

УТВЪРДИЛ: /Н/

ДАТА: 18.11.2024 г.



ПРОФ. Д-Р ДОБРОМИР ДИМИТРОВ, ДМ

РЕКТОР НА МУ - ПЛЕВЕН

УЧЕБНА ПРОГРАМА

ЗА СПЕЦИАЛНОСТ

ЛАБОРАТОРНА ВИРУСОЛОГИЯ

2024 г.

1. Въведение

1.1. Наименование на специалността: **Лабораторна вирусология**

1.2. Дефиниция на специалността

Специалността Лабораторна вирусология осигурява необходимите познания и практически умения за изясняване на етиологията на заболяванията с вирусна генеза при хората чрез използването на количествени и качествени методи за диагностика. Тя се занимава с комплексното проучване на голяма и разнообразна група човешки вирусни патогени, които притежават уникални свойства и специфични морфологични, биологични и генетични особености.

1.3. Професионална квалификация на лицата, които имат право да се обучават по специалността: **лица с квалификация в областта на биологичните науки и биотехнологиите**

1.4. Продължителност на обучението: **3 (три) години**

2. Цел на обучението

Чрез изпълнението на програмата за специализация се цели да се изградят добре подготвени в теоретичен и практически план специалисти, усвоили схемите на лабораторната вирусологична диагностика, които са в състояние да участват активно в лечебния процес и профилактиката на инфекциозните заболявания в сътрудничество с други лечебно-диагностични звена.

3. Обучение

3.1. Учебен план (наименование на модулите и тяхната продължителност)

Теоретичното обучение включва 8 академични часа дневно, а практическото обучение се провежда на пълно работно време

Наименование на модулите	Продължителност (в месеци)
Теоретично обучение и тематични курсове	Общо 4 месеца

Раздел: Обща вирусология Теми: - Вирусна филогения и молекулярно-епидемиологични методи за надзор и контрол на вирусните заболявания. - Лабораторна диагностика на вирусните инфекции. - Култивиране на вируси в лабораторни условия. - Специфична профилактика и терапия на вирусните заболявания.	1 месец
Раздел: Специална вирусология Теми: - Етиология и диагностика на вирусните хепатити. - Съвременни методи за диагностика и превенция на HPV инфекциите. - Съвременна етиологична диагностика и етиотропна терапия на херпес-вирусни инфекции. - Молекулярни методи за вирусна диагностика, мониториране лечението на HIV/СПИН. - Лабораторна диагностика на грип и ОРЗ. - Лабораторна диагностика на COVID-19. - Лабораторна диагностика на арбовирусни инфекции	2 месеца
Раздел: Клинична вирусология	1 месец
Практическо обучение, разпределено в следните модули	Общо 32 месеца
Обща вирусология. Култивиране на вируси в лабораторни животни, в кокоши ембриони и в клетъчни култури. Основни серологични методи за диагностика на вирусни заболявания.	6 месеца

Молекулярно-биологични методи за вирусологична диагностика.	
Вирусен инфекциозен процес. Противовирусен имунитет, имунопрофилактика и имунотерапия на вирусните инфекции.	5 месеца
Специална вирусология	10 месеца
Клинична вирусология	10 месеца
Други дисциплини Микробиология, Инфекциозна имунология, Епидемиология	1 месец
ОБЩО	36 месеца /3 години/

3.2. Учебна програма

3.2.1. Теоретична част

I. Обща вирусология

1. История на вирусологията

Предмет и място на вирусологията сред биологичните и медицински науки. Вирусологията като възлова наука за решаване на общобиологични проблеми. Историческо развитие на вирусологията в света и у нас. Задачи и роля на вирусологията в здравеопазването.

2. Природа и произход на вирусите

Вируси - основни характеристики. Класификация, таксономия, номенклатура на вирусите. Теории за произхода на вирусите. Вироиди и вирусоиди. Приони. Основни характеристики и причинявани заболявания.

3. Структура на вирусите

Химичен състав: нуклеинови киселини, белтъци, въглехидрати, липиди и ензими. Размери, морфология и структура, симетрия в устройството на вирусите.

4. Размножение на вирусите

Репликативен цикъл. Етапи на вирусното размножение: прикрепване,

проникване, транскрипция, транслация, репликация, сглобяване и напускане на клетката- гостоприемник. Комплекс "вирус-клетка".

5. Вирусна генетика

Строеж на вирусния геном. Видове репликативни стратегии. Основни вирусни генетични взаимодействия (рекомбинация, реактивация, фенотипно смесване и др.).

6. Вирусен инфекциозен процес

Механизъм на инфекциозния процес: проникване на вируса в организма, тъканна локализация, разпространение, излъчване. Вирусни заболявания на дихателната, гастро- интестиналната, пикочо-полова система и др. и тяхната патогенеза. Вирусно-клетъчно взаимодействие - трансформация, интеграция, персистираща инфекция. Видове вирусни инфекции.

7. Противовирусен имунитет

Неспецифични фактори на противовирусния имунитет и тяхното значение. Специфични фактори. Вирусни антигени. Хуморален имунитет. Специфични клетъчни имунни фактори. Динамика на имунния отговор. Имунологичен толеранс, алергия, автоимунни процеси, имуносупресия. Регулация и контрол на имунния отговор.

8. Средства за борба с вирусните заболявания на човека

Вирусни ваксини - видове, приложение в практиката, перспективи. Вирусни ваксини, включени в задължителния имунизационен календар на Република България. Специфични имуноглобулини и интерферон. Химиотерапия на вирусните болести, по- важни противовирусни препарати. Перспективи на антивирусната химиотерапия.

Предизвикателства и трудности при разработването на антивирусни средства. Лекарствена резистентност.

9. Вирусологична лаборатория

Обзавеждане на диагностична вирусологична лаборатория. Нива на биологична защита. Организация и режим на безопасна работа. Вземане,

транспорт и съхранение на проби за вирусологично изследване. Съхранение на патогенни щамове. Текуща дезинфекция, унищожаване на инфекциозен материал. Мерки при вътрелабораторни аварии. Лабораторна регистрация и документация.

10. Методи на морфологично изследване

Строеж и функция на клетката. Роля на светлинната микроскопия във вирусологията. Вирусен цитопатичен ефект. Методи на имунофлуоресцентно изследване. Електронна микроскопия.

11. Съвременни серологични методи за диагностика във вирусологията

Реакция за задръжка на хемаглутинацията (РЗХА), имуно-ензимен тест (*ELISA*) - модификации, имунофлуоресценция, неутрализация, *Western blot*.

12. Съвременни молекулярно-биологични методи за диагностика във вирусологията

Изоляция на нуклеинови киселини, PCR, Real-Time PCR, хибридизация, секвениране

II. Специална и клинична вирусология

13. Пикорнавируси. Калицивируси.

Таксономия и номенклатура. Обща характеристика: строеж на вириона, антигенни и биологични свойства. Култивиране в клетъчни култури и опитни животни. Разпространение.

Род Ентеровируси: Полиомиелитни вируси, коксаки вируси А и В, ЕСНО, други неполиомиелитни ентеровируси (EV 68, EV70, EV 71 и др.), риновируси. Патогенност за човека, особености и клинични форми на ентеровирусната инфекция и имунитет. Епидемиология. Противоепидемични мерки, специфична профилактика. Особености в диагностиката на ентеровирусните инфекции.

Норовируси. Патогенност за човека, особености и клинични форми на норовирусната инфекция и имунитет. Епидемиология и противоепидемични мерки. Особености в диагностиката.

14. Реовируси

Таксономия и номенклатура. Обща характеристика: строеж на вириона, антигенни

и биологични свойства. Разпространение.

Ротавируси. Патогенност за човека, особености на ротавирусната инфекция и имунитет. Диагностика. Епидемиология. Противоепидемични мерки. Особености в диагностиката.

15. Тогавируси

Таксономия и номенклатура. Обща характеристика: строеж на вириона, антигенни и биологични свойства. Разпространение.

Алфавируси (Чикунгуния, Синдбис и др.). Патогенност за човека, особености на инфекцията и имунитета. Епидемиология. Противоепидемични мерки, специфична профилактика. Особености в диагностиката.

Вирус на рубеолата. Патогенност за човека, клинични форми на инфекцията. Имунитет. Лабораторна диагностика. Епидемиология. Противоепидемични мерки.

16. Флавивируси

Таксономия и номенклатура. Обща характеристика: строеж на вириона, антигенни и биологични свойства. Разпространение.

Вирус на кърлежовия енцефалит, вирус на японския енцефалит, вирус на жълтата треска, вирус денга. Патогенност за човека, клинични форми на инфекцията. Имунитет. Особености при диагностиката. Епидемиология и географско разпространение. Противоепидемични мерки.

17. Коронавируси

Човешки коронавируси. Таксономия и номенклатура. Обща характеристика: строеж на вириона, антигенни и биологични свойства. Разпространение. SARS-коронавирус/CoV/. MERS-CoV, SARS-CoV-2. Морфология и строеж, физико-химични, антигенни и биологични свойства. Особености при диагностиката. Патогенност за човека, клинични форми на инфекцията. COVID-19. Имунитет. Епидемиология. Противоепидемични мерки.

18. Аренавируси

Таксономия и номенклатура. Обща характеристика: строеж на вириона, антигенни и биологични свойства. Разпространение.

Вирус на лимфоцитарния хориоменингит. Патогенност за човека, клинични форми на инфекцията. Особености при диагностиката. Имунитет. Епидемиология.

19. Бунявируси

Таксономия и номенклатура. Обща характеристика: строеж на вириона, антигенни и биологични свойства. Разпространение. Вирус на Кримската-Конго хеморагична

треска (КХТ). Патогенност за човека, клинични форми на инфекцията. Особености при диагностиката. Имунитет. Епидемиология. Противоепидемични мерки, специфична профилактика.

20. Ретровируси

Характеристика на групата: Човешки имунодефицитен вирус (HIV). Човешки Т лимфотропен вирус (HTLV). Морфология и строеж, антигенни и биологични свойства. Патогенност за човека, клинични форми на инфекцията. Имунитет. Епидемиология. Противоепидемични мерки, специфична профилактика и химиотерапия. Устойчивост. Лабораторна диагностика.

21. Рабдовируси. Филовириси

Таксономия и номенклатура. Обща характеристика: строеж на вириона, антигенни и биологични свойства. Разпространение.

Вирус на везикулозния стоматит, вирус на беса. Методи на лабораторно култивиране. Патогенност за човека, клинични форми на инфекцията. Имунитет. Лабораторна диагностика. Епидемиология. Противоепидемични мерки, специфична профилактика.

Ебола вирус. Патогенност за човека, клинични форми на инфекцията. Имунитет. Лабораторна диагностика. Епидемиология. Противоепидемични мерки, специфична профилактика.

22. Ортомиксовируси

Таксономия и номенклатура. Обща характеристика: строеж на вириона, антигенни и биологични свойства. Разпространение.

Човешки грипни вируси тип А, В и С. Класификация на грипните вируси от тип А. Антигенни и биологични свойства. Механизми за възникване на пандемичните грипни вируси. Патогенни за човека птичи грипни вируси. Патогенност за човека, клинични форми на инфекцията. Особености при диагностиката. Имунитет. Епидемиология. Противоепидемични мерки, специфична профилактика и терапия.

23. Парамиксовируси

Таксономия и номенклатура. Обща характеристика: строеж на вириона, антигенни и биологични свойства. Разпространение.

Парагрипни вируси, паротитен вирус, морбилен вирус, респираторно-синцитиален вирус. Патогенност за човека, клинични форми на инфекцията. Особености при диагностиката. Имунитет. Епидемиология. Противоепидемични мерки, специфична профилактика и терапия.

24. Папиломавируси

Човешки папиломни вируси. Клинични форми на инфекцията. Имунитет. Епидемиология. Специфична профилактика и терапия. Лабораторна диагностика.

25. Полиомавируси

Човешки полиома вируси. Морфология и строеж, антигенни и биологични свойства. Клинични форми на инфекцията. Епидемиология. Лабораторна диагностика.

26. Аденовируси

Таксономия и номенклатура. Обща характеристика: строеж на вириона, антигенни и биологични свойства. Разпространение. Патогенност за човека, клинични форми на инфекцията. Лабораторна диагностика. Имунитет. Особености при диагностиката. Епидемиология.

27. Хепатотропни вируси

Ентерално предавани хепатитни вируси: хепатитен А вирус /HAV/, хепатитен Е вирус /HEV/. Парентерално предавани хепатитни вируси: хепатитен В вирус /HBV/, хепатитен D вирус /HDV, хепатитен С вирус /HCV/. Класификация. Морфология и строеж, антигенни и биологични свойства. Клинични форми на инфекцията. Особености при диагностиката. Имунитет и специфична профилактика. Епидемиология и противоепидемични мерки.

28. Херпесни вируси

Таксономия и номенклатура. Обща характеристика: строеж на вириона, антигенни и биологични свойства. Разпространение.

Вирус херпес симплекс тип 1 и 2, варицела зостер вирус, цитомегаловирус, вирус на Епщайн-Бар, човешки херпесен вирус 6, човешки херпесен вирус 8. Патогенност за човека, клинични форми на инфекцията. Имунитет. Особености при диагностиката. Епидемиология. Противоепидемични мерки и антивирусна терапия.

29. Поксвируси

Таксономия и номенклатура. Обща характеристика: строеж на вириона, антигенни и биологични свойства. Разпространение.

Вирус на вариолата, ваксинален вирус. Патогенност за човека, клинични форми на инфекцията. Имунитет. Особености при диагностиката. Епидемиология. Противоепидемични мерки, специфична профилактика.

3.2.2. Практическа част

3.2.2.1. Култивиране на вируси в лабораторни животни

Видове лабораторни животни, подбор на опитни животни според видовата и възрастова възприемчивост към агента с различен тъканен тропизъм. Обработка на проби за заразяване. Методи на заразяване, тестове и форми на експериментална инфекция. Режим на работа със заразени лабораторни животни. Методи за определяне на инфекциозния тигър в лабораторни животни. Определяне на ЛД-50, ЕИД-50, ТЦД- 50, ПФЕ. Титриране на хемаглутинационна

и хемадсорбционна активност.

Специализантите придобиват знания за възможностите за диагностика на вирусните инфекции при използване на различни лабораторни животни. Правилно могат да подбират подходящия материал за инокулация и чувствителното животно. Придобиват умения сами да извършват тези манипулации. Могат да определят подходящите време и материала от животното за поставяне на точната диагноза.

Продължителност: 1 месец

3.2.2.2. Култивиране на вируси в кокоши ембриони

Кокошият ембрион като биологична система, анатомичен строеж. Инкубиране. Обработка на проби за изследване и методи на заразяване, срокове и температурен режим за култивиране на различни видове антигени. Вземане на материал от заразените ембриони. Методи за определяне на инфекциозния титър в кокоши ембриони. Определяне на ЛД-50, ЕИД-50, ТЦД-50, ПФЕ. Титриране на хемаглутинационна и хемадсорбционна активност.

Специализантите се запознават с възможностите за използване на кокошите ембриони в диагностиката на вирусните инфекции. Могат сами да вземат подходящия материал и да извършват инокулацията. Придобиват умения сами да извършват методите за определяне на инфекциозния титър.

Продължителност: 1 месец

3.2.2.3. Култивиране на вируси в клетъчни култури

Видове клетъчни култури: първични, диплоидни култури и клетъчни линии. Особености на клетъчния растеж и клетъчната организация при различните видове култури.

Приготвяне на първични монослойни култури: трипсинизация на различни видове тъкани, култивиране, отчитане на клетъчния растеж. Получаване на пасажни култури и стабилни линии.

Обработка на проби за заразяване, методи на култивиране, откриване на агента в заразени клетъчни култури - отчитане на цитопатичния ефект. Плаков

метод на култивиране.

Методи за определяне на инфекциозния титър в клетъчни култури. Определяне на ЛД-50, ЕИД-50, ТЦД-50, ПФЕ. Титриране на хемаглутинационна и хемадсорбционна активност.

Специализантите придобиват знания за най-използваните клетъчни култури във вирусологичната диагностика. Усвояват подбора на подходящите клетъчни култури за различните вируси. Могат сами да поддържат клетъчните култури и да извършват тяхното заразяване. Придобиват умения да отчитат цитопатичния ефект и да определят инфекциозния титър.

Продължителност: 1 месец

3.2.2.4. Основни серологични методи за диагностика на вирусни заболявания

Реакция аглутинация, реакция задръжка на хемаглутинацията, реакция за задръжка на хемадсорбцията, реакция за свързване на комплемента, вируснеутрализираща реакция, реакция преципитация в гел, имуноензимен метод (ELISA) и Western blot.

Специализантите се запознават с всички видове основни серологични реакции (традиционни и съвременни), използвани във вирусологията. Придобиват умения за самостоятелно извършване на различните реакции. Работят сами с апаратурата, която се използва при тези изследвания. Могат да интерпретират получените резултати.

Продължителност: 2 месец

3.2.2.5. Молекулярно-биологични методи за вирусологична диагностика

Изоляция на нуклеинови киселини, PCR, Real-Time PCR, хибридизация, секвениране, молекулярна епидемиология.

Специализантите се запознават с молекулярно-биологичните методи и подходи за изолация на вирусни нуклеинови киселини и хибридизационни техники. Придобиват умения да работят с конвенционален PCR и Real-time PCR

за качествен и количествен анализ на вирусни инфекции. Могат самостоятелно да извършват тези анализи, ползвайки подходящата апаратура. Усвояват секвениране на вирусен геном и анализ на резистентни мутации. Научават как се използват биоинформационните методи за генотипиране и молекулярна епидемиология.

Продължителност: 1 месец

3.2.2.6. Вирусен инфекциозен процес

Противовирусен имунитет, имунопрофилактика и имунотерапия на вирусните инфекции.

Продължителност: 5 месеца

3.2.2.7. Специална вирусология

Продължителност : 10 месеца

3.2.2.8. Клинична вирусология

Продължителност: 10 месеца

3.2.2.9. Микробиология, инфекциозна имунология, епидемиология

Продължителност: 1 месец

- Микробиология

1.1. Морфология на бактериалната клетка

1.2. Физиология на бактериите, хранене, метаболизъм, размножение и отмиране. Химичен състав. Култивиране на бактериите - хранителни среди, изолиране и идентификация на бактериите.

1.3. Бактериална генетика. Бактериални плазмиди. Рестриктивни ензими.

1.4. Антимикробна химиотерапия и резистентност. Лабораторни методи за определяне чувствителността на бактериите към антимикробни средства.

1.5. Имунопрофилактика и имунотерапия на бактериалните инфекции

1.6. Основни свойства и микробиологична диагностика на стафилококи, стрептококи, чревни бактерии, псевдомонас, кампилобактер, хеликобактери, анаеробни бактерии.

- Епидемиология

1.7. Инфекциозен епидемичен процес, взаимна връзка и проявления. Звена на епидемиологичния процес: източник на инфекцията, механизми на предаване, възприемчиво население. Движещи сили на епидемичния процес. Влияние на социалните условия и географската среда. Учение за природната огнищност - особености при вирусните инфекции.

1.8. Дезинфекция, дезинсекция и дератизация - видове, методи, средства

1.9. Същност и задачи на епидемичния контрол у нас

1.10. Епидемиология на ентеровирусните инфекции, грип и ОРЗ, морбили, паротит и рубеола, вирусните хепатити, хеморагичните трески, вирусните енцефалити, HIV- инфекцията

- Инфекциозна имунология

Имунопатология и специални имунологични методи в помощ на вирусологичната диагностика

1.11. Основни клетъчни имунни популации и субпопулации. Флоуцитометрия - изследване на клетъчен имунен статус при вирусни инфекции.

1.12. Интерферон-гама базирани тестове (Т спот и квантиферонов) за изследване на клетъчен имунитет при COVID-19 и поствакцинален имунитет

1.13. Имунопатология, асоциирана с вирусни инфекции. Имунологична същност и диагностика на първични и вторични имунни дефицити и най-чести клинични прояви като вирусни и бактериални инфекции. Вирусите в патогенезата на автоимунните заболявания, туморния растеж и посттрансплантационните усложнения.

4. Минимален задължителен брой практически дейности

Изследвания, манипулации и др.	Брой
Вземане на материал за вирусологично изследване	50
Култивиране на вируси	10
Провеждане на изследване със серологични методи за диагностика на вирусни заболявания	100

Провеждане на изследване с молекулярно-биологични методи за вирусологична диагностика	50
Интерпретация на резултати от вирусологични изследвания	100

5. *Задължителни колоквиуми и срокове за полагането им*

1. Обща вирусология
2. Вирусен инфекциозен процес
3. Специална вирусология I част (въпроси 15-21 от конспекта)
4. Специална вирусология II част (въпроси 22-29 от конспекта)
5. Клинична вирусология I част (въпроси 30-37 от конспекта)
6. Клинична вирусология II част (въпроси 38-44 от конспекта)

6. *Знания, умения и компетентности, които специалистът трябва да придобие*

В резултат на обучението специализиращите Лабораторна вирусология се запознават с природата и свойствата на вирусите, структура и състав, морфология, антигенна характеристика, особености на размножението и генетиката им и принципите на тяхната класификация и номенклатура. Те придобиват задълбочени знания за механизмите на вирусния инфекциозен процес, патогенезата, формите на проява на вирусните инфекции, специфичната профилактика и химиотерапия на вирусните заболявания. Изучава се широк набор от съвременни методи за диагностика и мониторинг на вирусните инфекции.

Завършилите обучение по специалност Лабораторна вирусология придобиват компетенции и умения, свързани с поставяне на етиологичната диагноза на вирусните инфекции при хората, чрез усвояване на специфичните вирусологични методи на диагностика, както и методи, използвани в други медицински дисциплини, специално адаптирани съобразно спецификата на вирусологичната диагностика. Освен това се усвояват знания и умения, свързани с проследяване хода на инфекциозния процес и ефекта от лечението на вирусните

заболявания, както и оценка на ефективността на вирусните ваксини.

7. Конспект за държавен изпит за специалност по лабораторна вирусология

1. Обща вирусология и имунология

1. Вируси - природа и основни свойства. Вироиди, вирусоиди и приони.
2. Класификация на вирусите
3. Особености в структурата и химическия състав на вирусите
4. Размножаване на вирусите. Етапи на вирусния репликативен цикъл.

Репликация при РНК и ДНК вируси.

5. Взаимодействия между вирусите: рекомбинация, реактивация, интерференция, фенотипно смесване, супресия

6. Взаимодействие между вируси и гостоприемник на ниво клетка и на ниво макроорганизъм. Вирусни инфекции и вирусни заболявания.

7. Основни лабораторни модели във вирусологията: клетъчни култури /видове/, кокоши ембриони и опитни животни

8. Съвременна лабораторна диагностика чрез изолация и типизиране на вируси, морфологични, серологични и молекулярно-биологични методи за диагностика

9. Вирусна химиотерапия. Принципи. Видове вирусни инхибитори - механизъм на действие. Приложение в практиката.

10. Особености на противовирусния имунитет - неспецифични и специфични механизми

11. Имунопрофилактика и имунотерапия. Вирусни ваксини - видове /предимства и недостатъци/, имуноглобулини - видове и начин на приложение. Интерферони.

12. Основни клетъчни имунни популации и субпопулации

13. Интерферон-гама базирани тестове (Т спот и квантиферонов) за изследване на клетъчен имунитет при COVID-19 и поствакцинален имунитет

14. Първични и вторични имунни дефицити

II. Специална вирусология

15. Пикорнавируси. Обща характеристика, класификация, морфология и химичен състав, размножение, патогенеза и основни заболявания, профилактика и лечение.

16. Тогавируси

17. Флавивируси

18. Буня- и аренавируси

19. Корона и калици вируси

20. Реовируси. Човешки ротавируси.

21. Рабдовируси

22. Ортомиксовируси

23. Парамиксовируси и пневмовируси

24. Ретровируси. Вируси на човешкия придобит имунодефицит.

25. Полиома и папилома вируси

26. Хепадна вируси. Други хепатитни вируси.

27. Аденовируси

28. Херпесни вируси

29. Поксвируси

III. Клинична вирусология

30. Респираторни вирусни заболявания

31. Гастроинтестинални вирусни заболявания

32. Хепатитни вируси и хепатити

33. Вирусни заболявания на сърцето и мускулите

34. Вирусни заболявания в денталната медицина

35. Вирусни заболявания в оториноларингологията

36. Вирусни заболявания на очите

37. Вирусни заболявания на кожата и лигавиците

38. Вирусни заболявания в акушерството и гинекологията

39. Вирусни заболявания на отделителната система

40. Синдром на придобитата имунна недостатъчност
41. Вирусни заболявания при трансплантирани и имунодефицитни пациенти
42. Вирусни хеморагични трески
43. Вирусни заболявания в неврологията
44. Трансмисивни спонгиозни енцефалопатии