

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ОРЕНБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»**

**Методические рекомендации для
самостоятельной работы обучающихся по дисциплине
Б1.В.14 Вирусология**

Направление подготовки: 36.03.01 «Ветеринарно-санитарная экспертиза»

Профиль образовательной программы: Ветеринарно-санитарная экспертиза

Форма обучения: заочная

СОДЕРЖАНИЕ

1. Организация самостоятельной работы.....	3
2. Методические рекомендации по выполнению индивидуальных домашних заданий.....	6
3. Методические рекомендации по самостоятельному изучению вопросов.....	15
4. Методические рекомендации по подготовке к занятиям.....	19
4.1. Правила работы с вирусами. Устройство вирусологической лаборатории.....	19
4.2. Методы диагностики вирусных болезней.....	19
4.3. Индикация вирусов в патологическом материале путем обнаружения телец-включений.....	19
4.4. Лабораторная диагностика бешенства.....	19

1. ОРГАНИЗАЦИЯ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ РАБОТЫ

1.1. Организационно-методические данные дисциплины

№ п.п.	Наименование темы	Общий объем часов по видам самостоятельной работы				
		подготовка курсового проекта (работы)	подготовка реферата/эссе	индивидуальные домашние задания (ИДЗ)	самостоятельное изучение вопросов (СИБ)	подготовка к занятиям (ПкЗ)
1	2	3	4	5	6	7
1	Введение в вирусологию	-	-	-	3	-
2	Правила работы с вирусами. Устройство вирусологической лаборатории			-	1	2
3	Правила отбора патологического материала от больных животных и трупов. Подготовка патологического материала к исследованию	-	-	-	3	-
4	Физическая и химическая структура и состав вирусов			-	2	-
5	Методы диагностики вирусных болезней	-	-	-	1	2
6	Индикация вирусов в патологическом материале путем обнаружения телец-включений	-	-	-	1	-
7	Действие на вирусы физических и химических факторов	-	-	-	3	-
8	Принципы систематики вирусов. Характеристика ДНК-содержащих вирусов	-	-	-	3	-

9	Лабораторные животные их использование в вирусологии	-	-	-	3	-
10	Характеристика РНК – содержащих вирусов	-	-	-	3	-
11	Использование куриных эмбрионов в вирусологии	-	-	-	3	-
12	Использование культур клеток в вирусологии	-	-	-	3	-
13	Индикация вируса в культуре клеток	-	-	-	3	-
14	Бактериофаги	-	-	-	3	-
15	Репродукция вирусов	-	-	-	4	-
16	Патогенез вирусных инфекций	-	-	-	3	-
17	Особенности противовирусного иммунитета	-	-	-	3	-
18	Профилактика и химиотерапия вирусных болезней			-	3	-
19	РГА и РТГА их использование в вирусологии	-	-	-	3	-
20	РДП в геле, применение в вирусологии.	-	-	-	3	-
21	РИФ, её применение в вирусологии	-	-	-	3	-
22	Молекулярно-генетические методы в вирусологии.	-	-	-	3	-
23	Вирусы бешенства			-	2	-
24	Лабораторная диагностика бешенства.	-	-	-	1	2
25	Вирусы болезни Ауески	-	-	-	3	-
26	Вирусы гриппа	-	-	-	3	-
27	Вирусы ящура	-	-	-	3	-

28	Вирусы лейкоза крупного рогатого скота.	-	-	-	2	2
29	Контрольная работа	-	-	10	-	-

2. МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ВЫПОЛНЕНИЮ ИНДИВИДУАЛЬНЫХ ДОМАШНИХ ЗАДАНИЙ

Индивидуальные домашние задания выполняются в форме контрольной работы

2.1 Темы индивидуальных домашних заданий

Контрольная работа №1

1. Основные этапы развития вирусологии. Роль вирусов и инфекционной патологии животных.
2. Реакция диффузной преципитации в геле. Опишите ее сущность, методику постановки и практическое использование.
3. Виды животных, чувствительных к вирусу болезни Ауески в естественных условиях и при экспериментальном заражении. Методы лабораторной диагностики болезни Ауески. ВСЭ при болезни Ауески
4. Инактивированные вирусные вакцины. Требования, предъявляемые к ним и их получению.

Контрольная работа № 2

1. Химический состав вирусов.
2. Свойства первично-трипсинизированных и перевиваемых культур клеток. Использование их в вирусологической практике. Методика получения первично-трипсинизированной культуры клеток.
3. Механизм антивирусного действия интерферона и его практическое применение.
4. Вирус ящура. Основные эпизоотические данные, клинические и патологоанатомические признаки заболевания. Лабораторная диагностика ящура.. ВСЭ при ящуре.

Контрольная работа № 3

1. Факторы и особенности противовирусного иммунитета.
2. Инфекционный ринотрахеит крупного рогатого скота. Краткая характеристика вируса, его культивирования и патогенность. Лабораторная диагностика болезни и специфическая профилактика. ВСЭ при инфекционном ринотрахеите.
3. Учет, хранение и транспортировка вирусов.
4. Индикация вируса в зараженных клеточных культурах. Цитопатогенное действие вируса на клетку, методика обнаружения ЦПД.

Контрольная работа № 4

1. Интерферон, его роль в противовирусном иммунитете и перспективы практического использования.
2. Использование реакции гемадсорбции в вирусологии (РГАд).
3. Бешенство. Свойства вируса, его особенности, патогенность. Лабораторная диагностика и специфическая профилактика. ВСЭ при бешенстве
4. Взятие и подготовка вирусологического материала для вирусологических исследований. Условия хранения вирусов в лаборатории.

Контрольная работа № 5

1. Репродукция вирусов.
2. Особенности реакции связывания комплемента с вирусными антигенами. Использование РСК в вирусологии.
3. Основные правила транспортировки ВСМ.
4. Методы лабораторной диагностики чумы свиней. Специфическая профилактика чумы свиней. ВСЭ при чуме свиней.

Контрольная работа № 6

1. Изменчивость вирусов.
2. Современные методы диагностики вирусных болезней животных: ДНК-зонды, ПЦР, ИФА.
3. Болезнь Ньюкасла. Из чего складывается ранняя и ретроспективная диагностика заболевания. ВСЭ при НБ.
4. Виды патологического материала используемого для диагностических исследований на вирусные болезни, методы получения вирусосодержащего материала.

Контрольная работа № 7

1. Устойчивость вирусов к физическим и химическим факторам.
2. РСК, компоненты для реакции и их характеристика. Методика постановки РСК при определении серологического типа вируса ящура.
3. Получение и обработка патологического материала для вирусологических исследований.
4. Парагрипп крупного рогатого скота. Свойства вируса. Методы лабораторной диагностики. ВСЭ при парагриппе-3.

Контрольная работа № 8

1. Типы симметрии вирусов. Химический состав просто- и сложноорганизованных вирусов.
2. Механизмы персистенции вирусов в организме животных.
3. Сущность вакцинации покусанных животных и человека. Какие вакцины применяют для вакцинации животных против бешенства. ВСЭ при бешенстве.
4. Свойства вируса африканской чумы свиней. Методы культивирования в лабораторных условиях, выделения вируса и лабораторная диагностика заболевания.

Контрольная работа № 9

1. Белки вируса и их функциональное значение.
2. Противовирусные вакцины. Принципы их получения и эффективность.
3. Вирусы гриппа его характеристика, антигенный шифт и дрейф.
4. Специфическая профилактика и меры борьбы с ящуром. ВСЭ при ящуре.

Контрольная работа № 10

1. Ингибиторы вирусов как факторы врожденного неспецифического иммунитета.
2. Трансмиссивный гастроэнтерит и респираторно-репродуктивный синдром свиней. Свойства вирусов, его особенности, патогенность. Лабораторная диагностика и специфическая профилактика этих болезней. ВСЭ при ТГС и РРС свиней.

3. Реакция нейтрализация. Сущность реакции, методика использования и две модификации. Использование реакции.

4. Вирус лейкоза крупного рогатого скота

2.2 Содержание индивидуальных домашних заданий

Контрольные работы выполняются студентом самостоятельно, вариант контрольной работы определяется последней цифрой в зачетной книжке. При выполнении не соответствующего варианта контрольная работа не оценивается и следует выполнить соответствующий вариант. Контрольная работа сдается на кафедре не позднее чем за 10 дней до сдачи зачета и при неудовлетворительном выполнении должна быть переработана.

2.3 Порядок выполнения заданий

Контрольная работа по вирусологии может быть написана разборчиво на одной стороне листа в тетради или допускается выполнение в компьютерном наборе шрифт Times New Roman, размер шрифта - 14, интервал 1,5.

Содержать: титульный лист, вопросы контрольной работы, список использованной литературы.

Список использованных источников должен быть оформлен в соответствии с ГОСТ 2.105-95 «Общие требования к текстовым документам» и ГОСТ 7.32-81

2.4 Пример выполнения задания

ФГБОУ ВО «ОРЕНБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Кафедра микробиологии и заразных болезней

КОНТРОЛЬНАЯ РАБОТА

по вирусологии

Выполнил: студент 3 курса отделения
«Ветеринарно-санитарной экспертизы»
заочной формы обучения

Оренбург 2016

Контрольная работа №

1. Основные этапы развития вирусологии. Роль вирусов и инфекционной патологии животных.
2. Реакция диффузной преципитации в геле. Опишите ее сущность, методику постановки и практическое использование.
3. Виды животных, чувствительных к вирусу болезни Ауески в естественных условиях и при экспериментальном заражении. Методы лабораторной диагностики болезни Ауески. ВСЭ при болезни Ауески
4. Инактивированные вирусные вакцины. Требования, предъявляемые к ним и их получению.

1. Основные этапы развития вирусологии. Роль вирусов и инфекционной патологии животных.

Быстрый прогресс в области вирусологических знаний, основанный в значительной мере на достижениях смежных естественных наук, обусловил возможность углубленного познания природы вирусов. Как ни в одной другой науке, в вирусологии прослеживается быстрая и четкая смена уровней познания – от уровня организма до субмолекулярного.

Приведенные периоды развития вирусологии отражают те уровни, которые являлись доминирующими в течение одного – двух десятилетий.

Уровень организма (30-40-е годы XX века). Основной экспериментальной моделью являются лабораторные животные (белые мыши, крысы, кролики, хомяки и т. д.), основным модельным вирусом – вирус гриппа. В 40-е годы, благодаря исследованиям австралийского вирусолога и иммунолога Ф.М. Бернета, в вирусологию в качестве экспериментальной модели прочно входят куриные эмбрионы в связи с их высокой чувствительностью к вирусам гриппа, оспы и некоторым другим.

Открытие в 1941 г. американским вирусологом Херстом феномена гемагглютинации немало способствовало изучению взаимодействия вируса с клеткой на модели вируса гриппа и эритроцитов.

Большим вкладом отечественных вирусологов в медицинскую вирусологию явилось изучение природно-очаговых заболеваний – эпидемических энцефалитов. В 1937 г. была организована первая экспедиция, возглавляемая Л. А. Зильбером, в составе которой были Е. Н. Левкович, А. К. Шубладзе, М. П. Чумаков, В. Д. Соловьев и др. Благодаря проведенным исследованиям был открыт вирус клещевого энцефалита, выявлены его переносчики – иксодовые клещи, разработаны методы лабораторной диагностики, профилактики и лечения. Советскими вирусологами были изучены вирусные геморрагические лихорадки, разработаны препараты для диагностических и лечебно-профилактических целей.

Уровень клетки (50-е годы XX века). В 1949 г. происходит значительное событие в истории вирусологии – открытие возможности культивировать клетки в искусственных условиях. В 1952 г. Дж. Эндерс, Т. Уэллер, Ф. Роб-бинс получили Нобелевскую премию за разработку метода культуры клеток. Использование культуры клеток в вирусологии явилось подлинно революционным событием, послужившим основой для выделения многочисленных новых вирусов, их идентификации, клонирования, изучения их взаимодействия с клеткой. Появилась возможность получения культуральных вакцин. Эта возможность была доказана на примере вакцины против полиомиелита. В содружестве с американскими вирусологами Дж. Солком и А. Сейбином, русскими вирусологами М. П. Чумаковым, А. А.

Сморodinцевым и др. была разработана технология производства, апробирована и внедрена в практику убитая и живая вакцины против полиомиелита. В 1959 г. была проведена массовая иммунизация детского населения в СССР (около 15 млн.) живой полиомиелитной вакциной, в результате резко снизилась заболеваемость полиомиелитом и практически исчезли паралитические формы заболевания. В 1963 г. за разработку и внедрение в практику живой полиомиелитной вакцины М. П. Чумакову и А. А. Смородинцеву была присуждена Ленинская премия. Другим важным приложением техники выращивания вирусов явилось получение Дж. Эндерсом и А. А. Смородинцевым живой противокоревой вакцины, широкое применение которой обусловило значительное снижение заболеваемости корью и является основой для искоренения этой инфекции.

Широко внедрялись в практику и другие культуральные вакцины – энцефалитная, ящурная, антирабическая и т. д.

Молекулярный уровень (60-е годы XX века). В вирусологии широко стали использовать методы молекулярной биологии, а вирусы благодаря простой организации их генома стали распространенной моделью для молекулярной биологии. Молекулярная биология используя вирусную модель, устанавливает генетический код, механизм внутриклеточной экспрессии генома, репликацию ДНК, процессинг (созревание) информационных РНК и многое другое. В свою очередь использование молекулярных методов в вирусологии позволило установить принципы строения (архитектуры) вирусных индивидуумов – вирионов, способы проникновения вирусов в клетку и их репродукции.

Субмолекулярный уровень (70-е годы XX века). Стремительное развитие молекулярной биологии открывает возможности изучения первичной структуры нуклеиновых кислот и белков. Появляются методы секвенирования ДНК, определения аминокислотных последовательностей белка. Получают первые генетические карты геномов ДНК-содержащих вирусов.

В 1970 г. Д. Балтимором и одновременно Г. Теминым и С. Мизутани была открыта обратная транскриптаза в составе РНК-содержащих онкогенных вирусов, фермент, переписывающий РНК на ДНК. Становится реальным синтез гена с помощью этого фермента на матрице, выделенной из полисом иРНК.

В 1972 г. возникает новый раздел молекулярной биологии – геновая инженерия. В этом году публикуется сообщение П. Берга в США о создании рекомбинантной молекулы ДНК, которое положило начало эре геновой инженерии. Появляется возможность получения большого количества нуклеиновых кислот и белков путем введения рекомбинантных ДНК в состав генома прокариот и простых эукариот. Одним из основных практических приложений нового метода является получение дешевых препаратов белков, имеющих значение в медицине (инсулин, интерферон) и сельском хозяйстве (дешевые белковые корма для скота).

Этот период характеризуется важными открытиями в области медицинской вирусологии. В фокусе изучения – три наиболее массовых болезни, наносящих огромный ущерб здоровью людей и народному хозяйству – грипп, рак, гепатит.

Установлены причины регулярно повторяющихся пандемий гриппа. Детально изучены вирусы рака животных (птиц, грызунов), установлена структура их генома и идентифицирован ген, ответственный за злокачественную трансформацию клеток – онкоген. Установлено, что причиной гепатитов А и В являются разные вирусы: гепатит А вызывает РНК-содержащий вирус, отнесенный к семейству пикорнавирусов, а гепатит В – ДНК-содержащий вирус, отнесенный к семейству гепаднавирусов. В 1976 г. Барух Блумберг, исследуя антигены крови у аборигенов Австралии, обнаружил так называемый

австралийский антиген, который он принял за один из антигенов крови. Позже было выявлено, что этот антиген является антигеном вируса гепатита В, носительство которого распространено во всех странах мира. За открытие австралийского антигена Б. Блумбергу в 1976 г. была присуждена Нобелевская премия.

Другая Нобелевская премия в 1976 г. присуждена американскому ученому К. Гайдушеку, который установил вирусную этиологию, одной из медленных инфекций человека – куру, наблюдающейся в одном из туземных племен на острове Новая Гвинея и связанной с ритуальным обрядом – поеданием зараженного мозга умерших родственников. Благодаря усилиям К. Гайдушека, эта традиция была искоренена и число больных резко сократилось.

2. Реакция диффузной преципитации в геле. Опишите ее сущность, методику постановки и практическое использование.

РДП основана на способности к диффузии в гелях антител и растворимых антигенов.

Диффузией называют проникновения молекул одного вещества между молекулами другого, обусловленные тепловыми движениями молекул.

Гелями называют такие дисперсные системы, в которых жидкая фаза распределена равномерно среди твердой. В лабораторной практике очень часто используют агаровый гель.

При создании условий, в которых они будут диффундировать навстречу друг другу, при их встрече образуется комплекс антиген + антитело. Этот комплекс не обладает способностью диффундировать в толще агарового геля и выпадает в осадок (в участках, где создаются их эквивалентные концентрации) в виде полосы преципитации, видимой невооруженным глазом. Если же диффундирующие антигены и антитела не гомологичны друг другу, то полосы преципитации не образуется.

Для создания условий диффузии в слое агара делают лунки, в которые заливают компоненты. Количество и взаимное расположение лунок зависит от решаемой задачи.

РДП позволяет решить следующие диагностические задачи: обнаружить и идентифицировать неизвестный выделенный вирус путем исследования его с различными заведомо известными сыворотками (антителами);

обнаружить и определить титр антител в сыворотках с помощью известного антигена.

РДП может быть поставлена в чашках Петри (макрометод) и на предметных стеклах (микрометод).

Методика постановки макрометода по технике принципиально не отличается от постановки микрометода, только в этом случае в чашку Петри наливают 20—25 мл расплавленного агара и в застывшем геле делают лунки диаметром 5—6 мм по специальной схеме (расстояние между лунками 4—5 мм) и вносят соответствующие компоненты.

При постановке РДП на предметных стеклах препарат можно через 48—72 ч высушить и окрасить раствором амидного черного, что позволит его сохранить и сфотографировать.

Достоинства РДП: простота техники постановки; быстрота получения ответа; не требует стерильной работы, особой чистоты компонентов; возможность документирования результата путем фотографирования. Недостаток РДП — низкая чувствительность.

Иммунодиффузия в электрическом поле (встречный электрофорез, ракетный электрофорез) позволяет повысить чувствительность метода в 10—20 раз и более.

Одна из разновидностей РДП — реакция радиальной иммунодиффузии (РРИД).

3. Виды животных, чувствительных к вирусу болезни Ауески в естественных условиях и при экспериментальном заражении. Методы лабораторной диагностики болезни Ауески. ВСЭ при болезни Ауески

В естественных условиях вирус болезни Ауески поражает крупный рогатый скот, оленей, овец, свиней, лошадей, кошек, собак, лисиц, норок, волков, ежей, медведей, грызунов, птиц и т. д., однако чувствительность к нему животных разных видов неодинакова. Из домашних животных наиболее восприимчивы свиньи (поросята и супоросные свиноматки), крупный и мелкий рогатый скот, собаки и кошки (чаще щенята и котята). Болезнь протекает у них в тяжелой форме и почти всегда завершается гибелью. Лошади, ослы, мулы восприимчивы в меньшей степени. Из пушных зверей чаще болеют норки (при поедании инфицированного мясного корма).

Хорошо культивируется в организме взрослых кроликов при внутримышечном, подкожном и внутримозговом заражении, в 10...12-суточных куриных эмбрионах на хорион-аллантаической оболочке или в желудочном мешке. В первичных культурах фибробластов куриного эмбриона, клеток почек свиней, крольчат, крупного рогатого скота и обезьян, легких эмбриона свиней вызывает ярко выраженное цитопатогенное действие в виде округления клеток и образования многоядерных гигантских клеток. Длительное культивирование вирулентных штаммов вируса в куриных эмбрионах и культурах клеток приводит к ослаблению вирулентности с сохранением иммуногенных свойств, что используют для получения вакцинных штаммов.

Диагностика болезни Ауески основана на данных эпизоотологического, клинического, патологоанатомического и биологического методов исследования.

К числу характерных признаков относят внезапность появления больных, массовое поражение, быстрое распространение инфекции, поражение в основном молодняка (при этом смертность достигает 95... 100 %) в любое время года, специфические клинические признаки (зуд, расчесы, судороги и др.).

Для проведения лабораторных исследований в лабораторию направляют от больных животных носовые истечения, абортингованные плоды, плаценту от абортировавших животных, парные сыворотки. От трупов наилучшим материалом для выделения вируса являются головной мозг, кусочки легкого, селезенки, печени, лимфатические узлы. От латентно инфицированных свиней вирус может быть выделен из ганглиев тройничного нерва.

В лаборатории применяют экспресс методы, вирусологические методы и методы ретроспективной диагностики.

Экспресс-методы: обнаружение антигена в патологическом материале в РИФ, РНГА, обнаружение характерных вирионов вируса болезни Ауески методами электронной микроскопии, обнаружение специфических телец-включений в препаратах с помощью световой микроскопии.

Вирусологические исследования: выделение вируса на кроликах, кошке, культуре клеток; выделенный вирус идентифицируют в РИФ, РДП, РН, РНГА, ИФА.

Парные сыворотки исследуют в серологических реакциях РН, РНГА, РДП, ИФА, при активном инфекционном процессе происходит нарастание титра антител в четыре и более раз.

Срок исследования — до 7 сут.

Туши и продукты убоя от животных, больных и подозрительных по заболеванию болезнью Ауески, использовать в сыром виде запрещается.

При наличии дистрофических или других патоморфологических изменений в мышцах (абсцессы и др.) тушу с внутренними органами направляют на утилизацию.

При отсутствии патоморфологических изменений в туше и во внутренних органах решение

об использовании принимают после бактериологического исследования на сальмонеллы. При этом в случае обнаружения в мясе или внутренних органах сальмонелл внутренние органы направляют на утилизацию или уничтожают, а туши используют после проварки или направляют на изготовление консервов. При отсутствии сальмонелл тушу, шпик и внутренние органы разрешается перерабатывать на вареные, варено-копченые колбасы и консервы или направляют на проварку.

4. Инаktivированные вирусные вакцины. Требования, предъявляемые к ним и их получению.

Специфическая профилактика вирусных болезней строится в основном на тех же принципах, что и профилактика других инфекционных болезней, и включает применение различных типов вакцин. Вакцины – это биологические препараты, приготовленные из возбудителей инфекционных болезней или продуктов их жизнедеятельности, которые содержат в своем составе специфический антиген в количестве, достаточном для обеспечения иммунитета у привитых животных.

Как известно, вирусы для макроорганизма представляют собой чрезвычайные раздражители, т.е. антигены. Антигенность их обусловлена белками, входящими в состав оболочек. У вирусов различают два типа антигенов: S — внутренний, Vi — внешний.

Штаммы, предназначенные для изготовления инаktivированных (убитых) вакцин, представляют собой культуру типичного представителя данного вида вируса и по биологическим свойствам должны быть идентичны циркулирующим в природе эпизоотическим штаммам и высоковирулентны.

Изготовление инаktivированных вакцин также начинается с культивирования и накопления производственного штамма вируса в чувствительной биологической живой системе (животные, развивающиеся куриные эмбрионы, культуры клеток и тканей). Полученный вируссодержащий материал гомогенизируют и подвергают очистке. Очистка при получении инаktivированных (убитых) вакцин является важным этапом, так как убитый вирус не репродуцируется в организме и для получения достаточно интенсивного иммунного ответа необходимо вводить при вакцинации значительное количество вируссодержащего материала. Суспензия вируса, используемая для изготовления вакцин, обычно содержит значительные количества компонентов клеток, которые оказывают дополнительную нагрузку на иммунную систему организма. Поэтому вирусные суспензии должны быть очищены от балластных агентов; обычно используют низкоскоростное центрифугирование.

Далее основное требование, предъявляемое к убитым вакцинам, - полная и необратимая инаktivация генома при максимальной сохранности антигенной детерминанты (цепей полипептидов, вызывающих образование специфических антител) и иммунная защита животных. Поэтому инаktivант должен необратимо повреждать нуклеиновую кислоту и в минимальной степени затрагивать белки. При абсолютной инаktivации вируса должны быть такие изменения генома, которые исключают транскрипцию или трансляцию вирусной РНК или репликацию вирусной нуклеиновой кислоты.

Для получения инаktivированных вакцин в качестве инаktivанта широко используют формалин, гидроксилламин, этанол, β-пропиолактон, этиленимин, УФ- и гамма-излучения, воздействие температуры, а также другие инаktivизирующие инфекционность факторы. Все реагенты, которые используют для инаktivации вирусов, должны активно реагировать с компонентами нуклеиновых кислот, т. е. являться сильными мутагенами. Поэтому избыток

инактиванта по окончании реакции должен быть полностью удален или переведен в неактивную форму. Для повышения иммуногенной активности к инаktivированной вирусной суспензии (вакцине) добавляют адъюванты: гидроокись алюминия, сапонин, минеральное масло и др. Для консервации вакцины используют глицерин, фенол, мертиолят и др.

На конечном этапе перед выпуском вакцину проверяют на наличие остаточной вирулентности (на восприимчивых и лабораторных животных, в культуре клеток), на стерильность (на бактериальных питательных средах, лабораторных животных), на иммуногенную активность (на восприимчивых животных). Вакцины, не прошедшие контроль по одному из указанных тестов, бракуют.

Инаktivированные вакцины обладают высокой безопасностью, стабильными свойствами, возможно их применение в поливалентном варианте.

У инаktivированных вакцин следующие недостатки: 1) слабая иммуногенность, иммунитет менее напряженный и длительный, чем при использовании живых вакцин; 2) способность иногда вызывать аллергическое состояние у животных после повторной иммунизации; 3) сложный процесс технологии изготовления; неполная гарантия безопасности препарата.

3. МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ ПО САМОСТОЯТЕЛЬНОМУ ИЗУЧЕНИЮ ВОПРОСОВ

3.1 Введение в вирусологию

При изучении этого вопроса следует обратить внимание на: 1) основные гипотезы о происхождении вирусов: эндогенная, протобионтов, регрессивная. Место вирусов в биосфере, способность сохраняться и распространяться в окружающей среде; 2) строения вирионов, плазмид, прионов. Роль вирионов и прионов в развитии болезней. Типы плазмид, их значение. Характеристика прионных инфекций, механизм развития заболевания.

3.2 Правила работы с вирусами. Устройство вирусологической лаборатории

При изучении вопроса необходимо обратить внимание на следующие особенности: правила взятия патологического вирусосодержащего материала, методы консервирования, правила транспортировки вирусов, хранения вирусов в условиях лаборатории, правила ведения журналов учета, приема, передачи вирусов.

3.3. Правила отбора патологического материала от больных животных и трупов. Подготовка патологического материала к исследованию

При изучении вопроса необходимо обратить внимание на следующие особенности: взятия патологического материала от больных животных и от трупов, в том числе с учетом временных ограничений, методы консервирования в разных условиях, особенностей подготовки разных видов патологического материала к исследованию, правил проведения бактериологического контроля.

3.4. Физическая структура и химический состав вирусов

При изучении вопроса необходимо обратить внимание на следующие особенности: разнообразие форм вирусных РНК и ДНК, наличие в структуре вируса капсидных и суперкапсидных белков, образование неструктурных белков и их функции, изменение липидного и углеводного состава вирусов, репродуцирующих в клетках разных видов животных.

3.5. Методы диагностики вирусных болезней

При изучении вопроса необходимо обратить внимание на следующие особенности: методы экспресс диагностики их значение для раннего обнаружения вируса или вирусных антигенов в патологическом материале, использование лабораторных животных, куриных эмбрионов, культур клеток для выделения и обнаружения вируса, правила взятия и исследования парных сывороток при проведении ретроспективной диагностики.

3.6. Индикация вирусов в патологическом материале путем обнаружения телец-включений

При изучении вопроса необходимо обратить внимание на следующие особенности.

1. Особенности устройство разных видов электронных микроскопов
2. Принцип работы электронного микроскопа.
3. Методика приготовления препаратов для электронной микроскопии
4. Методика окраски препаратов для электронной микроскопии.

3.7. Действие на вирусы физических и химических факторов

При изучении вопроса необходимо обратить внимание на следующие особенности: устойчивость разных групп вирусов к воздействию физических и химических факторов, за счёт наличия суперкапсидной оболочки, особенностей строения, размеров генома и плотности упаковки нуклеиновой кислоты в капсид.

3.8. Принципы систематики вирусов. Характеристика ДНК-содержащих вирусов

При изучении вопроса необходимо обратить внимание на следующие особенности

1. Систематика парвовирусов, морфология, особенности репродукции, биологические особенности.
2. Систематика аденовирусов, морфология, особенности репродукции, биологические особенности.
3. Систематика поксвирусов, морфология, особенности репродукции, биологические особенности.

3.9. Лабораторные животные их использование в вирусологии

При изучении вопроса необходимо обратить внимание на следующие особенности: требования предъявляемые к лабораторным животным, цели их использования, методика заражения и вскрытия, признаки присутствия вирусов в организме зараженных животных.

3. 10. Характеристика РНК – содержащих вирусов

При изучении вопроса необходимо обратить внимание на следующие особенности

1. Систематика ретровирусов, морфология, особенности репродукции, биологические особенности.
2. Систематика флавивирусов, морфология, особенности репродукции, биологические особенности.

3 .11. Использование куриных эмбрионов в вирусологии

При изучении вопроса необходимо обратить внимание на следующие особенности: требования, предъявляемые к куриным эмбрионам, цель их заражения, способы заражения и методика вскрытия, правила отбора патологического материала от зараженных эмбрионов с целью выделения вируса, признаки присутствия вируса в курином эмбрионе.

3. 12. Использование культур клеток в вирусологии

При изучении вопроса необходимо обратить внимание на следующие особенности: способы получения разных типов культур клеток, характеристика, преимущества и недостатки первично-трипсинизированных, субкультур. диплоидных и перевиваемых культур клеток, признаки присутствия вируса в культуре клеток, в том числе прямыми и косвенными методами.

3.13. Индикация вируса в культуре клеток

При изучении вопроса необходимо обратить внимание на следующие особенности: способность вирусов вызывать цитопатический эффект в виде округления, фрагментации. симпластообразования, РГАд, цветная проба, метод бляшек.

3. 14. Бактериофаги

При изучении вопроса необходимо обратить внимание на следующие особенности.

1. Строение вирусного генома, его функциональные возможности.

2. Особенности репродукции бактериофагов.
3. Влияние на геном клетки вирусного генома, возможность интеграции.
4. Применение бактериофагов.

3.15. Репродукция вирусов

При изучении вопроса необходимо обратить внимание на следующие особенности.

1. Условия при которых развивается abortивная инфекция.
2. Условия возникновения и механизм развития интегративной инфекции

Репродукции ДНК-содержащих вирусов репродуцирующихся в цитоплазме с использованием вирионного фермента ДНК-зависимой РНК-полимеразы, отличие в репродукции РНК-содержащих вирусов с позитивным и негативным геномом, способности ретровирусов в обратной транскрипции, интеграции в клеточный геном и существования в форме провируса.

3.16. Патогенез вирусных инфекций

При изучении вопроса необходимо обратить внимание на следующие особенности

1. Характеристика латентных вирусных инфекций.
2. Характеристика хронических вирусных инфекций.

3.17. Особенности противовирусного иммунитета

При изучении вопроса необходимо обратить внимание на следующие особенности.

1. Стадии индукции и продукции интерферона
2. Механизм противовирусного действия интерферона.

3.18. Профилактика и химиотерапия вирусных болезней

При изучении вопроса необходимо обратить внимание на следующие особенности получения, применения живых, инактивированных, синтетических и генно-инженерных вакцин, применение химиотерапевтических средств для лечения вирусных болезней, сложности в создании таких препаратов и применении.

3.19. РГА и РТГА их использование в вирусологии

При изучении вопроса необходимо обратить внимание на следующие особенности сущность постановки, компоненты и требования к ним, условия постановки, оценка результатов, преимущества и недостатки реакции гемагглютинации качественной и количественной.

3.20. РДП в геле, применение в вирусологии.

При изучении вопроса необходимо обратить внимание на следующие особенности сущность постановки, компоненты и требования к ним, условия постановки, оценка результатов, преимущества и недостатки реакции диффузионной преципитации.

3.21. РИФ, её применение в вирусологии

При изучении вопроса необходимо обратить внимание на следующие особенности сущность постановки, компоненты и требования к ним, условия постановки, оценка результатов, преимущества и недостатки реакции иммунофлюоресценции (РИФ), не прямой реакции иммунофлюоресценции (НРИФ).

3.22. Молекулярно-генетические методы в вирусологии.

При изучении вопроса необходимо обратить внимание на следующие особенности: постановки полимеразной цепной реакции, значение этого метода для диагностики вирусных болезней, компоненты, требования к ним, условия постановки ПЦР, оценка результатов, техника приготовления ДНК-зонда, применение его для идентификации нуклеиновой кислоты вируса

3.23. Вирусы бешенства

При изучении вопроса необходимо обратить внимание на следующие особенности на характеристику штаммов вируса бешенства по патогенным свойствам и методам их идентификации.

3.24. Лабораторная диагностика бешенства.

При изучении вопроса необходимо обратить внимание на следующие особенности выращивания культур клеток мышинной нейробластомы на стеклах и использование вируса CVS в качестве контроля, идентификация выделенного вируса МФА.

3.25. Вирусы болезни Ауески

При изучении вопроса необходимо обратить внимание на следующие особенности характеристику вируса болезни Ауески, клиническое проявление болезни и особенности культивирования в организме кроликов, в культуре клеток, методы диагностики болезни.

3.26. Вирусы гриппа

При изучении вопроса необходимо обратить внимание на следующие особенности.

1. Характеристику штаммов вируса гриппа по патогенным свойствам.
2. Механизм антигенного дрейфа и шифта вируса гриппа.
3. Методы идентификации вирусов гриппа

3.27. Вирусы ящура

При изучении вопроса необходимо обратить внимание на следующие особенности.

1. Таксономия, морфология и устойчивость вируса ящура.
2. Локализация вируса ящура в организме больных животных и вирусоносителей.
3. Методы обнаружения и идентификации вируса ящура в условиях лаборатории
4. Выделение вируса ящура в чувствительных биосистемах.
5. Ретроспективная диагностика ящура.

3.28. Вирусы лейкоза крупного рогатого скота.

При изучении вопроса необходимо обратить внимание на следующие особенности: строения, репродукции вируса лейкоза крупного рогатого скота, особенности культивирования и выделения вируса, проявление болезни при разных формах лейкоза, в том числе при лимфолейкозе, ретикулосаркоме, миелоидном лейкозе, слабодифференцированном и недифференцированном лейкозе.

4. МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ПОДГОТОВКЕ К ЗАНЯТИЯМ

4.1 Правила работы с вирусами. Устройство вирусологической лаборатории.

При подготовке к занятию необходимо обратить внимание на следующие моменты.

1. Правила работы с вирусами и вирусосодержащим материалом
2. Спецодежда.
3. Подготовка рабочего места и дезинфекция по окончании работы.
4. Требования к устройству лаборатории, обеспеченность оборудованием, необходимые помещения.

4.2 Методы диагностики вирусных болезней.

При подготовке к занятию необходимо обратить внимание на следующие моменты.

1. Методы быстрого обнаружения вирусов в патологическом материале путем электронной, люминисцентной микроскопии.
2. Сроки проведения исследований.
3. Обоснования исследования парных сывороток и преимущества ретроспективной диагностики.

4.3 Индикация вирусов в патологическом материале путем обнаружения телец-включений

При подготовке к занятию необходимо обратить внимание на следующие моменты.

1. Состав реактивов используемых при серебрении по Морозову.
2. Методику окраски телец-включений при разных вирусных болезнях.
3. Критерии, по которым классифицируют тельца-включения

4.4 Лабораторная диагностика бешенства

При подготовке к занятию необходимо обратить внимание на следующие моменты.

1. Правилах отбора патологического материала от животных для проведения лабораторных исследований.
2. Обнаружения антигена в исследуемом материале.
3. Выделение вируса и его идентификация.