



Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего образования
«Красноярский государственный медицинский
университет имени профессора В. Ф. Войно-Ясенецкого»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

1942/2017

75

Фармацевтический колледж

**Теория и практика
лабораторных иммунологических
исследований**

сборник методических указаний для обучающихся
к практическим занятиям по специальности
31.02.03 – Лабораторная диагностика
(углубленной подготовки)

Красноярск
2016

УДК 616-074/079+612.017(07)

ББК 53.15

Т 33

Теория и практика лабораторных иммунологических исследований : сб. метод. указаний для обучающихся к практ. занятиям по специальности 31.02.03 – Лабораторная диагностика (углубленной подготовки) / сост. Е. Н. Букатова ; Фармацевтический колледж. – Красноярск : тип. КрасГМУ, 2016. – 60 с.

Составитель: Букатова Е.Н.

Сборник методических указаний к практическим занятиям предназначен для аудиторной работы обучающихся. Составлен в соответствии с ФГОС СПО (2014 г.) по специальности 31.02.03 – Лабораторная диагностика, рабочей программой дисциплины (2015 г.) и СТО СМК 4.2.01-11. Выпуск 3.

Утверждено к печати методическим советом Фармацевтического колледжа (Протокол № от « » 2016).

© ФГБОУ ВО КрасГМУ
им. проф. В.Ф.Войно- Ясенецкого
Минздрава России,
Фармацевтический колледж, 2016

ОГЛАВЛЕНИЕ

ПРАКТИЧЕСКАЯ РАБОТА №1 ОРГАНИЗАЦИЯ РАБОТЫ ЛАБОРАТОРИИ КЛИНИЧЕСКОЙ ИММУНОЛОГИИ.....	4
ПРАКТИЧЕСКАЯ РАБОТА №2 СИСТЕМА ДИФФЕРЕНЦИРОВАННЫХ АНТИГЕНОВ ЛИМФОЦИТОВ	9
ПРАКТИЧЕСКАЯ РАБОТА № 3 ПОКАЗАТЕЛИ КЛЕТОЧНОГО ИММУНИТЕТА	13
ТЕМА ЗАНЯТИЯ №4 ПОКАЗАТЕЛИ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ КЛЕТОК	18
ПРАКТИЧЕСКАЯ РАБОТА №5 ГУМОРАЛЬНЫЙ ИММУНИТЕТ	22
ПРАКТИЧЕСКАЯ РАБОТА №6 ИММУНОПАТОЛОГИЯ И ЕЕ ОСНОВНЫЕ ВИДЫ	27
ПРАКТИЧЕСКАЯ РАБОТА № 7 ПРИНЦИПЫ ДИАГНОСТИКИ АЛЛЕРГИЧЕСКИХ И АУТОИММУННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ.....	30
ПРАКТИЧЕСКАЯ РАБОТА № 8 ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ КЛЕТОК В ДИАГНОСТИКЕ ГЕМОБЛАСТОЗОВ.....	34
ПОСЛЕ ИЗУЧЕНИЯ ДАННОЙ ТЕМЫ ОБУЧАЮЩИЕСЯ ДОЛЖНЫ.....	34
ПРАКТИЧЕСКАЯ РАБОТА № 9 ПРИНЦИПЫ ДИАГНОСТИКИ ИММУНОДЕФИЦИТНЫХ СОСТОЯНИЙ И РЕАКТИВНЫХ СОСТОЯНИЙ.....	38
ПРАКТИЧЕСКАЯ РАБОТА №10 ПРИНЦИПЫ ДИАГНОСТИКИ ИНФЕКЦИЙ.....	41
ПРАКТИЧЕСКАЯ РАБОТА №11 ДИАГНОСТИКА ЗАБОЛЕВАНИЙ, САВЯЗАННЫХ С ИЗМЕНЕНИЕМ СОДЕРЖАНИЯ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ	47
ПРАКТИЧЕСКАЯ РАБОТА № 12 ОСНОВНЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ И ПЕРСПЕКТИВЫ ГИБРИДОМНОЙ БИОТЕХНОЛОГИИ	52
ПРАКТИЧЕСКАЯ РАБОТА № 13 СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ.....	55
ЛИТЕРАТУРА	59

ПРАКТИЧЕСКАЯ РАБОТА №1 ОРГАНИЗАЦИЯ РАБОТЫ ЛАБОРАТОРИИ КЛИНИЧЕСКОЙ ИММУНОЛОГИИ

Значение темы:

Безопасность работы с биологическим материалом имеет важное значение в профилактике профессиональных заболеваний, таких как ВИЧ-инфекция, парентеральные гепатиты и т.п. Неукоснительное соблюдение правил техники безопасности позволяет минимизировать риск инфицирования во время работы.

На основе теоретических знаний и практических умений обучающийся должен **знать:**

- Принцип организации работы иммунологической лаборатории
- Предмет и задачи иммунологии;
- Методы исследования, используемые в иммунологических лабораториях;
- Правила работы и техники безопасности в иммунологических лабораториях;
- Правила сбора, транспортировки и хранения биоматериала;

уметь:

- работать с дозаторами с переменным объемом
- соблюдать правила ТБ

Обучающийся должен овладеть **общими компетенциями:**

ОК 1. Понимать сущность и социальную значимость своей будущей профессии, проявлять к ней устойчивый интерес.

ОК 4. Осуществлять поиск, анализ и оценку информации, необходимой для постановки и решения профессиональных задач, профессионального и личностного развития.

ОК 8. Самостоятельно определять задачи профессионального и личностного развития, заниматься самообразованием, осознанно планировать повышение квалификации.

ОК 9. Быть готовым к смене технологий в профессиональной деятельности

План изучения темы:

1.Контроль исходного уровня знаний.

Ответьте на вопросы:

1. Принципы организации иммунологической лаборатории.
2. Оборудование необходимое для постановки иммунологических реакций.
3. Правила санэпидрежима и техники безопасности необходимые при работе в иммунологической лаборатории.
4. Методы клинической иммунологии и области их применения
5. Оборудование и реагенты, необходимые для иммунологических реакций
6. Характеристика материала, предназначенного для иммунологических исследований, и подготовка его к работе
7. Подготовка рабочего места и особенности работы в стерильных условиях
8. Методы стерилизации посуды.

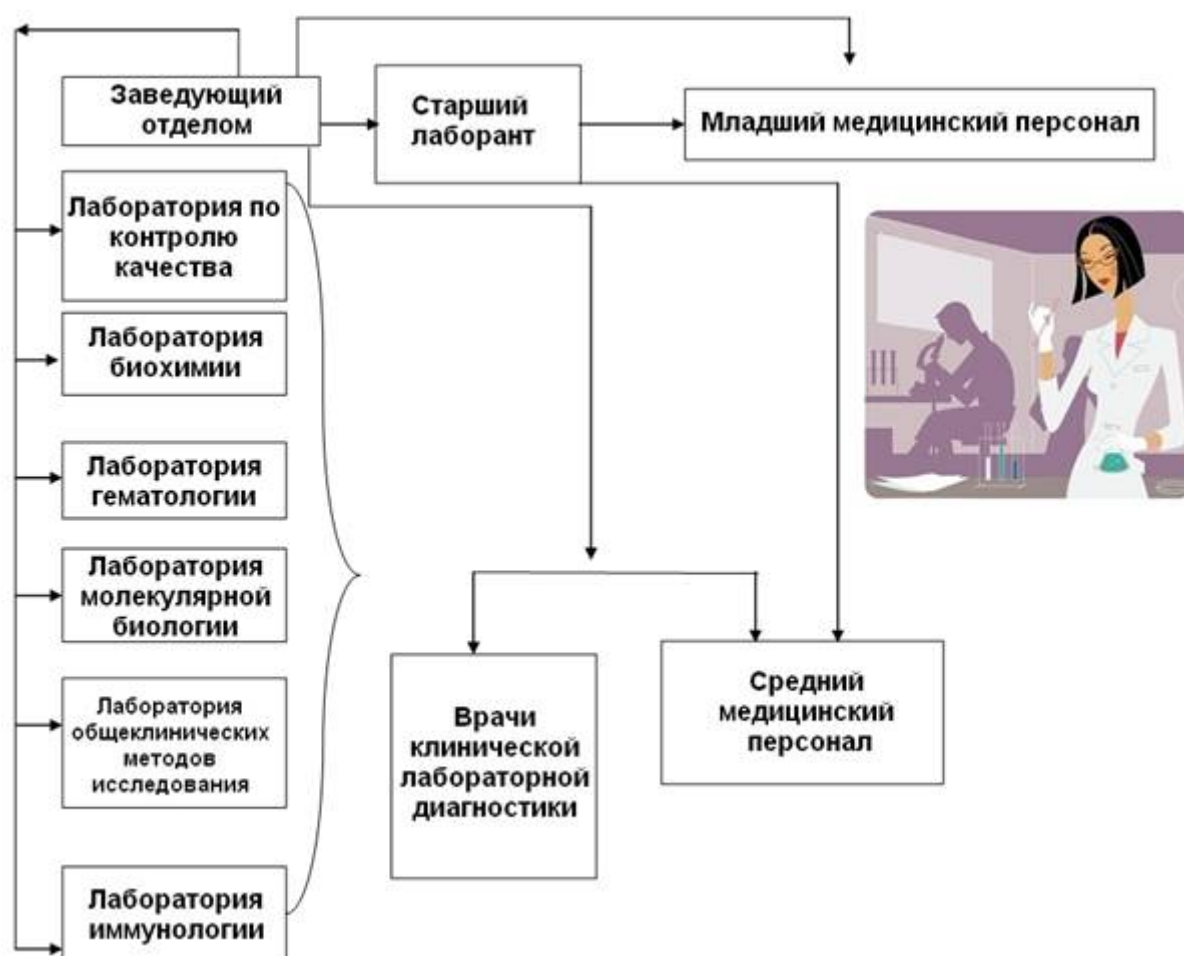
2. Содержание темы:

Экскурсия проводится в специализированных КДЛ при ЛПУ

3. Самостоятельная работа

Задания для самостоятельной работы:

1. Изучить нормативные документы (приложение 1).
2. Ознакомиться с устройством иммунологической лаборатории
3. Ознакомиться с оборудованием и методами, используемыми в иммунологии
4. Составить таблицу сравнительной характеристики биологического материала для иммунологического исследования, его подготовка и хранение.
5. Защита презентаций по теме: « Структура иммунологической лаборатории. Техника безопасной работы».



Приложение №1

Нормативные - методические документы, используемые на занятии:

1. Приказ МЗ СССР от 03.09.91 № 254. О развитии дезинфекционного дела в стране.
2. ОСТ 42-31-2-85. Стерилизация и дезинфекция изделий медицинского назначения (методы, средства и режимы).
3. Приказ МЗ РФ от 12.07.98 № 408. Дезинфекция, предстерилизационная очистка и стерилизация изделий медицинского назначения для профилактики вирусных гепатитов.
4. Приказ МЗ РФ от 25.12.97 №380. О состоянии и мерах по совершенствованию лабораторного обеспечения диагностики и лечения пациентов в учреждениях здравоохранения РФ.
5. Приказ МЗ РФ от 05.10.95 № 280/80. Об утверждении временных перечней вредных, опасных веществ и производственных факторов, а также работ, при выполнении которых проводятся предварительные и периодические медицинские осмотры работников.

6.Приказ МЗ РФ от 25.09.95 №143/270. О создании технического комитета по клиническим лабораторным исследованиям и диагностическим тест-системам инвитро.

Лаборатория в соответствии с этапами проведения анализа должна включать следующий набор последовательно расположенных самостоятельных рабочих зон (помещений) или отдельно выделенных рабочих зон в составе других функциональных помещений, количество которых определяется используемыми МАНК (Приложение 1):

- приема, регистрации, разбора и первичной обработки материала (Рабочая зона 1);
- выделения нуклеиновых кислот (Рабочая зона 2);
- проведения реакции амплификации и учета ее результатов при использовании гибридационно – флуоресцентного метода детекции (Рабочая зона 3);
- учета результатов реакции амплификации нуклеиновых кислот методом электрофореза и (или) гибридационно - ферментным методом детекции (Рабочая зона 4-1);
- учета результатов (детекции) продуктов амплификации нуклеиновых кислот методом секвенирования и (или) на ДНК-чипах (Рабочая зона 4-2).

Таблица 1. Схема для расчета клинико-лабораторных показателей методов

Тест	Болезнь		Комментарии
	Есть	Нет	
Положительный	ИП	ЛП	ИП — истинно положительные ИО — истинно отрицательные
Отрицательный	ЛО	ИО	ЛП — ложноположительные ЛО — ложноотрицательные

Наиболее важными параметрами любого теста являются

- аналитическая точность
- диагностическая чувствительность
- и диагностическая специфичность.

Для сравнения разных диагностических тестов между собой используется понятие аналитической точности, представляющей собой число истинных

результатов к числу всех результатов обследования. С помощью этого показателя можно сопоставить различные методы определения одного показателя при обследовании одной популяции больных.

Таблица 2. Постановка и решение диагностических задач с помощью иммунологической диагностики

Клинический вопрос	Диагностическая задача	Назначение обследования
Как исключить диагноз?	Ранняя диагностика и оценка риска	Скрининговый тест, обладающий высокой чувствительностью
Как подтвердить диагноз?	Дифференциальная диагностика	Подтверждающий тест, обладающий специфичностью
Границы нормы и патологии?	Классификация заболевания	Устанавливаются индивидуально на основе опыта лаборатории и результатов контроля качества
Что значит для больного результат обследования?	Прогноз исхода заболевания	Данные литературы при анализе больших когорт больных
Как часто повторять тест?	Контроль терапии	Учитывать время клиренса исследуемых молекул

4. Итоговый контроль

Тестирование.

5. Подведение итогов.

6. Домашнее задание:

- Система дифференцировочных антигенов лимфоцитов
- подготовка презентаций

ПРАКТИЧЕСКАЯ РАБОТА №2 СИСТЕМА ДИФФЕРЕНЦИРОВОЧНЫХ АНТИГЕНОВ ЛИМФОЦИТОВ

Значение темы:

Дифференцировочные антигены широко и успешно используются для тонкой классификации лейкозов и лимфом. Антигенная структура кроветворных клеток, находящихся на разных направлениях и этапах дифференцировки, изучена весьма полно. Антигены, характеризующие определенное направление и стадию дифференцировки, сохраняются на лейкозных клетках, что позволяет очень точно определить клетку-предшественницу для данного лейкоза и тем самым классифицировать его по происхождению. Это особенно важно для морфологически не дифференцируемых острых лейкозов, а также для Т- и В-лимфом, не отличающихся по морфологии.

На основе теоретических знаний и практических умений обучающийся должен:

знать:

- понятие «дифференцировочные антигены»;
- классификация дифференцировочных антигенов;
- методы дифференцировки антигенов

уметь:

- идентифицировать отдельные виды лейкоциты
- соблюдать правила ТБ

Обучающийся должен овладеть **общими компетенциями:**

ОК 1. Понимать сущность и социальную значимость своей будущей профессии, проявлять к ней устойчивый интерес.

ОК 2. Организовывать собственную деятельность, определять методы и способы выполнения профессиональных задач, оценивать их эффективность и качество.

Обучающийся должен овладеть **профессиональными компетенциями:**

ПК 7.1 Готовить рабочее место и аппаратуру для проведения клинических лабораторных исследований.

ПК 7.3 Проводить контроль качества высокотехнологичных клинических лабораторных исследований.

ПК 7.5 Регистрировать результаты проведенных исследований.

План изучения темы

1. Контроль исходного уровня знаний:

1. Понятие «дифференцировочных антигенов».
2. Классификация дифференцировочных антигенов.
3. Методы выявления антигенов.
4. Клиническое значение определения дифференцировочных антигенов для установления вида опухоли.
5. Основные тесты лабораторной иммунодиагностики.

2. Содержание темы:

Современный этап в иммунологии рака начался в середине 40-х годов, когда Л. Гросс в США получил иммунитет у мышей к канцерогенной саркоме, индуцированной в сингенной системе. Чуть позже (конец 40-х – начало 50-х годов) Л. А. Зильбер у нас в стране и П. Горер в Англии обнаружили в опухолях антигены, отсутствующие в гомологичных нормальных тканях. Тысячи последующих экспериментальных и клинических работ создали область онкологии, в которой можно выделить иммунодиагностику, иммунопрофилактику и иммунотерапию опухолей человека.

3. Самостоятельная работа студентов:

Задания для самостоятельной работы:

1. Перенесите в тетрадь схему №1.
2. Перенести в тетрадь таблицу №1
3. Провести микроскопию готовых окрашенных мазков крови и идентифицировать клетки.
4. Защита презентаций.

Схема 1

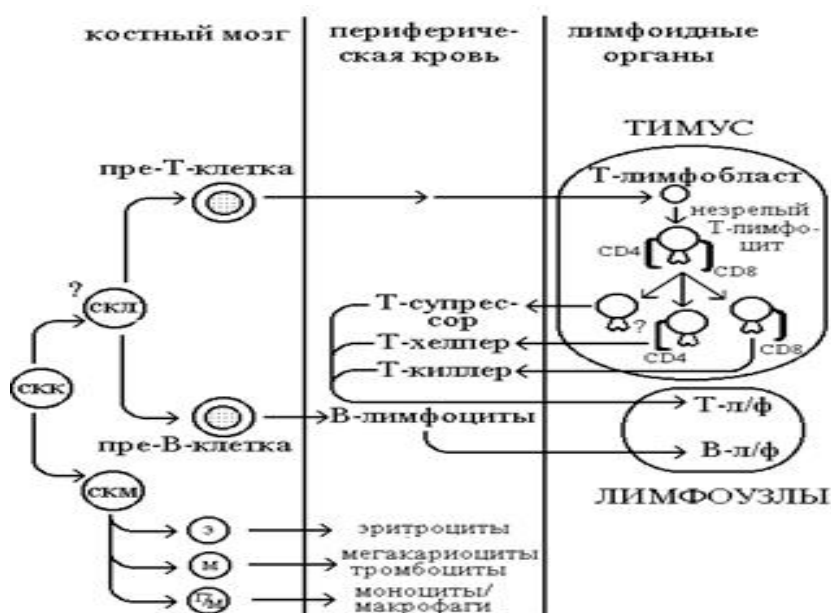


Таблица 1. Опухолевые маркеры как дифференцировочные антигены

Антиген	Маркер опухоли	Дифференцировочный антиген	Причина продукции
Миеломный белок Ig, Бенс Джонса	Плазмоцитома и В-клеточные лейкозы	Моноклональные плазматические клетки и клоны В-лимфоцитов	Сохранение нормальной функции
Альфа-фетопротеин (АФП)	Герминальные опухоли	Висцеральная энтодерма желточного мешка	Сохранение функции
Альфа-фетопротеин (АФП)	Гепатобластома	Гепатобласт	Сохранение функции
Альфа-фетопротеин (АФП)	Гепатоцеллюлярный рак	Фетальный гепатоцит	Возобновление эмбрионального синтеза
Раково-эмбриональный антиген (РЭА)	Коло-ректальные опухоли	Гликокаликс фетального и взрослого кишечного эпителия	Избыточная продукция и нарушение нормальной локализации в клетке
Мукопротеидный антиген (СА-125)	Рак яичников	Гликопротеин целомического эпителия	Избыточная продукция
Антиген простаты (PSA)	Рак простаты	Специфическая протеаза простаты	Избыточная продукция и нарушение путей секреции
Хорионический	Герминальные	Специфический	Сохранение

гонадотропин (b-цепь)	опухоли, хорионэпителиомы (ХЭ)	гормон хориона	нормальной функции ХЭ элементов опухоли
Дифференцировочные антигены опухолей гемопоэтических клеток (CD-антигены)	Различные формы опухолей кроветворной ткани	CD-маркеры кроветворных опухолей разных направлений и стадий дифференцировки	«Замороженны е» стадии дифференцировки

Таблица №2

Антигены	Норма (%)	Показатели						
		Без инкубации и этанола	1 час инкубации	1 час инкубации с этанолом	1 час инкубации с ФМ № 7			
					большая доза	средняя доза	малая доза	p
CD3	60-75	59,4±2,2	58,6±1,9	58,7±2,3	65,6±2,1	59,2±2,0	61,5±1,8	<0,001
CD4	35-46	32,0±1,5	34,0±1,9	34,7±1,9	38,9±1,8	31,5±2,3	36,4±2,4	0,002
CD8	25-30	25,3±1,7	24,7±1,8	23,2±1,6	22,2±1,3	28,3±1,9	25,5±1,9	0,307
CD20	5-15	6,1±0,5	6,0±0,8	6,1±0,7	9,2±0,6	6,4±1,0	6,8±0,9	<0,001
CD16	10-20	12,1±0,9	10,5±1,1	11,5±1,1	17,8±1,4	12,7±1,5	15,1±2,1	<0,001
CD11b	15-20	17,8±1,2	17,6±1,3	15,9±1,0	19,5±1,3	15,3±1,7	17,5±2,2	<0,001
CD18	56-64	55,9±1,9	56,6±2,1	58,5±2,9	62,0±1,9	59,7±4,5	60,3±3,2	0,023
CD4/CD8	1,5-1,9	1,47±0,1	1,38±0,1	1,63±0,1	1,93±0,15	1,26±0,1	1,45±0,1	0,012

Таблица 3. Клинические примеры нарушения хелперно-супрессорного индекса (Тх/Тс)

Снижение индекса	Увеличение индекса
СКВ с поражением почек	Ревматоидный артрит
Острая цитомегаловирусная инфекция	Диабет I типа (инсулинзависимый)

СПИД	СКВ без поражения почек
Герпес	Первичный билиарный цирроз
Инфекция вирусом Эпштейна—Барр (инфекционный мононуклеоз)	Атопический дерматит Псориаз
Инсоляция или длительная экспозиция ультрафиолетовыми лучами	Хронический аутоиммунный гепатит
Новорожденность	
Состояние после пересадки костного мозга	

4. Итоговый контроль

Тестирование.

5. Подведение итогов.

6. Домашнее задание:

- Показатели клеточного иммунитета
- Подготовка презентаций

ПРАКТИЧЕСКАЯ РАБОТА № 3 ПОКАЗАТЕЛИ КЛЕТОЧНОГО ИММУНИТЕТА

Значение темы:

Благодаря наличию иммунной системы организм защищен от большинства болезнетворных микроорганизмов (вирусов, бактерий, грибов, простейших, гельминтов) и токсических продуктов их жизнедеятельности. Иммунитет также защищает организм от воздействия различных веществ, обладающих чужеродными свойствами (например, растительных и животных ядов), от развития опухолевых клеток. Кроме того, иммунитет определяет исход трансплантации органов и тканей, в т.ч. переливания крови, контролирует внутриутробное развитие плода и процессы старения.

На основе теоретических знаний и практических умений обучающийся должен

знать:

- Антигены, их свойств.
- Классификация антигенов.

- Формирование иммунного ответа.
- Фагоцитоз.
- Трёх клеточная кооперация.
- Реакции клеточного иммунитета (формирование гранулёмы).

уметь:

- Интерпретировать результаты исследования клеточного звена

Обучающийся должен овладеть **общими компетенциями:**

ОК 1. Понимать сущность и социальную значимость своей будущей профессии, проявлять к ней устойчивый интерес.

ОК 2. Организовывать собственную деятельность, определять методы и способы выполнения профессиональных задач, оценивать их эффективность и качество.

ОК 13. Организовывать рабочее место с соблюдением требований охраны труда, производственной санитарии, инфекционной и противопожарной безопасности.

Обучающийся должен овладеть **профессиональными компетенциями:**

ПК Готовить рабочее место и аппаратуру для проведения клинических лабораторных исследований.

ПК Дифференцировать результаты проведенных исследований с позиции «норма - патология».

План изучения темы

1. Контроль исходного уровня знаний:

1. Антигены, их свойства.
2. Классификация антигенов.
3. Формирование иммунного ответа.
4. Фагоцитоз.
5. Трёх клеточная кооперация.
6. Реакции клеточного иммунитета (формирование гранулёмы)

2. Содержание темы:

Изучение методов определения активированных натуральных киллеров, активированных Т-лимфоцитов, неактивированных Т-хелперов и механизма клеточного иммунитета. Понятие «антиген», классификация и виды. Механизм формирования гранулёмы.

3. Самостоятельная работа

Задания для самостоятельной работы:

1. Зарисовать схему №1 механизма клеточного иммунитета.
2. Законспектировать методику определения фагоцитарной способности лейкоцитов.
3. Изучить классификацию и виды антигенов.
4. Провести микроскопию готовых окрашенных мазков крови и идентифицировать клетки.

Схема №1

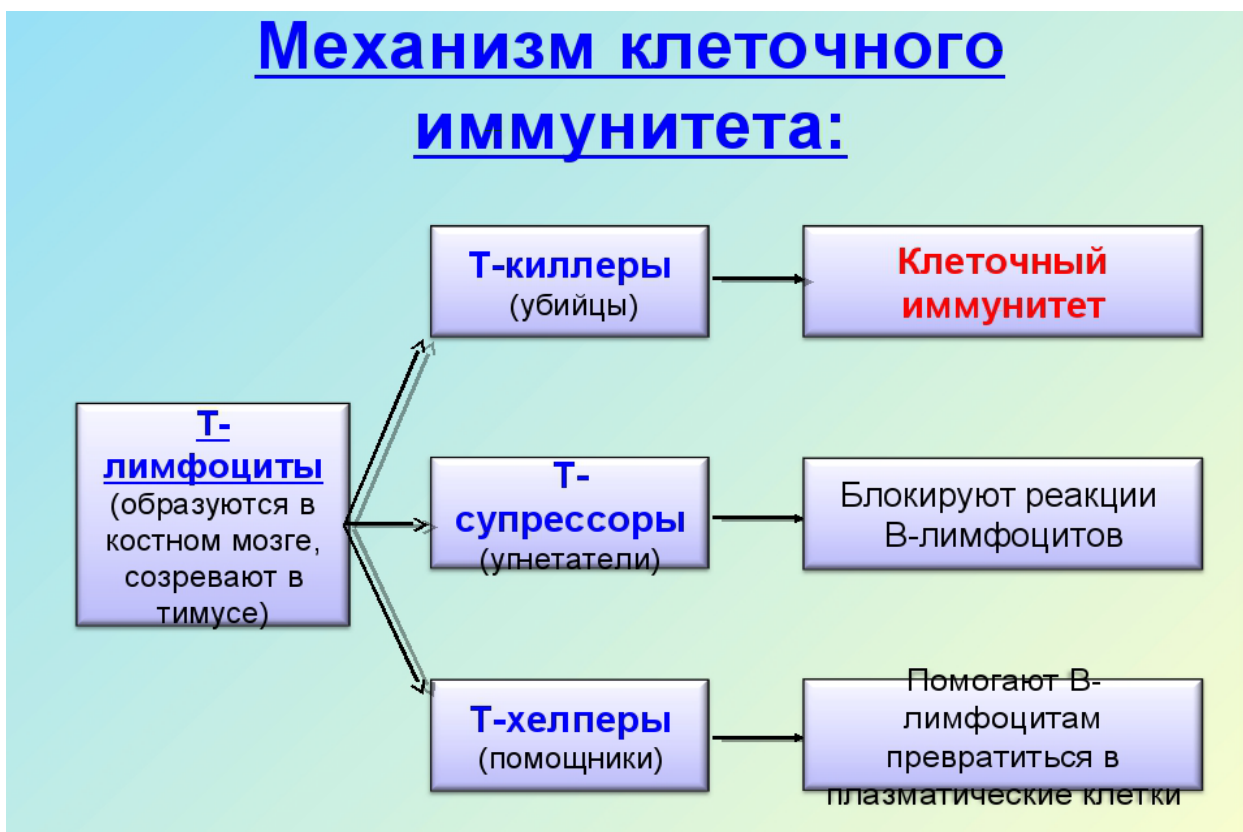
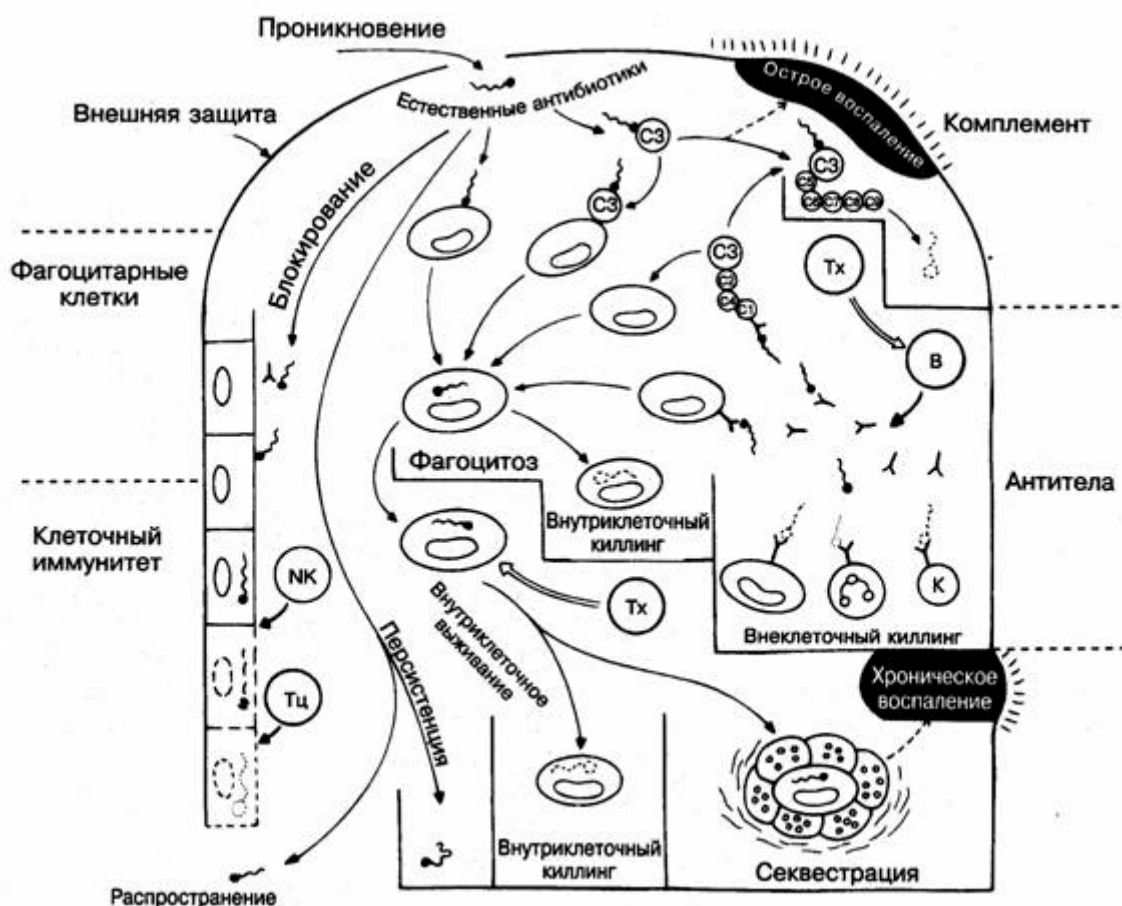


Схема №2



Схема №3



Методы определения фагоцитарной способности лейкоцитов.

О фагоцитарной способности лейкоцитов крови судят по их фагоцитарной активности, фагоцитарному, опсонофагоцитарному индексам и показателю заверщенного фагоцитоза.

1. Определение фагоцитарной активности лейкоцитов.

В узкую стерильную пробирку наливают 0,2 мл. 2% натрия цитрата, 0,1 мл. исследуемой крови, взятой из пальца и 0,5 мл. активности бактериальной взвеси (500 мл. м. т. В 1 мл).

В качестве тест- бактерий используют , например, стафилококк или эшерихии. Смесь инкубируют при t 37C в течении 30 мин., затем готовят мазки, фиксируют в смеси Никифорова и окрашивают по Романовскому-Гимзе. При микроскопии подсчитывают не менее 100 нейтрофилов. Их фагоцитарная активность выражается в % к общему числу нейтрофилов.

2. Определение фагоцитарного индекса.

Фагоцитарный индекс- это среднее число фагоцитированных бактерий в одном лейкоците.

Для его определения в препаратах подсчитывают 100 нейтрофилов и количество поглощенных ими бактерий.

Фагоцитарный индекс вычисляют делением числа фагоцитированных бактерий на общее число нейтрофилов(100). Например : 100 лейкоцитов фагоцитировали 540 бактерий – фагоцитарный индекс равен 5,4

3.Определение опсонофагоцитарного индекса.

Установлено, что в иммунной сыворотке резко повышается титр антител, стимулирующих фагоцитоз. Они называются опсонины(греч. Opsonion-снабжение пищей). О содержании их в крови можно судить по индексу, который высчитывается простым делением фагоцитарного индекса иммунной сыворотки на соответствующий индекс нормальной.

4.Опсонофагоцитарная проба.

Более достоверные данные об опсонизирующих свойствах сывороток получают по этой пробе.

В небольшую пробирку последовательно наливают 0,25 мл. 2% цитрата натрия, 0,25 мл. крови и 0,25 мл. двухмиллиардной взвеси возбудителя. Пробирку помещают на 30 мин. При t 30С в термостат, затем готовят мазки, фиксируют метиловым спиртом и окрашивают по Романовскому- Гимзе. В препаратах подсчитывают количество микроорганизмов, фагоцитированных 25 нейтрофилами.

Для оценки опсонофагоцитарной пробы предложен **числовой показатель**, представляющий собой сумму произведений , полученных в результате умножения количества лейкоцитов на соответствующее число плюсоа, характеризующих интенсивность фагоцитоза.

5.Показатель завершенности фагоцитоза.

Это количество деградированных бактерий в расчёте на 100 лейкоцитов, но самым точным его индикатором будет отсутствие роста бактерий на питательной среде, засеянной лейкоцитарно- бактериальной массой, которая использовалась для вычисления показателя опсонофагоцитарной пробы.

4. Итоговый контроль

Тестирование.

5. Подведение итогов.

6.Домашнее задание:

- Показатели функциональной активности клеток
- Подготовка презентаций

ТЕМА ЗАНЯТИЯ №4 ПОКАЗАТЕЛИ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ КЛЕТОК

Значение темы:

Определение основных популяций (Т-клетки, В-клетки, натуральные киллеры) и субпопуляций Т-лимфоцитов (Т-хелперы, Т-ЦТЛ). Для первичного исследования иммунного статуса и выявления выраженных нарушений иммунной системы ВОЗ рекомендовано определение CD3, CD4, CD8, CD19, CD16+56, соотношение CD4/CD8. Исследование позволяет определить относительное и абсолютное количество основных популяций лимфоцитов: Т-клетки – CD3, В-клетки – CD19, натуральные киллеры (NK) – CD3- CD16++56+, субпопуляции Т лимфоцитов (Т-хелперы CD3+ CD4+, Т-цитотоксические CD3+ CD8+ и их соотношение).

На основе теоретических знаний и практических умений обучающийся должен:

знать:

- Этапы созревания Т – и В – клеток по схеме гемопоэза,
- методы выделения лимфоцитов, деления лимфоцитов на субпопуляции
- розеткообразования,
- пэннинга,
- магнитное разделение

уметь:

- идентифицировать отдельные виды лейкоциты
- соблюдать правила ТБ

Обучающийся должен овладеть **общими компетенциями:**

ОК 1. Понимать сущность и социальную значимость своей будущей профессии, проявлять к ней устойчивый интерес.

ОК 2. Организовывать собственную деятельность, определять методы и способы выполнения профессиональных задач, оценивать их эффективность и качество.

ОК 5. Использовать информационно-коммуникационные технологии для совершенствования профессиональной деятельности

Обучающийся должен овладеть **профессиональными компетенциями:**

ПК Готовить рабочее место и аппаратуру для проведения клинических лабораторных исследований.

ПК Дифференцировать результаты проведенных исследований с позиции «норма - патология».

План изучение темы

1. Контроль исходного уровня знаний:

Ответьте на вопросы:

1. Основные виды иммунитета
2. Схема иммунного ответа
3. Основные показатели клеточного и гуморального иммунитета
4. Происхождение и пути развития Т- и В- лимфоцитов
5. Основные функции Т- лимфоцитов и их маркеры.
6. Основные функции В- лимфоцитов и их маркеры
7. Роль лимфоцитов в иммунитете.

2. Содержание темы:

Изучение методов определения цитолитических Т-лимфоцитов, В-лимфоциты, Натуральные киллеры (НК), Реакция бласттрансформации лейкоцитов (РБТЛ) с митогеном (ФГА), Реакция бласттрансформации с одним из антигенов, Соотношение CD4/CD8, Т-лимфоциты (CD3+) Т-супрессорно/цитотоксические лимфоциты (CD3+CD8+), Т-хелперные лимфоциты (CD3+CD4+). Функциональная активность фагоцитирующих клеток крови. Защита презентации: Значение клеточных показателей при трансплантации органов и костного мозга.

3. Самостоятельная работа

1. Перенести в тетрадь схемы №1.
2. Ознакомиться с методами оценки клеточного иммунитета
3. Защита презентаций.

Схема №1 Клеточный иммунитет



Метод исследования

Имунофенотипирование лимфоцитов проводится с использованием моноклональных антител к поверхностным дифференцировочным антигенам на клетках иммунной системы, методом проточной лазерной цитофлуориметрии на проточных цитофлуориметрах.

Выбор зоны анализа лимфоцитов производится по дополнительному маркеру CD45, который представлен на поверхности всех лейкоцитов.

Условия взятия и хранения образцов

Венозная кровь, взятая из локтевой вены, утром, строго натощак, в вакуумную систему до указанной на пробирке метки. В качестве антикоагулянта используется К2ЭДТА. После взятия пробирку с образцом медленно переворачивают 8-10 раз для перемешивания крови с антикоагулянтом. Хранение и транспортировка строго при 18–23°C в вертикальном положении не более 24 ч.

Невыполнение этих условий приводит к некорректным результатам.

Интерпретация результатов

Т-лимфоциты (CD3+ клетки). Повышенное количество свидетельствует о гиперактивности иммунитета, наблюдается при острых и хронических лимфолейкозах. Увеличение относительного показателя встречается при некоторых вирусных и бактериальных инфекциях в начале заболевания, обострениях хронических заболеваний.

Снижение абсолютного количества Т-лимфоцитов свидетельствует о недостаточности клеточного иммунитета, а именно о недостаточности клеточно-эффекторного звена иммунитета. Выявляется при воспалениях разнообразной этиологии, злокачественных новообразованиях, после травмы, операций, инфаркта, при курении, приеме цитостатиков. Повышение их числа в динамике заболевания – клинически благоприятный признак.

Клеточные методы оценки иммунитета

Реакция бласттрансформации лимфоцитов (РБТЛ).

Переход малых лимфоцитов в бластные формы, способные к пролиферации и дальнейшей дифференцировке называется бласттрансформацией и сопровождается морфологическими изменениями лимфоцитов. Бласты – крупные, округлой формы клетки имеют большое ядро, занимающее большую часть цитоплазмы. В ядре содержится несколько крупных базофильных ядрышек, цитоплазма бластов зернистая. Одна

бластная клетка может дать клон из 16-32 и даже 64 клеток, обладающих более высокой иммунокомпетентностью, чем исходный лимфоцит. Бласттрансформация лимфоцитов может быть вызвана специфическими антигенами и неспецифическими стимуляторами (митогенами). К бактериальным митогенам относятся полисахариды грамотрицательных бактерий, туберкулин микобактерий и др.

Способностью вызывать бласттрансформацию лимфоцитов обладают отдельные продукты животного (иммуноглобулин, выделенный из гетерологичной иммунной сыворотки) и растительного (фитогемагглютинин – ФГА) происхождения.

При постановке РБТЛ кровь или выделенные из нее лейкоциты вносят в среду RPMI или Игла, затем добавляют антиген или митоген. Учет реакции после внесения митогенов проводят через 2-4 суток, а после стимуляции антигенами через 3-5 суток. Неспецифический митоген ФГА трансформирует в бласты 30-50%, а ЛПС – до 30% лимфоцитов крови человека. Под влиянием специфических антигенов в бласты трансформируются не более 5-10% малых лимфоцитов.

Результаты РБТЛ можно учитывать морфологически – прямым подсчетом бластов на окрашенных препаратах под микроскопом или радиометрическим методом, измеряя уровень включения в ДНК лимфоцитов тимидина, меченного тритием.

Реакция подавления миграции лейкоцитов (РПМЛ).

Сущность ее в том, что в присутствии антигенов лимфоциты выделяют цитокины (лимфокины), в частности, фактор, подавляющий миграцию нейтрофилов и макрофагов. К взвеси лейкоцитов добавляют антиген и заполняют ею капиллярные трубочки (контроль – без антигена или посторонний антиген). Эти капилляры помещают в камеры или лунки, заполненные питательной средой. После инкубации при 37⁰С 18 часов измеряют зону миграции клеток из капилляров или подсчитывают их количество в лунке. Если есть иммунные клетки (т.е. организм сенсibilизирован к антигену), то миграция лейкоцитов подавляется.

4. Итоговый контроль знаний.

Тестирование.

5. Подведение итогов.

6. Домашнее задание:

- Гуморальный иммунитет
- Подготовка презентаций

ПРАКТИЧЕСКАЯ РАБОТА №5 ГУМОРАЛЬНЫЙ ИММУНИТЕТ

Значение темы:

Иммунитет подразделяется на гуморальный и клеточный, хотя они выполняют различные функции, но при этом они тесно взаимосвязаны, и их разделение условно. Гуморальный иммунитет – это защита организма от инфекций, осуществляемая белками антигенами, растворимыми в крови и жидкостях нашего организма. В основе этого процесса лежит специфическое взаимодействие антител с антигенами.

На основе изучения темы обучающийся должен **знать:**

- Теорию образования антител.
- Фазы гуморального иммунного ответа.
- Классы иммуноглобулинов.
- Свойства и функции иммуноглобулинов.
- Взаимодействие антиген – антитело.

уметь:

- идентифицировать отдельные виды лейкоциты

овладеть ОК и ПК

Обучающийся должен овладеть **общими компетенциями:**

ОК 1. Понимать сущность и социальную значимость своей будущей профессии, проявлять к ней устойчивый интерес.

ОК 2. Организовывать собственную деятельность, определять методы и способы выполнения профессиональных задач, оценивать их эффективность и качество.

ОК 6. Работать в коллективе и команде, эффективно общаться с коллегами, руководством, потребителями.

Обучающийся должен овладеть **профессиональными компетенциями:**

ПК 7.1. Готовить рабочее место и аппаратуру для проведения клинических лабораторных исследований.

ПК 7.4. Дифференцировать результаты проведенных исследований с позиции «норма - патология».

План изучения темы

1. Контроль исходного уровня знаний:

1. Теория образования антител.

2. Фазы гуморального иммунного ответа.
3. Классы иммуноглобулинов.
4. Свойства и функции иммуноглобулинов.
5. Взаимодействие антиген – антитело

2. Содержание темы:

Изучение методов определения иммуноглобулина G (IgG), сывороточный иммуноглобулин А (IgA), сывороточный иммуноглобулин М (IgM), Циркулирующие иммунные комплексы (ЦИК), Иммунологическое обследование (CD3+, CD3+56+, CD3+HLA-DR+, CD3+CD4+, CD4+45RA+, CD3+CD8+, CD4/CD8+, CD19+, CD16/56+, CD16/56+8+, IgA, IgG, IgM, ЦИК, активность фагоцитоза, НСТ-тест спонтанный, НСТ-тест стимулированный, СН50), Концентрация иммуноглобулинов IgG, IgA, IgM, Концентрация циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) Защита презентации Качественные и количественные методы определения сывороточных иммуноглобулинов.

3. Самостоятельная работа.

Задания для самостоятельной работы:

1. Перенести в тетрадь схему №1 и изучить строение иммуноглобулина.
2. Перенести в тетрадь таблицы №2,3.
3. Ознакомиться с методами оценки гуморального иммунитета.
4. Защита презентаций.

Схема №1

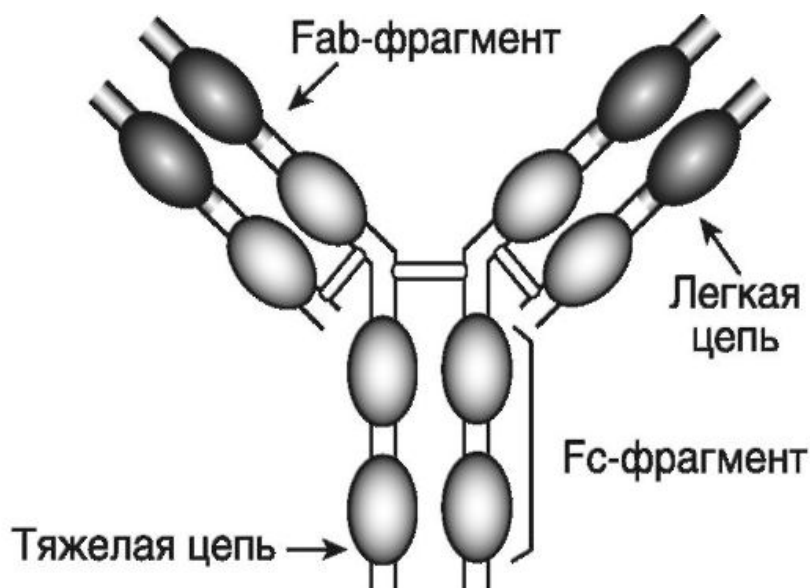


Схема №2

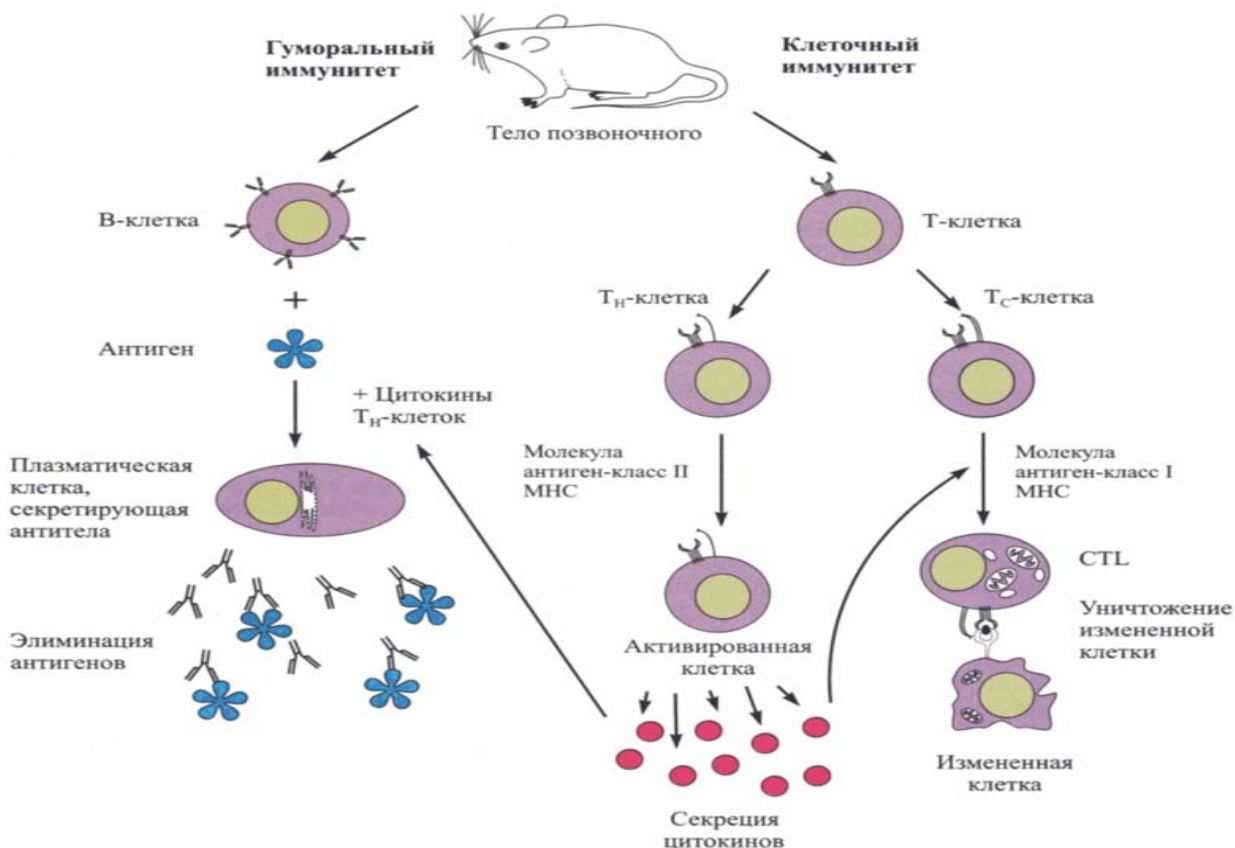


Таблица 2. Основные факторы врождённого и приобретённого иммунитета

Система врождённого иммунитета	
Гуморальные факторы	Клеточные факторы
- Лизоцим;	- Дендритные клетки;
- лактоферрин;	- моноциты;
- комплемент;	- макрофаги;
- пептиды-антибиотики;	- нейтрофилы;
- острофазовые белки;	- естественные киллеры;
- доиммунные цитокины (ИФН α/β , ФНО- α , ИЛ- 1β и др.);	- эозинофилы;
- калликреин-кининовая система;	- базофилы крови;
- фактор Хагемана;	- тучные клетки;
- эйкозаноиды;	- тромбоциты;
- тромбоцитарноактивирующий фактор и др.	- эритроциты
Факторы, занимающие промежуточное положение	
Гуморальные факторы	Клеточные факторы
- Естественные антитела	- γ/δ Т-лимфоциты;
	- естественные киллерные Т-клетки
Система приобретённого иммунитета	
Гуморальные факторы:	Клеточные факторы
- Специфические антитела разных классов (M, G, A, E, D)	- Т-лимфоциты;
	- В-лимфоциты;
	- плазматические клетки

Таблица №3

В- клетки и гуморальный иммунитет

Задача исследований		Методы	
1-го уровня	2-го уровня	Количественные	Оценки функциональной активности
<p>- количественное определение уровня IgG, IgM, IgA и IgE в сыворотке крови;</p> <p>- определение процента и абсолютного количества В-лимфоцитов (CD19, CD20) в периферической крови.</p>	<p>- количественное определение субклассов IgG и sIgA;</p> <p>- определение соотношения κ- и λ-цепей;</p> <p>- определение специфических антител к белковым и полисахаридным антигенам;</p> <p>- определение способности лимфоцитов к пролиферативному ответу на В-митогены (лппополисахарид, стафилококк) и Т-В-митогены (митоген лаконоса).</p>	<p>- РИД,</p> <p>- ИФА,</p> <p>- РИФ,</p> <p>- FACS</p> <p>- ИФА в точках (ELISPOT),</p> <p>- метод комплементарного розеткообразования</p> <p>- метод гемолитических бляшек</p>	<p>- иммунизация (иммунный ответ in vivo на антигены) -- гемолитическая активность комплемента (CH₅₀)</p>

Свойства иммуноглобулинов человека

IgG	Доминирует среди Ig во внутренних жидкостях организма, особенно в экстравакулярной, где обеспечивает защиту от микроорганизмов и токсинов.
IgA	Основной Ig слизистых секретов. Обеспечивает защиту слизистых оболочек от инфекций.
IgM	Эффективно агглютинирует антигены; синтезируется на ранних стадиях иммунного ответа - образует первую линию обороны при бактериемии.
IgD	Большая часть IgD связана с поверхностной мембраной лимфоцитов.
IgE	Связывание антигенов на слизистых оболочках. Привлекает антимикробные агенты. Участвует в защите от бактериальных инвазий. Обеспечивает появление симптомов аллергии.

Метод комплементарного розеткообразования.

Метод учитывает тот факт, что на мембране В-лимфоцитов расположены рецепторы к Fc-фрагментам иммуноглобулинов и к третьему компоненту комплемента.

Нагружая эритроциты человека иммуноглобулинами или комплексом иммуноглобулинов и комплемента, добиваются соединения эритроцитов с В-лимфоцитами. Как и при подсчете Т-лимфоцитов, розеткообразующим считается лимфоцит, к которому прикреплено не менее трех эритроцитов.

На мембране В-лимфоцитов имеются также рецепторы к эритроцитам мыши. В связи с этим ряд авторов предлагают определять число В-лимфоцитов с помощью метода спонтанного розеткообразования с эритроцитами мыши. Более точные методы выявления В-лимфоцитов основаны на обработке лимфоцитов флюоресцентными антииммуноглобулиновыми сыворотками против того или иного класса иммуноглобулинов.

При этом подсчет В-лимфоцитов производят с помощью флюоресцентного микроскопа или автоматического лазерного сортера клеток с использованием моноклональных антител. В периферической крови здорового человека В-лимфоциты составляют 10 — 30% общего числа лимфоцитов, или 100 — 900 клеток в 1 мм³ крови.

Определение концентрации иммуноглобулинов в сыворотке крови.

Наибольшее распространение получил метод радиальной иммунодиффузии в геле по Манчини. Принцип метода заключается в том, что образцы исследуемых сывороток помещают в лунки агара, содержащего антитела против того или иного класса иммуноглобулинов. Иммуноглобулины из сыворотки диффундируют в агар и взаимодействуют с антителами, образуя кольца преципитации. О содержании иммуноглобулинов в сыворотке судят по величине диаметра кольца преципитации.

Существует также методика определения концентрации иммуноглобулинов в сыворотке крови с помощью лазерной нефелометрии. Она предполагает использование моноспецифических кроличьих антисывороток против иммуноглобулинов человека, отличается высокой точностью и быстротой исполнения.

Нормальным считается следующее содержание иммуноглобулинов в сыворотке крови здорового человека: М — 0,5 — 2 г/л, G — 7 — 20 г/л, А — 0,7 — 5 г/л.

4. Итоговый контроль знаний.

Тестирование

5. Подведение итогов.

6. Домашнее задание:

- Иммунопатология и ее основные виды.
- Подготовка презентаций.

ПРАКТИЧЕСКАЯ РАБОТА №6 ИММУНОПАТОЛОГИЯ И ЕЕ ОСНОВНЫЕ ВИДЫ

Значение темы:

Как и любые системы организма, иммунная система подвержена патологическим процессам. Область теоретической и практической медицины, изучающая закономерности нарушений (повреждений) иммунной системы, лежащие в основе различных патологических процессов и заболеваний получила название *иммунопатология*.

На основе изучения темы обучающийся должен:

знать:

- Виды иммунитета.
- Этапный подход для оценки иммунного статуса.
- Варианты функционирования иммунной системы.
- Методы оценки состояния иммунной системы, функциональных возможностей отдельных звеньев иммунитета.
- Толерогены – антигены, вызывающие иммунологическую толерантность.
- Виды иммунологической толерантности.
- Механизмы формирования иммунологической толерантности.

овладеть ОК и ПК

Обучающийся должен овладеть **общими компетенциями:**

ОК 1. Понимать сущность и социальную значимость своей будущей профессии, проявлять к ней устойчивый интерес.

ОК 2. Организовывать собственную деятельность, определять методы и способы выполнения профессиональных задач, оценивать их эффективность и качество.

ОК 4. Осуществлять поиск, анализ и оценку информации, необходимой для

постановки и решения профессиональных задач, профессионального и личностного развития.

ОК 8. Самостоятельно определять задачи профессионального и личностного развития, заниматься самообразованием, осознанно планировать повышение квалификации.

Обучающийся должен овладеть **профессиональными компетенциями:**

ПК 7.1 Готовить рабочее место и аппаратуру для проведения клинических лабораторных исследований.

ПК 7.4 Дифференцировать результаты проведенных исследований с позиции «норма - патология».

ПК 7.5 Регистрировать результаты проведенных исследований.

План изучения темы

1. Контроль исходного уровня знаний:

1. Дать определение иммунного статуса.
2. Варианты функционирования иммунной системы.
3. Этапный подход в оценки иммунного статуса.
4. Оценка работы отдельных звеньев иммунной системы.
5. Толерогены , их виды.
6. Виды иммунологической толерантности .
7. Механизм формирования иммунологической толерантности.

2. Содержание темы:

Иммунные реакции — это часть общих защитных реакций организма. Иммунные реакции обеспечивают жизнеспособность организма. Подавляющее большинство заболеваний связано с иммунными нарушениями.

В нормально функционирующем организме иммунные реакции должны быть (подобно кровяному давлению) адекватными (нормальными) - их неоправданное повышение или понижение приводит к патологическому состоянию организма (т.е. и выше плохо, и ниже плохо).

Неадекватные повышения иммунных реакций (гипериммунный ответ) называются аллергии.

Неадекватные понижения иммунных реакций (иммунного ответа) называются иммунодефицитные состояния (иммунодефициты).

3. Самостоятельная работа.

Задания для самостоятельной работы:

1. Составить таблицу видов иммунопатологии, их причины и сравнительная характеристика.
2. Изучение видов иммунопатологии. Составление таблицы сравнительной характеристики.
3. Перенести в тетрадь схему №1,2.
4. Защита презентаций.

Неадекватные понижения иммунных реакций (иммунного ответа) называются иммунодефицитные состояния (иммунодефициты).

Выделяют 5 основных типов иммунопатологии:

Схема №1



Трансплантология имеет несколько направлений:

- ксенотрансплантация — трансплантация органов и/или тканей от животного другого биологического вида;
- аллотрансплантация — трансплантация, при которой донором трансплантата является генетически и иммунологически другой человеческий организм;
- искусственные органы;
- клонирование органов из стволовых клеток;
- аутотрансплантация — реципиент трансплантата является его донором для самого себя.

4. Итоговый контроль знаний.

Тестирование

5. Подведение итогов.

6. Домашнее задание:

- Принципы диагностики аллергических и аутоиммунных заболеваний.
- Подготовка презентаций.

ПРАКТИЧЕСКАЯ РАБОТА № 7 ПРИНЦИПЫ ДИАГНОСТИКИ АЛЛЕРГИЧЕСКИХ И АУТОИММУННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ.

Значение темы:

Аллергия относится к «болезням цивилизации», увеличение доли городского населения – урбанизация, химизация порождающая громадное количество искусственных веществ, используемых в различных сферах жизни человека. Защита организма от патогенов в новых условиях существования меняется и развивается измененная реакция защиты -аллергия

В результате изучения данной темы обучающийся должен **знать:**

- Факторы, определяющие развитие аллергии.

- Фазы развития аллергической реакции.
- Виды реакций гиперчувствительности.
- Стадии развития аллергической реакции.
- Группы аутоиммунных заболеваний.
- Аутоиммунные заболевания и близкие к ним патологические процессы.
- Методы диагностики аллергических и аутоиммунных заболеваний.

уметь:

- Оценивать качественный и количественный состав иммуноглобулинов
- трактовать результаты исследования

овладеть ОК и ПК

Обучающийся должен овладеть **общими компетенциями:**

ОК 1. Понимать сущность и социальную значимость своей будущей профессии, проявлять к ней устойчивый интерес.

ОК 2. Организовывать собственную деятельность, определять методы и способы выполнения профессиональных задач, оценивать их эффективность и качество.

ОК 5. Использовать информационно-коммуникационные технологии для совершенствования профессиональной деятельности.

ОК 8. Самостоятельно определять задачи профессионального и личностного развития, заниматься самообразованием, осознанно планировать повышение квалификации.

Обучающийся должен овладеть **профессиональными компетенциями:**

ПК 7.1 Готовить рабочее место и аппаратуру для проведения клинических лабораторных исследований.

ПК 7.4 Дифференцировать результаты проведенных исследований с позиции «норма - патология».

План изучения темы

1. Контроль исходного уровня знаний:

1. Понятие об аллергии.
2. Антигены, вызывающие аллергию
3. Классификация антигенов.
4. Этиология развития аллергии.
5. Патогенез. ГНТ. ГЗТ.

6. Принципы диагностики.

7. Аутоиммунные заболевания.

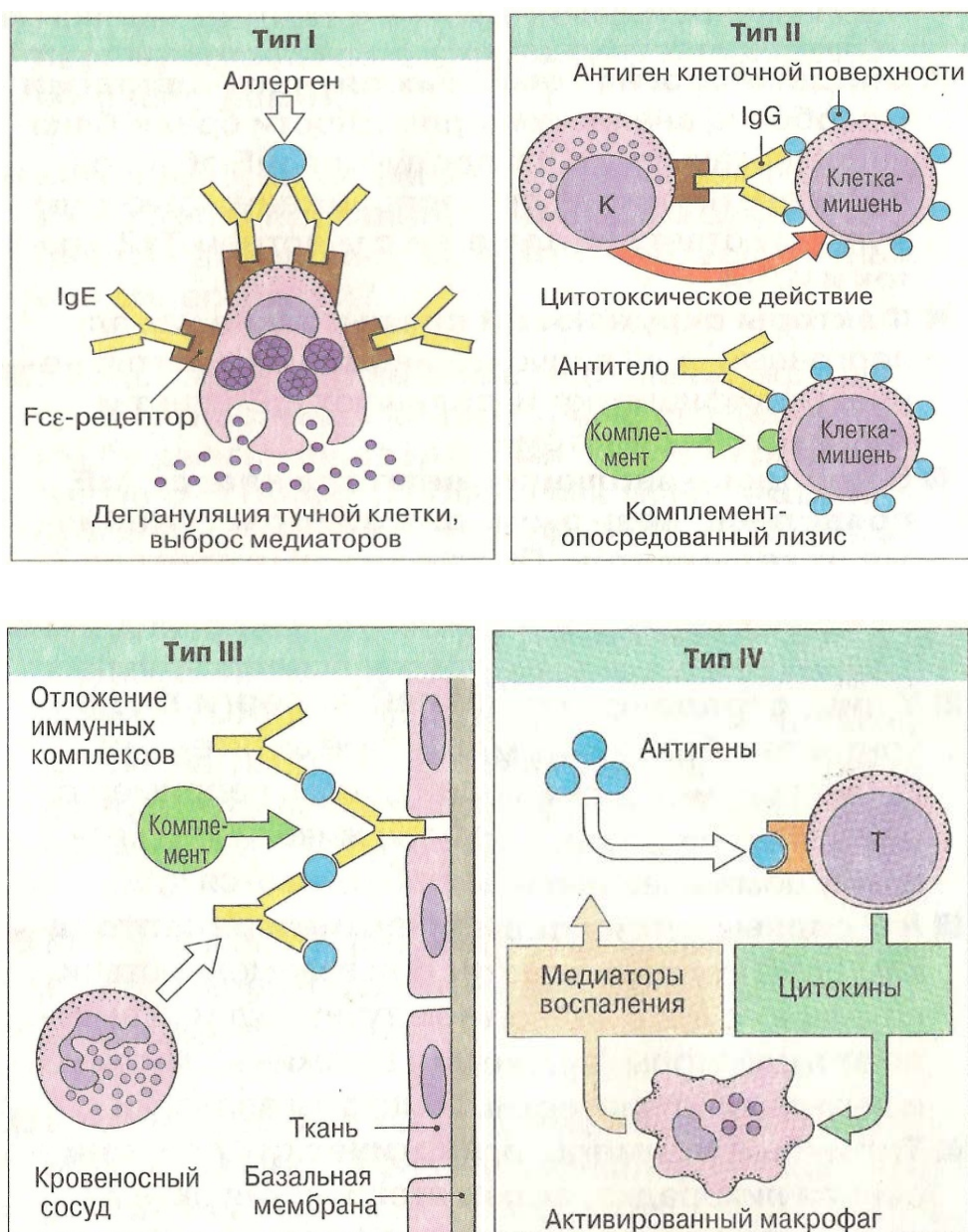
2. Содержание темы:

Изучение методик определения аллергологического статуса (аллергоскрининг), определение специфичных IgE методом MAST CLA. Секреторный иммуноглобулин А, Secretory IgA (sIgA), Суммарные иммуноглобулины Е, IgE Суммарные иммуноглобулины Е, IgE. Защита презентации: Методы выявления аллергенов хемилюминесцентным (MAST CLA) и ИФА

3. Самостоятельная работа.

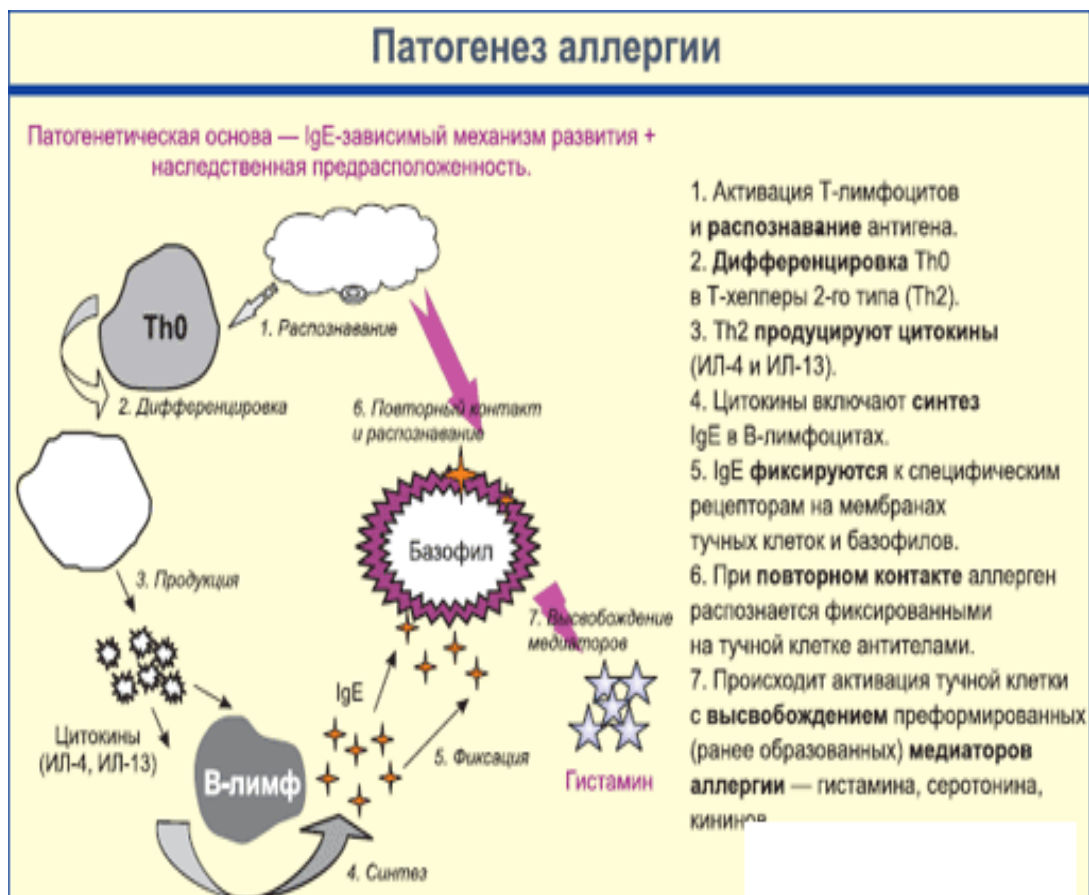
Задания для самостоятельной работы:

1. Проанализировать схемы: "ГНТ", "ГЗТ", Патогенез аллергии.



2. Заполнить таблицу « Аллергические реакции»

Реакция	Ag	At	Патогенез	Клиника
Атопическая				
Цитостатическая				
Иммунокомплексная				
клеточная				



3. Защита презентаций

4. Итоговый контроль знаний.

Тестирование

5. Подведение итогов.

6. Домашнее задание:

- Иммунологические маркеры клеток в диагностике гемобластозов
- Подготовка презентаций

ПРАКТИЧЕСКАЯ РАБОТА № 8 ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ КЛЕТОК В ДИАГНОСТИКЕ ГЕМОБЛАСТОЗОВ.

Значение темы:

В группу иммунопролиферативных заболеваний входят острые и хронические процессы с усилением пролиферации лимфоидной ткани, костного мозга с одновременным нарушением процессов созревания и дифференцировки (лейкозы). Это одна из проблем современной медицины.

После изучения данной темы обучающиеся должны

знать:

- Причины развития вторичных ИДС.
- Клинические проявления вторичных иммунодефицитов.
- Характерные изменения иммунной системы при вторичных ИДС.
- Методы оценки нарушений

уметь:

- Оценивать нарушения при вторичных иммунодефицитах.

овладеть ОК и ПК

Обучающийся должен овладеть **общими компетенциями:**

ОК 1. Понимать сущность и социальную значимость своей будущей профессии, проявлять к ней устойчивый интерес.

ОК 2. Организовывать собственную деятельность, определять методы и способы выполнения профессиональных задач, оценивать их эффективность и качество.

ОК 5. Использовать информационно-коммуникационные технологии для совершенствования профессиональной деятельности.

ОК 8. Самостоятельно определять задачи профессионального и личностного развития, заниматься самообразованием, осознанно планировать повышение квалификации.

Обучающийся должен овладеть **профессиональными компетенциями:**

ПК 7.1 Готовить рабочее место и аппаратуру для проведения клинических лабораторных исследований.

ПК 7.4 Дифференцировать результаты проведенных исследований с позиции «норма - патология».

План изучения темы

1. Контроль исходного уровня знаний:

1. Понятие « Иммунопролиферативные заболевания»
2. Причины развития иммунопролиферативных заболеваний.
3. Принципы диагностики лимфолиферативных заболеваний, основанные на маркерном фенотипе патологических клеток.
4. Классификация иммунопролиферативных заболеваний
5. Острые лимфолейкозы
6. Хронический В-лимфолейкоз
7. Т- клеточный хронический лимфолейкоз.
8. Лимфогрануломатоз
9. Диагностика лимфолейкозов

2. Содержание темы:

Проточная цитометрия

Проточная цитометрия - метод исследования дисперсных сред в режиме поштучного анализа элементов дисперсной фазы по сигналам светорассеяния и флуоресценции. Название метода связано с основным применением, а именно, с исследованием одиночных биологических клеток в потоке.

Основа метода заключается в:

- 1) использовании системы гидрофокусировки, которая обеспечивает прохождение клеток в потоке поодиночке;
- 2) облучении клетки лазерным излучением;
- 3) регистрации сигналов светорассеяния и флуоресценции от каждой клетки.

Кроме того, в ходе анализа учитывается уровень флуоресценции химических соединений, входящих в состав клетки (аутофлуоресценция) или внесённых в образец перед проведением проточной цитометрии.

За образцы берут кровь, костный мозг, ликвор, суставная жидкость, плевральная жидкость, асцитическая жидкость, суспензированные клетки тканей (например, опухоли).

Принцип метода проточной цитометрии основан на регистрации флуоресценции и светорассеяния от каждой отдельно взятой клетки в клеточной суспензии. Суспензия клеток под давлением подается в проточную ячейку, где за счет разности давлений между образцом и обтекающей жидкостью клетки, находясь в ламинарном потоке жидкости,

выстраиваются в цепочку друг за другом (т.н. гидродинамическое фокусирование).

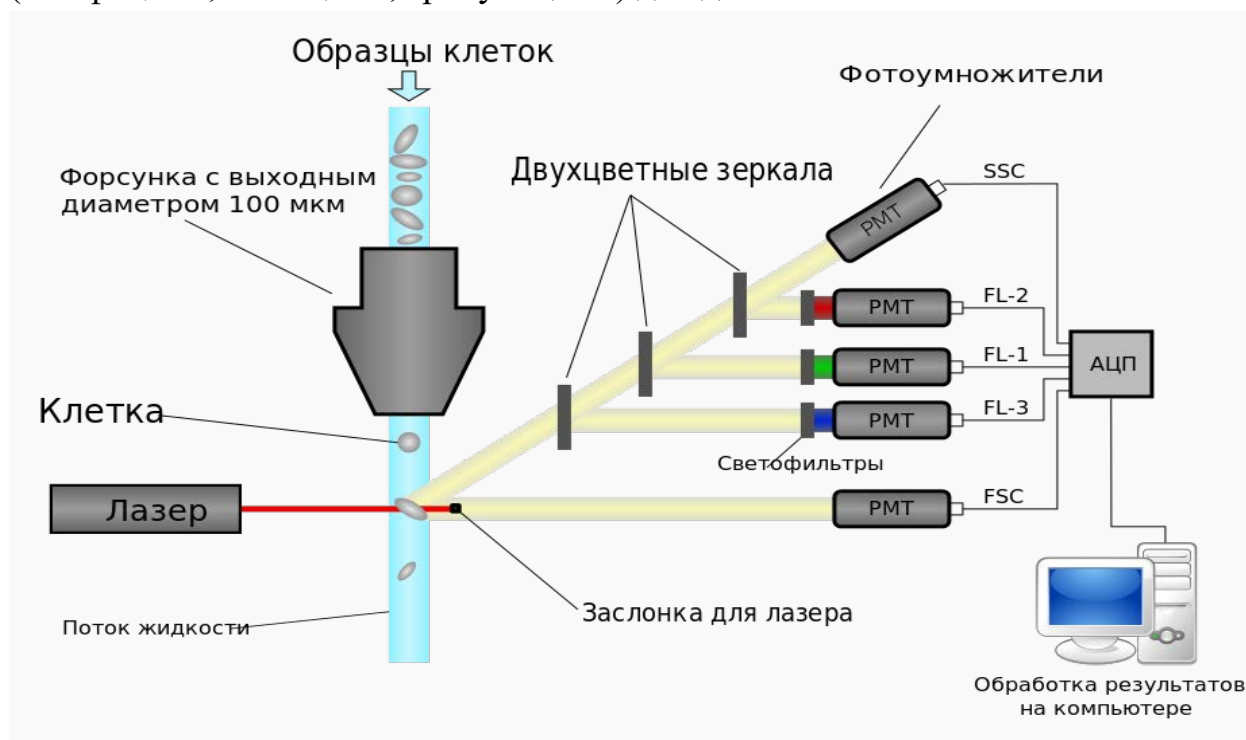
Клетки одна за другой проходят через лазерный луч, а высокочувствительные детекторы, расположенные вокруг проточной ячейки регистрируют флюоресценцию и рассеянное лазерное излучение каждой клетки. Полученный сигнал передается в компьютер, обрабатывается, и полученные данные отображаются в виде различных графиков и гистограмм.

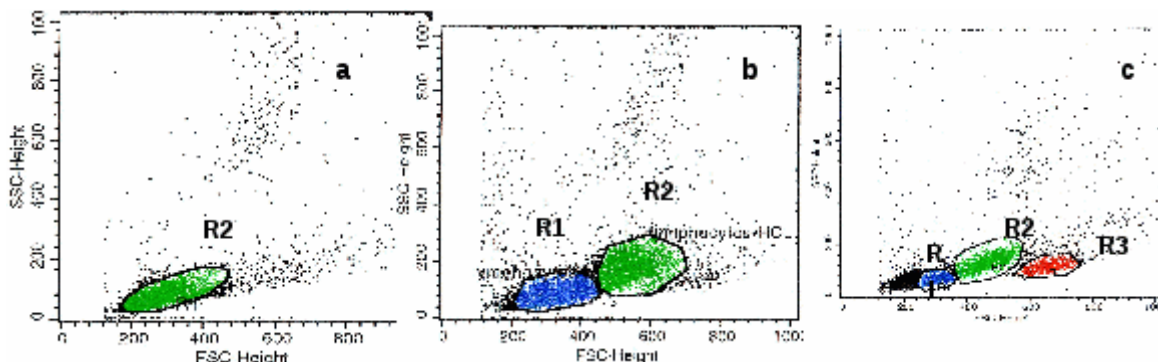
Параметры, клеток регистрируемые при помощи проточного цитометра

Прямое (малоугловое) светорассеяние - forwardscatter.

Детектор **прямого светорассеяния** располагается по ходу лазерного луча за проточной ячейкой и регистрирует излучение лазера, которое рассеивается под углами **2-19 градусов**. Интенсивность рассеянного под малым углом света пропорциональна размеру клетки. Более крупные клетки рассеивают свет сильнее мелких.

Боковое светорассеяние - sidescatter. Внутреннее содержимое клеток оптически неоднородно. Луч лазера, проходя сквозь клетку, многократно преломляется и рассеивается во все стороны. Регистрация этого излучения позволяет судить о сложности внутреннего строения клетки (соотношение ядро-цитоплазма, наличие гранул, других внутриклеточных включений). Комбинация бокового и прямого светорассеяния позволяет судить о морфологии клетки в целом, выделять различные популяции клеток (лимфоциты, моноциты, гранулоциты) для дальнейшего анализа.





3. Самостоятельная работа.

Задания для самостоятельной работы:

1. Защита КП: «Лимфогрануломатоз», «Острый лимфолейкоз», «Хронический В- клеточный лимфолейкоз», «Хронический Т- клеточный лимфолейкоз».
2. Проанализировать таблицу « Панель маркёров для характеристики острых лейкозов»
3. Изучить метод проточной цитометрии. «Имунофенотипирование опухолевых клеток.

ПАНЕЛЬ МАРКЁРОВ ДЛЯ ХАРАКТЕРИСТИКИ ОСТРЫХ ЛЕЙКОЗОВ

Этапы скрининга	Вариант	Маркёры
1	В - лимфоидные	CD 19, CD 22, CD 79, CD 19 CD 10
	Т- лимфоидные	CD 3, CD 2, CD 7
	Миелоидные	МРО ,CD 13, CD 33, CD w65 CD 117,
	Линейно- неспецифические	TdT, CD 34, HLA-DR,
2	ОЛЛ и В - лимфоидные	Цитоплазматический Ig M, CD 20, CD 24
	ОЛЛ и Т - лимфоидные	CD 5, CD 8, CD 4, CD1 а, мембранный CD 3, CD 4, TCR
	ОМЛ	Лизоцим, CD 14 , CD 15, CD 41, CD 64, гликофорин А

4. Итоговый контроль знаний

Тестирование

5. Подведение итогов.

6. Домашнее задание:

- Принципы диагностики ИД и реактивных состояний
- Подготовка презентаций

ПРАКТИЧЕСКАЯ РАБОТА № 9 ПРИНЦИПЫ ДИАГНОСТИКИ ИММУНОДЕФИЦИТНЫХ СОСТОЯНИЙ И РЕАКТИВНЫХ СОСТОЯНИЙ

Значение темы:

Диагностика первичных иммунодефицитов большое значение имеет в раннем детском возрасте. К настоящему времени ВОЗ признано более 80 ПИД, проявляются в периоде новорожденности. Пациенты с ПИД подвержены развитию инфекционных заболеваний ЛОР - органов, дыхательных путей, кишечника, глаз, кожи.

На основе теоретических знаний и практических умений студент должен

знать:

- Основные виды иммунопатологии и методы их диагностики.
- Основные нарушения гуморального и клеточного иммунитета.
- Группы первичных ИД. Клинические варианты ИД.
- Диагностика первичных иммунодефицитов:
- Определение уровня комплемента;
- Определение иммунных комплексов;
- Определение количества Т – и В – лимфоцитов;

уметь:

- Оценивать функциональную активности ИКК;
- Оценивать количественные изменения иммуноглобулинов в сыворотке крови

овладеть ОК и ПК

Обучающийся должен овладеть **общими компетенциями:**

ОК 1. Понимать сущность и социальную значимость своей будущей профессии, проявлять к ней устойчивый интерес.

ОК 2. Организовывать собственную деятельность, определять методы и способы выполнения профессиональных задач, оценивать их эффективность и качество.

ОК 5. Использовать информационно-коммуникационные технологии для совершенствования профессиональной деятельности.

ОК 9. Быть готовым к смене технологий в профессиональной деятельности.

Обучающийся должен овладеть **профессиональными компетенциями:**

ПК 7.1 Готовить рабочее место и аппаратуру для проведения клинических лабораторных исследований.

ПК 7.4 Дифференцировать результаты проведенных исследований с позиции «норма - патология».

План изучения темы

1. Контроль исходного уровня знаний:

1. Понятие "иммунодефицит"
2. Характеристика первичных иммунодефицитных состояний
3. Классификация первичных иммунодефицитов.
4. Клиническая картина В- иммунодефицитов.
5. Иммунодефициты с преимущественным поражением Т- клеточного звена.
6. Комбинированные иммунодефициты.
7. Патология фагоцитоза.
8. Недостаточность системы фагоцитоза.
9. Диагностика первичных иммунодефицитов.

2. Содержание темы:

Изучение циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) ЦИК – комплексы, состоящие из антигена, антител и связанных с ними компонентов комплемента С3, С4, С1. Защита презентации по теме: Турбодиметрия в иммунологии

3. Самостоятельная работа

Задания для самостоятельной работы:

1. Заполнить таблицу №1.
2. Зарисовать рисунок №1.
3. Изучить таблицу №5

Таблица №1 ХАРАКТЕРИСТИКА СИНДРОМОВ ПЕРВИЧНОГО ИММУНОДЕФИЦИТА

Название синдрома	Характеристика

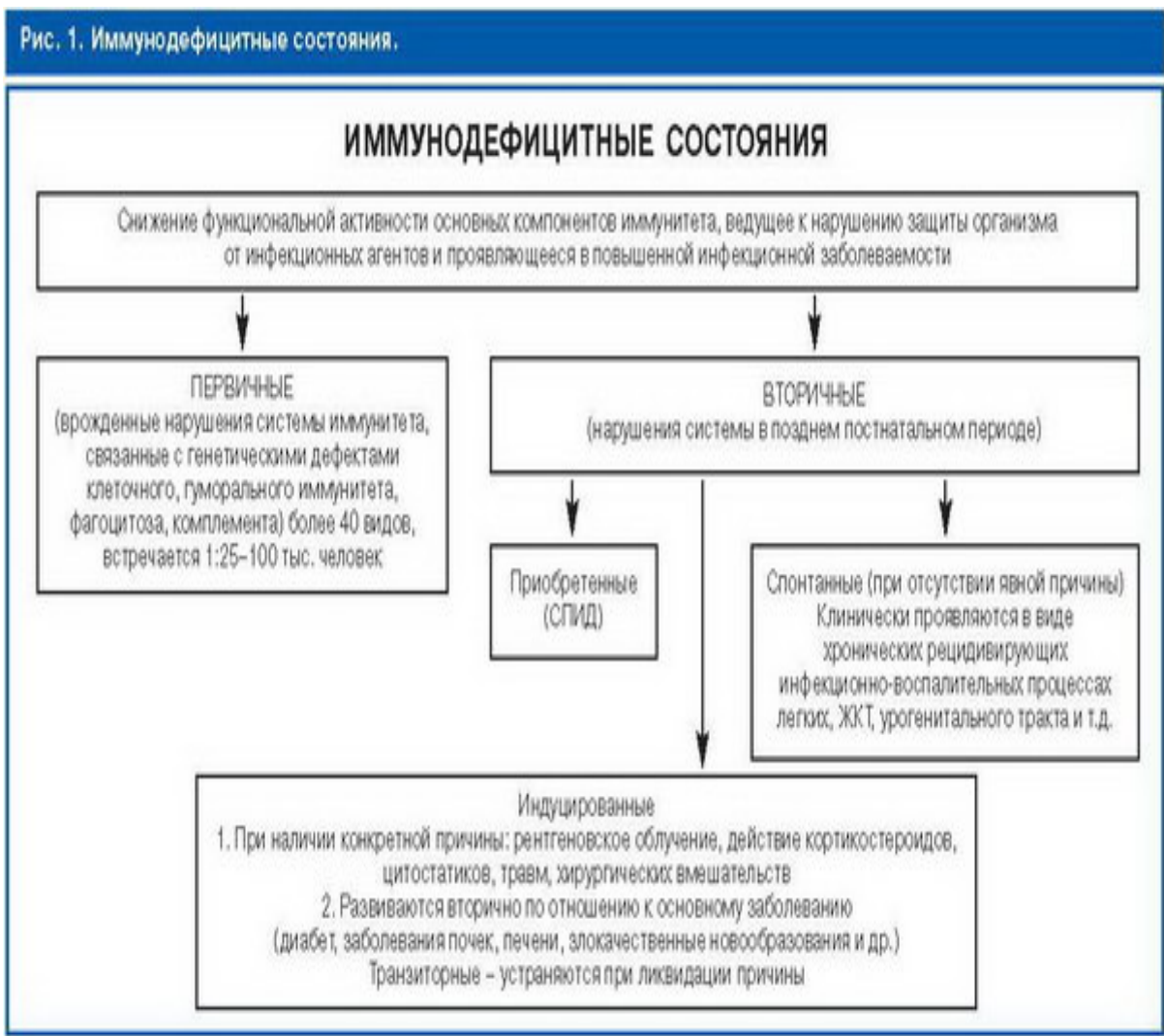


Таблица 2 – Лабораторная диагностика первичных иммунодефицитов

ТЕСТЫ 1 УРОВНЯ:

- **КЛИНИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ КРОВИ:** ЛЕЙКОЦИТОЗ/ЛЕЙКОПЕНИЯ, ЛИМФОЦИТОЗ/ЛИМФОПЕНИЯ, НЕЙТРОФИЛЕЗ/НЕЙТРОПЕНИЯ
- **БИОХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ КРОВИ:** УРОВЕНЬ ГАММА-ГЛОБУЛИНОВ В ПРОТЕИНОГРАММЕ
- **ГУМОРАЛЬНЫЙ ИММУНИТЕТ:** КОНЦЕНТРАЦИЯ СЫВОРОТОЧНЫХ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ А, М, G
- **КЛЕТочный ИММУНИТЕТ:** ОПРЕДЕЛЕНИЕ СУБПОПУЛЯЦИЙ ЛИМФОЦИТОВ: CD3, CD4, CD8, CD19, CD20, CD21, CD16, CD56
- **ИССЛЕДОВАНИЕ ФАГОЦИТОЗА**
- **ИНТЕРФЕРОНОВЫЙ СТАТУС:** ОПРЕДЕЛЕНИЕ БАЗОВОГО УРОВНЯ ИНТЕРФЕРОНА АЛЬФА И ГАММА, УРОВНЯ ИНДУЦИРОВАННОГО ИНТЕРФЕРОНА

4. Подведение итогов.

Тестирование

5. Домашнее задание:

- Принципы диагностики инфекций
- Подготовка презентаций

ПРАКТИЧЕСКАЯ РАБОТА №10 ПРИНЦИПЫ ДИАГНОСТИКИ ИНФЕКЦИЙ.

Значение темы:

Социально значимыми принято считать такие инфекции, которые распространены на всех континентах планеты, и являются частыми причинами заболеваний. В XXI социально-значимыми заболеваниями считаются ВИЧ-инфекция и гепатиты В и С. Наиболее часто такие инфекции передаются половым путем и заканчиваются смертью инфицированного человека.

На основе изучения темы обучающийся должен **знать:**

- характеристику вирусных гепатитов (возбудитель, способ передачи, маркеры).
- серологическую диагностику вирусных гепатитов: маркеры вирусных гепатитов.

уметь:

- проводить ИФА при определении маркёров вирусных инфекций.

Обучающийся должен овладеть **общими компетенциями**:

ОК 1. Понимать сущность и социальную значимость своей будущей профессии, проявлять к ней устойчивый интерес.

ОК 2. Организовывать собственную деятельность, определять методы и способы выполнения профессиональных задач, оценивать их эффективность и качество.

ОК 4. Осуществлять поиск, анализ и оценку информации, необходимой для постановки и решения профессиональных задач, профессионального и личностного развития.

ОК 5. Использовать информационно-коммуникационные технологии для совершенствования профессиональной деятельности.

ОК 8. Самостоятельно определять задачи профессионального и личностного развития, заниматься самообразованием, осознанно планировать повышение квалификации.

Обучающийся должен овладеть **профессиональными компетенциями**:

ПК 7.1 Готовить рабочее место и аппаратуру для проведения клинических лабораторных исследований.

ПК 7.4 Дифференцировать результаты проведенных исследований с позиции «норма - патология».

План изучения темы

1. Контроль исходного уровня знаний:

1. Способы передачи ВИЧ.
2. Фазовый характер инфекционного процесса при заражении ВИЧ.
3. Механизм инфицирования клетки вирусом.
4. Ко - факторы ВИЧ - инфекции
5. Формирования иммунодефицита при ВИЧ - инфекции.
6. Клиника ВИЧ - инфекции.
7. Лабораторная диагностика ВИЧ - инфекции (этапы);
8. Скрининговые отборочные тесты (первичная серодиагностика ВИЧ - инфекции);
9. Второй (арбитражный) этап диагностики.
10. Референтный этап.
11. Понятие «гепатиты».
12. Классификация вирусных гепатитов.

13. Вирусный гепатит А: этиология, эпидемиология, патогенез, клиника, диагностика, профилактика.

14. Вирусный гепатит В: этиология, эпидемиология, патогенез, клиника, диагностика, профилактика.

15. Вирусный гепатит Д: этиология, эпидемиология, патогенез, клиника, диагностика, профилактика.

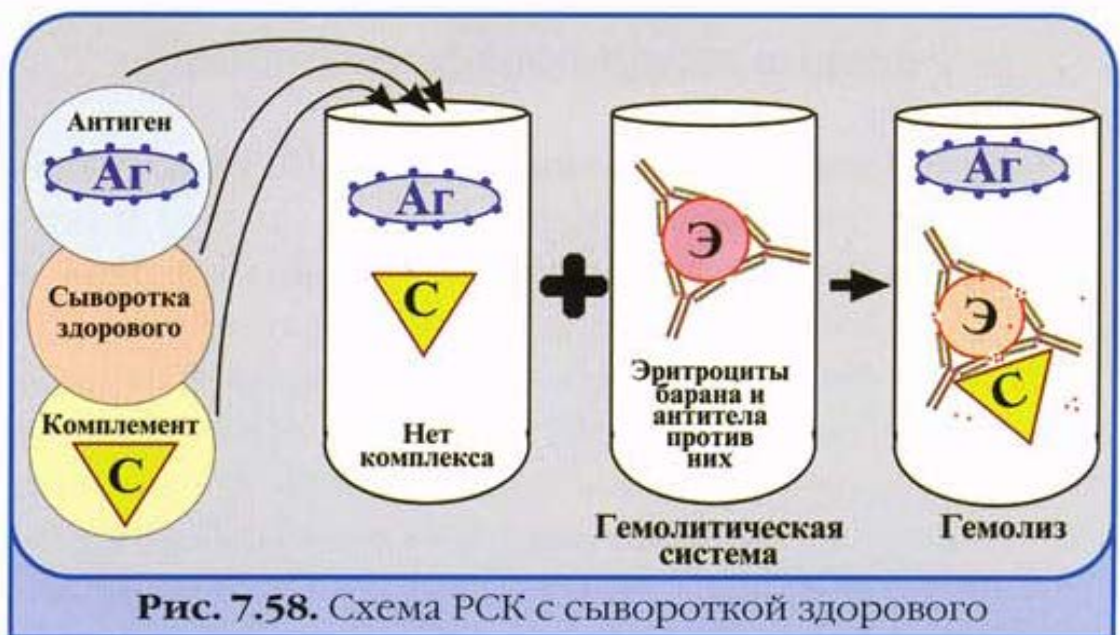
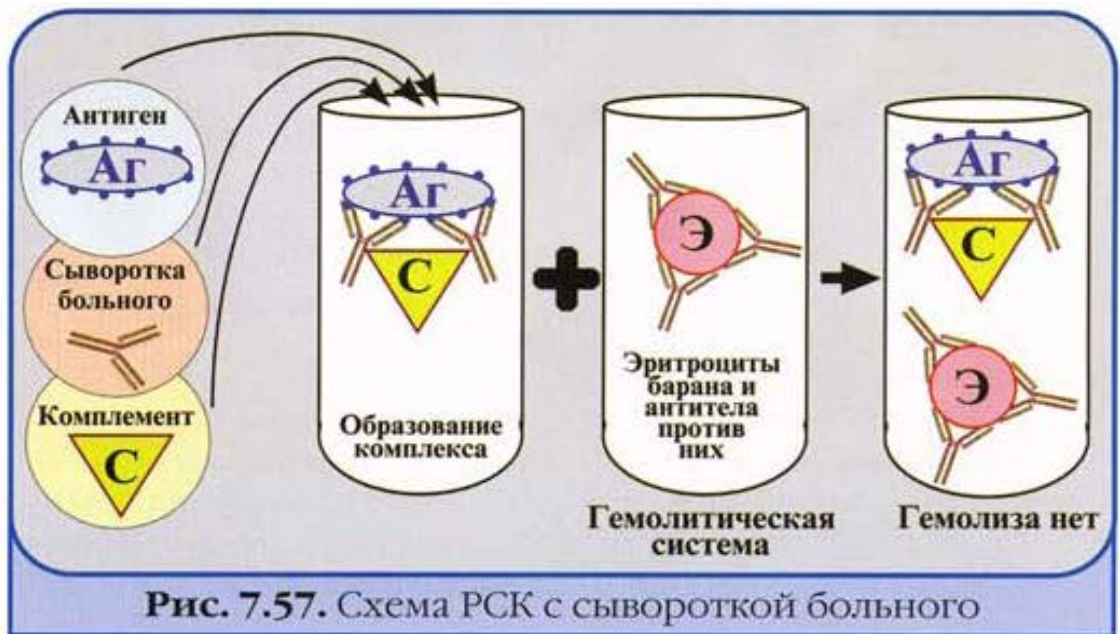
16. Вирусный гепатит С: этиология, эпидемиология, патогенез, клиника, диагностика, профилактика.

2. Содержание темы:

Виды и классификация возбудителей инфекций.

Методы диагностики инфекций (ИФА, ПЦР): принцип, показания для назначения.

1. РЕАКЦИЮ СВЯЗЫВАНИЯ КОМПЛЕМЕНТА (РСК) используют для выявления антител на определенный антиген или определяют тип антигена по известному антителу. Это сложная серологическая реакция, в ней участвуют две системы и комплемент. Первая система – бактериологическая (основная), состоит из антигена и антитела (один известный, другой нет). Вторая система – гемолитическая (индикаторная). В нее входят эритроциты барана (антиген) и соответствующая им гемолитическая сыворотка (антитело). РСК ставят в два приема: вначале соединяют антиген с испытуемой сывороткой крови, в которой отыскивают антитело, а затем добавляют комплемент. Если антиген и антитело соответствуют друг другу, то образуется иммунный комплекс, который связывает комплемент. При отсутствии в сыворотке антител иммунный комплекс не образуется и комплемент остается свободным. Поскольку процесс адсорбции комплемента комплексом визуально невидимый, то для выявления этого процесса добавляют гемсистему. Реакцию учитывают следующим образом. Если в первой (баксистеме) комплемент связался, то при добавлении гемсистемы гемолиз эритроцитов не произойдет – реакция положительная. Если же комплемент не связался в первой системе из-за отсутствия антител, то он свяжется с гемсистемой, в результате чего произойдет гемолиз эритроцитов – реакция отрицательная.



2. РЕАКЦИЯ ИММУНОФЛЮОРЕСЦЕНЦИИ - РИФ (метод Кунса).

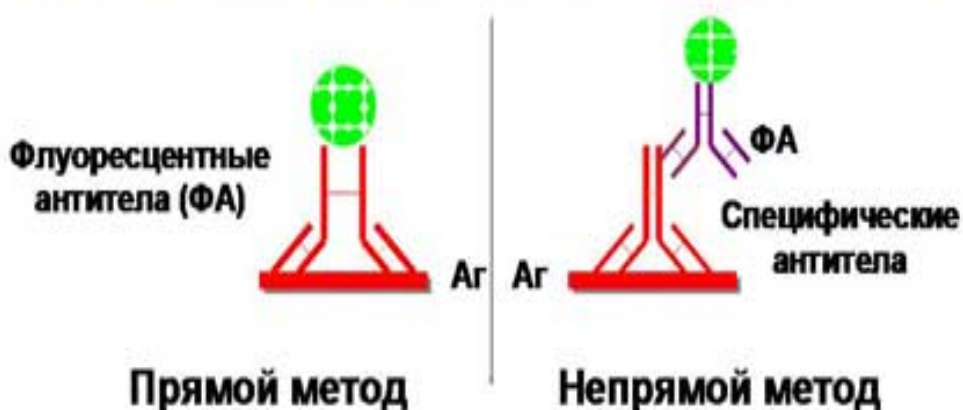
Различают три разновидности метода прямой, непрямой, с компонентом. Реакция Кунса является методом экспресс-диагностики для выявления антигенов микробов или определения антител.

Прямой метод РИФ основан на том, что антигены тканей или микробы, обработанные иммунными сыворотками с антителами,

меченными флюорохромами, способны светиться в УФ-лучах люминесцентного микроскопа. Бактерии в мазке, обработанные такой люминесцирующей сывороткой, светятся по периферии клетки в виде каймы зеленого цвета.

Непрямой метод РИФ заключается в выявлении комплекса антиген - антитело с помощью антиглобулиновой (против антитела) сыворотки, меченной флюорохромом. Для этого мазки из взвеси микробов обрабатывают антителами антимикробной кроличьей диагностической сыворотки. Затем антитела, не связавшиеся антигенами микробов, отмывают, а оставшиеся на микробах антитела выявляют, обрабатывая мазок антиглобулиновой (антикроличьей) сывороткой, меченной флюорохромами. В результате образуется комплекс микроб + антимикробные кроличьи антитела + антикроличьи антитела, меченные флюорохромом. Этот комплекс наблюдают в люминесцентном микроскопе, как и при прямом методе.

Схема Реакции иммунофлюоресценции (РИФ) (Кунса)



3. МЕТОД ПЦР - полимеразная цепная реакция - это метод, имитирующий естественную репликацию ДНК и позволяющий обнаружить единственную специфическую молекулу ДНК в присутствии миллионов других молекул.

Суть метода заключается в многократном копировании (амплификации) в пробирке определенных участков ДНК в процессе повторяющихся температурных циклов. На каждом цикле амплификации синтезированные ранее фрагменты вновь копируются ДНК-полимеразой. Благодаря этому происходит многократное увеличение количества

специфических фрагментов ДНК, что значительно упрощает дальнейший анализ.

В основе метода ПЦР лежит природный процесс - комплементарное достраивание ДНК матрицы, осуществляемое с помощью фермента ДНК-полимеразы. Эта реакция носит название репликации ДНК.

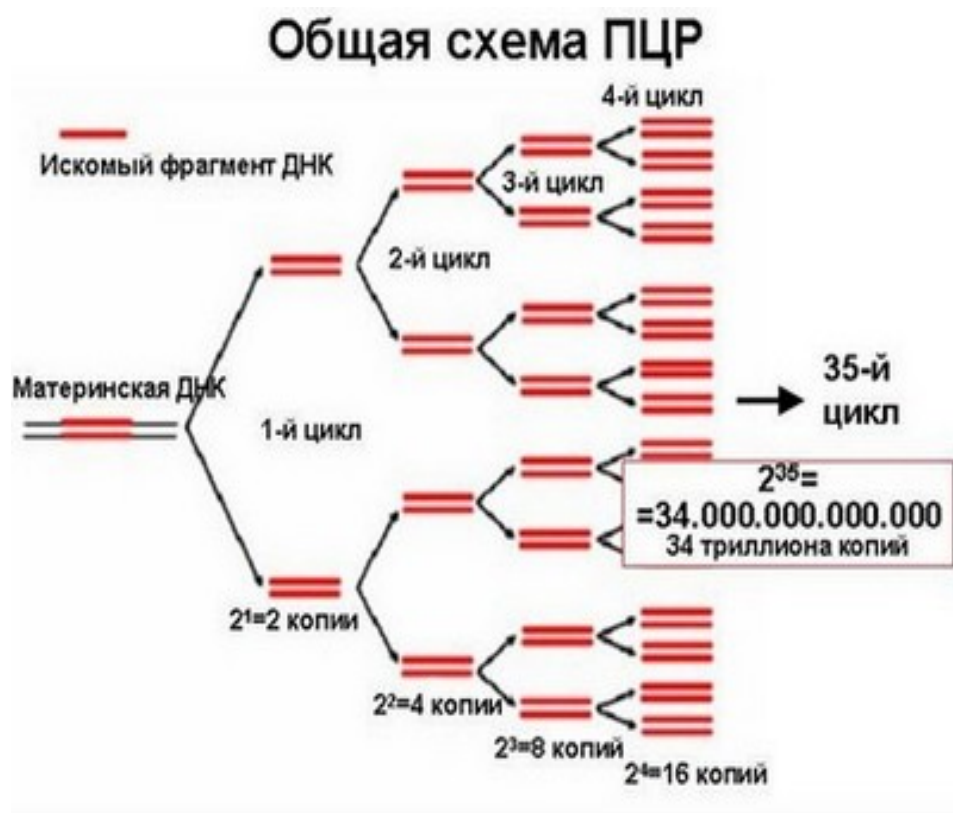
Естественная репликация ДНК включает в себя несколько стадий:

- Денатурация ДНК (расплетение двойной спирали, расхождение нитей ДНК);
- Образование коротких двухцепочечных участков ДНК (затравок, необходимых для инициации синтеза ДНК);
- Синтез новой цепи ДНК (комплементарное достраивание обеих нитей).

СТАДИИ ПРОВЕДЕНИЯ ПЦР-АНАЛИЗА

Методика проведения анализа с использованием метода ПЦР включает три этапа:

1. Выделение ДНК (РНК) из клинического образца;
2. Амплификация специфических фрагментов ДНК;
3. Обнаружение продуктов амплификации и выделение ДНК (РНК)



3. Самостоятельная работа

Задания для самостоятельной работы:

1. Заполнить таблицу №1.
2. Зарисовать и изучить схемы методов исследования РСК, РИФ, ПЦР.
3. Защита презентаций.

Таблица 1 - **СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ВИРУСНЫХ ГЕПАТИТОВ**

Гепатит	Вирус	Диагностика	Клиника	Прогноз
A				
B				
C				
D				

4. Итоговый контроль знаний.

Тестирование

5. Подведение итогов.

6. Домашнее задание:

Диагностика заболеваний, связанных с изменением содержания иммуноглобулинов в сыворотке крови.

- Подготовка презентаций

ПРАКТИЧЕСКАЯ РАБОТА №11 ДИАГНОСТИКА ЗАБОЛЕВАНИЙ, СВЯЗАННЫХ С ИЗМЕНЕНИЕМ СОДЕРЖАНИЯ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ

Значение темы:

Необходимость оценки иммунитета человека возникает при аллергических, аутоиммунных заболеваниях и иммунодефицитах, когда необходимо идентифицировать нарушенное звено иммунитета, провести мониторинг с целью выбора метода лечения, оценки его эффективности и прогнозирования исхода заболевания.

Наиболее полную картину состояния иммунитета человека даёт иммунологический анализ крови – **иммунный статус (иммунограмма)**. Данный анализ состоит из двух слагаемых. **Гуморальный иммунитет** дает представление о концентрации в крови иммуноглобулинов и других защитных белков. **Клеточный иммунитет** дополняет иммунологический

анализ крови и даёт представление о количестве и качестве защитных клеток крови – лимфоцитов, обеспечивающих противовирусный иммунитет.

На основе изучения темы обучающийся должен **знать:**

- Теорию образования антител.
- Фазы гуморального иммунного ответа.
- Классы иммуноглобулинов.
- Свойства и функции иммуноглобулинов.
- Взаимодействие антиген – антитело.

уметь:

- работать со справочниками;
- давать характеристику группам иммуноглобулинов.

овладеть ОК и ПК

Обучающийся должен овладеть **общими компетенциями:**

ОК 1. Понимать сущность и социальную значимость своей будущей профессии, проявлять к ней устойчивый интерес.

ОК 2. Организовывать собственную деятельность, определять методы и способы выполнения профессиональных задач, оценивать их эффективность и качество.

ОК 4. Осуществлять поиск, анализ и оценку информации, необходимой для постановки и решения профессиональных задач, профессионального и личностного развития.

ОК 5. Использовать информационно-коммуникационные технологии для совершенствования профессиональной деятельности.

ОК 8. Самостоятельно определять задачи профессионального и личностного развития, заниматься самообразованием, осознанно планировать повышение квалификации.

Обучающийся должен овладеть **профессиональными компетенциями:**

ПК 7.1 Готовить рабочее место и аппаратуру для проведения клинических лабораторных исследований.

ПК 7.4 Дифференцировать результаты проведенных исследований с позиции «норма - патология».

План изучения темы

1. Контроль исходного уровня знаний:

1. Теорию образования антител.
2. Фазы гуморального иммунного ответа.
3. Классы иммуноглобулинов.

4. Свойства и функции иммуноглобулинов.
5. Взаимодействие антиген – антитело

2. Содержание темы:

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ИММУННОГО СТАТУСА.

Количественная оценка содержания IgA, IgM, IgG в сыворотке крови (метод радиальной иммунодиффузии в агаровом геле по Манчини) необходима для диагностики первичной и вторичной иммунологической болезни, а также для контроля за проводимой иммуномодулирующей терапией.

Возможные результаты и их трактовка.

Первичные иммунодефициты проявляются снижением концентрации всех иммуноглобулинов (врожденная агамма- гипогаммаглобулинемия) или уровня IgA и IgG при нормальном или повышенном уровне IgM (врожденная гипогаммаглобулинемия) или снижением уровня IgA (селективная недостаточность).

Повышение уровня всех иммуноглобулинов – гипергаммаглобулинемия – является признаком хронических инфекционных процессов, системных заболеваний соединительной ткани, хронических заболеваний печени и др.

Селективный подъем IgA или IgG может быть признаком миеломной болезни. Селективный подъем IgA встречается при болезни Берже. Изолированный подъем концентрации IgM может быть признаком макроглобулинемии.

Электрофоретический анализ иммуноглобулинов сыворотки крови и мочи.

Применяется при подозрении на миеломную болезнь, макроглобулинемию Вальденстрема, болезнь тяжелых цепей, амилоидоз. Этот анализ необходим при криоглобулинемии, положительной реакции Бенс-Джонса, повышении вязкости крови и некоторых лимфопролиферативных заболеваниях.

Возможные результаты и их трактовка.

Увеличение фракции сывороточных иммуноглобулинов – гипергаммаглобулинемия – не имеет определенного диагностического значения, встречается при многих заболеваниях.

Сывороточный пик IgG или IgA и мочевого пик белка Бенс-Джонса – признаки миеломной болезни.

Сывороточный пик IgM – проявление макроглобулинемии.

Сывороточный и мочевого пик IgG – признак болезни тяжелых цепей.

Определение иммунных комплексов в биологических жидкостях.

Четких клинических показаний к проведению данного исследования нет.

Возможные результаты и их трактовка.

Наличие иммунных комплексов в сыворотке крови не является признаком иммунокомплексного заболевания. Известны случаи, когда повреждение тканей, вызванное иммунными комплексами, развивается, но попытки обнаружить их в крови безрезультатны и, наоборот, присутствие иммунных комплексов в сыворотке крови может не сопровождаться повреждением ткани.

ПОДГОТОВКА

Взятие венозной крови для получения сыворотки.

МЕТОДИКА

Исследуемую сыворотку помещают в лунки агарового геля, который содержит АТ к иммуноглобулинам одного из классов IgG, IgA или IgM в известной концентрации. Иммуноглобулины, диффундирующие из лунок в агар, при взаимодействии с соответствующими АТ образуют кольца преципитации, размер которых прямо пропорционален содержанию иммуноглобулина.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ

Содержание основных классов иммуноглобулинов в образцах сыворотки крови сопоставляют с нормативными показателями. Чувствительность и специфичность зависят от качества используемых реагентов.

ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА РЕЗУЛЬТАТ

- Повторное замораживание и оттаивание исследуемых образцов.
- Бактериальное загрязнение.
- Нарушения условий хранения образцов (оптимальная температура хранения сыворотки — 4 °С, для длительного хранения используют температуру –20 °С).

АЛЬТЕРНАТИВНЫЕ МЕТОДЫ

Иммуноферментный анализ, турбодиметрическое исследование.

2. Иммуноэлектрофорез.

Суть метода заключается в следующем:

- 1) проводят электрофоретическое разделение белков в геле;
- 2) по окончании электрофореза в геле параллельно направлению электрофореза вырезают бороздки;

3) в бороздки вносят антитела (антисыворотку), например к тяжелым (альфа, дельта, эпсилон, гамма, мю) или легким (лямбда, каппа) цепям иммуноглобулинов. Эти антитела и разделенные при электрофорезе белки диффундируют навстречу друг другу. В тех местах, где антитела связываются с белками, образуются дуги преципитации. Иммуноэлектрофорез позволяет оценить лишь качественный состав исследуемой смеси белков.

Оценка результатов исследования требует высокой квалификации. Чаще всего этот метод применяется для выявления и характеристики моноклональных антител.

3. Нефелометрия — определение концентрации взвешенных частиц и высокомолекулярных веществ в растворе, основанное на оценке интенсивности рассеяния света, проходящего через этот раствор.

Нефелометрия может быть использована для определения концентрации антигенов, поскольку при добавлении к ним антител образуются иммунные комплексы, рассеивающие проходящий свет.

Нефелометрия позволяет с высокой точностью определить концентрацию IgG, IgA, IgM, подклассов IgG, C3, C4, фактора В, С-реактивного белка и некоторых других сывороточных белков.

Этот метод подходит для определения белков в низкой концентрации, например IgE, уровень которого в сыворотке не превышает 1 мкг/мл. В настоящее время многие лаборатории используют нефелометрию в качестве стандартного метода количественного определения иммуноглобулинов.

Таблица 5. Сравнительная характеристика первичного и вторичного иммунного ответа.

Механизмы	Первичный	Вторичный
Презентация антигена	Фагоциты, дендритные клетки	Иммунные В-лимфоциты памяти способны сами осуществлять синтез антител без поддержки со стороны макрофагов и Т-хелперов
Персистенция антигена в крови	До 5-8 дней, пока организуется синтез специфических IgM	Сразу выводятся из циркуляции за счёт образования циркулирующих иммунных комплексов
Накопление антител в крови	Сначала IgM, а после 10-17 дня – IgG	Сразу появляются IgG, концентрация IgM не меняется
Время формирования оптимальной концентрации IgG	10-17 день	4-7 день
Присутствие клеток памяти	Нет	Присутствуют
Место взаимодействия клеток с антигеном	Вторичные лимфоидные органы (лимфоузлы, селезёнка)	Третичные лимфоидные органы, формируемые в месте проникновения антигена

3. Самостоятельная работа

1. Перенесите в тетрадь таблицу №5.
2. Переписать методики проведения исследования иммунного статуса.
3. Составить таблицу видов нарушений гуморального звена иммунного ответа и их лабораторные критерии.
4. Защита презентаций.

4. Итоговый контроль знаний.

5. Подведение итогов.

6. Домашнее задание:

- Основные направления и перспективы гибридной биотехнологии
- Подготовка презентаций

ПРАКТИЧЕСКАЯ РАБОТА № 12 ОСНОВНЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ И ПЕРСПЕКТИВЫ ГИБРИДНОЙ БИОТЕХНОЛОГИИ

Значение темы:

Современная наука достигла такого этапа развития, когда для исследования необходимы реактивы, способные взаимодействовать с индивидуальными молекулами либо с различными участками макромолекул, что обеспечивает точность качественного и количественного анализа. Этим критериям идеально соответствуют молекулы иммуноглобулинов. Так как данные реагенты необходимы в большом количестве, перед исследователями была поставлена задача наладить производство антител одной специфичности (моноклональных) в промышленном масштабе.

На основе изучения темы обучающийся должен **знать:**

- принципы получения моноклональных антител
- методы анализа на основе моноклональных антител

уметь:

- выявлять антигены с помощью моноклональных антител

Обучающийся должен овладеть **общими компетенциями:**

- ОК 1. Понимать сущность и социальную значимость своей будущей профессии, проявлять к ней устойчивый интерес.
- ОК 2. Организовывать собственную деятельность, определять методы и способы выполнения профессиональных задач, оценивать их эффективность и качество.

ОК 4. Осуществлять поиск, анализ и оценку информации, необходимой для постановки и решения профессиональных задач, профессионального и личностного развития.

ОК 5. Использовать информационно-коммуникационные технологии для совершенствования профессиональной деятельности.

Обучающийся должен овладеть **профессиональными компетенциями:**

ПК 7.1 Готовить рабочее место и аппаратуру для проведения клинических лабораторных исследований.

ПК 7.4 Дифференцировать результаты проведенных исследований с позиции «норма - патология».

План изучения темы

1. Контроль исходного уровня знаний:

1. Понятие «гибридные биотехнологии».
2. Этапы получения моноклональных антител.
3. Виды моноклональных антител: мышинные, человеческие, химерные.
4. Область применения биотехнологий.

2. Содержание темы:

Изучение объектов биотехнологий, её целей и задач.

3. Самостоятельная работа

Задания для самостоятельной работы:

1. Перенесите в тетрадь схему №1.
2. Защита презентаций: ПЦР. Моноклональные антитела. Химерные гуманизированные и рекомбинантные антитела.

4. Итоговый контроль знаний.

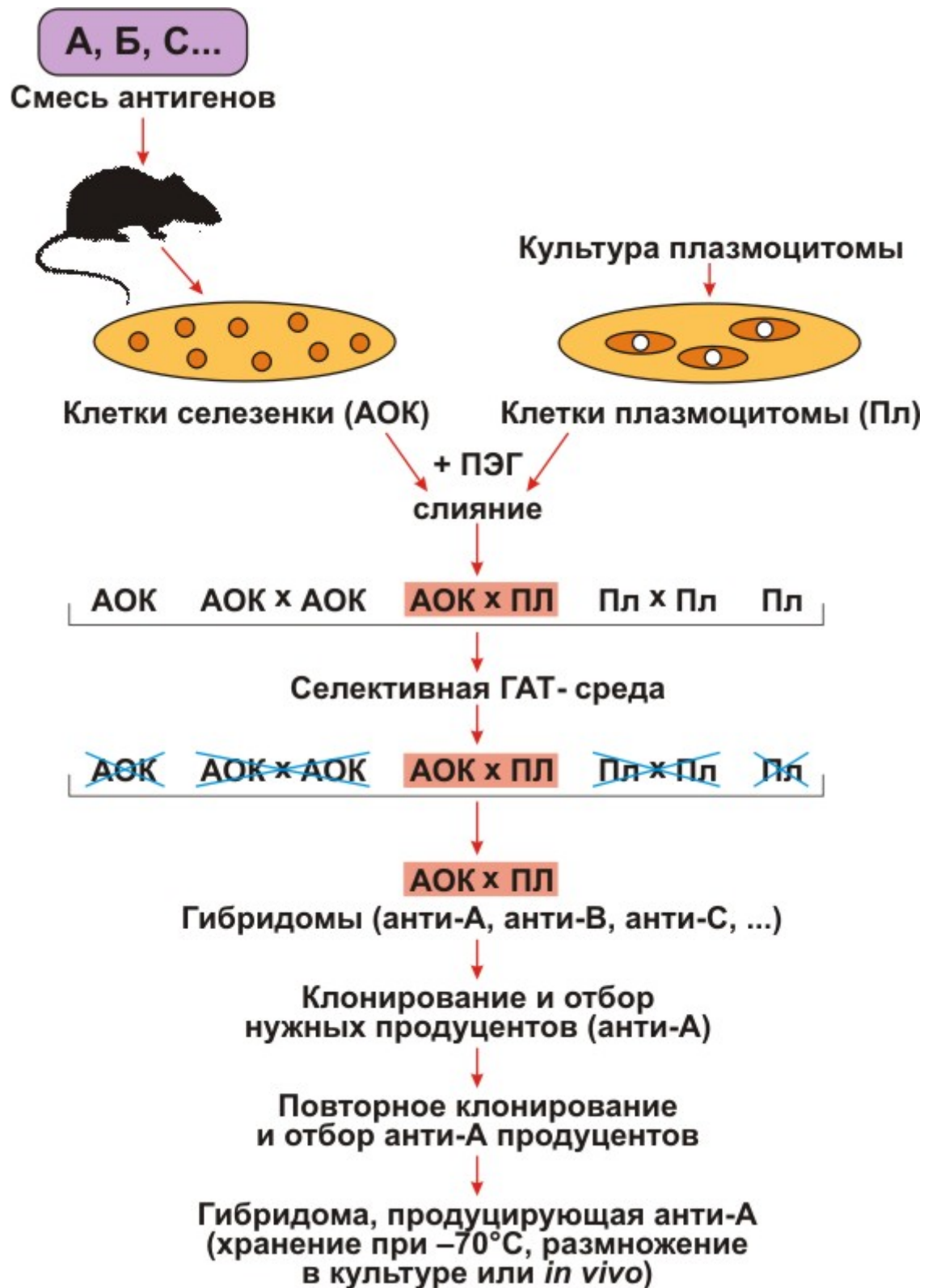
Тестирование.

5. Подведение итогов.

6. Домашнее задание:

- Стволовые клетки
- Подготовка презентаций

Схема №1



ПРАКТИЧЕСКАЯ РАБОТА № 13 СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ

Значение темы:

Один из разделов регенеративной клеточной медицины, дающий людям надежду на излечение от многих тяжелых болезней - это изучение так называемых стволовых клеток (СК). Стволовая клетка – это незрелая клетка, способная к самообновлению и развитию в специализированные клетки организма.

На основе изучения обучающийся должен **знать**:

- понятие «стволовая клетка» (СК);
- свойства и разновидности СК;
- способы получения СК;
- область применения новых биотехнологий в лабораторной диагностике;

Обучающийся должен овладеть **общими компетенциями**:

ОК 1. Понимать сущность и социальную значимость своей будущей профессии, проявлять к ней устойчивый интерес.

ОК 4. Осуществлять поиск, анализ и оценку информации, необходимой для постановки и решения профессиональных задач, профессионального и личностного развития.

ОК 5. Использовать информационно-коммуникационные технологии для совершенствования профессиональной деятельности.

ОК 9. Быть готовым к смене технологий в профессиональной деятельности.

Обучающийся должен овладеть **профессиональными компетенциями**:

ПК 7.1 Готовить рабочее место и аппаратуру для проведения клинических лабораторных исследований.

ПК 7.4 Дифференцировать результаты проведенных исследований с позиции «норма - патология».

План изучения темы

1. Контроль исходного уровня знаний:

1. Понятие «стволовая клетка» (СК).
2. Свойства и разновидности СК.
3. Типы СК различных органов, растений.
4. Методы получения СК.
5. Применение в области медицины.
6. Банк стволовых клеток.

2. Содержание темы:

Получение стволовых клеток у взрослого человека (донора).

Если пуповинная кровь не была заготовлена непосредственно после родов, стволовые клетки могут быть получены из периферической крови здоровых, совершеннолетних доноров при соблюдении определенных условий.

Краткое описание метода получения стволовых клеток.

Процедура условно разделяется на две части:

1) Мобилизация стволовых клеток в периферическую кровь: С целью увеличения количества стволовых клеток в периферической крови донор получает 8 инъекций гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (Г-КСФ), подкожно с интервалом в 10-12 часов в течение 4 дней. Г-КСФ представляет собой медицинский препарат, полученный путем генной инженерии.

2) Сбор стволовых клеток или получение сепарата: Осуществляется на 5 день от начала стимуляции Г-КСФ на сепараторе крови с использованием одноразовой системы для сепарации и стандартных растворов. Длительность процедуры составляет не более 3 часов, в зависимости от скорости процедуры, веса донора и параметров анализа крови. Процедура сбора клеток проводится путем забора крови из одной вены, обработки ее внутри сепаратора, забора определенного объема стволовых клеток и возврата остальных компонентов крови донору через другую вену.

Преимущества стволовых клеток крови.

1. Возможность получения из периферической крови без применения общего наркоза с минимальной травматичностью для донора.
2. Возможность проведения многократных и повторных сеансов получения стволовых клеток.
3. Относительная быстрота получения.
4. Быстрое восстановление кроветворения в случае трансплантации, уменьшение времени пребывания в стационаре.

Криоконсервация стволовых клеток.

После доставки сепарата в лабораторию проводится его обработка. Затем клеточный концентрат переводится в специальный криоконтейнер и замораживается при ультранизкой температуре (минус 196 0С). Далее замороженный материал хранится в индивидуальной ячейке криохранилища под индивидуальным номером. По результатам обработки пуповинной крови

оформляется протокол, содержащий описание процедуры и показатели качества материала.

Применение стволовых клеток.

Клетки могут быть использованы для лечения гематологических и онкологических больных (трансплантация стволовых клеток крови собственно больного или здорового донора при заболеваниях крови или солидных опухолях).

В гематологии, радиомедицине, иммунологии и других областях медицины: трансплантация клеток крови донора при приобретенных или врожденных апластических анемиях; острая и хроническая лучевая болезнь, врожденные иммунодефицитные состояния; рассеянный склероз; ревматоидный артрит, системная красная волчанка и др.

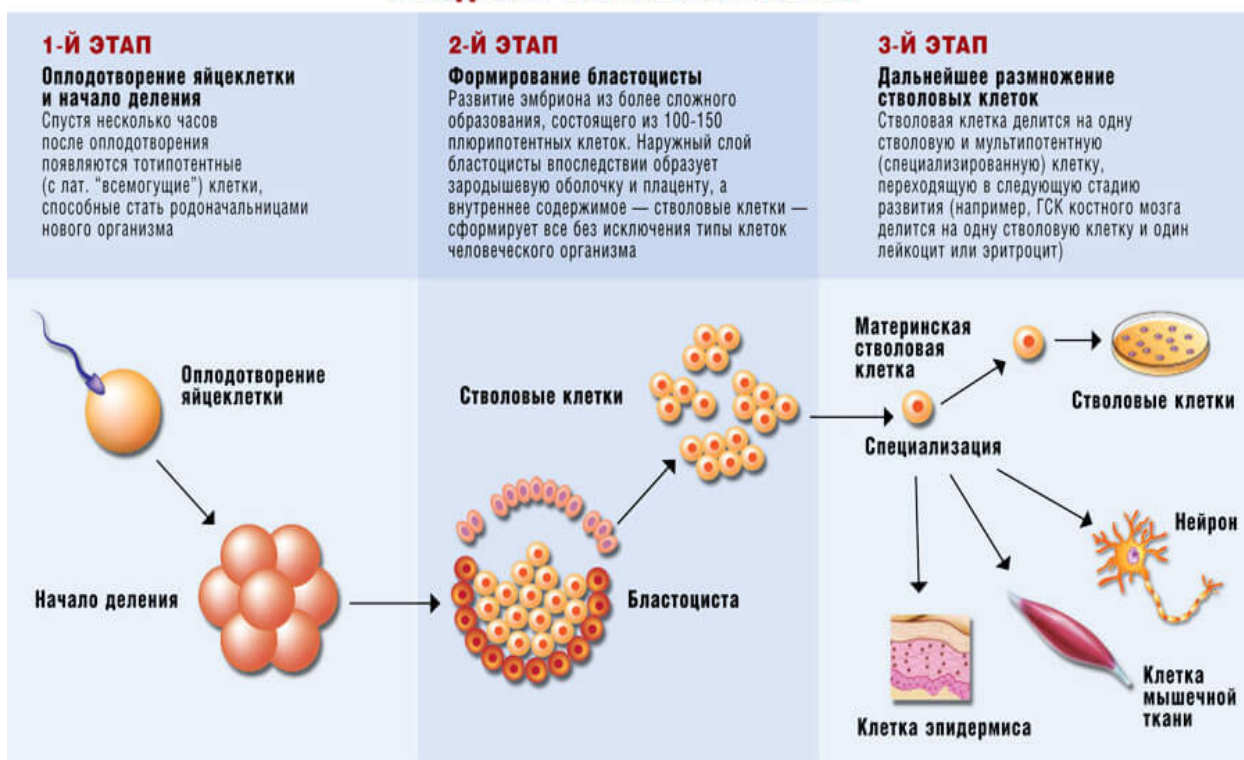
3. Самостоятельная работа

Задания для самостоятельной работы:

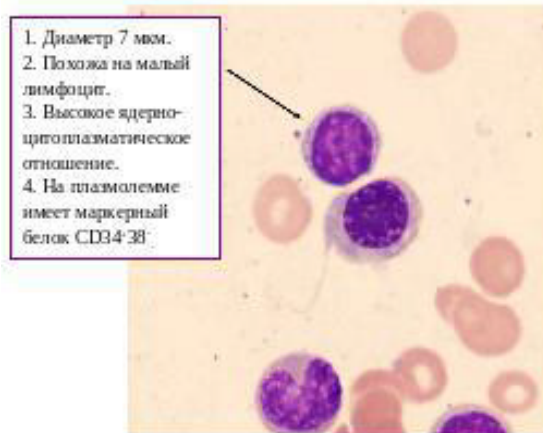
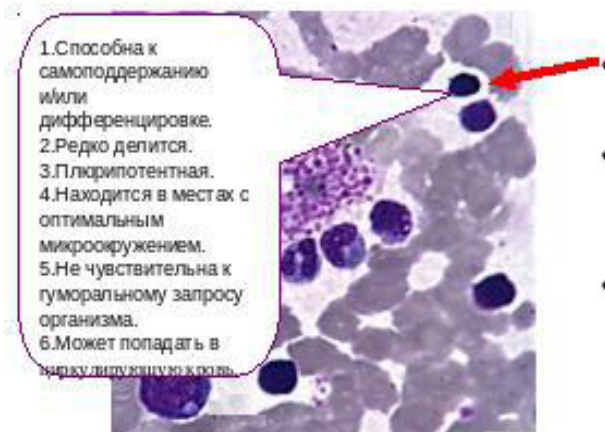
1. Перенесите в тетрадь схему №1.
2. Изучить характеристики стволовых клеток
3. Ознакомиться с методами получения стволовых клеток.
4. Защита презентаций.

Схема №1

Рождение стволовых клеток



Характеристика стволовой клетки крови



Морфологически – похожа на **малый лимфоцит**, крупное ядро и тонкий ободок цитоплазмы.

- **Независима** - она не может возникнуть из других недифференцированных клеток других типов тканей.
- В раннем эмбриональном периоде выбор пути развития СКК, когда еще нет оптимального микроокружения - стохастический (ДНК-полимераза - фермент, обеспечивающий расхождение нитей ДНК; вероятность С и Д = 0,6/0,4).
- В постэмбриональном периоде выбор пути развития СКК определяется микроокружением в "нише".
- Интерлейкин-3 (фактор стволовых клеток) влияет на развитие СКК. Синтезируется Т-индукторами. Регулирует размножение и дифференцировку СКК.

4. Итоговый контроль знаний.

Тестирование

5. Подведение итогов.

ЛИТЕРАТУРА

Основная литература

№ п/ п	Наименование, вид издания	Автор(-ы), составитель (-и), редактор(- ы)	Место издания, издательс тво, год	Кол-во экземпляров	
				В библиотеке	На кафед ре
1	2	3	4	5	6
1	Клиническая лабораторная диагностика [Электронный ресурс] : учеб. пособие для мед. сестер. - Режим доступа: http://www.medcollegelib.ru/book/ISBN9785970427620.html	А. А. Кишкун	М. : ГЭОТАР -Медиа, 2014.	ЭБС Консультан т студента (Фармколле дж)	
2	Медицинская лабораторная диагностика: программы и алгоритмы : рук. для врачей	ред. А. И. Карпище нко	М. : ГЭОТАР -Медиа, 2014.	35	

Дополнительная литература

№ п/п	Наименование, вид издания	Автор(-ы), составитель(- и), редактор(-ы)	Место издания, издательство, год	Кол-во экземпл яров	
				В били отеке	Н а к а ф ед р е
1	2	3	4	5	6
1	Основы иммунологии [Электронный ресурс] : сб. тестовых заданий с эталонами ответов для студентов 3 курса, обучающихся по специальности 31.02.03 - Лабораторная диагностика. - Режим доступа: http://krasgmu.vmede.ru/index.php?page[common]=elib&cat=&res_id=51115	сост. М. Ф. Воронова, Г. В. Перфильев а	Красноярск : КрасГМУ, 2015.	ЭБС Крас ГМУ	

2	Основы микробиологии и иммунологии : учебник	ред. В. В. Зверев, Е. В. Буданова	М. : Академия, 2014.	100
3	Основы микробиологии и иммунологии [Электронный ресурс] : учеб. для мед. училищ и колледжей. - Режим доступа: http://www.medcollegelib.ru/book/ISBN9785970429334.html	ред. В. В. Зверев, М. Н. Бойченко	М. : ГЭОТАР-Медиа, 2014.	ЭБС Конс ульт нта студе нта (Фар мкол ледж)

Электронные ресурсы:

ЭБС КрасГМУ «Colibris»;

ЭБС Консультант студента ВУЗ

ЭБС Консультант студента Колледж

ЭМБ Консультант врача

ЭБС Айбукс

ЭБС Букап

ЭБС Лань

ЭБС Юрайт

СПС КонсультантПлюс

НЭБ eLibrary

Типография КрасГМУ
Заказ № 8745

660022, г.Красноярск, ул.П.Железняка, 1