

- Лабораторные методы диагностики вирусных болезней

- I. Вирусологический метод (Ag –х)**

- (вирусодержащий материал на наличие вируса)

- 1.Обнаружение вируса**

- микроскопией мазков (лучше отпечатков) на тельца-включения (ТВ)

- а) обычная

- б) люминесцентная (МФ, МФА)

- в) электронная

- индикация вирусов - РГА, РГАд

- 2. Выделение вируса заражением чувствительных**

- а) лаб. животных, животных

- б) куриных эмбрионов (КЭ)

- в) культур тканей (КТ)

- 3. Идентификация, типизация и дифференциации вируса**

- Постановкой серологических реакций с известными биофабричными диагностическими иммунными сыворотками.

- РН, РСК, РИД(РИД), РИЭОФ, МФА, ИФА, РЗГА(РТГА), РНГА, РЗГАд

- II. Серологический метод (Аг –х)**

- (испытываемые сыворотки на наличие антител -Аг)

- постановка реакций с известными биофабричными вирусными антигенами

- РН, РСК, РИД(РИД), РИЭОФ, МФА, ИФА, РЗГА(РТГА), РНГА, РЗГАд

СВЕТОВАЯ МИКРОСКОПИЯ

- Устройство светового микроскопа (освещение снизу)



СВЕТОВАЯ МИКРОСКОПИЯ

- Инфракрасный и темнопольный микроскопы



**Тельца-включения при
вирусных инфекциях,
световая микроскопия**

. МИКРОСКОПИЯ МАЗКОВ В СВЕТОВОМ МИКРОСКОПЕ

- При многих вирусных болезнях в цитоплазме или ядре пораженных вирусом клеток формируются **тельца-включения**, которые по форме и величине могут значительно варьировать.
- В одной клетке может быть от одного до 5-6 телец.
- Размеры телец-включений зависят от вида вирусов и стадии течения болезни

- **При этом ДНК- содержащие вирусы образуют тельца-включения, как правило, в ядре клетки (кроме вируса оспы).**
- **А РНК- содержащие вирусы - в цитоплазме.**

- **Обнаружение телец-включений с помощью светового микроскопа, например, при бешенстве служит основанием для постановки диагноза.**
- **Такие тельца хорошо изучены при оспе, бешенстве, чуме и гепатите плотоядных, ларинготрахеите и др.**

- **Для микроскопии в обычном микроскопе из патологического материала готовят мазки или мазки-отпечатки, либо делают гистосрезы из органов.**
- **Их фиксируют на пламени или химическим методом в метиловом спирте, смеси спирта этилового с эфиром поровну, химически чистым ацетоном.**

При подозрении на бешенство мазки фиксируют химическим методом 1-2 часа, а ацетоном не менее 10 часов в морозилке холодильника.

Фиксированные мазки и отпечатки для выявления телец-включений окрашивают по соответствующим методикам:

Окраска по Муромцеву

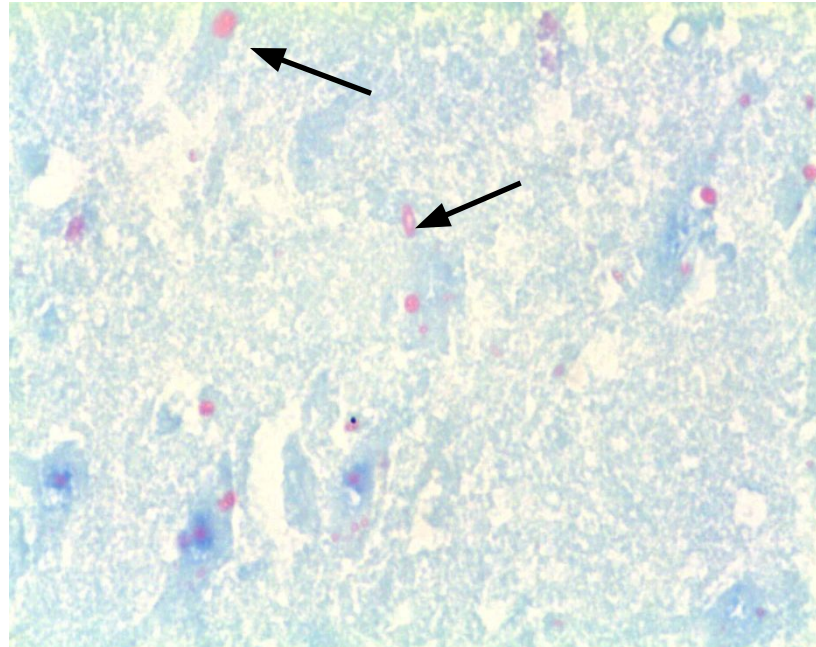
- Фиксированные мазки промывают дистиллированной водой и на 5-10 минут
- погружают в раствор синьки Мансона (2,0 синьки и 5,0 буры растворяют в 100 мл кипящей дистиллированной воды), разведенной водой 1:40.
- После этого краску сливают и тут же мазки, не промывая водой, погружают в 10% водный раствор таннина на 8-10 минут до появления голубоватой окраски.

- Промывают водой, высушивают фильтрованной бумагой, Затем проводят через смесь из равных частей спирта с ацетоном или спирта с ксилолом и снова высушивают фильтровальной бумагой.
- *Микрокартина* : Мазок будет иметь светло-голубой фон.
- Ядра нервных клеток - синий цвет,
- Цитоплазма клеток - бледно-голубая,
- Тельца Бабеша-Негри - в бледно-фиолетовые

Окраска по Михину.

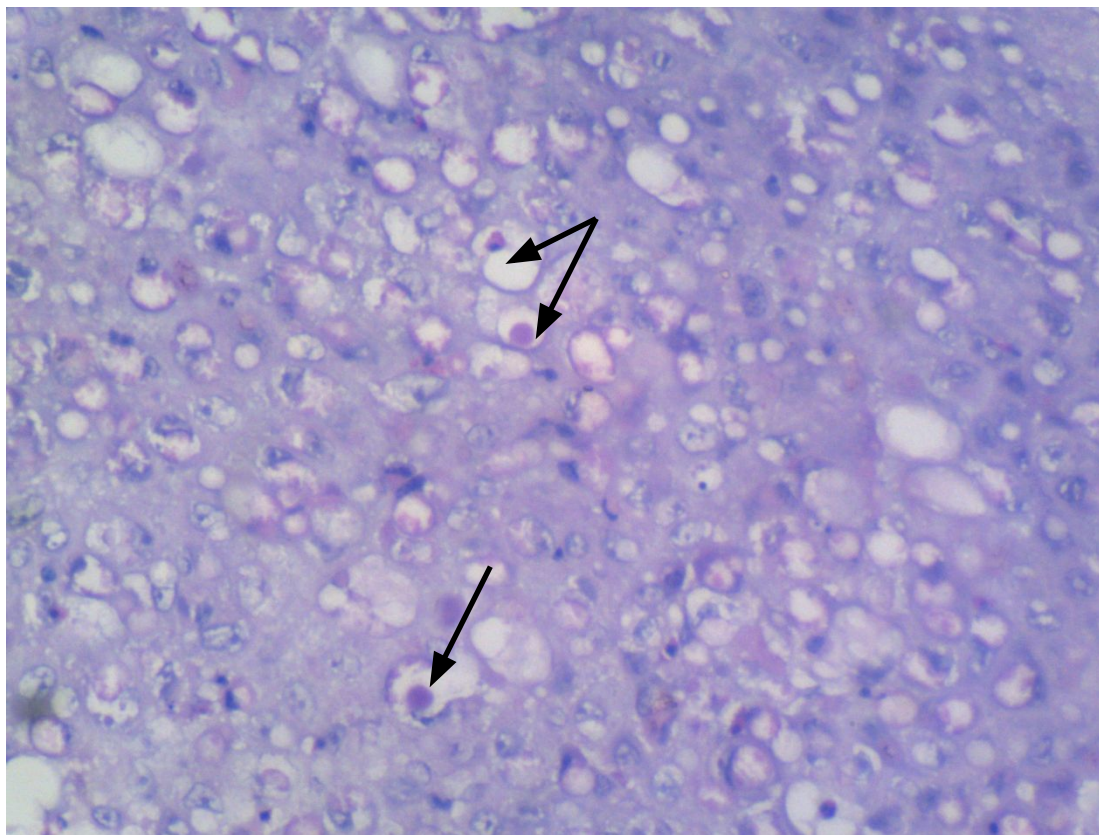
- **Фиксированные химическим способом мазки окрашивают 30-40 минут краской Гимза, разведенной 1:10 (1-2 капли краски на 1 мл дистиллированной воды).**
- **Затем быстро промывают подкисленным спиртом (1 капля ледяной уксусной кислоты на 30 мл 96° спирта), а затем водой и просушивают**
- **Микрокартина: фон мазка - красный,**
- **нервные клетки синеватые**
- **ядра клеток черные,**
- **тельца Бабеша-Негри- фиоетовые**

БЕШЕНСТВО



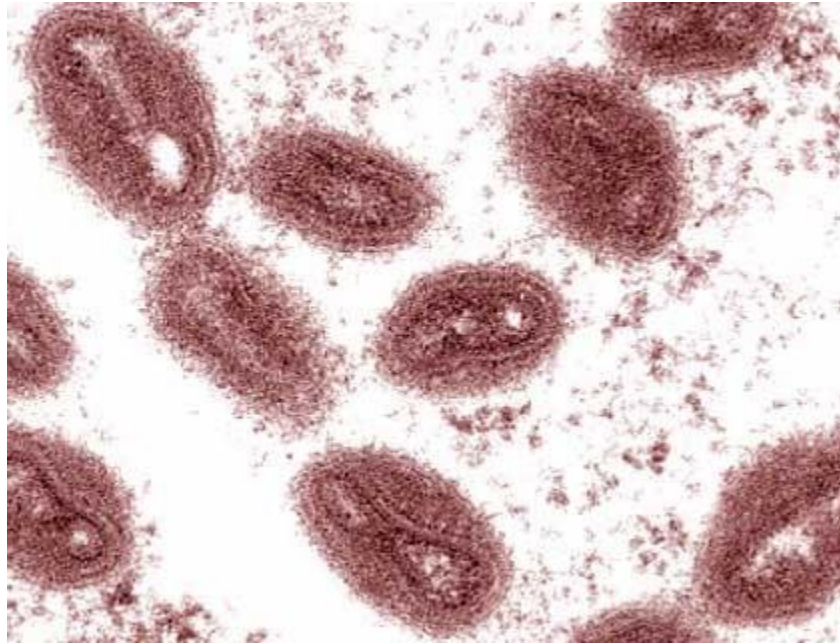
Окраска по Манну. Тельца Бабеша-Негри в нейронах аммонова рога – оксифильные (окрашиваются в рубиново-красный цвет), локализируются в цитоплазме. Встречаются только при бешенстве!

ОСПА ПТИЦ



Тельца Боллингера в цитоплазме эпителиальных клеток слизистой оболочки гортани (отмечены стрелками)

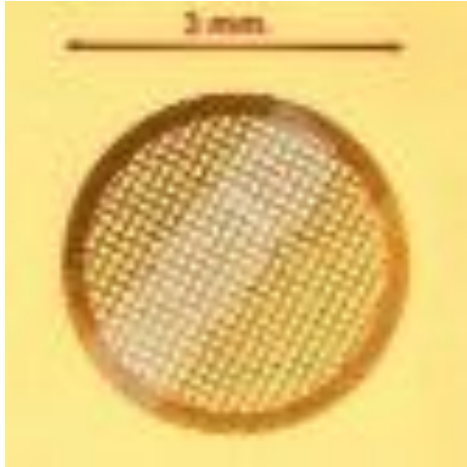
Тельца-включения Барреля при оспе овец



ЭЛЕКТРОННАЯ МИКРОСКОПИЯ



- **При диагностике некоторых вирусных болезней , а также для изучения морфологии вирусов в настоящее время широко применяют электронную микроскопию.**
- **С целью выявления вируса в исследуемом материале препараты для электронной микроскопии готовят методом негативного контрастирования.**



сеточка -подложка

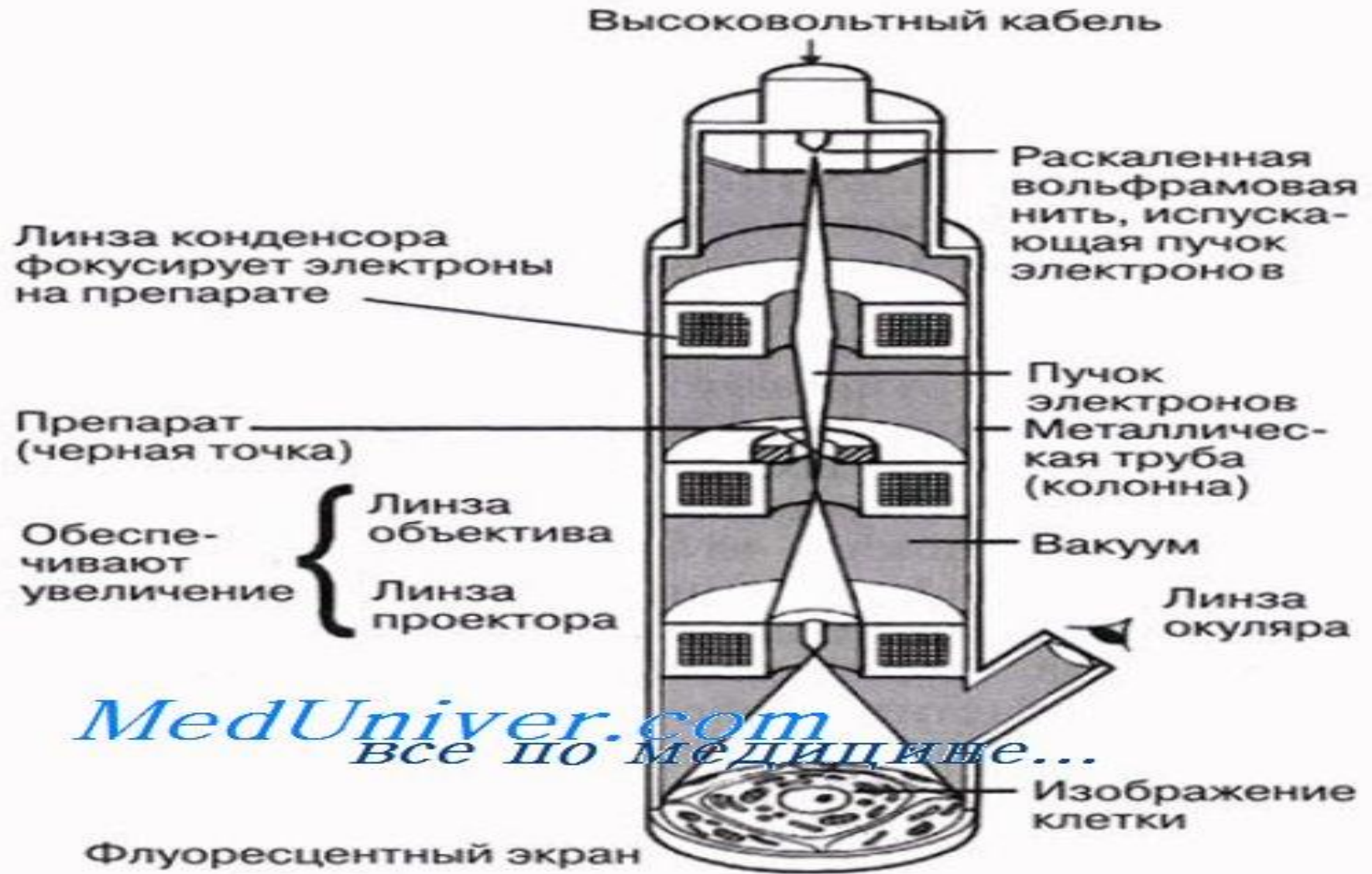
- Для этого медные электронно-микроскопические **сеточки** – **подложки** помещают на несколько секунд в каплю вируссодержащей суспензии.
- Затем промывают 2-3 каплями дистиллированной воды и подвергают негативному контрастированию в электронном микроскопе.

Принцип действия электронного микроскопа

- **Электронный микроскоп представляет из себя вертикальную колонну. Для проведения микроскопии в ней создают вакуум.**
- **В верхней части колонны имеется вольфрамовая нить на нее подают напряжение, после чего образуется пучок электронов.**

- **Линза конденсора, представляющая из себя электромагнит фокусирует пучок электронов на препарате сеточке –подложке с исследуемым вирусом.**
- **Затем линзы объектива и линзы проектора (тоже электромагниты) обеспечивают увеличение объекта и передают изображение клетки на экран.**

Схема электронного микроскопа



Траектория пучка электронов в трансмиссионном электронном микроскопе.

Сравнение светового и электронного микроскопа

Признаки	Световой микроскоп	Электронный микроскоп
Излучение Направление	Свет Идет снизу	Электроны Идут сверху
Максимальное разрешение	200 нм	0,5 нм
Максимальное увеличение	1 500 раз	200 000 раз
Линзы	Стеклянные	Электромагнитные
Объект	Живой и неживой	Неживой
Изображение	Цветное и черно-белое	Черно-белое

Электронная фотография вируса чумы плотоядных

