвіруси (вірус Епштейна-Барр).
5. Патогенність герпесвірусів для людини, патогенез захворювань.
6. Принципи профілактики та терапії. Противірусні препарати.
7. Лабораторна діагностика герпесвірусних інфекцій.

2.2. Питання для перевірки базових знань за темою заняття:

Питання:

1. Класифікація ДНК-вірусів. Патогенні для людини представники.
2. Герпесвіруси. Будова, класифікація.
3. Життєвий цикл герпесвірусів, патогенез захворювань, загальні властивості.
4. Віруси простого герпесу, будова, життєвий цикл.
5. Епідеміологія і патогенез ВПГ-асоційованих захворювань.
6. Клінічна картина герпетичних інфекцій.
7. Лабораторна діагностика герпетичних інфекцій.
8. Лікування і профілактика герпетичних інфекцій.
9. Вірус вітряної віспи. Особливості, патогенез первинної та рецидивної інфекції.
10. Епідеміологія та клініка вітряної віспи та оперізуючий лишай.
11. Вірус Епштейна-Бар, патогенез інфекційного моноклеозу.
12. Клініка та лабораторна діагностика інфекційного моноклеозу.
13. Хронічна ВЕБ інфекція, вірус-асоційовані онкологічні захворювання.
14. Лікування і профілактика ВЕБ інфекції.
15. Цитомегаловірус, будова, патогенез інфекції.
16. Клінічні прояви ЦМВ інфекції, роль вірусу у патології вагітності та при імунодефіцитних станах.

Тестові завдання (правильна відповідь А):

Хворий звернувся до лікаря зі скаргами на періодичні висипання герпетичних пухирців на лінії губ і на крилах носа. Такий стан спостерігається впродовж 10-ти років, кожний раз після зниження захисних сил організму. Лікар встановив діагноз: лабіальний герпес. Як називається така форма інфекції?

- A. Персистенція
- B. Гостра
- C. Латентна
- D. Екзогенна
- E. Затяжна

Фармацевтичне підприємство випускає хіміотерапевтичний препарат, дія якого заснована на блокуванні синтезу вірусної ДНК у людських клітинах. Проти якої з вірусних інфекцій буде ефективний даний препарат?

- A. Герпес
- B. Грип
- C. Кір
- D. Гепатит А
- E. Кліщовий енцефаліт

У пацієнта після переохолодження у ділянці крил носа та верхньої губи з'явилися герпетичні висипання. Для лікування була застосована мазь. Який противірусний засіб містить застосована мазь?

- A. Ацикловір

- В. Дексаметазон
- С. Інтерферон
- Д. Індометацин
- Е. Азидотимідин

З яким вірусом асоційовано виникнення саркоми Капоші?

- А. Вірус людського герпесу 8 типу
- В. Вірус Епштейна-Барр
- С. Цитомегаловірус
- Д. Вірус людського герпесу 7 типу
- Е. Вірус людського герпесу 6 типу

Яка з наступних пухлин пов'язана з вірусом Епштейна-Барр?

- А. Усі перелічені
- В. Лімфома Беркітта
- С. Рак носоглотки
- Д. В-клітинна лімфома
- Е. Жодна з перерахованих

У пацієнта з ослабленим імунітетом, віком 36 років, діагностовано простий герпес слизової оболонки губ. Як компонент комплексної терапії лікар призначив йому препарат місцевого застосування, що має противірусну активність. Укажіть цей лікарський засіб.

- А. Ацикловір
- В. Тималін
- С. Ремантадин
- Д. Інтерферон
- Е. Амікацин

Гострий герпетичний гінгівостоматит є найпоширенішою первинною інфекцією, яку спричиняє вірус простого герпесу першого типу. Який матеріал треба взяти лікарю-стоматологу для лабораторного підтвердження діагнозу?

- А. Рідину з везикул
- В. Мокротиння
- С. Сечу
- Д. Слину
- Е. Кров

Школяр 8-ми років звернувся до стоматолога з герпетичним висипанням на нижній губі. Який найбільш ефективний засіб слід призначити?

- А. Ацикловір
- В. Оксацилін
- С. Кетоконазол
- Д. Ампіцилін
- Е. Фурадонін

На огляді у лікаря дівчина 17-ти років. Виявлено: фарингіт, шийна лімфоаденопатія, гарячка. Попередній діагноз: інфекційний мононуклеоз. Який з наведених методів дослідження дозволить підтвердити діагноз на початку захворювання?

- А. Визначення антитіл IgM до вірусу Епштейна-Барр

- B. Реакція Себіна-Фельдмана
- C. Визначення кількості С-реактивного протеїну
- D. Визначення IgG до вірусу Епштейна-Барр
- E. Мікроскопічне дослідження мазка крові за Романовським-Гімзою

Чоловік 36-ти років страждає від частих герпетичних висипань на губах і слизовій порожнини рота. Рецидивуючий характер інфекції пов'язаний з персистенцією вірусу в організмі. Де саме з найбільшою ймовірністю може зберігатися вірус простого герпесу?

- A. Нервові ганглії
- B. Слинні залози
- C. Статеві залози
- D. Лімфатичні вузли
- E. Епітелій дихальних шляхів

У пацієнта лікар запідозрив рецидив офтальмогерпесу (герпетичної інфекції очей). Який препарат повинен призначити лікар цьому хворому для місцевого етіотропного лікування?

- A. Ацикловір.
- B. Лейкоцитарний інтерферон.
- C. Ремантадин.
- D. Гамма-глобулін людський
- E. Амантадін.

У сироватці крові новонародженого віком 2 дні, був виявлений IgM проти вірусу простого герпесу. Чим обумовлено їх поява?

- A. Внутрішньоутробне інфікування
- B. Слідство інфікування при пологах
- C. Трансплацентарний передача імуноглобулінів від матері
- D. Отримані від матері при грудному вигодовуванні
- E. Слідство внутрішньо лікарняного інфікування постнатально (після народження)
- F.

У пацієнта відзначається головний біль, загальна слабкість, кашель, підвищення температури. Поставлено клінічний діагноз ГРВІ. Який з перерахованих вірусів може бути збудником цього захворювання?

- A. Будь-який з перерахованих
- B. Коронавірус
- C. Вірус грипу
- D. Респираторно-синцитіальний вірус
- E. Аденовірус

3. Формування професійних вмінь, навичок:

3.1. зміст завдань.

1. Вивчити схеми лабораторної діагностики герпесвірусних інфекцій.
2. Ознайомитись з РІФ для діагностики герпесу (за мікрофотографіями).
3. Вибрати необхідні дослідження для уточнення або підтвердження діагнозу при вірусних інфекціях.

3.2 рекомендації (інструкції) щодо виконання завдань (професійні алгоритми, орієнтуючі карти для формування практичних вмінь та навичок тощо)

Родина герпесвірусів широко поширена в природі та представлена більш ніж 100 видами. Патогенними для людини є віруси дев'яти типів родини *Herpesviridae*, які інфікують людину

переважно у ранньому дитинстві, переходячи в латентний або персистуючий стан та активуючись при імунodefіцитних станах. Представники родини характеризуються пантропністю до органів та тканин, довічною персистенцією в організмі, здатністю викликати різноманітні маніфестні форми.

Усі герпесвіруси людини можуть бути поділені на три основні підродина, які відрізняються по структурі геному, тропізму до клітин господаря, спектру активності та здатності до латенції:

а) альфа-герпесвіруси включають вірус простого герпесу 1-го типу, вірус простого герпесу 2-го типу та вірус вітряної віспи; володіють здатністю до швидкого руйнування інфікованих клітин та встановлення латентної інфекції, насамперед у сенсорних гангліях;

б) бета-герпесвіруси включають патогенні для людини вірус герпесу 6-го типу, вірус герпесу 7-го типу та цитомегаловірус; відрізняються менш вираженою цитопатичністю клітин, тривалим циклом реплікації та довічною персистенцією в клітинах господаря. Викликають латентну інфекцію у клітинах моноцитарно-макрофагальної системи та лімфоцитах; можуть бути причиною генералізованих уражень у новонароджених, дітей та дорослих при імунodefіцитних станах;

в) гамма-герпесвіруси включають вірус Епштейна-Барр та вірус герпесу людини 8-го типу; здатні інфікувати моноцити та призводити до порушення апоптозу клітин господаря при латентній інфекції.

Зростання числа імунoкомпromетованих осіб (насамперед хворі на ВІЛ-інфекцію, реципієнти органів і тканин, онкологічні хворі), а також значний внесок герпесвірусів у розвиток акушерсько-гінекологічних патологій зумовлюють високі вимоги до диференціальної діагностики інфекційно-запальних процесів, асоційованих із цією групою патогенів.

Лабораторна діагностика включає проведення вірусоскопічних, прискорених, вірусологічних і серологічних методів. Залежно від клінічних проявів матеріалом для дослідження служать слина, вміст пухирців, кірочки, ліквор, мазки з виразок на слизовій оболонці рота, статевих органів, рогівки; при автопсії – шматочки головного і спинного мозку та паренхіматозних органів.

Виділення герпесвірусів. Ізоляцію вірусів проводять шляхом інокуляції досліджуваного матеріалу в культури клітин ниркового епітелію кроля, курячого ембріона, амніона людини, HeLa та ін., або зараженням мишей-сисунців, хом'ячків, кроликів, курячих ембріонів.

Репродукція вірусів у культурах клітин настає через 4-7 днів. Вона супроводжується розвитком цитопатичних змін.

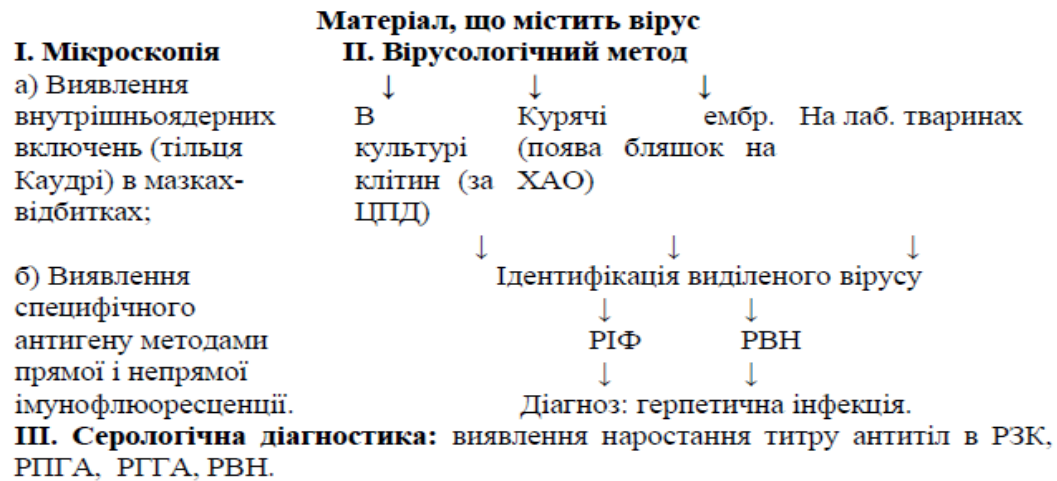
Виділені штами вірусів ідентифікують за допомогою стандартних протигерпетичних сироваток у тестах нейтралізації на культурах клітин, лабораторних тваринах або курячих ембріонах.

Серологічну діагностику проводять шляхом постановки реакції непрямой гемаглютинації, імунофлуоресценції та імуноферментного аналізу обов'язково методом парних сироваток. Діагностичне значення має наростання титру антитіл у 4 рази і більше. Серологічна діагностика простого герпесу значною мірою утруднена із-за широкої циркуляції вірусів серед населення і наявності спільних антигенів у 1-го і 2-го сероваріантів герпетичних вірусів. При первинному захворюванні на простий герпес певне діагностичне значення має постановка РЗК для виявлення комплементзв'язуючих антитіл. Особливо важливе значення при цьому набуває визначення Ig M.

Для експрес-діагностики використовують електронну мікроскопію, реакцію імунофлуоресценції, імуноферментний аналіз, генетичну діагностику. Під електронним мікроскопом досліджують вміст пухирців, рідку фракцію кірок після їх гомогенізації в дистильованій воді, змиви з елементів висипу. Виявлення 2-3 віріонів з типовою морфологією цілком достатньо для встановлення діагнозу. Швидке виявлення герпетичного антигену можливе в реакції імунофлуоресценції. Мазки з пухирцевої рідини, виразок на рогівці або

осаду з ліквору фіксують і обробляють протигерпетичною флуоресцентною сироваткою. Антиген знаходять у цитоплазмі та ядрах уражених клітин за характерним золотаво-зеленим світінням. Вірусспецифічний антиген у досліджуваному матеріалі легко виявляють за допомогою імуноферментного аналізу, чутливість і специфічність якого може сягати 95-96 %.

Схема лабораторної діагностики герпесу.



3.3. вимоги до результатів роботи

Практичні заняття з мікробіології, вірусології та імунології є структурованими та передбачають комплексне оцінювання в балах усіх видів навчальної діяльності (навчальних завдань), які студенти виконують під час практичного заняття:

1. На початковому етапі практичного заняття здійснюється усний та/або тестовий контроль відповідно до переліку найбільш важливих теоретичних та практичних питань з орієнтовної карти заняття. Тести містять 10 тестових завдань вибіркового типу з однією правильною відповіддю. Його результати оцінюються позитивно, якщо студент дав не менше ніж 8 правильних відповідей; студент не отримує балів, якщо кількість правильних відповідей менша за 8. Оцінка цього етапу є комплексною з результатів тестування та усного опитування. У загальній оцінці заняття цей етап студент отримує 1 - 0,5 бала.

2. На основному етапі практичного заняття оцінюється:

Виконання практичних робіт (досліджень), якість ведення протоколу досліджень відповідно до вимог, уміння аналізувати та інтерпретувати результати досліджень та правильно зробити обґрунтовані висновки, вирішення ситуаційних завдань, конструктивних тестів. У загальній оцінці поточної навчальної діяльності цей етап становить приблизно 50%

Якщо студент правильно виконав практичні роботи (дослідження), записав протокол досліджень у відповідності до вимог, зумів проаналізувати та інтерпретувати результати дослідження, зробити обґрунтовані висновки, правильно відповів на всі теоретичні питання, вирішив усі запропоновані ситуаційні та інші завдання, він отримує максимальну оцінку в 2 бали.

Якщо студент правильно виконав практичні роботи (дослідження), записав протокол досліджень відповідно до вимог, зумів проаналізувати та інтерпретувати результати досліджень, зробити обґрунтовані висновки, відповів не менше ніж на половину теоретичних питань та вирішив не менше половини запропонованих завдань та інших завдань, він отримує 1,5 бали.

Якщо студент правильно виконав практичні роботи (дослідження), записав протокол дослідження відповідно до вимог, зумів проаналізувати та інтерпретувати результати досліджень, зробити обґрунтовані висновки, відповів менш ніж на половину теоретичних питань та не вирішив жодного із запропонованих завдань, він отримує 1 бал.

Студент не набирає балів на основному етапі навчальної діяльності, якщо він не зумів правильно виконати практичні роботи (дослідження), записати протокол досліджень відповідно до вимог, проаналізувати та інтерпретувати результати досліджень, зробити обґрунтовані висновки, відповісти на теоретичні питання, вирішити запропоновані завдання та інші завдання.

3. На кінцевому етапі практичного заняття контроль теоретичної та практичної підготовки здійснюється за результатами виконання практичного завдання, оформлення протоколу лабораторної роботи, вирішення комплексних ситуаційних завдань та тестових завдань та інших завдань, що дозволяють оцінити ступінь досягнення навчальної мети. Він оцінюється максимально в 1 бал за умови, що студент правильно вирішив не менше 90% тестових завдань та/або вирішив усі ситуаційні завдання та інші завдання. За умови, що студент правильно вирішив не менше, ніж 70% тестових завдань, та/або запропонованих ситуаційних завдань студент отримує 0,5 бала, інакше студент не отримує балів за цей етап заняття.

4. Підведення підсумків

Поточний контроль: усне опитування, тестування, оцінювання виконання практичних навичок, розв'язання ситуаційних завдань, вміння аналізувати і інтерпретувати результати досліджень і правильно зробити обґрунтовані висновки, оцінювання активності на занятті.

Підсумковий контроль: тестування за типом Крок-1, іспит.

Оцінювання поточної навчальної діяльності на практичному занятті:

1. Оцінювання теоретичних знань з теми заняття:

- методи: індивідуальне опитування, виконання тестових завдань, перевірка ведення протоколу досліджень;
- максимальна оцінка – 5, мінімальна оцінка – 3, незадовільна оцінка – 2.

2. Оцінка практичних навичок з теми заняття:

- методи: оцінювання правильності виконання практичних робіт (досліджень)
- максимальна оцінка – 5, мінімальна оцінка – 3, незадовільна оцінка – 2.

Оцінка за одне практичне заняття є середньоарифметичною за всіма складовими і може мати лише цілу величину (5, 4, 3, 2), яка округлюється за методом статистики.

Критерії поточного оцінювання на практичному занятті

Оцінка	Критерії оцінювання
Відмінно «5»	Здобувач бере активну участь у практичному занятті, демонструє глибокі знання, дає повні та детальні відповіді на запитання. Бере активну участь у обговоренні проблемних ситуацій, демонструє гарні навички та вміння при виконанні практичного завдання, правильно оцінює отримані результати. Тестові завдання виконані в повному обсязі.
Добре «4»	Здобувач бере участь у практичному занятті; добре володіє матеріалом. Демонструє необхідні знання, але дає відповіді на запитання з деякими помилками; бере участь у обговоренні проблемних ситуацій. Тестові завдання виконані в повному обсязі, не менш ніж 70% відповідей на запитання є правильними.
Задовільно «3»	Здобувач іноді бере участь в практичному занятті; частково виступає і

	задає питання; допускає помилки під час відповідей на запитання; показує пасивну роботу на практичних заняттях. Демонструє навички та вміння при виконанні практичного завдання, однак оцінює отримані результати недостатньо повно і точно. Тестування виконано в повному обсязі, не менш ніж 50% відповідей є правильними, відповіді на відкриті питання - не логічні, з явними суттєвими помилками у визначеннях.
Незадовільно «2»	Здобувач не бере участь у практичному занятті, є лише спостерігачем; ніколи не виступає і не задає питання, незацікавлений у вивченні матеріалу; дає неправильні відповіді на запитання, демонструє недостатні навички та вміння, не може впоратися з практичною роботою і оцінкою отриманих результатів. Тестування не виконано.

5.Список рекомендованої літератури

Основна:

1. Абул К. Аббас, Ендрю Г. Ліхтман & Шив Піллай. Основи імунології: функції та розлади імунної системи: 6-е видання. Київ: Медицина, 2020, 328 с.
2. Майкл Р Барер, Вілл Ірвінг, Ендрю Свонн & Нелюн Перера. Медична мікробіологія, Посібник з мікробних інфекцій: патогенез, імунітет, лабораторна діагностика та контроль: 19-е видання: у двох томах. Київ: Медицина, 2021, 434 с.
3. Медична мікробіологія, вірусологія та імунологія» - 3-тє видання, оновлено та доповнено // Ширококов В.П за ред. – Вінниця: «Нова книга», 2021. 920 с.

Додаткова:

1. Ширококов В.П., Климнюк С.І. Практична мікробіологія: навчальний посібник. Вінниця: Нова Книга, 2018, 576 с.
2. Abbas, A., Litchman, A. H. & Pillai, S. Basic Immunology - 6th Edition. (Elsevier Ltd, 2019).
3. Anantharyan R. Jayaram Paniker C. K. Textbook of Microbiology. 12-th Edition.- Orient Longman, 2022.
4. Barer, M. & Irving, W. L. Medical Microbiology 19th Edition A Guide to Microbial Infections: Pathogenesis, Immunity, Laboratory Investigation and Control. vol. 19 (2018).
5. Burrell, C. J., Howard, C. R. & Murphy, F. A. Fenner and White's Medical Virology: Fifth Edition. Fenner and White's Medical Virology: Fifth Edition (Elsevier Inc., 2016).
6. Cann, A. J. Principles of Molecular Virology: Sixth Edition. Principles of Molecular Virology: Sixth Edition (Elsevier Inc., 2015). doi:10.1016/C2014-0-01081-7.
7. Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology, 26th Edition, 2012, English. 880 p.
8. Louten, J. & Reynolds, N. Essential Human Virology. (2016).
9. Male, D., Peebles, S. & Male, V. Immunology. (2020).
10. Marsh D, P., Lewis A O, M., Rogers, H., Williams W, D. & Wilson, M. Marsh and Martin's Oral Microbiology. (Elsevier Limited, 2016).
11. Nath, S. K. & Revankar, S. G. Problem-based microbiology. (Saunders, 2006).
12. Ream, Walt. Molecular microbiology laboratory : a writing-intensive course. (Academic Press, 2013).
13. Review of Medical Microbiology and Immunology, 12 edition/ Warren E. Levinson. McGraw-Hill Prof Med.-Tech., 2012. 688 p.
14. Rich, R. R. & Fleisher, T. A. Clinical Immunology (Fifth Edition) Principles and Practice. Clinical Immunology (2018).
15. Sandle, T. Pharmaceutical Microbiology: Essentials for Quality Assurance and Quality Control. Pharmaceutical Microbiology: Essentials for Quality Assurance and Quality Control (Elsevier Inc., 2015). doi:10.1016/C2014-0-00532-1.

16. Wilson, J. (Nurse) & Stucke, V. A. Clinical microbiology: an introduction for healthcare professionals. (Baillière Tindall, 2000).

Електронні інформаційні ресурси

1. <http://moz.gov.ua> – Міністерство охорони здоров'я України
2. <http://www.microbiologybook.org> - Microbiology and immunology on-line
3. <http://www.microbiologyinfo.com> - On-line microbiology note
4. www.cdc.gov - Centers for diseases control and prevention
5. www.ama-assn.org – Американська медична асоціація / American Medical Association
6. www.who.int – Всесвітня організація охорони здоров'я
7. www.dec.gov.ua/mtd/home/ - Державний експертний центр МОЗ України

Практичне заняття

Тема: Аденовіруси. Папіломавіруси. Парвовіруси.

Мета: Ознайомити студентів з основними представниками родин вірусів Adenoviridae, Papillomaviridae, Parvoviridae та захворюваннями, що вони викликають; біологічними властивостями цих вірусів; лабораторною діагностикою захворювань.

Основні поняття: ДНК-геномні віруси, Adenoviridae, Papillomaviridae, Parvoviridae.

Обладнання: Структурно-логічні схеми, таблиці, відеоматеріали, результати лабораторних, ситуаційні задачі.

План

I. Організаційні заходи (привітання, перевірка присутніх, повідомлення теми, мети заняття, мотивація студентів щодо вивчення теми).

Аденовіруси людини були першими людськими вірусами, які продемонстрували здатність викликати рак, хоча й на моделях тварин. Незважаючи на їх довгу історію, жоден аденовірус людини не є відомим збудником раку людини. Тим не менш, фундаментальні дослідження з використанням аденовірусів людини були дуже інформативними для розуміння основ контролю клітинного циклу, експресії генів, апоптозу та диференціації клітин. Аденовіруси викликають близько восьми клінічно виражених вірусних інфекцій людини. Найтипівішим є субклінічний та інспарантний перебіг аденовірусної інфекції, пов'язаний з ураженням респіраторної, окулярної, гастроінтестинальної систем. Різні типи/серотипи аденовірусів людини асоційовані з різними патологічними станами: респіраторні захворювання (групи В та С), кон'юнктивіти (В та D), гастроентерити (групи F та G). Вірус папіломи людини (ВПЛ) є найпоширенішою причиною раку шийки матки. Рак шийки матки є другим за поширеністю раком після раку легенів, що вражає жінок різних вікових груп; має поширеність близько 20% серед молодих сексуально активних жінок. Парвовірус людини B19 належить до роду Erythrovovirus, зазвичай розмножується в еритроїдних клітинах-попередниках. Цей специфічний тканинний тропізм визначає патогенез найбільш відповідних клінічних наслідків інфекції: анемія плода з водянкою, апластичний криз у пацієнтів із основними порушеннями еритропоезу та хронічна анемія у хворих з ослабленим імунітетом.

2. Контроль опорного рівня знань:

2.1. Вимоги до теоретичної готовності студентів до виконання практичних занять.

Вимоги до знань:

1. Класифікацію ДНК-вірусів.
2. Будову аденовірусів, епідеміологію, клінічні прояви інфекцій.
3. Діагностику, лікування та профілактику аденовірусних інфекцій.
4. Загальну характеристику і класифікацію Parvoviridae. Структуру віріона. Антигени. Культивування. Чутливість до фізичних і хімічних факторів. Вірус B19, його значення в патології людини.
6. Аденоасоційовані віруси, їх властивості, використання в генній інженерії.

Перелік дидактичних одиниць:

1. Аденовіруси. Загальна характеристика та класифікація. Аденовіруси людини.
2. Структура віріона. Антигени, їх локалізація і специфічність. Культивування. Чутливість до фізичних та хімічних факторів. Патогенез захворювань.
3. Персистенція. Онкогенні серотипи аденовірусів. Кишкові аденовіруси. Лабораторна діагностика аденовірусних інфекцій. Специфічна профілактика та лікування.

4. Парвовірус (родина Parvoviridae). Загальна характеристика і класифікація. Структура віріона. Антигени. Культивування. Чутливість до фізичних і хімічних факторів. Вірус В19, його значення в патології людини.
5. Аденоасоційовані віруси, їх властивості, використання в генній інженерії.

2.2. Питання для перевірки базових знань за темою заняття:

Питання:

1. Класифікація ДНК-вірусів. Патогенні для людини представники.
2. Аденовіруси людини. Структура і механізм розмноження.
3. Патогенез аденовірусних інфекцій.
4. Захворювання, що викликаються аденовірусами, епідеміологія, клініка.
5. Діагностика аденовірусних інфекцій.
6. Лікування і профілактика аденовірусних інфекцій.
7. Парвовірус (родина Parvoviridae). Загальна характеристика і класифікація. Структура віріона. Антигени. Культивування. Чутливість до фізичних і хімічних факторів. Вірус В19, його значення в патології людини.
8. Класифікація та систематичне положення папіломавірусів.
9. Морфологія, ультраструктура папіломавірусів.
10. Патогенез захворювань, спричинених папіломавірусами. Їх роль і виникненні пухлин.
11. Лабораторна діагностика захворювань, спричинених папіломавірусами.
12. Загальна характеристика родини парвовірусів, морфологія, антигенна будова вібріонів, резистентність.
13. Особливості репродукції і культивування парвовірусів, патогенних для людини.
14. Епідеміологія і патогенез захворювань, викликаних парвовірусом людини В19. Імунітет.
15. Лабораторна діагностика, профілактика і лікування парвовірусної інфекції.
16. Особливості репродукції адено-асоційованих вірусів.

Тестові завдання (правильна відповідь А):

У жінки встановлено діагноз – рак шийки матки. З яким вірусом може бути асоційована ця патологія?

- А. Папіломавірус
- В. Вірус простого герпеса тип 2
- С. Varicella-Zoster вірус
- Д. Цитомегаловірус
- Е. Аренавірус

У дитини 1,5 років із ГРЗ лікар запідозрив аденовірусну інфекцію. За допомогою РЗК у сироватці хворого були виявлені антитіла до аденовірусу в титрі 1:20. У період одужання (через 2 тижні) серологічне дослідження повторили. Який результат підтвердить попередній діагноз?

- А. Збільшення титру антитіл
- В. Виявлення неповних антитіл
- С. Зниження титру антитіл
- Д. РСК стане негативною
- Е. Виявлення антитіл у тій же кількості

Який із наступних методів може використовуватися для лабораторного діагнозу аденовірусних інфекцій?

- А. Усі перелічені

- В. Виявлення вірусного антигену в РИФ
- С. Виявлення вірусного антигену в ІФА
- Д. Жоден з перерахованих
- Е. Імуноелектронна мікроскопія

У 38-річної жінки, яка мала велику кількість сексуальних партнерів, діагностовано рак шийки матки. Ця пухлина повсюдно поширена, має вірусну етіологію та передається статевим шляхом. Збудником раку шийки матки вважають

- А. Папіломавіруси людини типи високого ризику
- В. Поліомавіруси
- С. Вірус гепатиту В
- Д. Вірус гепатиту С
- Е. Віруси герпесу

Через два місяці після пересадки нирки у 47-річної людини розвинулася нефропатія. Нefропатія розвивається у 1 – 5 % реципієнтів нирки. Вірусна етіологія деяких випадків нефропатії була ідентифікована як

- А. Поліомавірус ВК
- В. Цитомегаловірус
- С. Вірус гепатиту С
- Д. Віруси папіломи людини, всі типи
- Е. Віруси папіломи людини, типи низького ризику

Віруси папіломи людини можуть викликати рак у людей і найчастіше асоціюються з

- А. Аногentialний рак
- В. Рак грудей
- С. Рак простати
- Д. Мезотеліоми
- Е. Ректальними поліпами

Поліомавіруси кодують онкогенні білки, звані Т-антигени. Ці продукти вірусного гена

- А. Взаємодіють з клітинними білками - супресорами пухлини
- В. Не здатні трансформувати клітини в культурі
- С. Забезпечують інтеграцію провірусу в клітинну хромосому
- Д. Швидко мутують, щоб дозволити вірусу уникнути виведення імунною системою організму
- Е. Не потрібні для вірусної репродукції

У 8-річної дівчинки нещодавно була інфекційна еритема. Її 33-річна мати згодом страждала на артралгію, що супроводжується хворобливим артритом припухлістю в дрібних суглобах обох рук. Крім очевидного тропізму парвовірусу В19 до суглобів, які клітини людини ще вражає цей вірус?

- А. Еритроцити
- В. Клітини нейроглії
- С. Клітини ниркових каналців
- Д. Т-лімфоцити CD4
- Е. Пейєрові бляшки

Серед перерахованих сімейств виберіть сімейство ДНК-геномних вірусів

- A. Парвовіруси
- B. Буньявіруси
- C. Тогавіруси
- D. Пікорнавіруси
- E. Параміксовіруси

Реплікація ДНК-геномних вірусів відбувається в ядрі клітини-господаря, КРІМ

- A. Поксвірусів
- B. Аденовірусів
- C. Герпесвірусів
- D. Папіломавірусів
- E. Парвовірусів

3.Формування професійних вмінь, навичок:

3.1.рекомендації (інструкції) щодо виконання завдань:

Аденовіруси (Adenoviridae) містять лінійну дволанцюгову ДНК та мають ікосаедричний капсид, безоболонкові. Існує близько 100 серотипів аденовірусу, 52 з них здатні викликати захворювання у людини, найчастіше перші 7 серотипів. Аденовіруси діляться на 7 серогруп (A-G). Зазвичай аденовіруси викликають ГРВІ (близько 5% інфекцій в дитячому віці), деякі серотипи викликають епідемічний кератокон'юнктивіт (8, 9, 11, 19, 35, 37 типи), гострий геморагічний цистит (11, 21 типи), гастроентерит (40, 41 типи).

Будова і розмноження аденовірусів. Дволанцюговий лінійний ДНК-геном аденовірусів складається з приблизно 36000 пар нуклеотидів і 30-40 генів. До 5'-кінця ковалентно приєднаний термінальний білок. Ікосаедричний капсид вірусу діаметром 70-90 нм складається з 252 капсомерів, в основному шестикутної форми - гексонів. 12 пентонів знаходяться на вершинах капсида, від них відходять фібрили, на яких розташовуються білки адгезії вірусу (рис. 1). Пентони і фібрили є типоспецифічними і токсичні для клітини, можуть пригнічувати синтез макромолекул. Пентони більшості серотипів мають гемаглютинуючі властивості щодо еритроцитів щурів або мавп. Цикл реплікації вірусу займає близько 24 годин. Вірус прикріплюється до клітини за допомогою фібрил до глікопротеїну суперсімейства імуноглобулінів, що зветься коксаки-аденовірус рецептором, деякі також використовують МНС I. Кожна клітина містить близько 100 000 цих рецепторів. Далі пентон вершини взаємодіє з α -інтегрином, що призводить до ендоцитозу вірусу. Потім вірус лізує ендосому і капсид доставляє ДНК вірусу в ядро клітини. Там починається транскрипція вірусної ДНК. Вона протікає в 2 фази. Спочатку синтезуються ранні білки, які стимулюють клітину вступити в клітинний цикл (поділ клітини), створюючи умови для розмноження вірусу (E1A зв'язує інгібітор росту p105RB), блокують апоптоз (E1B зв'язує p53), забезпечують реплікацію вірусу (вірусна ДНК-полімераза) і транскрипцію пізніх генів. Реплікація відбувається в ядрі за допомогою вірусної ДНК-полімерази, для затравки служить термінальний білок, що містить цитозинмонофосфат. Після реплікації ДНК транскрибуються пізні гени і в цитоплазмі синтезуються білки капсида. Потім вони транспортуються в ядро, де збираються прокапсиди з гексонів. В прокапсид включаться ДНК, після настає протеоліз білків прокапсида і він набуває остаточну форму і приєднує пентони. Так виходить зріла інфекційна вірусна частка, стабільна і стійка до дії нуклеаз. Збірка настільки складної структури, незважаючи на участь в процесі декількох допоміжних неструктурних білків відбувається малоефективно і тому більше 90% вірусних білків і ДНК не використовується, залишаючись в ядрі у вигляді включень. При цьому вірус перешкоджає трансляції клітинних мРНК, пригнічуючи їх транспорт в цитоплазму, що з часом призводить до загибелі клітини і вивільнення вірусу. Клітина виробляє близько 10 000

інфекційних вірусних частинок. Вірус активно протидіє імунній системі. Так, вірус-асоційовані мікро-РНК блокують виробництво інтерферон-індукованої протейнінази, яка фосфорилує фактор ініціації трансляції 2 і зупиняє синтез білка. ЕЗ білки вірусу пригнічують транспорт МНС I молекул в плазматичну мембрану, перешкоджаючи роботі Т-кілерів, а також блокують апоптоз, що викликається ФНП-α. Таким чином, вірус онкогенно трансформує заражені клітини для забезпечення розвитку, але у людини аденовіруси не викликають пухлини, тому що продуктивна інфекція призводить до лізису всіх заражених клітин. В епітеліальних клітинах вірус викликає продуктивну інфекцію. Т-лімфоцити несприйнятливі до індукції поділу, що викликається аденовірусом, тому в них спочатку формується латентна інфекція, яка може перейти в продуктивну після антигенної стимуляції Т-лімфоцитів. Тому аденовірус нерідко персистує в аденоїдах у дітей, звідки він вперше був виділений і отримав свою назву.

Культивування аденовірусів. Краще всього вирощувати аденовіруси в культурах епітеліальних клітин - наприклад первинних ембріональних клітинах нирок людини, перещеплюваних клітинних лініях HELA, епідермальної карциноми людини. На це потрібно в середньому 6 днів. Розмноження вірусу викликає округлення і збільшення клітин, вони відриваються від поверхні, на якій росли, і збиваються в грона. При цьому можна виявити при фарбуванні внутрішньоядерні включення, однак необхідно диференціювати картину від цитомегаловірусної інфекції. Остання викликає утворення синцитіїв або гігантських багатоядерних клітин.

Епідеміологія і патогенез аденовірусних інфекцій. Аденовіруси здатні вражати клітини епітелію верхніх і нижніх дихальних шляхів, кон'юнктиви, кишечника, сечового міхура і нирок. Первинно вірус вражає верхні дихальні шляхи і кон'юнктиву, потім поширюється в регіонарні лімфовузли і кишківник. На цьому у імунокомпетентних людей поширення інфекції припиняється, однак при імунодефіциті вірус може викликати пневмонію, гепатит і менінгоенцефаліт. Аденовіруси поширені повсюдно, циркулюють протягом року, хоча захворюваність вища в осінньо-зимовий період. Більшість захворювань викликається респіраторними штамами 1, 2, 3, 5 і 7 і кишковими 40, 41. Передача відбувається аерогенним, контактним (прямий і непрямий), і фекально-оральним шляхом. Інфекція очей зазвичай заноситься брудними руками. Зустрічаються сімейні спалахи, в дитячих колективах і військових казармах (4, 7 серотипи). Вірус добре переносить висушування, заморожування, вплив кислоти, жовчі і протеаз в шлунково-кишковому тракті, обробку детергентами. В навколишньому середовищі зберігає інфекційність протягом 80-110 днів. Слабке хлорування не вбиває вірус, що є причиною спалахів аденовірусних інфекцій після відвідування басейнів. Сприйнятливість загальна, але діти хворіють набагато частіше, у дорослих часто безсимптомний перебіг. Джерелом зараження є хворі з гострою або латентною інфекцією. Можлива реактивація латентної інфекції при настанні імунодефіциту. Інкубаційний період в середньому триває 5-6 днів, в окремих випадках до 3 тижнів. Зазвичай вірус викликає симптоми ГРВІ, найбільш характерним вважається наявність фарингіту, риніту (риносинуситу) і кон'юнктивіту. Хворі скаржаться на кашель, біль у горлі, фебрильну лихоманку, головний біль, нездужання, сильний нежить з ринореєю та набряком навколоносових пазух (закладеність носа і важкість в області параназальних синусів), легке печіння в очах, сльозотеча. Лихоманка триває від 3 до 5 днів. Часто виникають бактеріальні ускладнення. У дітей можливий розвиток коклюшеподібного стану. У маленьких дітей і при імунодефіцитах вірогідний розвиток аденовірусних пневмоній. При порушенні клітинного імунітету вірус схильний до генералізації з ураженням печінки, нирок і розвитком енцефаліту, що супроводжується високою смертністю. Хворий стає заразним наприкінці інкубаційного періоду. В секреті носоглотки вірус міститься протягом двох тижнів. Більшість серотипів вражають кишковий епітелій і тривало розмножуються там, виділяючись з фекаліями більше

місяця. При цьому симптоми ураження шлунково-кишкового тракту відсутні. Віруси серогрупи С схильні викликати латентну інфекцію в тканинах аденоїдів, мигдаликів і пєєрових бляшок, а також мезентеріальних лімфовузлів (в Т-лімфоцитах).

Аденовіруси 40, 41 типів навпаки викликають виражений ентероколіт і діарею та передаються переважно фекально-оральним шляхом. Симптоми ГРВІ та лихоманка часто можуть бути відсутні. Це типові збудники ентериту в ранньому дитячому віці. Епідемічний кератокон'юнктивіт викликається 8, 9, 11, 19, 35, 37 типами вірусу, передається в основному через рушники, умивальники, раковини і басейни. Протікає близько 2 тижнів, може залишати помутніння рогівки, які розсмоктуються близько 2 років. Аденовіруси 11, 21 типів викликають геморагічний цистит, частіше у хлопчиків.

Інфекція викликає формування напруженого довічного типоспецифічного імунітету. Вірус нейтралізуючі антитіла спрямовані проти білків фібрил вірусу. Вони грають важливу роль в обмеженні поширення вірусу при гострій інфекції і забезпечують імунітет до реінфекції тим же серотипом. Іноді реінфекція все ж трапляється, але протікає безсимптомно. Для одужання і запобігання генералізованої інфекції основну роль грає Т-клітинна імунна відповідь - Th 1 клітини і Т-кілери. Антитіла, спрямовані проти білків капсиду не нейтралізують вірус і не грають ролі в імунітеті або діагностиці аденовірусних інфекцій.

Для діагностики в досліджуваному матеріалі і тканинах використовуються ПЛР, ІФА і РІФ для виявлення вірусу і визначення серогрупи та серотипу. Можна використовувати вірусологічний метод, однак для достовірної інтерпретації матеріал повинен бути з місця ураження при хворобі. Визначення антитіл використовується тільки при епідеміологічних дослідженнях.

Специфічного лікування немає, зазвичай використовуються препарати інтерферону і його індуктори. При важких загрозливих для життя станах можна використовувати рибавірин і цидофовір.

Профілактика аденовірусних інфекцій в основному зводиться до миття рук, користуванні одноразовими паперовими рушниками в стаціонарах і хлорування води в басейнах. Для армійських новобранців може бути використана жива вакцина з аденовірусів 4 і 7 типів. Це звичайні неатенуйовані аденовіруси в желатинових капсулах, які розчиняються тільки в кишечнику. Вірус минає верхні дихальні шляхи і розмножується в кишечнику, де викликає безсимптомну інфекцію і стійкий природний імунітет. Зрозуміло, що вакциновані стають заразними для оточуючих і така вакцинація не може проводитися в звичайній медичній практиці.

Аденовіруси широко використовуються як моделі для вивчення різних процесів в молекулярній біології, проводяться численні дослідження аденовірусів, як векторів для генної інженерії і терапії, а також для виробництва вакцин. При цьому використовуються атенуйовані, позбавлені E1 або ще і E2, E4 генів аденовіруси. Аденовіруси з інактивованим E1В геном досліджуються для терапії раку, викликаючи літичну інфекцію пухлинних клітин, однак навіть ослаблені самі представляють серйозну загрозу для імунодефіцитних пацієнтів.

3.2. вимоги до результатів роботи, в т.ч. до оформлення;

1. Класифікація ДНК-вірусів. Патогенні для людини представники.
2. Аденовіруси людини. Структура і механізм розмноження.
3. Патогенез аденовірусних інфекцій.
4. Захворювання, що викликаються аденовірусами, епідеміологія, клініка.
5. Діагностика аденовірусних інфекцій.
6. Лікування і профілактика аденовірусних інфекцій.

4. Підведення підсумків: усне опитування, тестування, оцінювання виконання практичних навичок, розв'язання ситуаційних завдань, оцінювання активності на занятті тощо.

Оцінювання поточної навчальної діяльності на практичному занятті:

1. Оцінювання теоретичних знань з теми заняття:
 - методи: індивідуальне опитування, виконання тестових завдань, перевірка ведення протоколу досліджень;
 - максимальна оцінка – 5, мінімальна оцінка – 3, незадовільна оцінка – 2.
2. Оцінка практичних навичок з теми заняття:
 - методи: оцінювання правильності виконання практичних робіт (досліджень)
 - максимальна оцінка – 5, мінімальна оцінка – 3, незадовільна оцінка – 2.

Критерії поточного оцінювання на практичному занятті

Оцінка	Критерії оцінювання
«5»	Здобувач бере активну участь у практичному занятті, демонструє глибокі знання, дає повні та детальні відповіді на запитання. Бере активну участь у обговоренні проблемних ситуацій, демонструє гарні навички та вміння при виконанні практичного завдання, правильно оцінює отримані результати. Тестові завдання виконані в повному обсязі.
«4»	Здобувач бере участь у практичному занятті; добре володіє матеріалом. Демонструє необхідні знання, але дає відповіді на запитання з деякими помилками; бере участь у обговоренні проблемних ситуацій. Тестові завдання виконані в повному обсязі, не менш ніж 70% відповідей на запитання є правильними.
«3»	Здобувач іноді бере участь в практичному занятті; частково виступає і задає питання; допускає помилки під час відповідей на запитання; показує пасивну роботу на практичних заняттях. Демонструє навички та вміння при виконанні практичного завдання, однак оцінює отримані результати недостатньо повно і точно. Тестування виконано в повному обсязі, не менш ніж 50% відповідей є правильними, відповіді на відкриті питання - не логічні, з явними суттєвими помилками у визначеннях.
«2»	Здобувач не бере участь у практичному занятті, є лише спостерігачем; ніколи не виступає і не задає питання, незацікавлений у вивченні матеріалу; дає неправильні відповіді на запитання, демонструє недостатні навички та вміння, не може впоратися з практичною роботою і оцінкою отриманих результатів.. Тестування не виконано.

5.Список рекомендованої літератури

Основна:

1. Абул К. Аббас, Ендрю Г. Ліхтман & Шив Піллай. Основи імунології: функції та розлади імунної системи: 6-е видання. Київ: Медицина, 2020, 328 с.
2. Майкл Р Барер, Вілл Ірвінг, Ендрю Свонн & Нелюн Перера. Медична мікробіологія, Посібник з мікробних інфекцій: патогенез, імунітет, лабораторна діагностика та контроль: 19-е видання: у двох томах. Київ: Медицина, 2021, 434 с.
3. Медична мікробіологія, вірусологія та імунологія» - 3-ге видання, оновлено та доповнено // Ширококов В.П за ред. – Вінниця: «Нова книга», 2021. 920 с.

Додаткова:

1. Abbas, A., Litchman, A. H. & Pillai, S. Basic Immunology - 6th Edition. (Elsevier Ltd, 2019).
2. Anantharyan R. Jayaram Paniker C. K. Textbook of Microbiology. 12-th Edition.- Orient Longman, 2022.
3. Barer, M. & Irving, W. L. Medical Microbiology 19th Edition A Guide to Microbial Infections: Pathogenesis, Immunity, Laboratory Investigation and Control. vol. 19 (2018).

4. Burrell, C. J., Howard, C. R. & Murphy, F. A. Fenner and White's Medical Virology: Fifth Edition. Fenner and White's Medical Virology: Fifth Edition (Elsevier Inc., 2016).
5. Cann, A. J. Principles of Molecular Virology: Sixth Edition. Principles of Molecular Virology: Sixth Edition (Elsevier Inc., 2015). doi:10.1016/C2014-0-01081-7.
6. Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology, 26th Edition, 2012, English. 880 p.
7. Louten, J. & Reynolds, N. Essential Human Virology. (2016).
8. Male, D., Peebles, S. & Male, V. Immunology. (2020).
9. Marsh D, P., Lewis A O, M., Rogers, H., Williams W, D. & Wilson, M. Marsh and Martin's Oral Microbiology. (Elsevier Limited, 2016).
10. Nath, S. K. & Revankar, S. G. Problem-based microbiology. (Saunders, 2006).
11. Ream, Walt. Molecular microbiology laboratory : a writing-intensive course. (Academic Press, 2013).
12. Review of Medical Microbiology and Immunology, 12 edition/ Warren E. Levinson. McGraw-Hill Prof Med.-Tech., 2012. 688 p.
13. Rich, R. R. & Fleisher, T. A. Clinical Immunology (Fifth Edition) Principles and Practice. Clinical Immunology (2018).
14. Sandle, T. Pharmaceutical Microbiology: Essentials for Quality Assurance and Quality Control. Pharmaceutical Microbiology: Essentials for Quality Assurance and Quality Control (Elsevier Inc., 2015). doi:10.1016/C2014-0-00532-1.
15. Wilson, J. (Nurse) & Stucke, V. A. Clinical microbiology : an introduction for healthcare professionals. (Baillière Tindall, 2000).

Електронні інформаційні ресурси

1. <http://moz.gov.ua> – Міністерство охорони здоров'я України
2. <http://www.microbiologybook.org> - Microbiology and immunology on-line
3. <http://www.microbiologyinfo.com> - On-line microbiology note
4. www.cdc.gov - Centers for diseases control and prevention
5. www.ama-assn.org – Американська медична асоціація / American Medical Association
6. www.who.int – Всесвітня організація охорони здоров'я
7. www.dec.gov.ua/mtd/home/ - Державний експертний центр МОЗ України

Практичне заняття

Тема: Поксвіруси

Мета: Здійснити контроль знань студентів з метою корекції навчального процесу та рівня знань студентів по основним методам мікробіологічної діагностики вірусних інфекцій.

Основні поняття: Сімейство Poxviridae, вірус натуральної оспи, вітряна віспа, род Orthopoxvirus, тільця Гварнієрі.

Обладнання: Структурно-логічні схеми, таблиці, відеоматеріали, результати лабораторних досліджень, ситуаційні задачі, набір тестових завдань, дезрочин, одноразові рукавички.

План

1. Організаційні заходи (привітання, перевірка присутніх, повідомлення теми, мети заняття, мотивація студентів щодо вивчення теми).

Натуральна віспа - особливо небезпечна висококонтагіозна інфекція, що характеризується тяжким перебігом, лихоманкою і рясним пустульозно-папульозним висипом на шкірі та слизових оболонках. Хвороба до ліквідації на земній кулі (у 1977 р.) належала до карантинних інфекцій.

2. Контроль опорного рівня знань (письмова робота, письмове тестування, фронтальне опитування тощо) (у разі необхідності):

2.1. Вимоги до теоретичної готовності студентів до виконання практичних занять.

Вимоги до знань:

1. Описати, які віруси належать до Poxviridae
2. Описати таксономію вірусу натуральної оспи
3. Описати антигенну структуру вірусу
4. Описати репродукцію вірусу
5. Описати культивування вірусу натуральної оспи
6. Описати резистентність вірусу
7. Описати епідеміологію вірусу
8. Описати патогенез вірусу
9. Описати клініку захворювання
10. Описати імунітет після перенесеного захворювання
11. Описати мікробіологічну діагностику
12. Описати лікування
13. Описати специфічну профілактику

2.2. Питання (тестові завдання, задачі, клінічні ситуації) для перевірки базових знань за темою заняття:

Питання:

1. Де зберігається вірус натуральної віспи?
2. Який вірус викликає натуральну віспу?
3. Чим відрізняється натуральна віспа від вітряної віспи?
4. Як можна заразитися віспою?

Тестові завдання (правильна відповідь А):

Натуральна віспа належить до :

- А. Особливо небезпечна, карантинна інфекція
- Б. Природно-вогнищева інфекція
- С. Тропічна інфекція
- Д. Трансмсивна інфекція
- Е. Зоонозна інфекція

Критерій належності натуральної віспи до особливо небезпечних, карантинних інфекцій:

- A. Висока контагіозність
- B. Патогенність для людини
- C. Складна будова
- D. Наявність ДНК
- E. Патогенність для тварин

Стратегія глобальної ліквідації натуральної віспи:

- A. Масова вакцинація
- B. Хіміопрфілактика
- C. Негайна госпіталізація
- D. Закриття кордонів
- E. Хіміотерапія

Офіційний рік ліквідації натуральної віспи:

- A. 1980
- B. 1977
- C. 1796
- D. 1990
- E. 2000

Натуральна віспа в даний час:

- A. Ліквідована в усьому світі
- B. Реєструється у вигляді групових спалахів у різних країнах
- C. Реєструється в Сомалі та Ефіопії
- D. Реєструється на Аравійському півострові
- E. Реєструється в країнах Європи

Для ВНО характерно усе, крім:

- A. Стійкий до антисептиків
- B. Стійкість до висушування
- C. Добре переносить низькі температури
- D. Кілька років зберігається в 50% гліцерині
- E. Чутливий до сулеми та КМnO

Властивість ВНО, що дає змогу в Вірус натуральної віспи (ВНО) належить до:

- A. Ретровірусів
- B. Параміксовірусів
- C. Поксвірусам
- D. Аденовірусам
- E. Ортоміксовірусам

Для ВНО характерно все, крім:

- A. Дефектний
- B. ДНК-вмісний
- C. Великий
- D. Складний
- E. Має цеглоподібну форму

Властивість ВНО, що дає змогу виявити його під час світлопольної мікроскопії:

- A. Великі розміри
- B. Складність будови
- C. ДНК-місткий геном
- D. Наявність видоспецифічного антигену
- E. Фільтрованість через бактеріальні фільтри

Для лабораторної діагностики натуральної віспи використовують усі методи, крім:

- A. Вірусологічного
- B. Вірускопічного
- C. Серологічного
- D. Експрес-методів
- E. Алергічного

Основою вірускопічного методу лабораторної діагностики натуральної віспи є:

- A. Виявлення елементарних тілець Пашена і тілець Гварнієрі
- B. Виділення вірусу при зараженні курячих ембріонів
- C. Виділення вірусу при зараженні культур тканин
- D. Виявлення наростання титру специфічних антитіл
- E. Біологічна проба на кроликах (метод Пауля)

Матеріал для лабораторної діагностики натуральної віспи:

- A. Усе перераховане вище
- B. Вміст везикул, пустул
- C. Скоринки зі шкіри
- D. Відокремлюване носоглотки
- E. Кров

Індикація ВНО при зараженні курячих ембріонів:

- A. Утворення бляшок на ХАО
- B. Тільця Гварнієрі
- C. Феномен гемадсорбції
- D. ЦПД типу деструкції
- E. утворення бляшок на ХАО

Індикація ВНО при зараженні культур тканини:

- A. Усе перераховане вище
- B. Виявлення тілець Гварнієрі
- C. Феномен гемадсорбції
- D. Утворення синцитіїв
- E. Бляшкоутворення під агаром

Тільця Гварнієрі при натуральній віспі:

- A. Внутрішньоцитоплазматичні включення
- B. Провірус вірусу натуральної віспи
- C. внутрішньоядерні включення
- D. Вірус натуральної віспи
- E. вірус осповакцини

3.Формування професійних вмінь, навичок (оволодіння навичками, проведення курації, визначення схеми лікування, проведення лабораторного дослідження тощо)

3.1 Зміст завдань (задачі, клінічні ситуації тощо):

1. Описати структура сімейства Poxviridae
2. Описати репродукцію вірусу
3. Пояснити автономність розмноження поксвірусів
4. Описати антигенну структуру
5. Пояснити патогенз
6. Описати клінічні прояви
7. Описати, який висип при натуральній віспі?
8. Описати, які види вірусологічної діагностики застосовуються для ідентифікації вірусу
9. Описати серодіагностику вірусу

Задача 1

У 7-річного хлопчика осподібні висипання на лівій руці та плечі. Йому привезли улюбленого гризуна із Західної Африки. У хлопчика і гризуна виявлено віспу мавп. Яке з наступних тверджень щодо вірусу віспи мавп є найбільш правильним?

- A. Клінічно захворювання схоже на натуральну віспу
 - B. Інфекція легко передається іншим членам родини
 - C. Захворювання людей ніколи не закінчується смертельно
 - D. Вакцинація проти натуральної віспи не дає захисту проти віспи мавп
- C. Віріони віспи мавп можна легко відрізнити від вірусу натуральної віспи під час електронної мікроскопії

3.2 Рекомендації (інструкції) щодо виконання завдань (професійні алгоритми, орієнтуючі карти для формування практичних вмінь та навичок тощо):

1. Описати, які види вірусологічної діагностики застосовуються для ідентифікації вірусу
2. Описати серодіагностику вірусу
3. Описати схеми лабораторної діагностики
4. Розглянути і замалювати тільця Гварнієрі

3.3 Вимоги до результатів роботи, в т.ч. до оформлення:

1. Розглянути і обґрунтувати демонстраційні результати, проведених з метою виявлення в досліджуваному матеріалі
2. Заповнити таблиці та схеми в альбомі до практичних занять.
4. Знати відповіді на питання з методички та з орієнтовної карти альбому.
5. Розібрати ситуаційні завдання та вивчити схему патогенезу.
6. Знати алгоритм забору досліджуваного матеріалу.

4. Підведення підсумків

Поточний контроль: усне опитування, тестування, оцінювання виконання практичних навичок, розв'язання ситуаційних завдань, вміння аналізувати і інтерпретувати результати досліджень і правильно зробити обґрунтовані висновки, оцінювання активності на занятті.

Оцінювання поточної навчальної діяльності на практичному занятті:

1. Оцінювання теоретичних знань з теми заняття:
 - методи: індивідуальне опитування, виконання тестових завдань, перевірка ведення протоколу досліджень;
 - максимальна оцінка – 5, мінімальна оцінка – 3, незадовільна оцінка – 2.
2. Оцінка практичних навичок з теми заняття:
 - методи: оцінювання правильності виконання практичних робіт (досліджень)
 - максимальна оцінка – 5, мінімальна оцінка – 3, незадовільна оцінка – 2.

Оцінка за одне практичне заняття є середньоарифметичною за всіма складовими і може мати лише цілу величину (5, 4, 3, 2), яка округлюється за методом статистики.

Критерії поточного оцінювання на практичному занятті

Оцінка	Критерії оцінювання
«5»	Здобувач бере активну участь у практичному занятті, демонструє глибокі знання, дає повні та детальні відповіді на запитання. Бере активну участь у обговоренні проблемних ситуацій, демонструє гарні навички та вміння при виконанні практичного завдання, правильно оцінює отримані результати. Тестові завдання виконані в повному обсязі.
«4»	Здобувач бере участь у практичному занятті; добре володіє матеріалом. Демонструє необхідні знання, але дає відповіді на запитання з деякими помилками; бере участь у обговоренні проблемних ситуацій. Тестові завдання виконані в повному обсязі, не менш ніж 70% відповідей на запитання є правильними.
«3»	Здобувач іноді бере участь в практичному занятті; частково виступає і задає питання; допускає помилки під час відповідей на запитання; показує пасивну роботу на практичних заняттях. Демонструє навички та вміння при виконанні практичного завдання, однак оцінює отримані результати недостатньо повно і точно. Тестування виконано в повному обсязі, не менш ніж 50% відповідей є правильними, відповіді на відкриті питання - не логічні, з явними суттєвими помилками у визначеннях.
«2»	Здобувач не бере участь у практичному занятті, є лише спостерігачем; ніколи не виступає і не задає питання, незацікавлений у вивченні матеріалу; дає неправильні відповіді на запитання, демонструє недостатні навички та вміння, не може впоратися з практичною роботою і оцінкою отриманих результатів.. Тестування не виконано.

5.Список рекомендованої літератури

Основна:

1. Абул К. Аббас, Ендрю Г. Ліхтман & Шив Піллай. Основи імунології: функції та розлади імунної системи: 6-е видання. Київ: Медицина, 2020, 328 с.
2. Майкл Р Барер, Вілл Ірвінг, Ендрю Свонн & Нелюн Перера. Медична мікробіологія, Посібник з мікробних інфекцій: патогенез, імунітет, лабораторна діагностика та контроль: 19-е видання: у двох томах. Київ: Медицина, 2021, 434 с.
3. Медична мікробіологія, вірусологія та імунологія» - 3-тє видання, оновлено та доповнено // Ширококов В.П за ред. – Вінниця: «Нова книга», 2021. 920 с.

Додаткова:

1. Abbas, A., Litchman, A. H. & Pillai, S. Basic Immunology - 6th Edition. (Elsevier Ltd, 2019).
2. Anantharyan R. Jayaram Paniker C. K. Textbook of Microbiology. 12-th Edition.- Orient Longman, 2022.
3. Barer, M. & Irving, W. L. Medical Microbiology 19th Edition A Guide to Microbial Infections: Pathogenesis, Immunity, Laboratory Investigation and Control. vol. 19 (2018).
4. Burrell, C. J., Howard, C. R. & Murphy, F. A. Fenner and White's Medical Virology: Fifth Edition. Fenner and White's Medical Virology: Fifth Edition (Elsevier Inc., 2016).
5. Cann, A. J. Principles of Molecular Virology: Sixth Edition. Principles of Molecular Virology: Sixth Edition (Elsevier Inc., 2015). doi:10.1016/C2014-0-01081-7.
6. Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology, 26th Edition, 2012, English. 880 p.

7. Louten, J. & Reynolds, N. Essential Human Virology. (2016).
8. Male, D., Peebles, S. & Male, V. Immunology. (2020).
9. Marsh D, P., Lewis A O, M., Rogers, H., Williams W, D. & Wilson, M. Marsh and Martin's Oral Microbiology. (Elsevier Limited, 2016).
10. Nath, S. K. & Revankar, S. G. Problem-based microbiology. (Saunders, 2006).
11. Ream, Walt. Molecular microbiology laboratory : a writing-intensive course. (Academic Press, 2013).
12. Review of Medical Microbiology and Immunology, 12 edition/ Warren E. Levinson. McGraw-Hill Prof Med.-Tech., 2012. 688 p.
13. Rich, R. R. & Fleisher, T. A. Clinical Immunology (Fifth Edition) Principles and Practice. Clinical Immunology (2018).
14. Sandle, T. Pharmaceutical Microbiology: Essentials for Quality Assurance and Quality Control. Pharmaceutical Microbiology: Essentials for Quality Assurance and Quality Control (Elsevier Inc., 2015). doi:10.1016/C2014-0-00532-1.
15. Wilson, J. (Nurse) & Stucke, V. A. Clinical microbiology : an introduction for healthcare professionals. (Baillière Tindall, 2000).

Електронні інформаційні ресурси

1. <http://moz.gov.ua> – Міністерство охорони здоров'я України
2. <http://www.microbiologybook.org> - Microbiology and immunology on-line
3. <http://www.microbiologyinfo.com> - On-line microbiology note
4. www.cdc.gov - Centers for diseases control and prevention
5. www.ama-assn.org – Американська медична асоціація / American Medical Association
6. www.who.int – Всесвітня організація охорони здоров'я
7. www.dec.gov.ua/mtd/home/ - Державний експертний центр МОЗ України

Практичне заняття

Тема: Збудники вірусних гепатитів

Мета: Ознайомити студентів з основними представниками та властивостями збудників вірусних гепатитів, особливостями епідеміології цих інфекційних захворювань, вивчити схеми лабораторної діагностики, напрямки лікування та профілактики.

Основні поняття: вірусний гепатит, віруси HAV, HBV, HCV, HEV, HDV, HGV, віруси гепатитів TTV- та SENV-, маркери вірусних гепатитів (HBsAg, HBeAg, HBcAg, антиHBe, антиHBs)

Обладнання: Структурно-логічні схеми, таблиці, відеоматеріали, результати лабораторних досліджень, ситуаційні задачі.

План:

1. Організаційні заходи (привітання, перевірка присутніх, повідомлення теми, мети заняття, мотивація здобувачів вищої освіти щодо вивчення теми).

Термін «вірусний гепатит» відноситься до первинної інфекції печінки будь-яким представником різномірної групи «вірусів гепатиту», яка в даний час полягає з вірусів гепатиту типів А, В, С, D і E, а також нових типів F і G. Єдина загальна властивість вірусів гепатиту - їхній первинний гепатотропізм. В інших відносинах вони несхожі. До речі, гепатит може розвиватися при інфікуванні багатьма іншими вірусами, наприклад, вірусу жовтої лихоманки, лихоманки Ласса, Марбург, вірусами Епштейн-Барр, цитомегалії, простого герпесу, вітряний віспи, кору, краснухи, Коксаки-інфекція, але ці процеси не включаються в категорію вірусного гепатиту тому що ураження печінки при цих інфекціях не є первинним. Актуальність теми пов'язана з поширенням інфекції в людській популяції, різноманітністю шляхів передачі, стійкості деяких вірусів у навколишньому середовищі, важкими наслідками після перенесеної інфекції. Хронізація парентеральних вірусних гепатитів призводить до формування цирозу печінки та первинного раку печінки. За даними ВООЗ у 2015 році хронічний гепатит В мали близько 343 мільйони людей, а хронічний гепатит С -142 мільйони. Захворювання протікає у різних клінічних варіантах –від безсимптомного носійства до розвитку цирозу печінки та гепатоцелюлярного раку. Основу роль в діагностиці вірусних гепатитів мають лабораторні дослідження – біохімічні показники крові, виявлення маркерів вірусних гепатитів, іноді біопсія.

2. Контроль опорного рівня знань:

2.1. Вимоги до теоретичної готовності студентів до виконання практичних занять.

Вимоги до знань:

1. Надати загальну характеристику вірусів - збудників гепатитів. Класифікація, будова, шляхи передачі, здатність до хронізації та онкогенності.
2. Віруси-збудники ентеральних гепатитів (HAV та HEV) – будова віріону, культивування, резистентність, екологія.
3. Епідеміологія та патогенез вірусного гепатиту А та Е.
4. Віруси – збудники парентеральних гепатитів HDV, HCV, HDV. Структура віріону, культивування, резистентність, екологія збудників.
5. Епідеміологія та патогенез вірусного гепатиту В.
6. Епідеміологія та патогенез вірусного гепатиту С.
7. Віруси TTV та SENV гепатитів.
8. Надати схему лабораторної діагностики вірусного гепатиту А
9. Надати схему лабораторної діагностики вірусного гепатиту В
10. Надати схему лабораторної діагностики вірусного гепатиту С.

Перелік дидактичних одиниць:

1. Вірус гепатиту А – будова віріона, культивування, резистентність, епідеміологія та патогенез захворювання. Профілактика
 2. Вірус гепатиту В - будова віріона, культивування, резистентність, епідеміологія та патогенез захворювання. Профілактика
 3. Вірус гепатиту С - будова віріона, культивування, резистентність, епідеміологія та патогенез захворювання. Профілактика
 4. Вірус гепатиту Д - будова віріона, культивування, резистентність, епідеміологія та патогенез захворювання. Профілактика
 5. Вивчити схему лабораторної діагностики вірусних гепатитів
- питання (тестові завдання, задачі, клінічні ситуації) для перевірки базових знань за темою заняття.

Теоретичні питання:

1. Загальна характеристика вірусів гепатитів. Класифікація.
2. Структура віріона, культивування, НАV. Розповсюдження у популяції, резистентність.
3. Епідеміологія та патогенез вірусного гепатиту А.
4. Методи лабораторної діагностики вірусного гепатиту А (ІЕМ, ІФА, виявлення ІgМ та ІgG)
5. Структура віріона, культивування, НВV. Розповсюдження у популяції, резистентність.
6. Шляхи зараження вірусним гепатитом В, патогенез захворювання. Можливі наслідки.
7. Антигенна будова НВV. Маркери НВV.
8. Динаміка утворення антитіл при вірусному гепатиті В.
9. Методи лабораторної діагностики вірусного гепатиту В
10. Структура віріона, культивування, НСV. Розповсюдження у популяції, резистентність.
11. Епідеміологія та патогенез захворювання. Можливі наслідки.
12. Схема лабораторної діагностики вірусного гепатиту С.
13. Особливості будови, епідеміології та патогенезу інфекції, викликаної дельта-вірусом.
14. Схема лабораторної діагностики гепатиту D.
15. Структура віріона, культивування НЕV. Розповсюдження у популяції, резистентність.
16. Епідеміологія та патогенез вірусного гепатиту Е. Лабораторна діагностика.
17. Напрямки лікування вірусних гепатитів.
18. Профілактика ентеральних та парентеральних вірусних гепатитів.

Тестові завдання (всі відповіді А)

При дослідженні крові донора було виявлено один з маркерів вірусного гепатиту В. Виявлення якого маркеру цього гепатиту не дозволяє використання донорської крові для гемо трансфузії?

- A. HBs антиген
- B. HBeAg антиген
- C. HBe антитіла
- D. HBc антиген
- E. HAV

Через місяць після повернення з дитячого табору до інфекційної лікарні потрапила дитина з жовтяницею. Лікарем встановлений діагноз «вірусний гепатит А». Який найбільш ймовірний шлях зараження на вірусний гепатита А у цієї дитини?

- A. Фекально-оральний
- B. Трансмсивний
- C. Парентеральний
- D. Повітряно-краплиний
- E. Повітряно-пиловий

До лікаря звернувся хворий із жовтяницею, підвищенням температури, слабкістю. За три місяці до цього хворому проводилися внутрішньовенні маніпуляції. Лікар припустив діагноз вірусного гепатиту. Які дослідження слід провести для підтвердження діагнозу?

- A. Дослідити сироватку пацієнта на наявність HBsAg
- B. Дослідити концентрацію в сироватці крові IgA
- C. Провести бактеріологічне дослідження випорожнень хворого
- D. Дослідити змиви з носоглотки хворого на наявність вірусу гепатиту С
- E. Дослідити змиви з носоглотки на наявність вірусу гепатиту А.

В сироватці крові донора при постановці імуоферментної реакції було встановлено наявність HBsAg. При якому захворюванні зустрічається даний антиген?

- A. Вірусний гепатит В
- B. Вірусний гепатит А
- C. Вірусний гепатит С
- D. СНІД
- E. Туберкульоз

До лікарні звернувся пацієнт із скаргами на загальну слабкість, пожовтіння склер та шкіри. Із анамнеза відомо, що два тижні тому він відпочивав на морі та вживав в їжу морепродукти. Виявлення яких маркерів дозволить підтвердити діагноз гострого гепатиту Е?

- A. IgM анти-HEV
- B. IgG HAV
- C. IgG анти-HEV
- D. IgM анти- HAV
- E. IgG анти-HBV

З метою перевірки крові донора на наявність антигенів гепатиту В необхідно використати високочутливі методи. Яку з приведених реакцій треба використати з даною метою

- A. Твердофазний імуоферментний аналіз
- B. Імуоелектрофорез
- C. Реакцію зв'язування комплекменту
- D. Непряма РІФ
- E. Непряма гемаглютинація

З метою активної профілактики гепатиту В лікарям-стоматологам рекомендовано введення певного препарату. Виберіть даний препарат

- A. Рекombінантна вакцина на основі HBsAg
- B. Жива вакцина
- C. Специфічний імуноглобулін
- D. Інактивована віріонна вакцина
- E. Комплекс антигенів HBsAg, HbcAg, HBeAg

У зв'язку з важким перебігом гепатиту В, пацієнту призначено обстеження з метою виявлення можливого агента-супутника, який ускладнює перебіг основного захворювання. Вкажіть цей агент.

- A. Дельта-вірус.
- B. Вірус гепатита Е
- C. Вірус гепатита С
- D. HBs – антиген

Е. Вірус гепатита G.

Під час хірургічної операції пацієнту проведено перелівання крові. На антигени якого збудника необхідно було перевірити кров для гемотрансфузії?

- А. Вірусу гепатиту В
- В. Вірусу гепатиту А
- С. Вірусу гепатиту Е
- Д. Аденовірусів
- Е. Ентеровірусів

3. Формування професійних вмінь, навичок:

зміст завдань

Задача 1

Хворий М. , 30 років, поступив до інфекційної лікарні зі скаргами на загальну млявість, підвищення температури тіла до 38С, жовтяницею. Відомо, що декілька місяців назад пацієнту проводилося перелівання донорської крові.

1) Який діагноз у хворого можна запідозрити, враховуючи анамнез?

- Вірусний гепатит В або С (парентеральні гепатити)

2) Які методи лабораторної діагностики слід застосувати?

- Серологічна та генно-молекулярна діагностика. Ці методи дають змогу виявити серологічні маркери гепатитів (антигени вірусу та антитіла) або генетичний матеріал вірусу.

3) Які серологічні маркери гепатиту В можна виявити в сироватці крові пацієнтів?

- Антигени вірусу гепатиту В - HBsAg, HBeAg, анти-HBs, анти- HBe, анти-HBc антитіла

4) Чи існує специфічна профілактика гепатиту В. Якщо так, то яка вакцина використовується?

- Так, існує вакцина від гепатиту В. Вона є рекомбінантною генно-інженерною вакциною на основі HBsAg. Вакцина є плановою, та вводиться дітям та людям, які мають високий ризик інфікування на гепатит В, в першу чергу, медпрацівники.

5) Яке ще захворювання можна профілакувати за допомогою вакцини від гепатиту В?

- Ця вакцина також формує активний імунітет проти гепатиту D, так як вірус HDV вражає хворих, які вже інфіковані гепатитом В.

3.2. рекомендації (інструкції) щодо виконання завдань (професійні алгоритми, орієнтуючі карти для формування практичних вмінь та навичок тощо)

Вірусний гепатит – це захворювання печінки запального характеру, яке має вірусну етіологію. Розрізняють п'ять основних типів вірусних гепатитів – А,В, С,Д, Е, але з розвитком сучасних методів діагностики відкриті й нові віруси, які мають первинний гепатотропізм. Усі ці типи вірусів спричиняють захворювання печінки, але між ними є суттєва різниця. Вони належать до різних родин, мають різну будову, відрізняються за епідеміологією та шляхами передачі інфекції. Гепатити А та Е передаються фекально-оральним шляхом, тобто під час вживання інфікованої їжі або води. Гепатити В,С,Д – парентеральні, передаються під час гемо трансфузій, медичних маніпуляцій, статевим шляхом, від матері до дитини, під час вживання ін'єкційних наркотичних засобів. Серед вірусних гепатитів найбільш небезпечними є гепатит В (HBV) та гепатит С (HCV), які призводять до 96 усіх смертей, пов'язаних з вірусними гепатитами.

Характеристика вірусів гепатитів

Вірус:	гепатиту А	гепатиту В	гепатиту С	гепатиту D	гепатиту Е	гепатиту G
Сімейство	Picornaviridae	Hepadnaviridae	Flaviviridae	<i>Deltavirus</i>	Гепатит Е-подібні віруси	Flaviviridae (?)
Род	<i>Hepatitis virus</i>	<i>Orthohepadnavirus</i>	<i>Hepacivirus</i>	<i>Deltavirus</i>	Некласифікований	<i>Hepacivirus</i> (?)
Абревіатура	HAV (ВГС)	HBV (ВГВ)	HCV (ВГС)	HDV (ВГD)	HEV (ВГЕ)	HGV (ВГG)
Віріон	27 нм, ікосаедральний	42 нм, сферичний	60 нм, сферичний	35 нм, сферичний	30-32 нм, ікосаедральний	(?)
Оболонка	Немає	Є (HBsAg)	Є	Є (HBsAg)	Немає	Є
Геном	однониткова РНК	двуниткова ДНК	однониткова РНК	однониткова РНК	однониткова РНК	однониткова РНК
Розмір генома	7,5 кб*)	3,2 кб	9,4 кб	1,7 кб	7,6 кб	9,4 кб (?)
Стабільність	Термо- та кисло-гостійкий	Чутливий до кислот	Чутливий до ефіру та кислот	Чутливий до кислот	Термостійкий	(?)
Шлях передачі	Фекально-оральний	Парентеральний	Парентеральний	Парентеральний	Фекально-оральний	Парентеральний
Поширенність	Широка	Широка	Помірна	Невисока, регіональна	Регіональна	Помірна
Молінієносні форми хвороби	Рідко	Рідко	Рідко	Часто	У вагітних	Рідко
Перехід в хронічну форму	Ніколи	Часто	Часто	Часто	Ніколи	Часто
Канцерогенність	Немає	Так	Так	?	Немає	Так

Методи лабораторної діагностики гепатитів будуються на серологічному дослідженні та молекулярно-генетичних методах. Для вірусного гепатиту А основним є виявлення в сироватці крові пацієнтів специфічних IgM до HAV, що свідчить про гостре захворювання. Також можна використовувати на ранніх етапах імунну електронну мікроскопію. Враховують також данні епіданамезу, об'єктивного обстеження та біохімічні показники крові.

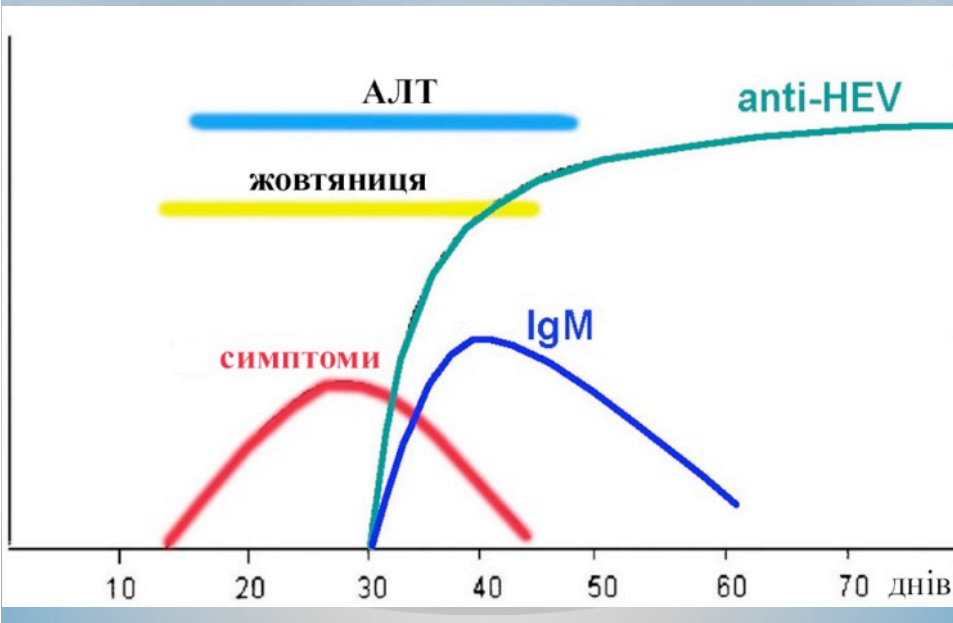
Для діагностики вірусного гепатиту В використовують ІФА для визначення поверхневого HBsAg вірусу гепатиту В. А також динаміку формування протівірусних антитіл (анти- HBs, анти- HBe, анти- HBc).

Інтерпретація сировологічних тестів при гепатиті В

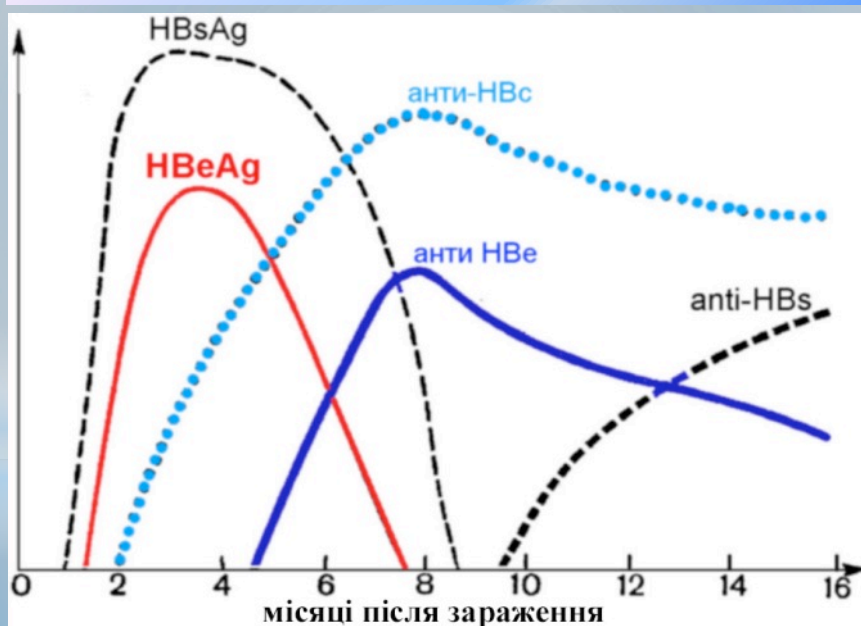
HBSAG	HBEAG	anti-HBs	anti-HBc	anti-HBe	Інтерпретація
+	+	—	—	—	Пізній інкубаційний період або рання стадія гепатиту. Висока контагіозність.
+	+	—	+	—	Гострий гепатит або суперносієство. Висока контагіозність..
+	—	—	+	—	Простий носій, заразливий.
+	—	—	+	+	Пізня стадія гострого гепатиту або носієство з низкою контагіозністю.
—	—	+	+	+	Одужання в пізній стадії.
-	-	+	—	—	Вакцинований.

Гепатит С діагностується у два етапи – скринінг на антитіла за допомогою ІФА або швидких тестів та перевірка наявності РНК вірусу гепатиту С за допомогою ПЛР- тестування. Тестування на гепатит D проводять тим пацієнтам, у яких виявлено гепатит В. Діагностика проводиться за допомогою визначення рівня IgG та IgM – антитіл до вірусу гепатиту дельта та підтвердження діагнозу шляхом виявлення РНК вірусу в сироватці крові за допомогою ПЛР.

ІМУНОЛОГІЧНИЙ ПРОФІЛЬ ГЕПАТИТУ Е



ТИПОВИЙ ПЕРЕБІГ ГЕПАТИТУ В



3.3. вимоги до результатів роботи, в т.ч. до оформлення

1. Облік та оцінка результатів ІФА для виявлення антитіл до вірусу гепатиту А.
2. Облік та оцінка результатів ІФА для виявлення HBsAg
3. Оцінка результатів ПЛР-тесту для діагностики гепатиту С
4. Ознайомитися з набором препаратів для ІФА тестуванні вірусних гепатитів
5. Ознайомитися з Календарем щеплень та вакциною для профілактики гепатиту В.

4. Підведення підсумків

Усне опитування, тестування, оцінювання виконання практичних навичок, розв'язання ситуаційних завдань, оцінювання активності на занятті тощо.

Поточний контроль: усне опитування, тестування, оцінювання виконання практичних навичок, розв'язання ситуаційних завдань, вміння аналізувати і інтерпретувати результати досліджень і правильно зробити обґрунтовані висновки, оцінювання активності на занятті.

Оцінювання поточної навчальної діяльності на практичному занятті:

1. Оцінювання теоретичних знань з теми заняття:
 - методи: індивідуальне опитування, виконання тестових завдань, перевірка ведення протоколу досліджень;
 - максимальна оцінка – 5, мінімальна оцінка – 3, незадовільна оцінка – 2.
2. Оцінка практичних навичок з теми заняття:
 - методи: оцінювання правильності виконання практичних робіт (досліджень)
 - максимальна оцінка – 5, мінімальна оцінка – 3, незадовільна оцінка – 2.

Оцінка за одне практичне заняття є середньоарифметичною за всіма складовими і може мати лише цілу величину (5, 4, 3, 2), яка округлюється за методом статистики.

Оцінка	Критерії оцінювання
«5»	Здобувач бере активну участь у практичному занятті, демонструє глибокі знання, дає повні та детальні відповіді на запитання. Бере активну участь у обговоренні проблемних ситуацій, демонструє гарні навички та вміння при виконанні

	практичного завдання, правильно оцінює отримані результати. Тестові завдання виконані в повному обсязі.
«4»	Здобувач бере участь у практичному занятті; добре володіє матеріалом. Демонструє необхідні знання, але дає відповіді на запитання з деякими помилками; бере участь у обговоренні проблемних ситуацій. Тестові завдання виконані в повному обсязі, не менш ніж 70% відповідей на запитання є правильними.
«3»	Здобувач іноді бере участь в практичному занятті; частково виступає і задає питання; допускає помилки під час відповідей на запитання; показує пасивну роботу на практичних заняттях. Демонструє навички та вміння при виконанні практичного завдання, однак оцінює отримані результати недостатньо повно і точно. Тестування виконано в повному обсязі, не менш ніж 50% відповідей є правильними, відповіді на відкриті питання - не логічні, з явними суттєвими помилками у визначеннях.
«2»	Здобувач не бере участь у практичному занятті, є лише спостерігачем; ніколи не виступає і не задає питання, незацікавлений у вивченні матеріалу; дає неправильні відповіді на запитання, демонструє недостатні навички та вміння, не може впоратися з практичною роботою і оцінкою отриманих результатів.. Тестування не виконано.

5.Список рекомендованої літератури

Основна:

1. Абул К. Аббас, Ендрю Г. Ліхтман & Шив Піллай. Основи імунології: функції та розлади імунної системи: 6-е видання. Київ: Медицина, 2020, 328 с.
2. Майкл Р Барер, Вілл Ірвінг, Ендрю Свонн & Нелюн Перера. Медична мікробіологія, Посібник з мікробних інфекцій: патогенез, імунітет, лабораторна діагностика та контроль: 19-е видання: у двох томах. Київ: Медицина, 2021, 434 с.
3. Медична мікробіологія, вірусологія та імунологія» - 3-тє видання, оновлено та доповнено // Ширококов В.П за ред. – Вінниця: «Нова книга», 2021. 920 с.

Додаткова:

1. Abbas, A., Litchman, A. H. & Pillai, S. Basic Immunology - 6th Edition. (Elsevier Ltd, 2019).
2. Anantharyan R. Jayaram Paniker C. K. Textbook of Microbiology. 12-th Edition.- Orient Longman, 2022.
3. Barer, M. & Irving, W. L. Medical Microbiology 19th Edition A Guide to Microbial Infections: Pathogenesis, Immunity, Laboratory Investigation and Control. vol. 19 (2018).
4. Burrell, C. J., Howard, C. R. & Murphy, F. A. Fenner and White's Medical Virology: Fifth Edition. Fenner and White's Medical Virology: Fifth Edition (Elsevier Inc., 2016).
5. Cann, A. J. Principles of Molecular Virology: Sixth Edition. Principles of Molecular Virology: Sixth Edition (Elsevier Inc., 2015). doi:10.1016/C2014-0-01081-7.
6. Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology, 26th Edition, 2012, English. 880 p.
7. Louten, J. & Reynolds, N. Essential Human Virology. (2016).
8. Male, D., Peebles, S. & Male, V. Immunology. (2020).
9. Marsh D, P., Lewis A O, M., Rogers, H., Williams W, D. & Wilson, M. Marsh and Martin's Oral Microbiology. (Elsevier Limited, 2016).
10. Nath, S. K. & Revankar, S. G. Problem-based microbiology. (Saunders, 2006).
11. Ream, Walt. Molecular microbiology laboratory : a writing-intensive course. (Academic Press, 2013).
12. Review of Medical Microbiology and Immunology, 12 edition/ Warren E. Levinson. McGraw-Hill Prof Med.-Tech., 2012. 688 p.

13. Rich, R. R. & Fleisher, T. A. Clinical Immunology (Fifth Edition) Principles and Practice. Clinical Immunology (2018).
14. Sandle, T. Pharmaceutical Microbiology: Essentials for Quality Assurance and Quality Control. Pharmaceutical Microbiology: Essentials for Quality Assurance and Quality Control (Elsevier Inc., 2015). doi:10.1016/C2014-0-00532-1.
15. Wilson, J. (Nurse) & Stucke, V. A. Clinical microbiology: an introduction for healthcare professionals. (Baillière Tindall, 2000).

Електронні інформаційні ресурси

1. <http://moz.gov.ua> – Міністерство охорони здоров'я України
2. <http://www.microbiologybook.org> - Microbiology and immunology on-line
3. <http://www.microbiologyinfo.com> - On-line microbiology note
4. www.cdc.gov - Centers for diseases control and prevention
5. www.ama-assn.org – Американська медична асоціація / American Medical Association
6. www.who.int – Всесвітня організація охорони здоров'я
7. www.dec.gov.ua/mtd/home/ - Державний експертний центр МОЗ України

Практичне заняття

Тема: Ретровіруси. ВІЛ. Вірусний онкогенез

Мета: Вивчити морфолого-біологічні властивості вірусу імунодефіциту людини (ВІЛ), класифікацію, особливості, імунітету, клініки СНІД, загальну схему лабораторної діагностики СНІД, епідеміологію та патогенез СНІД, принципи терапії, профілактику СНІД.

Основні поняття: ВІЛ. СНІД. ВІЛ-асоційовані інфекції. Ретровіруси. CD4-рецептори.

Обладнання: структурно-логічні схеми, таблиці, відеоматеріали, результати лабораторних, ситуаційні задачі.

План:

1. Організаційні заходи (привітання, перевірка присутніх, повідомлення теми, мети заняття, мотивація здобувачів вищої освіти щодо вивчення теми).

На сьогоднішній день проблема ВІЛ/СНІДу є складним соціально-економічним, суспільно-культурним, медичним феноменом, що вимагає багатомірної стратегії. Пандемія інфекції, викликаної вірусом імунодефіциту людини, є в історії людства найбільшою подією кінця ХХ століття, яку можна поставити в один ряд з двома світовими війнами як за кількістю жертв, так і за шкодою, яку вона завдає суспільству. Його заразність, стрімке поширення та невиліковність здобули захворюванню славу “чуми ХХ століття”

Перші вказівки на нове захворювання – Синдром Набутого Імунодефіциту (СНІД) з'явилися влітку 1979 року, коли поступили повідомлення з великих міст США (Нью-Йорку, Лос-Анджелесу, Сан-Франциско) про раптове збільшення поширеності у молодих людей, які були гомосексуалістами або вживали героїн і інші ін'єкційні наркотики, двох дуже рідких хвороб - саркоми Капоши (раніше реєструвалася лише у немолодих африканців) і пневмонії, викликаної *Pneumocystis carinii* (раніше описаною у вигляді епідемій в закритих дитячих установах). Захворювання виявлялися у втраті імунокомпетентності, що приводило до незахищеності як супроти фатальних інфекцій, викликаних відносно мало вірулентними мікроорганізмами, так і супроти злоякісних новоутворень в лімфоїдній та інших системах.

ВІЛ залишається однією з основних проблем глобальної громадської охорони здоров'я: на сьогоднішній день цей вірус забрав 40,4 мільйона (32,9–51,3 мільйона) людських життів та передача інфекції продовжується у всьому світі; при цьому в низці країн відзначаються тенденції зростання кількості нових випадків інфікування, тоді як раніше цей показник знижувався. Станом на кінець 2022 р. у світі за оцінками налічувалося 39,0 мільйонів (33,1–45,7 мільйона) осіб, які живуть із ВІЛ-інфекцією. У 2022 р. від причин, пов'язаних із ВІЛ-інфекцією, померло 630 000 (480 000–880 000) осіб, і було зареєстровано 1,3 мільйона (1,0–1,7 мільйона) нових випадків зараження ВІЛ.

Способів повного лікування ВІЛ-інфекції не існує. Однак у міру розширення доступу до ефективних засобів профілактики, діагностики, лікування та догляду у зв'язку з ВІЛ та опортуністичними інфекціями, ВІЛ-інфекція перейшла до категорії контрольованих хронічних захворювань, та ВІЛ-інфіковані можуть прожити довге та здорове життя.

2. Контроль опорного рівня знань:

2.1. Вимоги до теоретичної готовності студентів до виконання практичних занять.

Вимоги до знань:

1. Описувати морфологію і хімічний склад вірусів імунодефіциту людини. Типи ВІЛ.
2. Описувати апарат адгезії ВІЛ. Клітини-мішені для ВІЛ в організмі людини, характеристика поверхневих вірусних рецепторів.
3. Аналізувати різні форми взаємодії ВІЛ та клітин, стадії взаємодії цих вірусів з чутливими клітинами.
4. Аналізувати методи культивування ВІЛ.
5. Аналізувати резистентність ВІЛ в навколишньому середовищі.

6. Аналізувати епідеміологію ВІЛ-інфекції.
7. Описувати механізм розвитку імунodefіциту. СНІД-асоційована патологія (опортуністичні інфекції та пухлини).
8. Аналізувати імунітет при ВІЛ/СНІД. Співставляти імунopatогенез ВІЛ/СНІД та його клінічні прояви.
9. Знати методи лабораторної діагностики СНІДу (імунологічні, генетичні).
10. Перспективи специфічної профілактики і терапії ВІЛ-інфекції.

Перелік дидактичних одиниць:

1. Збудники синдрому набутого імунodefіциту (СНІДу). ВІЛ-1 та ВІЛ-2. Структура віріонів. Репродукція. Культивування.
2. Антигени ВІЛ. Оболонкові глікопротеїни gp 120, gp 41, p18, p24. Антигенна мінливість ВІЛ.
3. Патогенез СНІДу. Джерела інфекції, шляхи передачі. Групи ризику. Характеристика захворювання. Профілактика ВІЛ-інфекції. Перспективи терапії.
4. Лабораторна діагностика ВІЛ-інфекції. Ймовірні та достовірні лабораторні критерії ВІЛ-інфекції.
5. Вірусний онкогенез. Онковіруси. Вірусно-генетична теорія онкогенезу Л.А.Зільбера. Онкогени.

2.2. Питання для перевірки базових знань за темою заняття:

Питання:

1. Морфологія вірусу імунodefіциту людини (ВІЛ), його систематичне положення, назва українською та латиною.
2. Ультрaструктура вірусу імунodefіциту людини (ВІЛ). Апарат адгезії.
3. Форми взаємодії вірусу імунodefіциту людини (ВІЛ) і клітини.
4. Культивування вірусу імунodefіциту людини (ВІЛ). Особливості.
5. Антигенна структура збудника СНІДу. Види антигенів, їхня специфічність залежно від хімічної природи.
6. Резистентність вірусу імунodefіциту людини (ВІЛ) по відношенню до факторів навколишнього середовища і дезінфектантів.
7. Патогенність вірусу імунodefіциту людини (ВІЛ) для диких і лабораторних тварин.
8. Епідеміологія СНІДу (джерела інфекції, механізм, шляхи і фактори передачі, сприйнятливий організм). Заразливість хворих в різні періоди захворювання. Роль вірусососіїв.
9. Патогенез СНІДу. Можливі входні ворота.
10. Основні органи-мішені і танатогенез при СНІД.
11. Імунітет при СНІД, його напруженість, спрямованість і тривалість.
12. Методи виявлення імунної перебудови організму при СНІД.

Тести(правильна відповідь А):

Вірус імунodefіциту людини відрізняється від інших вірусів:

- А. Наявністю зворотньої транскриптази
- В. Складністю будови
- С. Здатністю інтегруватися до геному клітини
- Д. Наявністю двох типів нуклеїнових кислот - РНК і ДНК
- Е. Здатністю розмножуватися в курячому ембріоні

Основним методом лабораторної діагностики ВІЛ-інфекції є

- А. Серологічний
- В. Вірусологічний
- С. Біологічний
- Д. Алергічний

Е. Електронна мікроскопія

У ВІЛ-інфікованого пацієнта періодично проводяться імунологічні дослідження. Який з названих показників указує на загрозу переходу ВІЛ-інфекції в СНІД?

- А. Співвідношення Т-хелперів/Т-супресорів менше 1
- В. Кількість лімфоцитів менше 40%
- С. Фагоцитарний індекс менше 3
- Д. Кількість сегментоядерних нейтрофілів менше 30%
- Е. Кількість Т-кілерів знижене вдвічі

Вірус імунодефіциту людини розмножується у

- А. Т-хелперах
- В. Гепатоцитах
- С. Лейкоцитах
- Д. Нейронах
- Е. Епітелії судин

Після лабораторного обстеження хворого з часто рецидивуючими вірусними, бактерійними і грибовими опортуністичними інфекціями поставлений діагноз "ВІЛ-інфекція". Результати якого дослідження дозволили встановити такий діагноз?

- А. Імуноферментний аналіз
- В. Реакція зв'язування комплементу
- С. Реакція преципітації в гелі
- Д. Реакція гальмування гемаглютинації
- Е. Реакція пасивної гемаглютинації

У спеціалізованій клініці пацієнту призначено комбінацію препаратів, які пригнічують репродукцію ВІЛ. Вкажіть, до якої групи належать препарати, які обов'язково входять до комплексного протівірусного лікування.

- А. Аналоги нуклеозидів.
- В. Бісептол
- С. Антибіотики широкого спектра дії.
- Д. Криксиван.
- Е. Інтерлейкін.

При проведенні імуноблот-тесту в сироватці крові були знайдені антитіла до білку gp120. При якому захворюванні зустрічаються ці антитіла?

- А. ВІЛ-інфекція
- В. Вірусний гепатит В
- С. Туберкульоз
- Д. Сифіліс
- Е. Поліомієліт

19-річний чоловік скаржиться на лихоманку, безпричинне зниження маси тіла, тривалу діарею, апатію, загальну слабкість, збільшення лімфатичних вузлів. Методом Вестерн-блоту підтверджено наявність у сироватці крові антитіл до gp120, gp41, p24 та p17. Вкажіть найімовірніший діагноз хвороби.

- А. СНІД

- B. Паротит
- C. Інфекційний гепатит
- D. Лімфоцитарний хориоменінгіт
- E. Плевродінія

3. Формування професійних вмінь, навичок:

3.1. зміст завдань

1. Вивчити демонстраційні навчальні таблиці з ВІЛ-інфекції.
2. Ознайомитись із тест-системами для діагностики ВІЛ-інфекції.
3. Врахувати та оцінити результат ІФА-діагностики ВІЛ-інфекції.
4. Проаналізувати карти імунологічного обстеження хворих з підозрою на ВІЛ-інфекцію

3.2. рекомендації (інструкції) щодо виконання завдань (професійні алгоритми, орієнтуючі карти для формування практичних вмінь та навичок тощо)

Діагностика СНІДу – складна і відповідальна. Вона ґрунтується на основних клінічних проявах захворювання, а також результатах вірусологічних, серологічних та інших методів дослідження, і вимагає їх комплексної оцінки.

Діагностика ВІЛ-інфекції проходить в два етапи: на першому визначається саме факт зараження особи ВІЛ, а на другому з'ясовуються стадія і характер перебігу захворювання, формується його прогноз та обирається відповідна тактика лікування. Своєчасне виявлення стану інфікованості ВІЛ має велике значення для проведення певних протиепідемічних заходів і має суттєві правові та соціальні наслідки. При виникненні підозри на зараження приймаються негайні заходи з попередження можливого поширення цієї інфекції, наприклад, виключають можливість переливання підозрілої крові (при виявленні ВІЛ-позитивності, людина назавжди відстороняється від донорства).

Лабораторні методи діагностики ВІЛ-інфекції можна умовно розподілити на 2 основні категорії - специфічні та неспецифічні. Специфічне лабораторне дослідження передбачає виявлення специфічних ознак (маркерів) присутності ВІЛ в біологічному матеріалі пацієнта. До них відносяться: безпосереднє виділення ВІЛ; визначення його структурних антигенів; визначення генетичного матеріалу вірусу; визначення специфічних антитіл до ВІЛ. До неспецифічних ознак відноситься наявність імунодефіциту, що з'ясовується проведенням комплексного імунологічного дослідження крові з обов'язковим визначенням вмісту Т-лімфоцитів хелперів (CD4⁺- клітин).

Серологічна діагностика. Використовують двоетапну систему лабораторної діагностики захворювання, яка включає дослідження сироватки крові людини на наявність антитіл проти ВІЛ. Сироватка крові осіб з підозрою на ВІЛ-носієство обстежується за допомогою ІФА. Це відбувається в спеціалізованих лабораторіях з діагностики СНІДу, які розгортаються на базах санепідстанцій, станцій переливання крові, поліклінік, диспансерів, інфекційних лікарень тощо.

Основним матеріалом для дослідження є кров. Її забирають із ліктьової вени в об'ємі 5 мл. Отриману пізніше сироватку можна зберігати при температурі 4 °С протягом 7 днів.

ІФА (в основному, непрямий) дозволяє визначити антитіла у будь-якому дослідженому матеріалі. Він є достатньо чутливим методом, що використовується у будь-яких лабораторіях світу. Антигени для цих тест-систем одержують або із заражених тканинних культур, або за допомогою рекомбінантних ДНК.

Слід відзначити, що антитіла у крові з'являються не зразу після попадання ВІЛ в організм, а не менш, ніж через 2-3 місяці, а деколи й довше (5-8 міс.), тому слід пам'ятати, що ІФА є малоприсадною для діагностики вірусносійства саме в серонегативний період. Одноразовий позитивний результат виявлення антитіл в крові не дає можливості підтвердити діагноз набутого імунодефіциту. Цю реакцію рекомендують повторити тричі. Діагностичними

вважаються два позитивних результати в трьох повторях. Така схема постановки реакцій зумовлюється тим, що сучасні тест-системи все ж таки можуть давати як псевдопозитивні, так і псевдонегативні результати. Зразки крові, які дали два позитивних результати з трьох повторів, направляють у спеціалізовані лабораторії при науково-дослідних інститутах для підтвердження наявності ВІЛ-вірусоносійства за допомогою твердофазного імуноферментного аналізу – вестернблоту або імуноблоту (від англ. blott – пляма), реакції непрямой імунофлуоресценції або радіоімунної преципітації. Ці методи дозволяють виявити антитіла до певних вірусних білків. Про позитивний результат реакції може свідчити наявність антитіл проти вірусних білків p24, p31, gp41, gp120/160. При негативних результатах на фільтрах не видно характерних зон забарвлення.

Одним із ефективних способів визначення наявності антитіл проти ВІЛ у сироватці крові людини є використання реакції мікроаглютинації. Вона подібна до реакції непрямой гемаглютинації, однак замість еритроцитів, сенсibiliзованих відповідним антигеном, тут використовують як основу частинки желатину або латексу. У випадку позитивного результату спостерігають за появою специфічного осаду в лунках планшет. Дана реакція дає подібні результати до ІФА, проте значно простіша за методикою постановки, швидше виконується, дає менше псевдопозитивних результатів.

Іншим методом виявлення антитіл проти ВІЛ є реакція непрямой імунофлуоресценції. Для постановки цієї реакції використовують антиген, який одержують з перещеплюваних ліній лімфоцитів, заражених вірусами імунодефіциту. З них готують препарати фіксованих клітин, які можна зберігати протягом 2 місяців при температурі -20 °С. У разі необхідності скельця з нанесеним антигеном обробляють розведеними досліджуваними сироватками (1:10, 1:100, 1:1000 тощо), а потім люмінесцентною антисироваткою проти імуноглобулінів людини. Препарати додатково контрастують синькою Еванса і вивчають у люмінесцентному мікроскопі.

Більш чутливим є метод радіоімунопреципітації. Як і при будь-якій імунологічній реакції в його основі лежить взаємодія антигенів ВІЛ з антитілами проти них. У цій реакції як антигени використовують білки ВІЛ, мічені радіоактивними ізотопами. Реакцію проводять у рідкій фазі, змішуючи гомологічні антигени (вірусні білки gp120, gp41, p24, p17, p9 та інші) й антитіла (сироватка вірусоносія), внаслідок чого утворюються імунні комплекси. Вони взаємодіють із спеціальною системою, яка складається з білка *A. S. aureus*, з'єданого із сефарозою, внаслідок чого відбувається преципітація. Утворений комплекс за допомогою ультрацентрифугування осаджують у пробірках, видаляють надосадову рідину, залишаючи тільки субстрат антиген-антитіло-білок А-сефароза. На наступному етапі дослідження викликають дисоціацію комплексів додецилсульфатом натрію, піддають їх електрофорезу в поліакриламідному гелі і за допомогою авторадіографії визначають молекулярну масу мічених ізотопами білків. Це дозволяє встановити, які саме вірусні білки знаходяться в імунних комплексах, отже, до яких вірусних білків утворюються антитіла. Цей метод є чутливішим, ніж імуноблот, проте вимагає спеціального обладнання, тому не використовується широко в лабораторній практиці.

Підсумовуючи вищевикладене, можна таким чином підійти до підтвердження діагнозу ВІЛ-носійства. Одноразовий негативний результат на наявність антитіл, одержаний за допомогою ІФА, дозволяє зробити висновок про відсутність ВІЛ-інфікування. Два позитивних результати з трьох повторних досліджень сироваток не дають змоги встановити діагноз вірусоносійства. Це можна зробити тільки після одержання позитивних результатів про наявність антитіл проти певних вірусних структурних білків за допомогою імуноблотингу або інших методів, що його замінюють.

Вірусологічна діагностика. Матеріалом для дослідження може бути кров, спинномозкова рідина, грудне молоко, сперма, біоптати при автопсії тощо. Для виявлення вірусу використовують електронну мікроскопію, зараження культур Т-лімфоцитів (CD4-клітини).

Для ідентифікації вірусів можливе використання високочутливих тест-систем ІФА, реакції непрямой імуофлуоресценції, характерної цитопатичної дії тощо.

Важливим для діагностики СНІДу є визначення провірусу в лімфоцитах, або вірусних нуклеїнових кислот у патологічному матеріалі. З цією метою широко використовують методи молекулярної гібридизації. Використання цього методу набуває важливого значення особливо через те, що серонегативний період при СНІДі може тривати декілька місяців. Висока чутливість запропонованого методу дозволяє виявити навіть поодинокі вірусні частинки в крові (0,1-1,0 нг нуклеїнових кислот). Принцип його полягає в тому, що в умовах *in vitro* викликається процес гібридизації між вірусною нуклеїновою кислотою (ДНК, РНК) та спеціальним зондом, який мічений радіоактивним фосфором ³²P. Утворений комплекс достатньо легко можна ідентифікувати за допомогою авторадіографії. Однак використання ³²P-зондів у певній мірі ускладнює цей метод, оскільки вони мають короткий (2 тижні) період напіврозпаду, вимагають дотримання суворих правил техніки безпеки при роботі з радіоактивними ізотопами тощо. Враховуючи це, перспективним напрямком є використання зондів, які можна виявити за допомогою кольорових ферментативних реакцій. Такою міткою є біотин (біотиновий зонд). Існують різноманітні варіанти молекулярної гібридизації, серед яких найчастіше застосовуються точкова гібридизація, блот-гібридизація, сандвіч-гібридизація, гібридизація *in situ* (в заражених тканинах).

Одним з варіантів молекулярної гібридизації розглядається полімеразно-ланцюгова реакція, в основі якої лежить ампліфікація генів. Використання ДНК-полімерази, наприклад, з *Thermophylus aquaticus* дозволяє за кілька циклів ампліфікації значно збільшити кількість досліджуваних нуклеїнових кислот, внаслідок чого їх можна виявити будь-якими відомими методами – ІФА, електрофорез у поліакриламідному гелі тощо. Ця реакція суттєво перевищує чутливість попереднього методу (на декілька порядків), тому може бути використана при дослідженні мікрооб'ємів матеріалу або таких тест-об'єктів, де іншими методами віруси імунодефіциту не виявляються, наприклад, змиви з носоглотки, слина.

Вірусологічна діагностика СНІДу – достатньо складний процес, доступний для виконання тільки у високоспеціалізованих лабораторіях, де створюються всі необхідні умови для роботи (захист персоналу від зараження під час культивування, очищення та концентрування ВІЛ) і є висококваліфіковані фахівці.

Таким чином, при наявності ВІЛ-інфекції у вірусноносіїв або хворих на СНІД можна виявити такі вірусспецифічні маркери: антитіла до ВІЛ, безпосередньо інфекційний вірус, провірус у ДНК уражених імуноцитів, вірусний антиген у сироватці крові та інфікованих клітинах-мішенях.

Схема лабораторної діагностики ВІЛ/СНІДу

Індикація ВІЛ, чи його компонентів в матеріалі від хворих	Виявлення противірусних антитіл	Виявлення специфічних змін в імунній системі
-полімеразна ланцюгова реакція -імуоферментний аналіз -виділення ВІЛ з клінічного матеріалу на первинних і стабільних культурах клітин лімфоцитів -електронна мікроскопія	-імуоферментний аналіз - вестрнблот (імуоблот) - реакція імуофлуоресценції - реакція латексаглютинації - реакція радіоімуопрещіпації	- визначення кількості Т4-клітин - визначення співвідношення Т-хелперів та Т-супресорів - визначення кількості інтерлейкіну-2 та гама-інтерферону

3.3. вимоги до результатів роботи

Практичні заняття з мікробіології, вірусології та імунології є структурованими та передбачають комплексне оцінювання в балах усіх видів навчальної діяльності (навчальних завдань), які студенти виконують під час практичного заняття:

1. На початковому етапі практичного заняття здійснюється усний та/або тестовий контроль відповідно до переліку найбільш важливих теоретичних та практичних питань з орієнтовної карти заняття. Тести містять 10 тестових завдань вибіркового типу з однією правильною відповіддю. Його результати оцінюються позитивно, якщо студент дав не менше ніж 8 правильних відповідей; студент не отримує балів, якщо кількість правильних відповідей менша за 8. Оцінка цього етапу є комплексною з результатів тестування та усного опитування. У загальній оцінці заняття цей етап студент отримує 1 - 0,5 бала.

2. На основному етапі практичного заняття оцінюється:

Виконання практичних робіт (досліджень), якість ведення протоколу досліджень відповідно до вимог, уміння аналізувати та інтерпретувати результати досліджень та правильно зробити обґрунтовані висновки, вирішення ситуаційних завдань, конструктивних тестів. У загальній оцінці поточної навчальної діяльності цей етап становить приблизно 50%

Якщо студент правильно виконав практичні роботи (дослідження), записав протокол досліджень у відповідності до вимог, зумів проаналізувати та інтерпретувати результати дослідження, зробити обґрунтовані висновки, правильно відповів на всі теоретичні питання, вирішив усі запропоновані ситуаційні та інші завдання, він отримує максимальну оцінку в 2 бали.

Якщо студент правильно виконав практичні роботи (дослідження), записав протокол досліджень відповідно до вимог, зумів проаналізувати та інтерпретувати результати досліджень, зробити обґрунтовані висновки, відповів не менше ніж на половину теоретичних питань та вирішив не менше половини запропонованих завдань та інших завдань, він отримує 1,5 бали.

Якщо студент правильно виконав практичні роботи (дослідження), записав протокол дослідження відповідно до вимог, зумів проаналізувати та інтерпретувати результати досліджень, зробити обґрунтовані висновки, відповів менш ніж на половину теоретичних питань та не вирішив жодного із запропонованих завдань, він отримує 1 бал.

Студент не набирає балів на основному етапі навчальної діяльності, якщо він не зумів правильно виконати практичні роботи (дослідження), записати протокол досліджень відповідно до вимог, проаналізувати та інтерпретувати результати досліджень, зробити обґрунтовані висновки, відповісти на теоретичні питання, вирішити запропоновані завдання та інші завдання.

3. На кінцевому етапі практичного заняття контроль теоретичної та практичної підготовки здійснюється за результатами виконання практичного завдання, оформлення протоколу лабораторної роботи, вирішення комплексних ситуаційних завдань та тестових завдань та інших завдань, що дозволяють оцінити ступінь досягнення навчальної мети. Він оцінюється максимально в 1 бал за умови, що студент правильно вирішив не менше 90% тестових завдань та/або вирішив усі ситуаційні завдання та інші завдання. За умови, що студент правильно вирішив не менше, ніж 70% тестових завдань, та/або запропонованих ситуаційних завдань студент отримує 0,5 бала, інакше студент не отримує балів за цей етап заняття.

4. Підведення підсумків

Поточний контроль: усне опитування, тестування, оцінювання виконання практичних навичок, розв'язання ситуаційних завдань, вміння аналізувати і інтерпретувати результати досліджень і правильно зробити обґрунтовані висновки, оцінювання активності на занятті.

Підсумковий контроль: тестування за типом Крок-1, іспит.

Оцінювання поточної навчальної діяльності на практичному занятті:

1. Оцінювання теоретичних знань з теми заняття:

- методи: індивідуальне опитування, виконання тестових завдань, перевірка ведення протоколу досліджень;
 - максимальна оцінка – 5, мінімальна оцінка – 3, незадовільна оцінка – 2.
2. Оцінка практичних навичок з теми заняття:
- методи: оцінювання правильності виконання практичних робіт (досліджень)
 - максимальна оцінка – 5, мінімальна оцінка – 3, незадовільна оцінка – 2.
- Оцінка за одне практичне заняття є середньоарифметичною за всіма складовими і може мати лише цілу величину (5, 4, 3, 2), яка округлюється за методом статистики.

Критерії поточного оцінювання на практичному занятті

Оцінка	Критерії оцінювання
Відмінно «5»	Здобувач бере активну участь у практичному занятті, демонструє глибокі знання, дає повні та детальні відповіді на запитання. Бере активну участь у обговоренні проблемних ситуацій, демонструє гарні навички та вміння при виконанні практичного завдання, правильно оцінює отримані результати. Тестові завдання виконані в повному обсязі.
Добре «4»	Здобувач бере участь у практичному занятті; добре володіє матеріалом. Демонструє необхідні знання, але дає відповіді на запитання з деякими помилками; бере участь у обговоренні проблемних ситуацій. Тестові завдання виконані в повному обсязі, не менш ніж 70% відповідей на запитання є правильними.
Задовільно «3»	Здобувач іноді бере участь в практичному занятті; частково виступає і задає питання; допускає помилки під час відповідей на запитання; показує пасивну роботу на практичних заняттях. Демонструє навички та вміння при виконанні практичного завдання, однак оцінює отримані результати недостатньо повно і точно. Тестування виконано в повному обсязі, не менш ніж 50% відповідей є правильними, відповіді на відкриті питання - не логічні, з явними суттєвими помилками у визначеннях.
Незадовільно «2»	Здобувач не бере участь у практичному занятті, є лише спостерігачем; ніколи не виступає і не задає питання, незацікавлений у вивченні матеріалу; дає неправильні відповіді на запитання, демонструє недостатні навички та вміння, не може впоратися з практичною роботою і оцінкою отриманих результатів. Тестування не виконано.

Список рекомендованої літератури

Основна:

1. Абул К. Аббас, Ендрю Г. Ліхтман & Шив Піллай. Основи імунології: функції та розлади імунної системи: 6-е видання. Київ: Медицина, 2020, 328 с.
2. Майкл Р Барер, Вілл Ірвінг, Ендрю Свонн & Нелюн Перера. Медична мікробіологія, Посібник з мікробних інфекцій: патогенез, імунітет, лабораторна діагностика та контроль: 19-е видання: у двох томах. Київ: Медицина, 2021, 434 с.
3. Медична мікробіологія, вірусологія та імунологія» - 3-тє видання, оновлено та доповнено // Ширококов В.П за ред. – Вінниця: «Нова книга», 2021. 920 с.

Додаткова:

1. Широбоков В.П., Климнюк С.І. Практична мікробіологія: навчальний посібник. Вінниця: Нова Книга, 2018, 576 с.
2. Abbas, A., Litchman, A. H. & Pillai, S. Basic Immunology - 6th Edition. (Elsevier Ltd, 2019).
3. Anantharyan R. Jayaram Paniker C. K. Textbook of Microbiology. 12-th Edition.- Orient Longman, 2022.
4. Barer, M. & Irving, W. L. Medical Microbiology 19th Edition A Guide to Microbial Infections: Pathogenesis, Immunity, Laboratory Investigation and Control. vol. 19 (2018).
5. Burrell, C. J., Howard, C. R. & Murphy, F. A. Fenner and White's Medical Virology: Fifth Edition. Fenner and White's Medical Virology: Fifth Edition (Elsevier Inc., 2016).
6. Cann, A. J. Principles of Molecular Virology: Sixth Edition. Principles of Molecular Virology: Sixth Edition (Elsevier Inc., 2015). doi:10.1016/C2014-0-01081-7.
7. Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology, 26th Edition, 2012, English. 880 p.
8. Louten, J. & Reynolds, N. Essential Human Virology. (2016).
9. Male, D., Peebles, S. & Male, V. Immunology. (2020).
10. Marsh D, P., Lewis A O, M., Rogers, H., Williams W, D. & Wilson, M. Marsh and Martin's Oral Microbiology. (Elsevier Limited, 2016).
11. Nath, S. K. & Revankar, S. G. Problem-based microbiology. (Saunders, 2006).
12. Ream, Walt. Molecular microbiology laboratory : a writing-intensive course. (Academic Press, 2013).
13. Review of Medical Microbiology and Immunology, 12 edition/ Warren E. Levinson. McGraw-Hill Prof Med.-Tech., 2012. 688 p.
14. Rich, R. R. & Fleisher, T. A. Clinical Immunology (Fifth Edition) Principles and Practice. Clinical Immunology (2018).
15. Sandle, T. Pharmaceutical Microbiology: Essentials for Quality Assurance and Quality Control. Pharmaceutical Microbiology: Essentials for Quality Assurance and Quality Control (Elsevier Inc., 2015). doi:10.1016/C2014-0-00532-1.
16. Wilson, J. (Nurse) & Stucke, V. A. Clinical microbiology : an introduction for healthcare professionals. (Baillière Tindall, 2000).

Електронні інформаційні ресурси

1. <http://moz.gov.ua> – Міністерство охорони здоров'я України
2. <http://www.microbiologybook.org> - Microbiology and immunology on-line
3. <http://www.microbiologyinfo.com> - On-line microbiology note
4. www.cdc.gov - Centers for diseases control and prevention
5. www.ama-assn.org – Американська медична асоціація / American Medical Association
6. www.who.int – Всесвітня організація охорони здоров'я
7. www.dec.gov.ua/mtd/home/ - Державний експертний центр МОЗ України