

Ф-13/3

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ПІСЛЯДИПЛОМНОЇ ОСВІТИ
ІМЕНІ П. Л. ШУПИКА



ЗАТВЕРДЖЕНО

Рішення вченої ради

Протокол 14. Од. 2020 № 2

голова вченої ради

академік НАМН України професор

 Ю.В. Вороненко

**НАВЧАЛЬНИЙ ПЛАН ТА ПРОГРАМА
АКТУАЛЬНІ ПРОБЛЕМИ СУЧАСНИХ КЛІТИННИХ ТЕХНОЛОГІЙ
У БІОЛОГІЇ ТА МЕДИЦИНІ**

Тривалість навчання — 0,5 міс. (78 годин)

Кафедра вірусології

Київ — 2020

СКЛАД РОБОЧОЇ ГРУПИ

**Дзюблик Ірина
Володимирівна**

завідувач кафедри вірусології, доктор мед. наук,
професор

**Трохименко Олена
Петрівна**

доцент кафедри вірусології, кандидат біологічних наук

**Соловйов Сергій
Олександрович**

доцент кафедри вірусології, кандидат біологічних наук

ПОЯСНЮВАЛЬНА ЗАПИСКА

Навчальна програма циклу тематичного удосконалення «Актуальні проблеми сучасних клітинних технологій у біології та медицині» призначена для підвищення кваліфікації: лікарів-вірусологів, лікарів мікробіологів-вірусологів, лікарів-епідеміологів, лікарів-лаборантів, лікарів-онкологів, лікарів-імунологів, провізорів-аналітиків, провізорів клінічних, провізорів-косметологів, а також спеціалістів-вірусологів, спеціалістів-мікробіологів-вірусологів, біологів різних спеціальностей, біотехнологів, діяльність яких пов'язана з використанням клітинних технологій.

Цикл проводиться відповідно до Положення про організацію освітнього процесу в НМАПО імені П.Л. Шупика з урахуванням вимог постанови Кабміну від 28.03.2018 № 302 «Про затвердження Положення про систему безперервного професійного розвитку фахівців у сфері охорони здоров'я», Порядку підвищення кваліфікації педагогічних і науково-педагогічних працівників, затвердженого постановою Кабміну від 21.08.2019 № 800, наказу МОЗ України від 22.02.2019 № 446 «Деякі питання безперервного професійного розвитку лікарів», зареєстрованого в Мін'юсті 25.03.2019 за № 293/33264, та інших нормативних документів, що регламентують підготовку фахівців галузі знань «Охорона здоров'я» на післядипломному етапі.

Мета циклу — удосконалення теоретичних знань та практичної підготовки, формування, оновлення, поглиблення ключових професійних компетентностей, а також отримання новітніх знань з актуальних проблем сучасних клітинних технологій у біології та медицині, необхідних для професійної діяльності слухачів відповідно до вимог системи якості підготовки кадрів для сфери охорони здоров'я, ознайомлення з новітніми досягненнями в галузі тощо.

Цикл тематичного удосконалення «Актуальні проблеми сучасних клітинних технологій у біології та медицині» передбачає розгляд широкого кола питань, стосовно новітніх уявлень про будову і функцію клітин тварин і людини та їх взаємодію з вірусами під час інфекційного процесу. Слухачі будуть ознайомлені сучасними клітинними системами, їх культивуванням у традиційних і нових форматах, методами відбору і підготовки біологічного матеріалу до вірусологічних досліджень в культурі клітин. В програмі циклу передбачено розгляд загальних біологічних ризиків і їх попередження при роботі з патогенним матеріалом у вірусологічних лабораторіях різних

категорій. Слухачі оволодіють методами одержання і культивування первиннотрипсинізованих і перещеплювальних культур клітин та виділення вірусів у них з наступною індикацією та ідентифікацією збудника. Одержать практичні навички культивування клітин мікрометодом, їх дослідження під інвертованим мікроскопом з візуалізацією зображення, визначення інфекційного титру вірусу за цитопатичною дією в культурі клітин, визначення параметрів цитотоксичності біологічно активних речовин і специфічної активності противірусних препаратів. Вперше будуть представлені аналітичні методи оцінки застосування клітинних технологій у біології і медицині. Таким чином, програма всебічно охоплює значний обсяг як теоретичних, так і практично-прикладних знань, вмінь і навичок, необхідних лікарів-вірусологів, лікарів мікробіологів-вірусологів, лікарів-епідеміологів, лікарів-лаборантів, лікарів-онкологів, лікарів-імунологів, провізорів-аналітиків, провізорів клінічних, провізорів-косметологів, а також спеціалістів-вірусологів, спеціалістів-мікробіологів-вірусологів, біологів різних спеціальностей, біотехнологів, діяльність яких пов'язана з використанням клітинних технологій, для належного здійснення професійної діяльності.

Програма побудована за системою блоків. Основними блоками є 6 розділів програми, які охоплюють 20 тем, де подано значну за обсягом навчальну інформацію щодо актуальних проблем застосування сучасних клітинних технологій у біології і медицині. Для полегшення орієнтування у програмі та впорядкування інформації, що міститься в ній, розділи і теми заковані.

За додатковими програмами до циклу ТУ включено питання імунопрофілактики (2 години).

У навчальному плані циклу зазначено контингент слухачів, тривалість навчання, розподіл годин, відведених на вивчення розділів навчальної програми. У разі необхідності, враховуючи базовий рівень знань слухачів, кафедра вірусології може вносити корективи та доповнення до навчальних годин, що регламентовані навчальними планами, в межах 15 % від загального обсягу часу.

Навчальний план та програма циклу тематичного удосконалення доповнені переліком питань до підсумкового заліку, переліком практичних навичок, списком рекомендованих джерел.

Для визначення рівня засвоєння програми циклу тематичного удосконалення з терміном навчання 0,5 місяця (78 годин) передбачено підсумковий залік (2 години).

Слухачам, які виконали програму і успішно склали залік, видається посвідчення про проходження циклу встановленого зразка.

НАВЧАЛЬНИЙ ПЛАН
ЦИКЛУ ТЕМАТИЧНОГО УДОСКОНАЛЕННЯ
«Актуальні проблеми сучасних клітинних технологій
у біології та медицині»
 Тривалість: 0,5 міс. (78 годин)

Контингент: лікарів-вірусологів, лікарів мікробіологів-вірусологів, лікарів-епідеміологів, лікарів-лаборантів, лікарів-онкологів, лікарів-імунологів, провізорів-аналітиків, провізорів клінічних, провізорів-косметологів, а також спеціалістів-вірусологів, спеціалістів-мікробіологів-вірусологів, біологів різних спеціальностей, біотехнологів, діяльність яких пов'язана з використанням клітинних технологій.

Код	Назва розділу	Кількість навчальних годин			
		Лекції	Семін. заняття	Практ. заняття	Разом
1	2	3	4	5	6
	Вступна конференція		2		2
1.	Сучасні уявлення про будову та функцію клітин	4			4
2.	Особливості взаємодії клітини і вірусу під час інфекційного процесу		6		6
3.	Клітинні технології у біології та медицині: теоретичні аспекти	8	10		18
4.	Аналітичні методи оцінки застосування клітинних технологій у біології і медицини		4		4
5.	Біологічні ризики і їх попередження при роботі з патогенним матеріалом у вірусологічних лабораторіях різних категорій.		2		2

6.	Практичні аспекти клітинних технологій у сучасних медико-біологічних дослідженнях			38	38
	Залік		2		2
	Всього	12	26	38	76
Додаткові програми:					
	Питання імунопрофілактики		2		2
	РАЗОМ	12	28	38	78

НАВЧАЛЬНА ПРОГРАМА
ЦИКЛУ ТЕМАТИЧНОГО УДОСКОНАЛЕННЯ
«Актуальні проблеми сучасних клітинних технологій
у біології та медицині»
 Тривалість: 0,5 міс. (78 годин).

Код		Назва розділу, теми
Розділ	Тема	
1	2	3
1	1.	Сучасні уявлення про будову та функцію клітин
2.	2.	Особливості взаємодії клітини і вірусу під час інфекційного процесу
	2.1.	Генетика вірусів, взаємодія клітинного і вірусного геному
	2.2.	Репродукція вірусів. Стратегії вірусних геномів. Сучасна класифікація вірусів за Балтімором
	2.3.	Патогенність і вірулентність вірусів. Перебіг інфекційного процесу на рівні клітини та чинники, що на нього впливають
3.	3.	Клітинні технології у біології та медицині: теоретичні аспекти
	3.1.	Лабораторна діагностика вірусних інфекцій – досягнення і перспективи на сучасному етапі
	3.2.	Сучасні напрямки і перспективи застосування клітинних культур в лабораторній діагностиці вірусних інфекцій
	3.3.	Культури клітин людини в 3D форматі як клітинні моделі для фармакології і регенеративної медицини
	3.4.	Технології одержання і застосування стовбурових клітин у біології і регенеративній медицині
	3.5.	Живильні середовища, фактори росту, сольові розчини та допоміжні матеріали в клітинних технологіях
	3.6.	Клітинні системи у виділення вірусів із клінічного матеріалу
	3.7.	Особливості дослідження віруліцидної дії дезінфікуючих засобів в культурі клітин
	3.8.	Культури клітин як інструмент для визначення специфічної дії противірусних лікарських засобів
	3.9.	Культури клітин у виробництві вакцин
	4.	Аналітичні методи оцінки застосування клітинних технологій у біології і медицині
	4.1.	Аналітичні підходи до оцінки біологічної активності лікарських засобів у культурі клітин

	5.	Біологічні ризики і їх попередження при роботі з патогенним матеріалом у вірусологічних лабораторіях різних категорій.
	6.	Практичні аспекти клітинних технологій у сучасних медико-біологічних дослідженнях
	6.1.	Приготування первиннотрипсинізованої культури клітин тварин і її культивування
	6.2.	Приготування перещеплювальної культури клітин тварин і її культивування мікрометодом
	6.3.	Мікроскопічні дослідження клітинних культур, оцінка якості клітинних моношарів, сучасні методи візуалізації і аналізу зображення
	6.4.	Виявлення цитопатогенних агентів в культурах клітин, забарвлених за Романовським-Гімзою
	6.5.	Відбір і підготовка клінічного матеріалу для виділення вірусів у культурах клітин
	6.6.	Титрування вірусів за цитопатичною дією в культурі клітин
	6.7.	Визначення та розрахунок параметрів цитотоксичної дії біологічно активних речовин в культурі клітин
	7.	Питання імунопрофілактики
		Залік

**ПЕРЕЛІК ПРАКТИЧНИХ НАВИЧОК
ДЛЯ ЦИКЛУ ТЕМАТИЧНОГО УДОСКОНАЛЕННЯ
«Актуальні проблеми сучасних клітинних технологій
у біології та медицині»
Тривалість: 0,5 міс. (78 годин).**

№ з/п	Назва практичної навички
1	2
1.	Приготування ростового живильного середовища
2.	Приготування підтримуючого середовища
3.	Приготування живильного середовища із заданою концентрацією антибіотиків
4.	Овоскопіювання курячих ембріонів, визначення їх життєздатності
5.	Приготування і культивування первиннотрипсинізованої культури клітин фібробластів ембріонів курки мікрометодом
6.	Приготування і культивування перещеплювальної субстратзалежної культур клітин NEP-2 мікрометодом
7.	Підрахунок клітин у камері Горяєва. Розрахунок Визначення концентрації клітин у суспензії
8.	Визначення життєздатності клітин за допомогою мортального і вітального барвників
9.	Приготування суспензії клітин заданої посівної концентрації
10.	Відбір, транспортування та зберігання зразків біологічного матеріалу для виділення вірусу в культурі клітин
11.	Деконтамінація клінічного матеріалу для виділення вірусів у культурі клітин
12.	Взяття мазка з носової порожнини і підготовка його до виділення респіраторного аденовірусу
13.	Взяття мазка з носової порожнини і підготовка його до виділення вірусу грипу
14.	Індикація вірусів в культурах клітин за цитопатичною дією
15.	Визначення інфекційного титру вірусу за цитопатичною дією в культурі клітин
16.	Підготовка клітинних моношарів до зараження інфекційним матеріалом
17.	Фарбування клітинного моношару за Романовським-Гімзою
18.	Виявлення вірусів у клінічному матеріалі за морфологічними змінами в культурах клітин, забарвлених за Романовським-Гімзою

**ПЕРЕЛІК ПИТАНЬ ДО ЗАЛІКУ
ДЛЯ ЦИКЛУ ТЕМАТИЧНОГО УДОСКОНАЛЕННЯ
«Актуальні проблеми сучасних клітинних технологій у біології та
медицині»**

Тривалість: 0,5 міс (78годин)

1. Які типи клітинних культур Вам відомі
2. Назвіть джерела одержання перещеплювальних клітинних культур.
3. Які характерні властивості мають первиннотрипсинізовані клітинні культури?
4. Які переваги мають первиннотрипсинізовані клітинні культури у порівнянні з перещеплювальними культурами клітин?
5. Які переваги мають диплоїдні культури клітину порівнянні з перещеплювальними:
6. Які умови сприяють розмноженню клітин у культурі?
7. Вкажіть на основні недоліки перещеплювальних культур клітин:
8. Назвіть основні фази росту клітинних культур
9. Яким живильним середовищем надають перевагу при культивуванні клітин *in vitro*
10. Які методи дезінтеграції тканин використовуються при приготуванні первиннотрипсинізованих клітинних культур.
11. З яких основних етапів складається процедура приготування первиннотрипсинізованої культури клітин фібробластів ембріону курки?
12. Як розподіляються клітинні культури за ознакою відношення до субстрату?
13. З яких основних етапів складається процедура приготування перещеплювальних культур клітин тварин і людини?
14. Як визначається концентрація живих клітин суспензії у камері Горяєва?
15. Як приготувати суспензію клітин заданої посівної концентрації за результатами підрахунку клітин у камері Горяєва?
16. Які методи деконтамінації використовуються при підготовці клінічного матеріалу до виділення вірусів у культурі клітин?
17. Що є джерелом факторів росту при культивуванні первиннотрипсинізованих культур тварин?
18. Які типи живильних середовищ використовуються при культивуванні культур клітин в медичній вірусології? культур клітин тварин? Дайте їм характеристику, наведіть приклади.

19. Що є джерелом факторів росту при культивуванні клітин тварин?
20. Які допоміжні розчини використовуються при культивуванні клітин *in vitro*, їх склад та призначення?
21. Дайте визначення посівної концентрації клітин. Як вона впливає на швидкість досягнення культурою логарифмічної фази росту?
22. Які умови є оптимальними для культивування перещеплювальних культур клітин у 96-лункових, 24-лункових, 12-лункових полістиролових планшетах?
23. Назвіть критерії оцінки якості клітинних моношарів у мікропланшетах при макро- та мікроскопічному контролі.
24. Призначення камери Горяєва. Принцип приготування та розрахунок за формулою посівної концентрації клітин
25. Яке значення має проведення сліпих пасажувань при виділенні вірусів грипу з клінічного матеріалу в культурі клітин?
26. Назвіть ознаки, за наявності яких клітинні моношари не можуть бути використані для інфікування вірусами.
27. Які ознаки вказують на необхідність заміни живильного середовища при культивуванні клітинних культур?
28. Якими способами можна подовжити перебування клітин в культурі в логарифмічній фазі росту?
29. Що таке інфекційний титр вірусу, визначений за цитопатичною дією в культурі клітин?
30. В чому полягають основні етапи виділення вірусу із клінічного матеріалу в культурі клітин та його ідентифікації?
31. Як розрахувати за формулою Кербера інфекційний титр вірусу? Які методи деконтамінації мазка з носової порожнини можуть бути використані при виділенні респіраторного аденовірусу в культурі клітин?
32. Які методи деконтамінації мазка з носової порожнини можуть бути використані при виділенні вірусу грипу в культурі клітин?
33. Чи можна інфікувати клітинні моношари при виділенні вірусу нерозбавленим клінічним матеріалом і чому?
34. Назвіть фази росту культур клітин. Яка з них є найбільш сприятливою для наступного пасажування культури?
35. У яких випадках застосовується метод фарбування за Романовським-Гімзою?
36. Які основні речовини входять до складу барвника Романовського?

37. Які готові реактиви застосовують сьогодні при фарбуванні клітин за методом Романовським-Гімзою?
38. У чому полягають основні переваги методу фарбування за Романовським-Гімзою у сучасному варіанті?
39. Які клітинні структури виявляються при фарбуванні клітин за Романовським-Гімзою?
40. Як класифікують віруси за ступенем біологічної безпеки. Особливості класифікації в Україні і країнах ЄС та США.
41. Які віруси входять в групу збудників особливо небезпечних інфекцій.
42. Які Ви знаєте основні причини внутрішньолабораторного зараження.
43. Назвіть основні джерела внутрішньолабораторного зараження.
44. Перерахуйте основні типи аварій з інфекційним матеріалом.
45. Які особливості ліквідації аварії при руйнуванні пробірки з інфекційним матеріалом.
46. Назвіть категорії вірусологічних лабораторій.
47. Який принцип покладено в основу ділення лабораторних приміщень на зони?
48. Вкажіть вимоги безпеки у вірусологічних лабораторіях різного рівня щодо обладнання, захисту персоналу та виконання маніпуляцій
49. Які особливості підготовки робочого місця вірусолога в базовій вірусологічній лабораторії з використанням боксів біологічної безпеки? .
50. Назвіть основні засоби індивідуального захисту, що застосовуються при роботі у базових вірусологічних лабораторіях.

СПИСОК РЕКОМЕНДОВАНИХ ДЖЕРЕЛ

Основна література

1. Дзюблик І.В., Трохименко Е.П. Современные направления и перспективы использования клеточных культур в лабораторной диагностике вирусных инфекций (проблемная лекция) Профілактична медицина № 2 (31)/2018.- С.48-58.
2. Дзюблик І.В., Трохименко О.П, Соловйов С.О. Культура клітин у медичній вірусології. Навчально-методичний посібник.-Київ, 2015.-144 с. ISBN 978-966-2696-98-1.
3. Дзюблик І.В., Трохименко О.П, Соломко Ю.О. Культивування бокавірусів людини в умовах *in vitro* з наступною молекулярно-генетичною ідентифікацією збудника // Профілактична медицина.- №3-4 (25) – Київ. – 2015. – С.-24-29.

4. Медицинская микробиология, вирусология, иммунология. Учебник для студентов высших медицинских учебных заведений IV уровня аккредитации /Под ред. Академика НАН и АМН Украины В.П. Широбокова.-Вінниця: Нова книга.-2015.-856 с. ISBN 978-966-382-200-6.
5. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories 5th Edition . Код доступу: <https://www.cdc.gov/labs/pdf/CDC>
6. Biosafety Recommendations on the Handling of Animal Cell Cultures . Код доступу https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-319-10320-4_22
7. Cell Culture, Technology: Enhancing the Culture of Diagnosing Human Diseases. //J Clin Diagn Res. 2016 Mar;10(3):DE01-5. doi: 10.7860/JCDR/2016/15837.7460. Epub 2016 Mar 1.
8. Hematian A, Sadeghifard N, Mohebi R, Taherikalani M, Nasrolahi A, Amraei M, Ghafourian S. Traditional and Modern Cell Culture in Virus Diagnosis //Osong Public Health Res Perspect. 2016 Apr;7(2):77-82. doi: 10.1016/j.phrp.2015.11.011. Epub 2016 Jan.
9. Hudu SA, Alshrari AS, Syahida A, Sekawi Z.
10. The Approved List of biological agents: Advisory Committee on Dangerous Pathogens Misc208. Health and Safety Executive. Код доступу: <http://www.hse.gov.uk/pubns/misc208.pdf>

Допоміжна література

1. Білоткач К.М., Трохименко О.П., Салюк А.В., Дзюблик І.В. Культивування поверхнево залежних культур клітин тварин на нетрадиційних матеріалах. Дослідження впливу окиснювальної модифікації поліетиленової плівки на вихід біомаси клітин // Вісник тернопільського державного технічного університету.-2004.-т.9, №2.
2. Посібник з медичної вірусології /За ред.Гіріна В.М.-1995.-Кив.: Здоров'я.- 368 с.
3. Medicines from Animal Cell Culture /Glyn Stacey, John Davis// John Wiley & Sons Ltd, The Atrium, Southern Gate, Chichester, West Sussex PO19 8SQ, 2007.-England. www.wileyurope.com or www.wiley.com
4. Molecular Biotechnology: Principles and Application of Recombinant DNA/ Bernard R. Glick, Jack J. Pasternak, Cheryl L. Patten - 4th ed. - 2010 - ASM press.
5. Molecular Epidemiology of Infectious Disease. Principles and Practices./Lee W Riley - 2004, ASM press.
6. National Institute for Biological Standards and Control (NIBSC).
7. Pneumococcal Vaccines/George R. Siber, Keith p. Klugman, p.Helena Makela- 2008 - ASM press.
8. Principles of virology: molecular biology, pathogenesis and control of animal viruses/ S.G. Fint [et al.] - 3rd edition - ASM press .

9. The Immune Response to Infection/ Stefan H.E. Kaufmann et al- 2011 - ASM press.
10. The Picornaviruses/ Ellie Ehrenfeld. Esteban Domingo, Raymond P. Roos -- ASM press
11. LONG JIAN ER Laboratory Diagnosis of Viral Diseases. /Код доступу http://fdjpkc.fudan.edu.cn/_upload/article/files/08/fe/6c6e2b434576af62f237a1e37478/1146b49a-e2f2-4a9d-8bc1-68d4a3ff3cbd.pdf

Інформаційні ресурси

<http://whqilibdoc.who.int/publications/2004/9241546506.html>

<http://www.nibsc.org/>

<http://www.plib.ru/library/book/14084.html>

<http://www.techdoc.ru/files.1735.html>

www.cdc.gov/OD/ohsbiosfty/bmb15/bmb1_5th_edition.pdf

www.phac-aspc.gc.ca/publicat/lbg-imbl-04/index.html