

08-13242

АУЛЕТ

**РУКОВОДСТВО ПО ЛАБОРАТОРНОЙ
ДИАГНОСТИКЕ ВИРУСНЫХ
БОЛЕЗНЕЙ ЖИВОТНЫХ**

08-13243

**Москва
2008**

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ НАУК
МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
УРАЛЬСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ВЕТЕРИНАРНЫЙ ИНСТИТУТ
УРАЛЬСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННАЯ АКАДЕМИЯ
МУ ЦЕНТР ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ

РУКОВОДСТВО ПО ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКЕ ВИРУСНЫХ БОЛЕЗНЕЙ ЖИВОТНЫХ

«Допущено учебно-методическим объединением по ветеринарии и зоотехнии в качестве учебного пособия для студентов высших учебных заведений по специальности 310700-Зоотехния и 310800- Ветеринария»

Москва, 2008 г.

УДК 619:616.

Рецензенты: Бакулов И.А. – академик РАСХН;

Сухарев О.И. – д. ветер-х наук, профессор.

Руководство по лабораторной диагностике вирусных болезней животных/ под общ. ред.: Смирнова А.М., Самуйленко А.Я., Донник И.М., Бейкина Я.Б. – Москва: РАСХН, 2008г. – 858 с.

В работе представлены обобщающие данные по современным методам лабораторной диагностики вирусных заболеваний животных. Приведены материалы об устройстве диагностических лабораторий, основные правила работы с инфицированным материалом, регламенты, краткая характеристика наиболее часто встречающихся заболеваний животных. Руководство предназначено для научных сотрудников, специалистов диагностических лабораторий, аспирантов, студентов ветеринарных, биологических и медицинских специальностей.

Издание подготовлено при участии: ВСГиЭ, ВИЭВ, МАВМиБ им. К.И. Скрябина, ВНИИТИБП, УрНИВИ, УрГСХА, Новосибирский ГАУ, МУ Центр лабораторной диагностики УЗ г. Екатеринбург

Авторский коллектив

<i>Я.Б. Бейкин,</i>	<i>А.Г. Исаева,</i>	<i>П.Н. Смирнов,</i>
<i>Л. Г. Беседина,</i>	<i>А.С. Кривоногова,</i>	<i>Н.Н. Сбитнева,</i>
<i>С.В. Булатова,</i>	<i>Н. Б. Патрушева,</i>	<i>А.Т. Татарчук,</i>
<i>Ф.И. Василевич,</i>	<i>О.Г. Петрова,</i>	<i>Р.Р. Хайбуллин,</i>
<i>М.И. Гулюкин,</i>	<i>А.Я. Самуйленко,</i>	<i>И.А. Шкуратова,</i>
<i>И.М. Донник,</i>	<i>А.М. Самуйленко,</i>	<i>Е.Н. Шурова</i>

ISBN № 5 – 85522-052-4

СОДЕРЖАНИЕ

ГЛАВА 1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ В ВИРУСОЛОГИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРИИ.....	3
Устройство и оснащение лаборатории.....	3
Требования к рабочим помещениям и обеспечение условий работы.....	5
Основные правила работы в вирусологической лаборатории.....	9
Дезинфекция и стерилизация биоматериала.....	18
Вопросы.....	21
ГЛАВА 2. МЕТОДЫ ИНДИКАЦИИ И ИДЕНТИФИКАЦИИ ВИРУСОВ.....	22
Классификация методов.....	22
Микроскопические методы.....	23
Вирусскопия.....	24
Обнаружение внутриклеточных включений.....	25
Методы изготовления и окраски препаратов-отпечатков.....	27
Метод иммунофлюоресценции.....	30
Биологические методы индикации вирусов.....	33
Выделение вирусов на культурах клеток.....	33
Выделение вирусов на куриных эмбрионах.....	35
Выделение вирусов на лабораторных животных.....	35
Методы геммагглютинации и гемадсорбции.....	36
Реакция геммагглютинации.....	36
Реакция гемадсорбции.....	39
Вопросы.....	41

ГЛАВА 3. ЛАБОРАТОРНЫЕ ЖИВОТНЫЕ И ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ В ВИРУСОЛОГИИ.....	42
Цели использования лабораторных животных в вирусологии.....	42
Виды лабораторных животных и требования к ним.....	46
Уход за животными и их содержание.....	56
Техника безопасности при работе с животными.....	57
Метка лабораторных животных.....	58
Взятие инфекционного материала.....	63
Приготовление вирусной взвеси.....	64
Методы экспериментального заражения лабораторных животных.....	66
Признаки размножения вируса в организме лабораторного животного.....	84
Вскрытие лабораторных животных.....	88
Вопросы.....	94

ГЛАВА 4. КУРИНЫЕ ЭМБРИОНЫ И ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ В ВИРУСОЛОГИИ.....	94
Цели использования куриных эмбрионов в вирусологии.....	94
Строение куриного эмбриона.....	101
Подготовка куриных эмбрионов к заражению.....	107
Методы экспериментального заражения куриных эмбрионов.....	108
Признаки размножения вируса в курином эмбрионе.....	119
Вскрытие куриного эмбриона и получение вирусосодержащего материала.....	125
Вопросы.....	130

ГЛАВА 5. КУЛЬТУРЫ КЛЕТОК И ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ В ВИРУСОЛОГИИ.....	131
Культура клеток и тканей.....	131
Первично-трипсинизированные культуры клеток.....	133
Перевиваемые культуры клеток.....	138
Диплоидные культуры клеток.....	142
Суспензионные культуры клеток.....	144
Условия культивирования клеточных культур.....	146
Хранение культур клеток.....	150
Контаминация культур клеток.....	152
Культивирование вирусов в культуре клеток.....	154
Обработка вирусосодержащего материала для исследования в культуре тканей.....	154
Заражение культур тканей.....	158
Реакция клеток на вирусную инфекцию.....	159
Титрование вирусов в однослойных культурах тканей... ..	167
Титрование вирусов и антител по цитопатическому действию.....	169
Титрование вирусов и антител методом цветной реакции.....	173
Титрование вирусов и антител методом бляшек (пятен) по Дульбекко.....	183
Обнаружение внутриклеточных включений.....	187
Вопросы.....	192
ГЛАВА 6. ТИТРОВАНИЕ ВИРУСОВ.....	193
Расчет дозы (разведения вируса, дающей 50%-ный эффект (ЭД ₅₀), по Риду и Менчу.....	210
Расчет дозы (разведения вируса, дающей 50%-ный эффект (ЭД ₅₀), по Керберу.....	214
Титрование по гемагглютинирующему действию.....	217
Вопросы.....	221

ГЛАВА 7. СЕРОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	222
Реакция иммунофлюоресценции (РИФ).....	227
Реакция нейтрализации (РН).....	247
Реакция связывания комплемента (РСК).....	271
Реакция радиального гемолиза (РРГ).....	294
Реакция торможения (задержки) гемадсорбции (РТГад).	307
Реакция агглютинации.....	315
Реакция гемагглютинации (РГА).....	317
Реакция торможения гемагглютинации (РТГА).....	325
Реакция непрямой или пассивной агглютинации (РНГА)	337

Реакция торможения (задержки) пассивной гемагглютинации (РТПГА).....	345
Реакция агглютинации латекса (РАЛ).....	346
Реакция коагглютинации (РКОА).....	353
Реакция преципитации	361
Иммуноэлектрофорез.....	372
Иммуноферментный анализ (ИФА).....	390
Радиоиммунологический анализ (РИА).....	405
Вопросы.....	414

ГЛАВА 8. ЭЛЕКТРОННАЯ МИКРОСКОПИЯ В ДИАГНОСТИКЕ ВИРУСНЫХ БОЛЕЗНЕЙ	418
Возможности электронной микроскопии.....	418
Устройство электронного микроскопа.....	419
Приготовление препаратов для электронной микроскопии.....	422
Электронно-микроскопическая диагностика вирусов...	424
Иммунная электронная микроскопия (ИЭМ).....	428
Исследование ультратонких срезов биологических объектов.....	429

Вопросы.....	431
--------------	-----

ГЛАВА 9. МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ ВИРУСНЫХ БОЛЕЗНЕЙ..... 432

Введение.....	432
---------------	-----

Структура нуклеиновых кислот.....	435
-----------------------------------	-----

Основные принципы организации лабораторий, использующих методы генодиагностики.....	441
---	-----

Принцип метода молекулярной гибридизации.....	453
---	-----

Метод полимеразной цепной реакции.....	469
--	-----

Модификации метода ПЦР.....	485
-----------------------------	-----

Возможные диагностические ошибки при использовании молекулярно-биологических методов исследований.....	507
--	-----

Преимущества метода ПЦР как метода диагностики инфекционных заболеваний.....	512
--	-----

Область применения молекулярно-биологических методов исследований.....	515
--	-----

Словарь терминов.....	516
-----------------------	-----

Вопросы.....	523
--------------	-----

ГЛАВА 10. ВИРУСНЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ..... 524

Болезнь Ауески (ложное бешенство).....	524
--	-----

Бешенство.....	555
----------------	-----

Лейкоз крупного рогатого скота.....	596
-------------------------------------	-----

ОСПА.....	618
-----------	-----

Ящур.....	660
-----------	-----

Болезнь Тешена.....	706
---------------------	-----

Вирусная диарея.....	713
----------------------	-----

Инфекционная катаральная лихорадка овец.....	723
--	-----

Чума крупного рогатого скота.....	731
-----------------------------------	-----

Европейская (классическая) чума свиней (КЧС).....	744
Болезнь Марека.....	756
Инфекционный гепатит собак.....	772
Болезнь Ньюкасла.....	790
Чума плотоядных.....	805
Инфекционный гастроэнтерит свиней.....	816
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	844
ПРИЛОЖЕНИЕ.....	849
СОДЕРЖАНИЕ.....	852