

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
КРЕМЕНЧУЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ МИХАЙЛА ОСТРОГРАДСЬКОГО



МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ
ЩОДО ПРАКТИЧНИХ ЗАНЯТЬ
З НАВЧАЛЬНОЇ ДИСЦИПЛІНИ
«ІМУНОБІОТЕХНОЛОГІЯ»
ДЛЯ СТУДЕНТІВ ДЕННОЇ ФОРМИ НАВЧАННЯ
ЗІ СПЕЦІАЛЬНОСТІ 101 – «ЕКОЛОГІЯ»
ОСВІТНЬО-ПРОФЕСІЙНОЇ ПРОГРАМИ «ЕКОЛОГІЧНА
БІОТЕХНОЛОГІЯ ТА БІОЕНЕРГЕТИКА»

КРЕМЕНЧУК 2018

Методичні вказівки щодо практичних занять з навчальної дисципліни «Імунобіотехнологія» для студентів денної форми навчання зі спеціальності 101 – «Екологія» освітньо-професійної програми «Екологічна біотехнологія та біоенергетика»

Укладач: к. т. н., доц. А. В. Пасенко

Рецензент: к. б. н., доц. О. І. Антонова

Кафедра біотехнологій та біоінженерії

Затверджено методичною радою Кременчуцького національного університету імені Михайла Остроградського

Протокол №__ від_____ 2018 р.

Голова методичної ради

проф. В. В.Костін

ЗМІСТ

ВСТУП.....	4
ПЕРЕЛІК ПРАКТИЧНИХ ЗАНЯТЬ	6
Тема. Поняття «імуномодулятори» та «імуностимулятори». Їх види та використання.....	6
Практичне заняття № 2.....	8
Тема. Антибіотики. Їх класифікація, правила та особливості застосування	8
Практичне заняття № 3.....	13
Тема. Інтерферони. Дія, способи отримання інтерферонів, класифікація.....	13
Практичне заняття № 4.....	16
Тема. Вакцини. Види і типи вакцин.....	16
Практичне заняття № 5.....	19
Тема. Метод імуноферментного аналізу: суть, принципи, недоліки	19
КРИТЕРІЇ ОЦІНЮВАННЯ ЗНАНЬ СТУДЕНТІВ	25
ДОДАТОК А	27
СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ.....	28

ВСТУП

Сучасну імунологію можна розглядати у двох взаємопов'язаних аспектах: по-перше, як науку, яка вивчає механізми функціонування імунної системи та використання отриманих даних для діагностики, профілактики і лікування багатьох хвороб, пов'язаних з функціонуванням цієї системи інфекцій, аутоімунних процесів, алергій, раку і т. д., по-друге, як наукову основу однієї з галузей біотехнології иммунобиотехнологии, здатної забезпечити виробництво речовин, необхідних не тільки для впливу на саму імунну систему і для медицини взагалі, але і вкрай необхідних для багатьох наукових і прикладних галузей, в яких потрібна індикація біоорганічних субстанцій, вірусів, бактерій.

Основою такого застосування є надзвичайна точність і чутливість імунологічних методів. Великі перспективи має також використання антитіл, наприклад, для виділення біоорганічних сполук в чистому вигляді імуносорбентними методами, направленому транспорті лікарських препаратів і т. д.

Біотехнологія - це галузь діяльності людини, заснована на знаннях і методах біохімії, мікробіології, генетики, імунології, хімічної технології та дозволяє отримувати користь з властивостей мікроорганізмів і культур клітин в промислових процесах. Біотехнологію розглядають як промислове використання біологічних процесів і агентів на основі отриманих високоефективних форм мікроорганізмів, культур клітин, тканин рослин і тварин із заданими властивостями, метаболізм біосинтетичних можливості яких забезпечують продукування специфічних речовин, використовуваних людиною.

Імунобіотехнологія (лат. *immunitas* — звільнення + грец. *bios* — життя + *techne* — мистецтво + *logos* — слово) — галузь біотехнології, що має на меті розробку та отримання біофармацевтичних препаратів, необхідних для корекції

імунних дисфункцій. І. об'єднує виробництво вакцин , імуноглобулінів крові, імуномодуляторів, імуномедіаторів, моноклональних антитіл та ін.

Метою навчальної дисципліни є вивчення основних понять як: імунобіотехнологія, імуностимуляторами, розібрати їх застосування та призначення; розібрати принцип дії антибіотиків (вивчити їх групи); з'ясувати чутливість до антибіотиків та інші побічні реакції на них; ознайомитися з формами застосування інтерферонів (коли та при яких захворюваннях необхідно їх приймати); розглянути види та засвоїти методи вакцинації; освоїти значення методу імуноферментного аналізу (розібрати його методи та принципи).

В результаті вивчення навчальної дисципліни студент повинен знати:

- ✓ що собою являє імунобіотехнологія;
- ✓ групи імуномодуляторів;
- ✓ поняття «антибіотики» їх види та використання ;
- ✓ механізм дії інтерферону;
- ✓ значення застосування вакцин;
- ✓ захворювання які виявляються за допомогою ІФА-діагностики.

ПЕРЕЛІК ПРАКТИЧНИХ ЗАНЯТЬ

Практичне заняття № 1

Тема. Поняття «імуномодулятори» та «імуностимулятори». Їх види та використання

Мета: ознайомитися з імуномодуляторами та імуностимуляторами, розібрати їх застосування та призначення.

Навчальні елементи: імунобіотехнологія, імуномодулятори, імунорегуляторні пептиди, цитокіни, інтерферони, імуноглобуліни.

Короткі теоретичні відомості

Імунобіотехнологія (лат. *immunitas* — звільнення + грец. *bios* — життя + *techne* — мистецтво + *logos* — слово) — галузь біотехнології, що має на меті розробку та отримання біофармацевтичних препаратів, необхідних для корекції імунних дисфункцій. І. об'єднує виробництво вакцин, імуноглобулінів крові, імуномодуляторів, імуномедіаторів, моноклональних антитіл та ін. Методи створення імунобіотехнологічних препаратів залежать від їх призначення та складу. Неспецифічні стимулятори імунної відповіді отримують мікробним синтезом. Препарати на основі первинних метаболітів мікроорганізмів стимулюють переважно клітинний імунітет, підвищуючи кількість та функціональну активність макрофагів і лейкоцитів у периферичній крові.

Промислове виготовлення вакцин проходить у кілька технологічних етапів: накопичення біомаси мікроорганізмів або продуктів їх життєдіяльності, інактивація мікроорганізмів, концентрація, очищення, ліофілізація. Розфасування вакцинних препаратів залежить від способу їх уведення: пероральне використання (рідкі, таблетовані або дражовані препарати), підшкірне або внутрішньом'язове введення (ампули).

Імуномодулятори складають групу різних за хімічною будовою і механізмом дії лікарських препаратів. Загальною властивістю імуномодуляторів є те, що вони корегують дію на імунну систему, коли власні захисні механізми

організму дають збій. Така ситуація може виникнути при хронічних алергічних, тривалих запальних захворюваннях, вірусних інфекціях, патології ендокринної системи, а також як результат інших важких захворювань. Клінічно це може виявлятися часторецидивуючими вірусними, бактеріальними або грибковими інфекціями, що не піддаються традиційним методам лікування.

Три основні групи імуномодуляторів:

Ендогенного походження, які в свою чергу поділяються на:

1) ***Імунорегуляторні пептиди***, отримані з центральних органів імунітету - Тимуса (тактивин, тімолін), кісткового мозку (мілопід).

2) ***Цитокіни*** - низькомолекулярні гормоноподібні біомлекули, віднайдені активованими імунокомпетентними клітинами і є регуляторами міжклітинних взаємодій.

3) ***Інтерферони*** - захисні речовини білкової природи, що виробляються клітинами у відповідь на проникнення вірусів.

4) ***Імуноглобуліни*** - високоочищені білкові фракції, що володіють функцією переносників антитіл, імуномодулююча роль яких активно вивчається в даний час.

Екзогенного походження, до яких відносяться:

1) ***Препарати бактеріального походження*** такі як БЦЖ, пірогеналу, рибомуніл, бронхомунал та ін. Всі вони мають здатність посилювати функціональну активність нейтрофілів і макрофагів.

2) ***Препарати грибкового походження*** (Милайф).

Хімічно чисті та синтезовані, серед яких виділяють: речовини отримані за допомогою спрямованого хімічного синтезу (поліоксидоній) та аналоги імуномодуляторів ендогенного походження (лікопід, імунофан).

Експериментально встановлено, що з речовин природного походження найбільш ефективними є цистеїн, серотонін, гістамін - амінокислоти, меркаптопропіламін, мексамін, аміноетил, параамінопропіофенол, аміноалкілтіофосфат, резерпін (алкалоїд рослинного походження, який

вживають для зниження кров'яного тиску), меланін (пігмент засмаги у шкірі людини), пектини (рослинні волокна овочів, фруктів). Значну радіопротекторну активність мають витяжки з рослин - біологічні радіопротектори: препарати женьшеню, китайського лимонника, левзеї, елеутерокока, деревію, отрути змії та деяких видів жаб, екстракти мідій, муміє, вітаміни. Це так звані адаптогени - речовини, які пристосовують організм до дії негативних факторів. Особливо важливі вітаміни, що посилюють опірність організму. резерпін.

Завдання до теми

1. Записати у вигляді таблиці дві групи рослин-імуномодуляторів з прикладами.
2. Навести приклади противірусних імуномодуляторів.
3. Записати всі «за» і «проти» у застосуванні імуномодуляторів. Вказати протипоказання щодо застосування імуномодуляторів.
4. Навести приклади природних імуномодуляторів для дітей.

Контрольні питання

1. Що таке імунобіотехнологія?
2. Які основні групи імуномодуляторів ви знаєте?
3. Які імуномодулятори використовують при грипі, застуді, герпесі, ВІЛ-інфекції та ВПЛ?

Література: [1 – 29].

Практичне заняття № 2

Тема. Антибіотики. Їх класифікація, правила та особливості застосування

Мета: розібрати принцип дії антибіотиків; вивчити їх групи; з'ясувати чутливість до антибіотиків та інші побічні реакції на них.

Навчальні елементи: антибіотики, пеніцилін, алергічні реакції, токсична дія препаратів, дисбіоз, імунодепресія.

Короткі теоретичні відомості

Антибіотики – величезна група бактерицидних препаратів, кожен з якою характеризується своїм спектром дії, показаннями до застосування і наявністю тих чи інших наслідків.

Антибіотики – речовини, здатні пригнічувати ріст мікроорганізмів або знищувати їх. До антибіотиків відносяться речовини рослинного, тваринного або мікробного походження. В даний час це визначення дещо застаріле, так як створено величезну кількість синтетичних препаратів, проте прообразом для їх створення послужили саме природні антибіотики.

Історія антимікробних препаратів починається з 1928 року, коли А. Флемінгом був вперше відкритий пеніцилін. Це речовина була саме відкрита, а не створено, так як воно завжди існувало в природі. У живій природі його виробляють мікроскопічні гриби роду *Penicillium*, захищаючи себе від інших мікроорганізмів.

Всі антибактеріальні препарати по ефекті впливу на мікроорганізми можна розділити на дві великі групи: бактерицидні – безпосередньо викликають загибель мікробів; бактеріостатичні – перешкоджають розмноженню мікроорганізмів. Не здатні рости і розмножуватися, бактерії знищуються імунною системою хворої людини. Свої ефекти антибіотики реалізують безліччю способів: деякі з них перешкоджає синтезу нуклеїнових кислот мікробів; інші перешкоджають синтезу клітинної стінки бактерій, треті порушують синтез білків, а четверті блокують функції дихальних ферментів.

Класифікація антибіотиків передбачає наявність груп:

1) **Похідні пеніциліну.** Сюди відносяться всі препарати, створені на основі самого першого антибіотика. У цій групі виділяють такі підгрупи або покоління пенициллинових препаратів (природний бензилпеніцилін, який синтезується грибами, і напівсинтетичні препарати: метицилін, нафциллин; синтетичні препарати: карбеніцилін і тикарциллин, що володіють більш широким спектром дії; мециллам і азлоциліном, мають ще більш широкий спектр дії).

2) **Цефалоспори́ни** – найближчі родичі пеніцилінів. Самий перший антибіотик цієї

групи – цефазолін, виробляється грибами роду *Serhalosporium*. Препарати цієї групи здебільшого мають бактерицидну дію, тобто вбивають мікроорганізми.

3) **Макроліди** – препарати зі складною хімічною структурою, які надають бактериостатичну дію на широкий спектр мікробів. Представники: азитроміцин, ровамицин, джозамицин, лінкоміцин та ряд інших. Макроліди вважаються одними з найбезпечніших антибактеріальних препаратів – їх можна застосовувати навіть вагітним. Азаліди і кетоліди – різновиди макролідів, мають відмінності в структурі активних молекул.

4) **Аміноглікози́ди**. Представники: гентаміцин, амікацин, канаміцин.

Ефективні

відносно великого числа аеробних грамотригативних мікроорганізмів. Ці препарати вважаються найбільш токсичними, можуть призвести до досить серйозних ускладнень. Застосовуються для лікування інфекцій сечостатевого тракту, фурункульозу.

5) **Тетрациклі́ни**. В основному цієї напівсинтетичні і синтетичні препарати, до яких

відносяться: тетрациклін, доксициклін, міноциклін. Ефективні стосовно багатьох бактерій. Недоліком цих лікарських засобів є перехресна стійкість, тобто мікроорганізми, що виробили стійкість до одного препарату, будуть малочутливі і до інших з цієї групи.

6) **Фторхіноло́ни**. Це повністю синтетичні препарати, які не мають свого природного

аналога. Всі препарати цієї групи поділяються на перше покоління (пефлоксацин, ципрофлоксацин, норфлоксацин) і друге (левофлоксацин, моксифлоксацин). Використовуються найчастіше для лікування інфекцій ЛОР-органів (отит, синусит) та дихальних шляхів (бронхіт, пневмонія).

7) **Лінкозаміди**. До цієї групи відносяться природний антибіотик лінкоміцин і його

похідне кліндаміцин. Чинять бактеріостатичну і бактерицидну дії, ефект залежить від концентрації.

8) **Карбапенеми**. Це одні з найсучасніших антибіотиків, що діють на велику кількість

мікроорганізмів. Препарати цієї групи відносяться до антибіотиків резерву, тобто застосовуються у найскладніших випадках, коли інші препарати неефективні. Представники: іміпенем, меропенем, ертапенем.

9) **Поліміксини**. Це вузькоспеціалізовані препарати, що використовуються для

лікування інфекцій, спричинених синьогнійною паличкою. До поліміксінам відносяться поліміксин М і В. Недолік цих ліків – токсичний вплив на нервову систему та нирки.

10) **Протитуберкульозні засоби**. Це окрема група препаратів, що володіють вираженою

дією на туберкульозну паличку. До них відносяться рифампіцин, ізоніазид і ПАСК. Інші антибіотики теж використовують для лікування туберкульозу, але тільки в тому випадку, якщо до згаданих препаратів виробилася стійкість.

11) **Противіральні засоби**. До цієї групи віднесені препарати, що використовуються для

лікування мікозів – грибкових уражень: амфотирецин В, ністатин, флюконазол.

Антибактеріальні препарати випускаються в різних формах: таблетки, порошок, з якого готують розчин для ін'єкцій, мазі, краплі, спреї, сиропі, свічках.

Основні способи застосування антибіотиків:

1) **Пероральний прийом** - через рот. Прийняти ліки можна у вигляді таблетки, капсули, сиропу або порошку. Кратність прийому залежить від виду антибіотиків, наприклад, азитроміцин приймають один раз на день, а

тетрациклін – 4 рази в день. Для кожного виду антибіотика є рекомендації, в яких зазначено, коли його потрібно приймати до їди, під час або після. Від цього залежить ефективність лікування і вираженість побічних ефектів. Маленьким дітям антибіотики призначають іноді у вигляді сиропу – дітям простіше випити рідину, ніж проковтнути таблетку або капсулу. До того ж, сироп може бути підсолоджені, щоб позбутися від неприємного або гіркого смаку самого ліки.

2) **Ін'єкційний** – у вигляді внутрішньом'язових або внутрішньовенних ін'єкцій. При цьому способі препарат швидше потрапляє у вогнище інфекції та активніше діє. Недоліком цього способу введення є болючість при уколів. Застосовують ін'єкції при середньотяжкому і тяжкому перебігу захворювань.

3) **Місцевий** – нанесення мазей або кремів безпосередньо на вогнище інфекції. Цей спосіб доставки препарату в основному застосовується при інфекціях шкіри – рожисте запаленні, а також в офтальмології – при інфекційному ураженні очі, наприклад, тетрациклінова мазь при кон'юнктивіті.

Завдання до теми

1. Записати ТОП 7 природних антибіотиків та захворювання, при яких їх застосують.
2. Замалювати гриб *Penicillium*, позначити елементи його будови.
3. Зазначити побічні ефекти застосування антибіотиків.

Контрольні питання

1. Що таке антибіотик?
2. Які існують способи застосування антибіотиків?
3. Як діють антибіотики на організм людини?
4. Чи можна приймати антибіотики разом із алкоголем? Чому?
5. Які наслідки прийому антибіотиків?

Література: [1 – 29].

Практичне заняття № 3

Тема. Інтерферони. Дія, способи отримання інтерферонів, класифікація

Мета: ознайомитися з формами застосування інтерферонів; коли та при яких захворюваннях необхідно їх приймати.

Навчальні елементи: інтерферони, інтерференція, імунітет, вірус, лейкоцити.

Короткі теоритичні відомості

Інтерферони – це речовини білкової природи, що володіють загальними захисними властивостями. Продукуються вони клітинами організму у відповідь на впровадження хвороботворних вірусів. Саме ці білки є природним бар'єром, що зупиняє проникнення вірусу в організм людини.

Роком відкриття інтерферону визнаний 1957. Британський вчений вірусолог А. Айзек і його колега з Швейцарії д-р Д. Ліндемман проводили досліди над мишами, зараженими вірусними хворобами. Під час експериментів була помічена дивна закономірність – вже хворі одним видом вірусу миші не піддавалися зараженню іншими вірусами. Явище отримало назву – інтерференція (тобто природний захист). Від цього слова і сталося оригінальна назва інтерферонів.

Згодом інтерферони, що виробляються клітинами людини, розподілили по групах. В основу класифікації покладено типи клітин, які виділяють інтерферони. Так з'явилися:

- 1) інтерферон (ІТФ) альфа (лейкоцитарний, що виробляється лейкоцитами);
- 2) інтерферон (ІТФ) бета (фібробластний, що продукується клітинами сполучної тканини – фібробластами);
- 3) інтерферон (ІТФ) гамма (імунний – виробляється лімфоцитами, макрофагами і

природними кілерами).

Основне застосування в медицині знайшли інтерферони альфа групи. Саме вони беруть участь в лікуванні більшості вірусних патологій. ІТФ-бета випробувані в терапії клінічних проявів розсіяного склерозу.

При попаданні в організм патогенні віруси проникають в клітини, і приступають до активного процесу відтворення. Уражена хвороботворна на початку клітинна структура починає продукувати інтерферони, які діють всередині і виходять за її межі для передачі інформації кліткам- «сусідам». Інтерферон не здатний знищувати віруси, його дія заснована на стримуванні активного розмноження вірусних частинок і їх здатності до пересування.

Механізм дії інтерферону:

- 1) активно знижує процеси синтезу вірусів;
- 2) викликає активацію клітинних ферментів протеїнази R, і рибонуклеази - L, які викликають затримку виробництва білкових молекул вірусу, а також розщеплюють РНК в клітинах (в тому числі – у вірусах);
- 3) ініціює синтез білка р53, що володіє здатністю викликати загибель ураженої клітини.

Для отримання інтерферону застосовуються методи:

- 1) інфікування людських чинників захисту крові (лімфоцитів, лейкоцитів) певними безпечними штамми вірусів. Потім інтерферон, що виділяється клітинами, проходить технологічні методи обробки і перетворюється в лікарську форму;
- 2) генного конструювання (рекомбінантний) – штучне вирощування бактерій (найчастіше кишкових паличок), з наявним геном інтерферону в ДНК. Запатентована назва інтерферону, що випускається за цією методикою, – «Реаферон».

Виходячи з отриманої інформації, виділимо основні види інтерферону:

- 1) Лімфобластоїдні ІТФ – отримані з природних матеріалів.

2) Рекombінантні ІТФ – синтетичні аналоги людських інтерферонів.

3) Пегільовані ІТФ – синтезуються спільно з поліетиленгліколем, що дозволяє інтерферонам діяти довше звичайного терміну. Вони мають більш сильним лікувальним дією.

Чим раніше розпочато лікування інтерфероном, тим кращого результату вдається добитися. амец я закономірність використовується для профілактичного призначення цих препаратів. Інтерферон застосовується в комплексі лікувальних заходів при грипі, вірусних гепатитах, герпетичних захворюваннях, розсіяному склерозі, злоякісних новоутвореннях, імунодефіцитних станах.

Завдання до теми

1. Замалювати схему антивірусної дії інтерферону на організм людини через фермент 2,5 - оліго - А – синтитазу (див. додаток А).
2. Замалювати схему механізму антивірусної дії інтерферонів на організм людини через фермент протеїнкіназу (див. додаток А).
3. Зазначити препарати інтерферону, які застосовують на даний час.
4. Вказати, при яких захворюваннях показані препарати інтерферону.
5. Записати найбільш вагомні індуктори інтерферонів.

Контрольні питання

1. Що таке інтерферони?
2. Хто і коли відкрив інтерферон?
3. Чи є протипоказання до призначення інтерферонів?
4. Який механізм дії інтерферону?
5. Які існують методи отримання інтерферону?

Література: [1 – 29].

Практичне заняття № 4

Тема. Вакцини. Види і типи вакцин

Мета: розглянути види та засвоїти методи вакцинації.

Навчальні елементи: вакцина, жива вакцина, анатоксини.

Короткі теоретичні відомості

Вакцина – це медичний препарат, що містить вбиті або ослаблені збудники різних захворювань або синтезовані білки патогенних мікроорганізмів. Їх вводять в організм людини для створення імунітету до певної хвороби.

Введення вакцин в людський організм називається вакцинація, чи щеплення. Вакцина, потрапляючи в організм, спонукає імунну систему людини виробляти спеціальні речовини для знищення збудника, тим самим формуючи у нього виборчу пам'ять до хвороби. Згодом, якщо людина інфікується цим захворюванням, його імунна система надасть швидке протидія збудника і людина не захворіє зовсім або перенесе легку форму хвороби.

Імунобіологічні препарати можуть вводитися різними способами згідно з інструкцією до вакцин в залежності від виду препарату.

Бувають такі способи вакцинації:

1) Введення вакцини внутрішньом'язово. Місцем щеплення у дітей до року є верхня поверхня середини стегна, а дітям з 2 років і дорослим краще вводити препарат у дельтоподібний м'яз, яка знаходиться у верхній частині плеча. Спосіб застосовується, коли потрібна інактивована вакцина: АКДП, АДП, проти вірусного гепатиту В і протигрипозна вакцина.

2) Підшкірні ін'єкції вводяться тонкою голкою під шкіру в області дельтоподібного м'яза або передпліччя. Приклад - БЦЖ, щеплення від віспи.

3) Інтраназальний спосіб застосовується для вакцин у формі мазі, крему або спрею (щеплення від кору, краснухи).

4) Пероральний спосіб - це коли вакцину у вигляді крапель поміщають в рот пацієнта (поліомієліт).

Вакцини також можна групувати за ознакою складу і способу їх одержання:

- 1) Корпускулярні, тобто складаються з цілісних мікроорганізмів збудника.
- 2) Компонентні або безклітинні складаються з частин збудника, так званого антигену.
- 3) Рекомбінантні: до складу цієї групи вакцин входять антигени патогенного

мікроорганізму, введені за допомогою методів генної інженерії в клітини іншого мікроорганізму. Представником цієї групи є вакцина від грипу. Ще яскравий приклад – вакцина від вірусного гепатиту В, яка виходить шляхом введення антигена (HBsAg) у клітини дріжджових грибів.

Ще один критерій, за яким класифікуються вакцина, – це кількість профілактируємих нею захворювань або збудників:

- 1) Моновалентні вакцини служать для профілактики тільки одного захворювання

(наприклад, вакцина БЦЖ проти туберкульозу).

- 2) Полівалентні або асоційовані - для щеплення від кількох хвороб (приклад – АКДП

проти дифтерії, правця та кашлюку).

Жива вакцина – це незамінний препарат для профілактики багатьох інфекційних захворювань, який зустрічається тільки в корпускулярном вигляді. Характерною особливістю цього виду вакцини вважається те, що головним її компонентом є ослаблені штами збудника інфекції, здатні розмножуватися, проте генетично позбавлені вірулентності (здатності заражати організм). Вони сприяють виробленню організмом антитіл імунної пам'яті.

Перевага живих вакцин полягає в тому, що ще живі, але ослаблені збудники спонукають людський організм виробляти тривалу несприйнятливність (імунітет) до цього патогенного агенту навіть при одноразовій вакцинації. Існує

кілька способів введення вакцини: внутрішньом'язово, під шкіру, краплі в ніс. Недолік - можлива генна мутація патогенних агентів, що приведе до захворювання щепленого. У зв'язку з цим протипоказана для пацієнтів з особливо ослабленим імунітетом, а саме для людей з імунодефіцитом та онкохворих. Вимагає особливих умов транспортування та зберігання препарату з метою забезпечення збереження живих мікроорганізмів у ньому.

Застосування вакцин з *інактивованими* (мертвими) патогенними агентами широко поширене для профілактики вірусних захворювань. Принцип дії базується на введенні в організм людини штучно культивованих і позбавлених життєздатності вірусних збудників. «Убиті» вакцини складом можуть бути як цельномікробними (цельновиральними), так і суб'єдиничними (компонентними) і генно-інженерними (рекомбінантними). Важливою перевагою «убитих» вакцин є їх абсолютна безпека, тобто відсутність ймовірності інфікування щепленого і розвитку інфекції. Недолік - низька тривалість імунної пам'яті в порівнянні з «живими» щепленнями, також у інактивованих вакцин зберігається ймовірність розвитку аутоімунних і токсичних ускладнень, а для формування повноцінної імунізації потрібно кілька процедур вакцинації з дотриманням необхідного інтервалу між ними.

Анатоксини – це вакцини, створені на основі знезаражених токсинів, що виділяються в процесі життєдіяльності деякими збудниками інфекційних захворювань. Особливість цієї щеплення полягає в тому, що вона провокує формування не мікробної несприйнятливості, а антитоксичного імунітету. Таким чином, анатоксини з успіхом використовуються для профілактики тих захворювань, у яких клінічні симптоми пов'язані з токсичним ефектом (інтоксикацією), що виникають в результаті біологічної активності патогенного збудника. Форма випуску – прозора рідина з осадом в скляних ампулах. Перед застосуванням треба струсити вміст для рівномірного розподілу анатоксинів. Переваги анатоксинів – незамінні для профілактики тих захворювань, проти яких живі вакцини безсилі, до того ж вони більш стійкі до коливань температури, не потребують спеціальних умов для зберігання. Недоліки

анатоксинів – індукують тільки антитоксичний імунітет, що не виключає можливості виникнення локалізованих хвороб у щепленого, а також носійство їм збудників даного захворювання.

Завдання до теми

1. Теоретично зазначити, на чому базується виготовлення живих вакцин, навести сировинну базу, схему виробництва.
2. Навести схему отримання інактивованих вакцин.
3. Вказати особливості виготовлення анатоксинів.
4. Записати обов'язкові вакцинації для дітей.
5. Розглянути способи знищення невикористаної вакцини.

Контрольні питання

1. Що таке вакцини?
2. Які бувають способи вакцинації?
3. Які переваги та недоліки живої вакцинації?
4. Які переваги та недоліки інактивованої вакцинації?
5. Що таке анатоксини? Які їх переваги та недоліки?

Література: [1 – 29].

Практичне заняття № 5

Тема. Метод імуноферментного аналізу: суть, принципи, недоліки

Мета: освоїти значення методу імуноферментного аналізу; розібрати його методи та

принципи.

Навчальні елементи: імуноферментний аналіз (ІФА), антитіла, антигени, імунний

комплекс, авідність антитіл.

Короткі теоретичні відомості

Імуноферментний аналіз (ІФА) - сучасне лабораторне дослідження, в ході якого ведеться пошук специфічних антитіл у крові або антигенів до

конкретних захворювань з метою виявлення не тільки етіології, але й стадії хвороби. Результати ІФА можуть видаватися якісно і кількісно.

В даний час ІФА застосовується в наступних ситуаціях:

- 1) Пошук специфічних антитіл до будь-якого інфекційного захворювання.
- 2) Пошук антигенів яких-небудь захворювань (інфекційних, венерологічних).
- 3) Дослідження гормонального статусу пацієнта.
- 4) Обстеження на онкомаркери.
- 5) Обстеження на предмет наявності аутоімунних захворювань.

Переваги методу ІФА:

- 1) Висока специфічність і чутливість методу ІФА (більше 90%).
- 2) Можливість визначення захворювання і відстеження динаміки процесу, тобто

порівнювання кількості антитіл у різних часових проміжках.

- 3) Доступність ІФА-діагностики в будь-якому медичному закладі.

Відносний недолік:

- 1) Виявлення імунної відповіді (антитіл), але не самого збудника.

Антитіла (або імуноглобуліни - Ig) - специфічні білки, що виробляються
В –

лімфоцитами (імунні клітини) у відповідь на потрапляння в організм якого-небудь інфекційного патогена (віруси, бактерії, гриби та ін). Виділяють імуноглобуліни А (IgA), імуноглобуліни Е (IgE), імуноглобуліни М (IgM), імуноглобуліни G (IgG), імуноглобуліни D (IgD). Відрізняються вони один від одного молекулярної формою і масою, періодом напіврозпаду, участю / неучастю в інфекційних процесах, термінами виявлення з моменту інфікування. Якщо розглянути молекулярну вагу, то найбільше він у IgM - це пентамер (950000 дальтон) на відміну від решти Ig (від 150 до 200 000 Так), завдяки чому IgM просто не можуть проходити через плацентарний бар'єр. Тому виявлення

IgM у дитини 1 року життя завжди є ознакою наявності інфекції у плода. У сироватці крові основна маса імуноглобулінів представлена саме IgG (75-85%), а найнижча - IgE (0,003%). В інфекційному процесі безпосередню участь беруть тільки IgA, M, G. IgE є ознакою алергічних реакцій і захворювань, а IgD - можна виявити лише в тканини лімфовузлів і мигдаликів, грає роль у формуванні місцевого імунітету.

Антигени - Високомолекулярні речовини органічного походження, зокрема збудників інфекційних та інших захворювань, а також речовин різних змінених клітин, що утворюються при тій чи іншій хвороби (аутоімунні захворювання, онкологія).

Імунний комплекс - Комплекс антиген-антитіло, що бере участь в імунній процесі.

Виділяють кілька різновидів ІФА (прямий, непрямий, метод блокування, конкурентний), однак на практиці найчастіше використовується гетерогенний твердофазний імунний аналіз або ELISA (enzyme linked immunosorbent assay).

Основу імуноферментного аналізу становить імунна реакція антигену і антитіла з утворенням імунного комплексу: антиген-антитіло, в результаті якого відбувається зміна ферментативної активності специфічних міток на поверхні антитіл.

Простою мовою цей процес можна розділити на кілька етапів:

1) На поверхні лунок планшета доктора, проводить обстеження, знаходиться очищений антиген певного збудника. При додаванні біологічного матеріалу (сироватки крові) пацієнта відбувається специфічна реакція між цим антигеном і шуканим антитілом (імуноглобуліном). Це з'єднання буде виступати «особливим антигеном» в наступному етапі.

2) На даному етапі йде утворення ІК (імунних комплексів) - реакція між «особливим антигеном» і кон'югатом (це імуноглобулін, мічений ферментом пероксидазою). Додається особливий хромоген. Результатом такої ферментативної реакції є утворення пофарбованої речовини в лунці планшета,

інтенсивність забарвлення якого залежить від кількості містяться в матеріалі пацієнта імуноглобулінів (антитіл).

3) Далі відбувається оцінка результату: фотометрирование за допомогою багатоканального спектрофотометра, порівняння оптичної щільності досліджуваного матеріалу з оптичною щільністю контрольних проб, математична обробка результатів. Кількість антитіл у пацієнта безпосередньо залежить від висоти оптичної щільності даної лунки.

Зазвичай на практиці використовують 96 ямковий планшети. При вимірюванні оптичної густини (ОГ) досліджуваної рідини підраховується кількість (або концентрація) антитіл в певній одиниці об'єму. Потім результат порівнюється з контрольним зразком.

Авідність антитіл - Це міцність зв'язку антитіла з антигеном і ту кількість антигену, що знаходиться у взаємозв'язку з імуноглобулінами (антитілами). Авідність має велике значення при оцінці передбачуваного терміну інфікування, що надзвичайно важливо при діагностиці первинного інфікування у вагітних.

Основа тесту на авідність антитіл складається з обробки імуного комплексу (антиген-антитіло) розчином сечовини з метою руйнування білка. Високоавідні зв'язку залишаються цілими, а низькоавідних руйнуються. Результат видається у вигляді індексу авідності, що виражається у відсотках (%).

Захворювання які виявляються за допомогою ІФА-діагностики:

1. Інфекційні захворювання:

1.1 Вірусні гепатити А (IgM, G), В антигени -HBsAg, HBeAg, антитіла - IgM HBcorAg, Ig сумарні HBcorAg, IgG HBeAg), С (антитіла Ig M, G HCV), D (IgM, G), E (Ig M, G) та інші.

1.2 ВІЛ-інфекція (IgG).

1.3 Цитомегаловірусна інфекція (антитіла IgM, G).

1.4 Епштейн-Барр інфекція або мононуклеоз (антитіла IgM, G до EA, VCA, NA білків вірусу).

1.5 Герпетические інфекції (антитіла IgM, G).

1.6 Токсоплазмоз (антитіла IgM, G).

1.7 Краснуха (IgM, G).

1.8 Кір (IgM, G), Бруцельоз (IgM, G), Псевдотуберкульоз (IgM, G), салмонеллезом (IgM, G), Шигеллез або дизентерія (IgM, G), Аспергиллез (IgM, G), Кліщовий енцефаліт, Бореліоз і багато інших.

1.9 Паразитози (лямбліоз, токсокароз, трихінельоз, опісторхоз, ехінококоз, альвеококкоз та інші), при яких виявляються IgG.

1.10 ЗПСШ (захворювання, що передаються статевим шляхом) - Мікоплазмоз (IgM, G), Уреаплазмоз (IgM, G), Хламідіоз (IgA, M, G), Сифіліс (IgG).

1.11 Гелікобактерна інфекція (IgG).

2. Маркери аутоімунних захворювань і показники імунітету людини (загальний IgE, загальний IgG, загальний IgA, загальний IgM, загальний IgD, секреторний IgA, IgG 2, IgG4, ЦВК-циркулюючі імунні комплекси, IgA і IgG до гліадину та інші).

3. Онкологічсєкіє маркєри (ФНП - фактор некрозу пухлини, РЕА - раково-ембріональний антиген, ПСА - простатспецифічний антиген, ХГ - хоріонічний гонадотропін, СА 125, альвеомуцин і багато інших).

4. Рєпродуктивні нарушенія (єстрадіол, прогєстерон, пролактин, тестостерон, АФП- альфафєтопротеин, ФСГ - фолікулостимулюючий гормон та інші)

5. Захворювання щитовидної залози (вільні і пов'язані Т3, Т4, тиреоглобулін, тиреопероксидазе - ТПО, тиреотропний гормон - ТТГ).

Даний список представлений далеко не всіма захворюваннями, які діагностуються за допомогою імуноферментного аналізу.

Найбільш поширений матеріал для реакції ІФА – це сироватка крові пацієнта, взята натщесерце. Матеріалом також можуть служити спинномозкова рідина, навколоплідні води, вміст склоподібного тіла, слиз цервікального каналу і уретри, мазки.

Завдання до теми

1. Замалювати колоримерт.
2. Записати набір реагентів для імуноферментного аналізу.
3. Замалювати таблицю розшифровки результатів імуноферментного аналізу крові.

Контрольні питання

1. Що таке імуноферментний аналіз (ІФА)?
2. Коли застосовується метод ІФА?
3. Які переваги та недоліки методу ІФА?
4. Які захворювання виявляються за допомогою ІФА-діагностики?
5. Як проводиться забір матеріалу для діагностики?

Література: [1 – 29].

КРИТЕРІЇ ОЦІНЮВАННЯ ЗНАНЬ СТУДЕНТІВ

Навчальні досягнення студентів з навчальної дисципліни «Імунобіотехнологія» оцінюються за модульно-рейтинговою системою, в основу якої покладено принцип поопераційної звітності, обов'язковості модульного контролю, накопичувальної системи оцінювання рівня знань, умінь і навичок; розширення кількості підсумкових балів до 100.

«Відмінно»

Ставиться за повні та міцні знання матеріалу в заданому обсязі, уміння вільно виконувати лабораторні роботи, передбачені навчальною програмою; за знання основної та додаткової літератури; за вияв креативності у розумінні і творчому використанні набутих знань та умінь.

«Добре»

Ставиться за вияв студентом повних, систематичних знань з початкової дисципліни, успішне виконання лабораторних робіт, засвоєння основної та додаткової літератури, здатність до самостійного поповнення та оновлення знань.

Але у відповіді студента наявні незначні помилки.

«Задовільно»

Ставиться за вияв знання основного навчального матеріалу в обсязі, достатньому для подальшого навчання і майбутньої фахової діяльності, поверхову обізнаність з основною і додатковою літературою, передбаченою навчальною програмою; можливі суттєві помилки у передбаченою навчальною Програмою; можливі суттєві помилки у передбаченою навчальною програмою; можливі суттєві помилки у розв'язанні лабораторних завдань, але студент спроможний усунути їх за допомогою викладача.

«Незадовільно»

Виставляється студентові, відповідь якого під час відтворення основного програмового матеріалу поверхова, фрагментарна, що зумовлюється

початковими уявленнями про предмет вивчення. Отже, оцінка «незадовільно» ставиться студентові, який неспроможний до навчання чи виконання фахової діяльності після закінчення ВНЗ без повторного навчання за програмою відповідної навчальної дисципліни.

Порядок переведення рейтингових показників успішності у європейські оцінки ECTS

Підсумкова	Оцінка за національною	Оцінка за
1-34	«Незадовільно»	F
35-59	«Незадовільно»	FX
60-63 64-73	«Задовільно»	E D
74-81 82-89	«Добре»	C B
90-100	«Відмінно»	A

Кожний модуль включає бали за поточну роботу студента на лабораторних роботах, практичних заняттях, виконання самостійної роботи, індивідуальну роботу, модульну контрольну роботу.

Виконання модульних контрольних робіт здійснюється в режимі комп'ютерної діагностики або з використанням роздрукованих завдань.

Реферативні дослідження, які виконує студент за визначеною тематикою, обговорюються та захищаються на індивідуальних заняттях. Модульний контроль знань студентів здійснюється після завершення вивчення навчального матеріалу модуля.

Кількість балів за роботу з теоретичним матеріалом, на лабораторних роботах, під час виконання самостійної та індивідуальної навчально-дослідної роботи залежить від дотримання таких вимог: своєчасність розв'язання навчальних завдань; повний обсяг їх розв'язання; якість розв'язання навчальних завдань; самостійність; творчий підхід у розв'язанні завдань; ініціативність у навчальній діяльності.

ДОДАТОК А

Системи 2,5-оліго-а-синтетаза і Р1 протеїнкіназа є основними відомими сьогодні механізмами, через які інтерферон гнітить вірус.



Рисунок 1 - Схема анти вірусної дії інтерферону на організм людини через фермент 2,5 - оліго - А – синтитазу.



Рисунок 2 - Схема механізму антивірусної дії інтерферонів на організм людини через фермент протеїнкіназу.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Безгин В. М. Основы промышленной иммуобиотехнологии / В. М. Безгин и др. – Курск : Изд-во Курской гос. с.-х. акад., 2011. – 511 с.
2. Прищеп Т. П. Основы фармацевтической биотехнологии / Т. П. Прищеп, В. С. Чучалин. – Ростов-на-Дону : Феникс, 2006. – 256 с.
3. Медуницын Н. В. Основы иммунопрофилактики и иммунотерапии инфекционных болезней : учеб. пособие / Н. В. Медуницын., В. И. Покровский. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2005. – 512 с.
4. Глотов А. В. Основы иммунологии, иммуногенетики и иммуобиотехнологии. Ч.1. Общая иммунология : учебное пособие / А. В. Глотов, М. Г. Потуданская. – Омск. 2009. – 119 с.
5. Заикина Н. А. Иммуобиотехнология / Н. А. Заикина, В. А. Галынкин, А. В. Гарбаджиу. – Санкт-Петербург. : Изд-во «Менделеев». – 2005. – 155 с.
6. Старченко И. Б. Биотехнические и медицинские технологии : учебное пособие / И. Б. Старченко, В. Ю. Вишневецкий. – Таганрог : Изд-во ТТИ ЮФУ, 2010. – 52 с.
7. Пинчук В. П. Иммуоцитохимия и моноклональные антитела в онкогематологии / В. П. Пинчук, Д. Ф. Глузман. – К. : Наук. думка, 1990. – 230 с.
8. Сазыкин Ю. О. Биотехнология : учебное пособие для студентов по специальности «Фармация» / Ю. О. Сазыкин, С. Н. Орехов, И. И. Чакалева ; под ред. А. В. Катлинского. – Москва : Академия, 2006. – 253 с.
9. Коростелева Н. И. Биотехнология : учебное пособие / Н. И. Коростелева, Т. В. Громова, И. Г. Жукова. – Барнаул : Изд-во АГАУ, 2006. – 127 с.
10. Огурцов А. Н. Нанобиотехнология. Основы молекулярной биотехнологии :
11. учебное пособие / А. Н. Огурцов. – Харьков : ХПИ, 2010. – 384 с.
12. Ярилин А. А. Иммунология : учебник / А. А. Ярилин. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 752 с.

13. Вершигора А. Е. Общая иммунология : учеб. пособие / А. Е. Вершигора. – К. : Вища школа, 1989. – 736 с.
14. Вершигора А. Ю. Імунологія : підручник / А. Ю. Вершигора, Є. У. Пастер, Д. В. Колибо та ін. – К. : Вища школа, 2005. – 599 с.
15. Петров Р. В. Иммунология / Р. В. Петров. – М. : Медицина, 1987. – 416 с.
16. Ройт А. Иммунология ; пер. с англ / А. Ройт, Дж. Бростофф, Д. Мейл. – М. : Мир, 2000. – 592 с.
17. Хаитов Р. М. Иммунология : ученик / Р. М. Хаитов, Г. А. Игнатъева, И. Г. Сидорович. – М. : Медицина, 2000. – 432 с.
18. Ярилин А. А. Иммунология / А. А. Ярилин. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 750 с.
19. Маслянюк Р. П. Основи імунології / Р. П. Маслянюк. – Л. : Вертикаль. – 1999. – 471 с.
20. Рабсон А. Основы медицинской иммунологии ; пер. с англ. / А. Рабсон, А. Ройт, П. Делвз. – М. : Мир, 2006. – 320 с.
21. Прикладная иммунология / Под ред. А. А. Сохина, Е. Ф. Чернушенко. – К. : Здоров'я, 1984. – 320 с.
22. Иммунологические методы / Под ред. Г. Фримеля. – М. : Медицина. – 1987. – 472 с.
23. Иммунологические методы исследований / Под ред. И. Лефковитса, Б. Перниса. – М. : Мир. – 1988. – 530 с.
24. Клиническая иммунология и аллергология / Под ред. Г. Лолорам, Т. Фишера, Д. Адельмана. – М. : Практика. – 2000. – 206 с.
25. Дранник Г. Н. Клиническая иммунология и аллергология / Г. Н. Дранник. – М. : Медицинское информационное агентство. – 2003. – 603 с.
26. Клиническая иммунология и аллергология : учебное пособие / Под ред. А. В. Караулова. – М. : Медицинское информационное агентство, 2002. – 651с.

27. Бажора Ю. І. Клінічна імунологія / Ю. І. Бажора, В. М. Запорожан, В. Й. Кресюн, І. М. Годзієва. – Одеса : Одес. держ. мед. ун-т., 2000. – 384 с.

28. Лаповець Л. Є. Посібник з лабораторної імунології / Л. Є. Лаповець, Б. Д. Луцик. – Львів. – 2002. – 173 с.

29. Лебедев К. А. Иммунограмма в клинической практике / К. А. Лебедев. – М. : Наука. – 1990. – 388 с.

Методичні вказівки щодо практичних занять з навчальної дисципліни «Імунобіотехнологія» для студентів денної форми навчання зі спеціальності 101 – «Екологія» освітньо-професійної програми «Екологічна біотехнологія та біоенергетика»

Укладач: к. т. н., доц. А. В. Пасенко

Відповідальний за випуск в.о. завідувача кафедри біотехнологій та біоінженерії,
доц. О. В. Новохатько

Підп. до др. _____ . Формат 60×84 1/16. Папір тип. Друк ризографія.

Ум. друк. арк. _____. Наклад _____ прим. Зам. № _____ Безкоштовно.

Видавничий відділ
Кременчуцького національного університету
імені Михайла Остроградського
вул. Першотравнева, 20, м. Кременчук, 39600