

1. Общие вопросы

Дополнительная профессиональная программа (далее Программа стажировки) разработана в ННИИЭМ им. академика И.Н.Блохиной в соответствии с:

- единым квалификационным справочником должностей руководителей, специалистов и служащих (приказ Минздравсоцразвития России от 26.08.2010г. №761п);
- приказом Министерства образования и науки РФ от 01.06.1013г. №499;
- профессиональным стандартом специалиста в области медико-профилактического дела (приказ Министерства труда и соц.защиты от 25.06.2015 г.№399н);
- ФГОС ВО по специальности: 32.08.13 – вирусология (медицинские науки), 03.02.02 – вирусология(биологические науки), 03.02.03 – микробиология (медицинские, биологические науки) утвержден приказом Министерства образования и науки Российской Федерации от 27 августа 2014 г. N 1140.

Программа является нормативно-методическим документом, регламентирующим содержание, организационно-методические формы и трудоемкость обучения.

Программа предназначена для стажировки (повышения квалификации) врачей-вирусологов, врачей бактериологов, биологов- ФБУЗ ЦГиЭ Роспотребнадзора.

Составители Программы:

Бруснигина Н.Ф., к.м.н., доцент, зав. лабораторией метагеномики и молекулярной индикации патогенов ННИИЭМ им. академика И.Н.Блохиной.

Колесникова Е.А., к.б.н., научный сотрудник ННИИЭМ им. академика И.Н.Блохиной

Махова М.А., к.б.н., старший научный сотрудник ННИИЭМ им. академика И.Н.Блохиной

Рецензент Программы:

Епифанова Н.В., к.б.н., в.н.с. лаборатории молекулярной эпидемиологии вирусных инфекций ННИИЭМ им. академика И.Н.Блохиной.

СОГЛАСОВАНО:

Руководитель учебно-методического отдела ННИИЭМ
д.м.н., профессор

С.Н.Цыбусов

2. Цель и задачи освоения модуля: «Индикация бактериальных и вирусных патогенов – возбудителей инфекционных болезней человека методом ПЦР»

Рабочая программа модуля «Индикация бактериальных и вирусных патогенов – возбудителей инфекционных болезней человека методом ПЦР» является учебно-методическим нормативным документом, регламентирующим содержание и организационно-методические формы обучения в послевузовском профессиональном повышении квалификации врачей-вирусологов, врачей бактериологов, биологов.

Цель освоения дисциплины:

Подготовка квалифицированного специалиста (бактериолога, вирусолога, биолога), обладающего системой современных общекультурных и профессиональных компетенций, способного и готового к самостоятельной профессиональной деятельности в области молекулярной диагностики инфекционных болезней III-IV групп патогенности.

Задачи дисциплины:

1. производственно-технологическая деятельность:

- осуществление диагностических молекулярно-генетических исследований ПБА III-IV групп патогенности – возбудителей актуальных инфекционных болезней (бронхолегочные инфекции, в том числе внебольничная пневмония, ОКИ, урогенитальные инфекции, нейроинфекции).

2. организационно-управленческая деятельность:

- организация труда персонала в учреждениях и их структурных подразделениях, осуществляющих свою деятельность в целях обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения с учетом требований техники безопасности и охраны труда.

3. Требования к результатам освоения программы

Компетенция	Результаты обучения	Виды занятий	Оценочные средства
УК-1	Готовностью к абстрактному мышлению, анализу, синтезу.		
	Знать: -методы критического анализа и оценки современных научных достижений в области молекулярной диагностики инфекционных болезней Уметь: -анализировать альтернативные варианты решения диагностических и практических задач. Владеть: -навыками анализа методологических проблем, возникающих при решении	Лекции, практические занятия.	Опрос

	диагностических задач с использованием метода ПЦР.		
ПК-2	Готовность к проведению диагностических молекулярно-генетических исследований бактериальных и вирусных возбудителей инфекционных болезней III-IV групп патогенности и интерпретации их результатов.		
	<p>Знать:</p> <ul style="list-style-type: none"> -структурную организацию генома бактерий и вирусов; -теоретические основы ПЦР - организацию работы при исследованиях методом ПЦР материала, инфицированного ПБА III-IV групп патогенности - правила сбора, хранения и транспортирования биоматериалов в ПЦР лабораторию <p>Уметь:</p> <ul style="list-style-type: none"> -проводить выделение ДНК и РНК из различных биологических субстратов, амплификацию (ПЦР, ПЦР РВ (ПЦР в режиме реального времени)), интерпретировать результаты детекции продуктов ПЦР <p>Владеть:</p> <p>Методологией индикации ДНК бактерий и ДНК/РНК-содержащих вирусов с использованием метода ПЦР, включая электрофоретическую и гибридизационно-флуоресцентную детекцию продуктов амплификации.</p>	Лекции, практические занятия	Опрос.

4. Распределение трудоемкости дисциплины

Виды учебной работы	Трудоемкость	
	Объем в зачетных единицах (ЗЕ)	Объем в академических часах (АЧ)
Лекции	0,14	2
Практические занятия	0,40	15

Зачёт	0,06	1
ИТОГО:	0,50	18

5. Учебный план (разделы дисциплины, виды учебной работы и формы текущего контроля):

№	Наименование раздела дисциплины	Виды учебной работы (в АЧ)		
		Л	ПЗ	всего
1	Теория. Молекулярно-генетические методы (ПЦР, ПЦР РВ) в диагностике инфекционных болезней III-IV групп патогенности	2	-	2
2	Практика. Освоение методики проведения ПЦР	-	15	15
Всего:		2	15	17
зачет		-	-	1
ИТОГО:		2	17	18

5.1. Темы лекций:

№	Наименование тем лекций	Время (АЧ)
1	Общие сведения об организации работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот микроорганизмов III-IV групп патогенности. Современные принципы и методы выделения (экстракции) нуклеиновых кислот (ДНК/РНК) из образцов биологического материала.	1
2	Особенности проведения реакции обратной транскрипции и амплификации (ПЦР, ПЦР РВ). Способы детекции продуктов амплификации (электрофоретическая, гибридационно-флуоресцентная в режиме реального времени, по конечной точке).	0,5
3	Биологическая безопасность при работе с ПБА III-IV групп патогенности, предотвращение контаминации. Отбор, хранение и транспортировка проб биологических субстратов (кровь, моча, мокрота, БАЛ).	0,5
ИТОГО:		2

5.2 Темы практических занятий

№	Наименование тем практических занятий	Время (АЧ)
1.	Выделение ДНК ПБА из образцов биологических субстратов (кровь, моча, мокрота, мазки из носа и ротоглотки, БАЛ, урогенитальные мазки)	1,5
2	Выделение РНК-содержащих вирусов. Обратная транскрипция РНК.	1,5
3	Амплификация специфических фрагментов нуклеиновых кислот бактериальных и вирусных геномов.	3

4	Детекция продуктов амплификации методом электрофореза в агарозном геле. Капиллярный электрофорез.	3
5	Детекция продуктов амплификации гибридационно-флуоресцентным методом в режиме реального времени и по конечной точке	4
6	Анализ и интерпретация результатов ПЦР, ПЦР РВ (качественный, количественный варианты). Основные ошибки. Способы контроля проведения ПЦР	2
	ИТОГО	15

6. Оценочные средства для контроля результатов освоения дисциплины - опрос. Форма контроля – зачет (1 час)

Примеры оценочных средств:

1. Вопросы для оценки теоретических знаний:

- структурная организация геномов различных микроорганизмов (бактерий, вирусов);
- методы выделения РНК/ДНК;
- теоретические основы полимеразной цепной реакции;
- особенности вариантов детекции продуктов амплификации;
- биобезопасность при работе с образцами, содержащими микроорганизмы III-IV групп патогенности;
- нормативные документы, регламентирующие организацию работ лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот.

2. Задания для оценки практических навыков:

- самостоятельно провести выделение нуклеиновых кислот из биосубстратов, потенциально инфицированных ПБА III-IV групп патогенности;
- поставить ПЦР в режиме реального времени;
- провести анализ полученных результатов ПЦР РВ с помощью программного обеспечения используемого прибора (RotorGene 6000, CFX-96).

7. Учебно-методическое и информационное обеспечение дисциплины (печатные, электронные издания, интернет и другие сетевые ресурсы).

7.1. Перечень основной литературы:

№	Название согласно библиографическим требованиям
1	СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней»
2	МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I-IV групп патогенности»

3	МУ 1.3.1888—04 «Организация работы при исследованиях методом ПЦР материала, инфицированного патогенными биологическими агентами III—IV групп патогенности»
4	МУ 4.2.2039-05 «Техника сбора и транспортирования биоматериалов в микробиологические лаборатории»
5	МР «Взятие, транспортировка, хранение клинического материала для ПЦР-диагностики», ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Москва, 2011г.
6	Ребриков Д.В., Саматов Г.А., Трофимов Д.Ю., Семенов П.А. ПЦР в реальном времени. Учебное пособие. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний. - 2011. – 413с. ISBN978-5-9963-0600-8.
7.	СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами»

7.2. Перечень дополнительной литературы:

№	Название согласно библиографическим требованиям
1	Мазепа, В.Н. Оптимизация метода ПЦР для наиболее информативного и экономичного выявления возбудителей негонококковых инфекций (НУГИ) / В.Н. Мазепа, Н.Ф. Бруснигина, О.М. Черневская, К.А. Орлова, Л.Е. Скобло // Материалы юбилейной Всероссийской НПК посвященной 90-летию Нижегородского НИИ эпидемиологии и микробиологии им. И. Н. Блохиной Роспотребнадзора и 20-летию Приволжского окр. центра по профилактике и борьбе со СПИД. – 2009. – С. 149 - 151
2	Баранова Е.Е., Батенева Е.И., Галкина И.С. и др. ПЦР в реальном времени: новые возможности технологии в решении репродуктивных проблем. – М.: ООО «ДНК-Технология». – 2013. – 63 с.
3	Бадьгина, Н.А. Организация системы контроля качества исследований методом полимеразной цепной реакции / Н.А.Бадьгина, С.А. Костюк, Т.В. Руденкова, О.С. Полуян // Лабораторная диагностика. Восточная Европа. – 2012. - №1. – С. 28 – 38.

8. Материально-техническое обеспечение дисциплины

Для проведения лекций на базе корпуса ННИИЭМ имеется:

- лекционная аудитория;

Для проведения практических занятий на базе корпуса ННИИЭМ имеется:

- Лаборатория метагеномики и молекулярной индикации патогенов

Перечень оборудования для проведения аудиторных занятий по дисциплине:

Наименование	Количество
Для выделения РНК/ДНК из исследуемого материала требуются:	
Бокс абактериальной воздушной среды БАВп-01-«Ламинар-С» 1,5	2
Термостат для пробирок типа «Эппендорф» от 25 до 100°C	1-2

Микроцентрифуга для пробирок типа «Эппендорф» до 16 тыс. об/мин (MiniSpine, Eppendorf)	1
Центрифуга для пробирок	1
Микроцентрифуга-вортекс CV-1500	2
Вакуумный отсасыватель медицинский с колбой-ловушкой для удаления надосадочной жидкости	2
Набор автоматических дозаторов переменного объема	10
Штативы для микропробирок типа «Эппендорф»	5
Холодильник бытовой с морозильной камерой (на минус 18 ⁰ С)	2
Для проведения реакции обратной транскрипции, амплификации, гибридизационно-флуоресцентной детекции продуктов ПЦР требуются:	
Бокс абактериальной воздушной среды БАВп-01-«Ламинар-С» 1,5	2
Термостат для микропробирок от 25 до 100 ⁰ С	1
Набор электронных и автоматических дозаторов переменного объема	8
Микроцентрифуга-вортекс CV-1500	2
Штативы для микропробирок, объемом 0,1 мл., 0,2 мл., 0,5 мл., 0,6 мл., 1,5 мл.	4
Термостат программируемый для проведения ПЦР-анализа «Терцик»	1
Прибор для проведения полимеразной цепной реакции в режиме реального времени Rotor-Gene 6000 (Corbett Research, Австралия)	1
Мультиканальный флуориметр АЛА-1/4 (Biosan, Латвия)	1
Персональный компьютер для анализа кривых плавления и регистрации флуоресцентного сигнала накопления продуктов амплификации	1
Холодильник от 2 до 8 ⁰ С с морозильной камерой не выше минус 16 ⁰ С	1
Для детекции продуктов амплификации методом электрофореза в агарозном геле или с помощью капиллярного электрофореза:	
Камера для горизонтального электрофореза не более 400 мл.	1
Источник постоянного тока с напряжением 150-460 В. «Эльф-4»	1
Система гель-документирования Gel Doc EZ «Bio-Rad»	1
Персональный компьютер	
Микроволновая печь для плавления агарозы	1
Весы электронные	1
Штатив для микропробирок, объемом 0,5 -0,6 мл.	2
Набор автоматических дозаторов переменного объема	3
Заливочный столик	1
Гребенки	4
Холодильник от 2 до 8 ⁰ С с морозильной камерой не выше минус 16 ⁰ С	1
Прибор для капиллярного гель-электрофореза QIAxcel Advanced	1
Персональный компьютер	1
Набор автоматических дозаторов переменного объема	3
Штатив для микропробирок, объемом 0,5 -0,6 мл.	1