

PŘEKLADATELÉ

- Dr. R. Benda, CSc.
Vojenský ústav hygieny, epidemiologie a mikrobiologie, Praha (7, 8, 21)
- Dr. M. Brůčková, CSc.
Institut hygieny a epidemiologie (EM), Praha (4, 5, 9, 15, 27)
- Dr. J. Činátl, CSc.
Vojenský ústav hygieny, epidemiologie a mikrobiologie, Praha (3)
- Doc. Dr. L. Daneš, CSc.
Vojenský ústav hygieny, epidemiologie a mikrobiologie, Praha (6, 22)
- Dr. D. Fedová, CSc.
Institut hygieny a epidemiologie (EM), Praha (13)
- Dr. I. Pečenková, CSc.
Katedra epidemiologie LFH KU, Praha (12)
- Dr. J. Seeman, CSc.
Institut hygieny a epidemiologie (EM), Praha (20, 24, 26)
- Doc. Dr. D. Slonim, CSc.
Ústav sér a očkovacích látek, Praha (1)
- Dr. O. Soběslavský, CSc.
Institut hygieny a epidemiologie (EM), Praha (19, 23)
- Doc. Dr. J. Strauss, CSc.
Institut hygieny a epidemiologie (EM), Praha (10, 16, 25)
- Doc. Dr. L. Syrůček, CSc.
Institut hygieny a epidemiologie (EM), Praha (2)
- Dr. A. Štumpa
Institut hygieny a epidemiologie (EM), Praha (11)
- Dr. B. Tůmová, CSc.
Institut hygieny a epidemiologie (EM), Praha (14)
- Dr. V. Vonka, CSc.
Ústav sér a očkovacích látek, Praha (17, 18)

POŘADATEL PŘEKLADU:

- Doc. dr. L. Syrůček, CSc.
Institut hygieny a epidemiologie (EM), Praha

ODBORNÁ REDAKCE PŘEKLADŮ:

- Dr. M. Brůčková, CSc.
Institut hygieny a epidemiologie (EM), Praha
- Dr. M. Rýc, CSc.
Institut hygieny a epidemiologie (ELM), Praha

OBSAH

Kapitola 1	17
Všeobecné zásady laboratorní diagnostiky virových a rickettsiálních infekcí <i>Edwin H. Lennette, M. D., Ph. D.</i>	
Kapitola 2	53
Prevence laboratorních infekcí <i>S. Edwards Sulkin, Ph.D. a Robert M. Pike, Ph.D.</i>	
Kapitola 3	62
Technika tkáňových kultur pro virologickou diagnostiku <i>Nathalie J. Schmidt, Ph.D.</i>	
Kapitola 4	115
Techniky fluorescenčních protilátek <i>Chien Liu, M.D.</i>	
Kapitola 5	130
Adenoviry <i>Harry M. Rose, M.D.</i>	
Kapitola 6	144
Arboviry <i>William McD. Hammon, M.D., Dr.P.H. a Gladys E. Sather, M.P.H.</i>	
Kapitola 7	174
Poxviry <i>Allan W. Downie, M.D., F.R.S. a C. Henry Kempe, M.D.</i>	
Kapitola 8	196
Virus vztekliny <i>Harald Norlin Johnson, M.D.</i>	
Kapitola 9	214
Reoviry <i>Leon Rosen, M.D., Dr.P.H.</i>	
Kapitola 10	220
Virus zarděnek <i>Stanley A. Plotkin, M.D.</i>	
SKUPINA MYXOVIRŮ	
Kapitola 11	250
Viry chřipky <i>Roslyn Q. Robinson, Ph.D. a Walter R. Dowdle, Ph.D.</i>	

2. Vyvážené solné a pufované fyziologické roztoky
 - a) Earleův solný roztok
 - b) Hanksův solný roztok
 - c) Fosfátový pufovaný fyziologický roztok (Dulbecco a Vogt)
 - d) Fosfátový pufovaný fyziologický roztok, pH 7,5
 - e) Fosfátový pufovaný fyziologický roztok bez kalciových a magnéziových iontů
 - f) Puckův solný roztok A
3. Pufované roztoky, kyselý uhlíčitán sodný
4. Roztoky pro přípravu buněčných suspenzí
5. Kuřecí embryonální extrakt, 50 %
6. Roztoky indikátorů a barviv
7. Živná média
 - a) Eagleovo médium s minimálním množstvím nezbytných složek (MEM)
 - b) Médium s laktalbuminhydrolyzátem a kvasnicovým extraktem
 - c) Leibovitzovo médium č. 15
 - d) Médium č. 199
8. Roztoky pro doplnění médií
 - a) Glukóza, 20 %
 - b) Laktalbuminhydrolyzát, 5 % ve fyziologickém roztoku
9. Séra

B. Sterilizace médií pro tkáňové kultury filtrací

LITERATURA

I. ÚVOD

A. VÝVOJ APLIKACE TECHNIKY TKÁŇOVÝCH KULTUR VE VIROLOGII

Tkáňových kultur *in vitro* se použilo již v r. 1913 pro pěstování vakcinálního viru (173); v 30. letech našeho století se s úspěchem použily k přípravě vakcín proti černým neštovicím (140) a žluté zimnici (101). Avšak teprve objev Enderse a spolupracovníků z počátku padesátých let (35, 141), který ukázal, že polioviry se mohou pěstovat i na tkáňových kulturách nenervového původu, vedl k jejich rozsáhlému používání při studiu lidských i zvířecích virů. Na tomto základě se později uskutečnily závažné objevy, které virologii rychle získaly její dnešní důležité postavení mezi biologickými vědami.

Využití tkáňových kultur ve virologii v širokém měřítku se umožnilo zavedením antibiotik a anti-mykotik do živných médií; prováděla se rozsáhlá studia bez nákladných preventivních opatření proti kontaminaci kultur. Dalším důležitým pokrokem bylo použití látek uvolňujících buňky z tkání pro přípravu kontinuálních kultur, zejména technik jednovrstevné kultivace a vyvinutí chemicky definovaných médií, která neobsahují látky inhibující růst virů. Užití jednoduchých orgánových kultur pro izolaci a pěstování virů bude možná dalším velkým příspěvkem ke studiu etiologie a patogenese lidských virových infekcí.

Stále se zvyšující počet komerčních médií,

jejich složek a hotových buněčných kultur se nabízí laboratořím, které nemají možnost je samy připravit. Obchodní instituce věnují intenzivní úsilí tomu, aby mohly poskytnout diagnostickým laboratořím standardní séra s vysokým titrem protilátek. Vývoj vhodných kultivačních nádob ze skla nebo plastického materiálu velmi zjednodušil diagnostickou a epidemiologickou práci.

B. VÝHODY POUŽITÍ TKÁŇOVÝCH KULTUR

Buněčné kultury *in vitro* představují pro pěstování mnoha virů ekonomicky hostitelský systém a pokud jde o izolační pokusy, neutralizační testy a přípravu virových antigenů, nahradí možná zvířata či kuřecí embrya. Buněčné kultury se snadněji udržují, vyžadují méně prostoru a méně péče než zvířata i vejce.

Tkáňové kultury umožnily hlubší studium známých virů, jako např. viru poliomyelitidy, spalniček a příušnic. Vedly také k poznání velkého množství lidských enterálních a respiračních virů, které nelze pěstovat na vejcích nebo myších.

Pěstování virových agens v buněčných kulturách také umožnilo získat preparáty s vysokým titrem viru, relativně prosté hostitelského materiálu, pro přípravu vakcín a sérologických antigenů.

TECHNIKY FLUORESCENČNÍCH PROTILÁTEK

Chien Liu, M. D.

I. TEORIE METODY

II. TECHNICKÉ POSTUPY

- A. Příprava antisér
- B. Purifikace antisér
- C. Barvicí složky a konjugace
- D. Příprava protilátek značených fluoresceinem
- E. Nespecifické barevné reakce
- F. Příprava tkání k vyšetřování
 - 1. Tkáňové řezy
 - 2. Buňky tkáňových kultur
 - 3. Nátěry
 - 4. Fixace
- G. Zalévací média
- H. Výběr podložních sklíček, krycích sklíček, imerzního oleje
 - I. Metody fluorescenčního barvení
 - 1. Přímá metoda
 - 2. Nepřímá metoda
 - 3. Barvení komplementu
 - J. Kontroly
 - 1. Pro přímé barvení
 - 2. Pro nepřímé barvení
 - 3. Pro barvení komplementu
- K. Fluorescenční mikroskop
 - 1. Světelné zdroje
 - 2. Filtry
 - 3. Mikroskop
 - 4. Fotografie

III. DIAGNOSTICKÁ APLIKACE U VIROVÝCH A RICKETTSIÁLNÍCH INFEKČÍ

- A. Viry chřipky
 - 1. Potřebný materiál
 - 2. Příprava nátěrů z nosní sliznice
 - 3. Barvení a vyšetřování nátěrů z nosní sliznice

4. Citlivost a specifita testu
 5. Vyšetřování sekčního materiálu
 6. Typování virových izolátů
- B. Virus spalniček
 - C. Virus vztekliny
 - D. Rickettsie
 - E. Virus herpes simplex
 - F. Enteroviry
 - G. Virus varicella – herpes zoster
 - H. Respirační syncytiální virus
 - I. Virus zarděnek
 - J. Poxviry

LITERATURA

Možnosti techniky fluorescenčních protilátek jako imunohistochemické metody v biologických studiích jsou neomezené. Byly publikovány souborné studie teorie, technických postupů a aplikace této metody (11, 15, 23, 35, 55, 68, 71, 76). Na poli virových a rickettsiálních infekcí je užití metody fluorescenčních protilátek (MFP) pro rychlou sérologickou diagnostiku a identi-

fikaci izolovaných agens obzvláště užitečné. V této kapitole se klade důraz na obecné technické předpoklady této metody s krátkým přehledem některých důležitých bodů, týkajících se aplikace techniky v laboratorní diagnostice. Podrobný popis aplikace MFP u specifických virových či rickettsiálních infekcí se uvádí ve speciálních kapitolách.

I. TEORIE METODY

Principy MFP jsou tytéž jako u ostatních imunologických reakcí antigen – protilátka. Molekuly protilátky mohou být chemicky vázány s fluorochrómy, aniž by byla destruována jejich imunologická specifita. Jestliže se fluoresceinem značené molekuly protilátky dostanou do styku s antigenem v tkáňových kulturách nebo otiskových preparátech, naváží se značené molekuly protilátky na tento antigen. Ve fluorescenčním mikroskopu navázané proti-

látkové molekuly vyzařují barevnou fluorescenci závisající na typu fluorochrómu užitého pro konjugaci protilátky.

Úspěšná aplikace MFP závisí na aktivitě molekul protilátky a antigenu. Předpokladem je imunologicky specifické sérum o vysokém titru a aktivní antigen. Pro zachování antigenní aktivity je důležitá správná fixace tkáňových a otiskových preparátů, která nepůsobí destruktivně na antigen.

II. TECHNICKÉ POSTUPY

A. PŘÍPRAVA ANTISÉR

Obecně lze pro přípravu fluorescenčních protilátek použít jakékoli antisérum s dostatečně vysokým titrem specifických protilátek. Dobrých výsledků se dosáhlo s konjugovanými imunními séry lidskými, opičími, koňskými, kozími, ovčími, psími, králičími, morčecími,

křeččími, krysími a kuřecími. Mnoho laboratoří užívá vlastních ověřených imunizačních schémat. Obecně lze říci, že nejdůležitější je opakované podávání vhodných dávek antigenu. U některých antigenů může použití adjuvans, např. parafinového oleje, usmrcených tuberkulózních bacilů (25) či aluminiumhydroxidu (75), podstatně zvýšit titer protilátek. Metody

ADENOVIRY

Harry M. Rose, M. D.

I. KLINICKÉ SYNDROMY

1. Akutní horečnatá faryngitida
2. Faryngokonjunktivální horečka
3. Akutní respirační onemocnění (ARO)
4. Adenovirová pneumonie
5. Oční infekce: akutní folikulární konjunktivitida; epidemická keratokonjunktivitida

II. EPIDEMIOLOGIE

III. IDENTIFIKAČNÍ KRITÉRIA

- A. Adenovirové antigeny
- B. Rezistence k éteru
- C. Cytopatický efekt
- D. Patogenita pro zvířata
- E. Elektronová mikroskopie
- F. Antigenní typy
- G. Hemaglutinace

IV. IZOLACE VIRU

- A. Sběr materiálu
- B. Tkáňové kultury

V. NEUTRALIZAČNÍ TESTY

- A. Typizace nových izolátů
- B. Titrace protilátek proti adenovirům

VI. HEMAGLUTINACE A HEMAGLUTINAČNĚ INHIBIČNÍ TESTY

- A. Antigeny a antiséra
- B. Erytrocyty
- C. Příprava sér
- D. Provedení testu
- E. Typizace adenovirových kmenů

VII. KOMPLEMENTFIXAČNÍ TEST

KAPITOLA 6

ARBOVIRY

William McD. Hammon M. D., Dr. P. H. a Gladys E. Sather M.P.H.

I. ÚVOD

- A. Definice
- B. Historie
- C. Klinika
- D. Patologie

II. POPIS A POVAHA VIRŮ

- A. Fyzikální a chemické vlastnosti
- B. Klasifikace

III. JINÍ HOSTITELÉ NEŽ ČLOVĚK

- A. Vektory
- B. Hostitelé z řad obratlovců

IV. PŘÍPRAVA IMUNNÍCH SÉR A ASCITICKÝCH TEKUTIN

V. SBĚR A PŘÍPRAVA VZORKŮ PRO LABORATORNÍ DIAGNÓZU

- A. Poznámky o bezpečnosti
- B. Izolace viru – odběr, uchovávání, zpracování
- C. Sérologická diagnostika – odběr, uchovávání, zpracování

VI. LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA

A. Izolace viru

1. Laboratorní hlodavci
2. Kuřecí embrya a novorozená kuřata
3. Buněčné kultury
4. Jiné systémy
5. Identifikace izolovaných virů
 - a) Sérologické identifikační testy
 - b) Ostatní vlastnosti
 1. Určení velikosti
 2. Test citlivosti k éteru a dezoxycholátu sodnému
 3. Okruh hostitelů – živočichů a buněčných kultur
 4. Tvorba hemaglutininu
 5. Elektronová mikroskopie
 6. Jiné identifikační metody
6. Potvrzení izolace

KAPITOLA 7

POXVIRY

Allan W. Downie, M.D., F.R.S. a C. Henry Kempe, M.D.

I. ÚVOD

- A. Historie
- B. Klinika
 - 1. Variola
 - a) Patogeneze
 - b) Patologie
 - 2. Kravské neštovice
 - 3. Vakcinie
 - 4. Hrboly dojičů mléka

II. POVAHA VIRŮ

- A. Obecná charakteristika
- B. Velikost a tvar
- C. Chemické složení
- D. Rezistence
- E. Klasifikace
- F. Antigenní složení
 - 1. Solubilní antigeny
 - 2. Virové antigeny
 - 3. Hemaglutinin
- G. Patogenita pro zvířata
- H. Růst v tkáňových kulturách
- I. Virus hrbolů dojičů

III. PŘÍPRAVA IMUNNÍHO SÉRA

IV. ODBĚR A PŘÍPRAVA VZORKŮ PRO LABORATORNÍ DIAGNÓZU

- A. Výčet odebíraných vzorků
- B. Bezpečnostní opatření při manipulaci s infekčním materiálem
- C. Odběr materiálu
- D. Balení a transport vzorků

V. LABORATORNÍ DIAGNÓZA

- A. Přímé mikroskopické vyšetření
 - 1. Světelná mikroskopie barvených nátěrů
 - 2. Elektronová mikroskopie

3. Imunofluorescence
 - a) Barvení – přímá metoda
 - b) Barvení – nepřímá metoda
 - c) Interpretace
- B. Vyšetřování na přítomnost virového antigenu
 1. Průkaz antigenu precipitací v agarovém gelu
 2. Komplementfixační test detekce antigenu v klinických vzorcích
 - a) Krevní sérum
 - b) Nátěry z papul, vezikul a pustul
 - c) Tekutiny vezikul a pustul
 - d) Strupy a krusty
 - e) Postup
 - f) Interpretace
- C. Izolace viru
 1. Na chorioalantois kuřecího embrya
 - a) Krev
 - b) Sliny
 - c) Nátěry na sklíčkách
 - d) Tekutiny vezikul a pustul
 - e) Krusty
 - f) Postup
 - g) Interpretace
 2. V tkáňových kulturách
 3. Identifikace viru pomnoženého v kuřecích embryích nebo v tkáňových kulturách
- D. Sérologická diagnóza
 1. Precipitace v agarovém gelu
 2. Test vazby komplementu
 - a) Antigeny
 - b) Postup
 - c) Interpretace
 3. Hemaglutinačně inhibiční test
 - a) Příprava hemaglutininu
 - b) Kuřecí erytrocyty
 - c) Postup
 - d) Interpretace
 4. Neutralizační test
 - a) Na chorioalantois kuřecího embrya
 - b) V tkáňové kultuře
 - c) Interpretace
- E. Souhrn o laboratorních diagnostických testech u neštovic
 1. V preeruptivním stadiu onemocnění
 2. V časném eruptivním období (ve stadiu makul a papul)
 3. Vezikulózní a pustulózní stadium
 4. Stadium krust
 5. Variola bez erupce
- F. Diagnóza vakcinální infekce
- G. Diagnóza infekce kravskými neštovicemi u člověka
- H. Diagnóza infekčních hrbolů dojičů

LITERATURA

VIRUS VZTEKLINY

Harald Norlin Johnson, M. D.

I. ÚVOD

- A. Historie
- B. Klinika
 - 1. Způsob přenosu
 - 2. Patogeneze
 - 3. Inkubační doba
 - 4. Období nakažlivosti
 - 5. Příznaky
 - 6. Komplikace
- C. Patologie

II. POPIS A POVAHA VIRU VZTEKLINY

- A. Obecná charakteristika
- B. Velikost a tvar
- C. Chemické složení
- D. Rezistence
- E. Antigenní složení
 - 1. Počet imunologických typů
 - 2. Popis antigenů
- F. Patogenita pro zvířata
- G. Růst v kuřecích a kachních embryích
- H. Růst v tkáňových kulturách

III. PŘÍPRAVA IMUNNÍCH SÉR

IV. ODBĚR A ZPRACOVÁNÍ VZORKŮ

- A. Bezpečnostní opatření
- B. Vzorky pro izolaci viru a sérologickou diagnózu
 - 1. Odběr klinických vzorků a vzorků post mortem
 - 2. Úschova
 - 3. Identifikace exemplářů divokých zvířat
- C. Vzorky pro mikroskopii

V. LABORATORNÍ DIAGNÓZA

- A. Přímé vyšetřování klinického materiálu

1. Vyšetření na Negriho tělíska
2. Elektronová mikroskopie
3. Imunofluorescenční vyšetření
 - a) Konjugát imunního séra vztekliny
 - b) Barvení nátěrů fluorescenčními protilátkami
4. Interpretace nálezů

B. Izolace viru

1. Hostitelské systémy
2. Příprava vzorků
3. Test očkování myši
4. Pozorování očkovaných myši
5. Získání myších mozků
6. Test mikroskopické specifity
7. Pasáž a titrace viru
8. Patogeny, které je třeba vyloučit
9. Práce na kuřecích embryích a tkáňových kulturách

C. Sérologická diagnóza

1. Virusneutralizační test na myších
2. Virusneutralizační test v tkáňových kulturách
3. Plakredukční test
4. Hemaglutinačně inhibiční test
5. Komplementfixační test
6. Nepřímá metoda fluorescenčních protilátek
7. Hemadsorpční test

D. Test zkřížené protekce

LITERATURA

I. ÚVOD

A. HISTORIE

Vzteklina je jednou ze zoonóz, které se vztahují k člověku ve spojení se psy. Zvířata, která jsou obvykle učenlivá a bázlivá, se mohou stát po infekci virem vztekliny velice zlými a agresivními; sám název „rabies“ znamená vzteklý, zuřivý, zblázněný nebo šílený. Nemoc je známa již ze starých dob a existují historická data o periodických epidemiích vztekliny mezi vlky, liškami, kojoty a šakaly. Během těchto epidemií byli lidé, pracující v přírodě nebo putující po cestách, napadáni zuřivými divoče žijícími zvířaty, jakož i psy a jinými domácími zvířaty, která onemocněla na rabies. Vzteklna u člověka (zvaná též hydrofobií) byla poměrně vzácná, dokud se nezvětšily populace psů ve městech. Od začátku 18. století jsou společenstva psů ve většině velkých měst tak velká, že infekce se udržuje přenosem ze zvířete na zvíře po nekomunikačnou dobu, jestliže není zavedena do praxe karanténa nebo vakcinace psů proti vzteklině.

Běžným zdrojem nákazy lidí jsou infikovaní psi a kočky.

Epidemické šíření vztekliny ve volné přírodě, které dosahuje od polárního kruhu až k rovníku ve Starém i Novém světě, má cyklický charakter. Asi před 100 lety byla taková epidemie vztekliny. Zvířecí rezervoáry vztekliny nejsou známy, avšak její historie ukazuje, že trvalými hostiteli viru byly populace lasiček, cibetek, lemurů a skunků (tchořů). Ve Spojených státech se příležitostně zjišťují infikovaní skunkové skvrnití a lasičky v krajích, kde vzteklna je jinak neznáma. Tyto sporadické případy jsou zvláště zajímavé ve vztahu k historii viru v přírodě, neboť ukazují na jeho pravděpodobný rezervoár (21).

V USA je rabies psů relativně řídká; je to podminěno zesílením kontrolních nařízení, zejména požadavku, aby psi byli imunizováni úředně schválenou vakcinou proti vzteklině, jestliže se volně pohybují v oblasti, kde infekce je v přírodě aktivní. V roce 1966 bylo ze 4 198 laboratorně potvrzených případů vztekliny v USA pouze 412 mezi psy; 1 522 případů bylo

REOVIRY

Leon Rosen, M. D., Dr. P. H.

I. ÚVOD

II. POPIS A POVAHA REOVIRŮ

III. PŘÍPRAVA IMUNNÍCH SÉR

IV. SBĚR A ZPRACOVÁNÍ VZORKŮ

V. LABORATORNÍ DIAGNÓZA

A. Izolace a identifikace viru

B. Sérologická diagnóza

LITERATURA

I. ÚVOD

Některé viry, nyní zařazené do skupiny reovirů, byly původně klasifikovány jako echovirus typu 10 nebo jeho antigenní varianty, ale později, když byla určena jejich větší velikost a další odlišnosti, byly ze skupiny enterovirů vyřazeny (21). Agens, původně popsán jako virus hepatocencefalomyelitidy (26), je nyní klasifikováno jako reovirus (25). Ačkoli některé viry izolované z kuřat jsou zařazeny do skupiny reovirů, je možno je odlišit od sérotypů savčího původu a zde se o nich nezmiňujeme (9, 13).

Soudě podle sérologických nálezů jsou reovirové infekce člověka velmi rozšířené po celém světě a zřejmě většina z nich je spojena buď s mírnou, nebo vůbec žádnou klinickou manifestací. Reoviry byly izolovány od pacientů s horečkou, exantémem, onemocněním horního a dolního respiračního ústrojí, gastrointestinálním onemocněním (včetně steatorey), onemocněním ústřední nervové soustavy a hepatitidou,

ale jejich význam jako etiologického agens těchto onemocnění, z nichž některá byla fatální (8, 10, 28), je dosud nejasný. Podobně reoviry (zejména typ 3) byly izolovány z nádorové tkáně mnoha pacientů s Burkittovým nádorem, ale dosud nebyly nalezeny žádné přesvědčivé důkazy pro etiologickou signifikaci těchto nálezů (2). Reoviry byly častěji izolovány ze stolice než z krku nebo nosu, avšak nejdůležitější zdroje infekce pro člověka nebyly dosud odkryty. Je možné, že nižší zvířata jsou zdrojem přinejmenším některých lidských infekcí, protože reoviry, izolované z různých savců jsou nerozlišitelné od virů, izolovaných z člověka.

Literatura o reovirech je nyní velmi rozsáhlá a budou tedy citovány jen práce, které mají zásadní význam pro tuto kapitolu. Recentní monografie o reovirech (15) podává dokumentaci a podrobné informace o tématech, diskutovaných zde jen velmi krátce.

Kapitola 12	261
Viry parainfluenzy <i>Robert M. Chanock, M.D.</i>	
Kapitola 13	274
Virus příušnic <i>Werner Henle, M.D.</i>	
Kapitola 14	290
Virus Newcastleké choroby <i>Werner Henle, M.D. a Maurice R. Hilleman, Ph.D.</i>	
Kapitola 15	295
Respirační syncytiální virus <i>Marc Beem, M.D. a Dorothy Hamre, Ph.D.</i>	
Kapitola 16	302
Virus spalniček <i>Samuel L. Katz, M.D. a John F. Enders, Ph.D.</i>	
SKUPINA PIKORNAVIRŮ	
Kapitola 17	317
Enteroviry <i>Joseph L. Melnick, Ph.D. a Herbert A. Wenner, M.D.</i>	
Kapitola 18	358
Rinoviry <i>Albert Z. Kapikian, M.D.</i>	
SKUPINA HERPESVIRŮ	
Kapitola 19	381
HERPESVIRY <i>Tadasu Tokumaru, M.D.</i>	
Herpesvirus hominis	381
Herpesvirus simiae	402
Herpesvirus suis	411
Kapitola 20	418
Cytomegaloviry <i>Matilda Benyesch-Melnick, M.D.</i>	
Kapitola 21	435
Virus varicelly – zosteru <i>Thomas H. Weller, M.D.</i>	
Kapitola 22	447
RŮZNÉ VIRY <i>Joel Warren, Ph.D.</i>	
I. Koňská infekční anémie	448
II. Nemoc z kočičího škrábnutí	449

VIRUS ZARDĚNEK

Stanley A. Plotkin, M. D.

I. ÚVOD

II. NEMOC

- A. Nákaza získaná po narození
 - 1. Klinické příznaky
 - 2. Přenos a epidemiologie
 - 3. Vylučování viru
 - 4. Imunologie
 - 5. Komplikace
- B. Kongenitální nákaza
 - 1. Výskyt
 - 2. Klinické příznaky
 - 3. Patogeneze
 - 4. Patologie
 - 5. Virologie
 - 6. Imunologie

III. VIRUS

- A. Velikost a tvar
- B. Chemické složení
- C. Rezistence k fyzikálním a chemickým prostředkům
 - 1. Teplota
 - 2. Koncentrace vodíkových iontů
 - 3. Ozařování
 - 4. Chemikálie
 - 5. Látka s protivirovým účinkem
- D. Klasifikace
- E. Antigenní složení
 - 1. Počet imunologických typů
 - 2. Popis různých antigenů
 - a) Virové antigeny
 - b) Komplementfixační antigen
 - c) Hemaglutinační antigen
- F. Patogenita pro zvířata
- G. Růst na tkáňové kultuře
 - 1. Buněčné systémy
 - 2. Interference

3. Růst na tkáňové kultuře
4. Cytopatický efekt
5. Plakování

IV. PŘÍPRAVA IMUNNÍCH SÉR

V. ODBĚR A ZPRACOVÁNÍ VZORKŮ

- A. Bezpečnostní opatření
- B. Sběr, uskladnění a zpracování pro izolaci viru
 1. Sběr
 - a) Respirační sekrety
 - b) Moč
 - c) Krev
 - d) Mozkomíšňní mok
 - e) Tkáňové vzorky
 - f) Tekutina oční čočky
 2. Uskladnění
 3. Zpracování vzorků
- C. Vzorky pro sérologickou diagnostiku

VI. LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA

- A. Izolace viru
 1. Tkáňová kultura
 - a) Ledviny opic Cercopithecus
 - b) Lidské amnion
 - c) Primární králičí ledvina
 - d) RK₁₃ linie králičí ledviny
 - e) LLC-RK₁ linie králičí ledviny
 - f) SIRC linie králičí rohovky
 - g) Vero linie kontinuálních buněk ledviny Cercopithecus
 - h) Jiné kontinuální buněčné linie opic Rhesus nebo Cercopithecus
 - i) Izolace viru z fetálních tkání
 2. Identifikace izolovaných kmenů
 - a) Neutralizace
 - b) Inhibice hemaglutinace
 - c) Imunofluorescence
 3. Postup izolace a identifikace zarděnkového viru
- B. Sérologická diagnóza
 1. Vazba komplementu
 - a) Příprava antigenu
 - b) Zpracování a úschova – všeobecné poznámky
 - c) Provádění testu
 2. Inhibice hemaglutinace
 - a) Příprava antigenu
 - b) Zpracování a úschova HA antigenu
 - c) Červené krvinky
 - d) Sérum absorbované kaolínem
 - e) Sérum absorbované heparinem s MnCl₂
 - f) Ředidlo
 - g) Provedení testu
 - h) Doporučená metoda
 - i) Interpretace

VIRY CHŘÍPKY

Roslyn Q. Robinson, Ph. D., a Walter R. Dowdle, Ph. D.

- I. ÚVOD
 - A. Historie
 - B. Klinika
 - C. Patologie
- II. POPIS A POVAHA AGENS
 - A. Všeobecná charakteristika
 - B. Antigenní skladba
 - C. Patogenita pro zvířata
 - D. Růst v tkáňových kulturách
- III. SBĚR A PŘÍPRAVA VZORKŮ
 - A. Pro izolaci viru
 - B. Pro sérologickou diagnostiku
- IV. LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA
 - A. Přímé vyšetření klinického materiálu
 - B. Izolace viru
 - 1. Zvířata
 - 2. Kuřecí embrya
 - 3. Tkáňové kultury
 - C. Určování izolátů
 - 1. Test inhibice hemaglutinace
 - 2. Test inhibice hemadsorpce
 - 3. Neutralizační test
 - 4. Typově specifický test vazby komplementu
 - D. Příprava imunních sér
 - 1. Chřipková polyvalentní kuřecí antiséra typu A₂
 - 2. Chřipková polyvalentní kuřecí antiséra typu B
 - 3. Kmenově specifická chřipková antiséra (HI)
 - 4. Typově specifická antiséra (KF)
 - E. Sérologická diagnostika
 - 1. Test vazby komplementu
 - 2. Test inhibice hemaglutinace
 - a) Příprava sér

VIRY PARAINFLUENZY

Robert M. Chanock, M. D.

I. ÚVOD

- A. Krátký historický přehled
- B. Epidemiologie
- C. Klinické aspekty
 - 1. Způsob přenosu
 - 2. Patogeneze
 - 3. Inkubační doba
 - 4. Období nakažlivosti
 - 5. Symptomy a příznaky
 - 6. Komplikace
- D. Patologie

II. POPIS A POVAHA AGENS

- A. Obecná charakteristika
- B. Velikost a tvar
- C. Chemické složení
- D. Rezistence
- E. Klasifikace
- F. Antigenní skladba
 - 1. Imunotypy
 - 2. Antigeny
- G. Patogenita pro zvířata
- H. Růst v tkáňových kulturách

III. PŘÍPRAVA IMUNNÍCH SÉR

IV. ODBĚR MATERIÁLU PRO LABORATORNÍ DIAGNÓZU

- A. Izolace viru
- B. Sérologická diagnóza
- C. Mikroskopie

V. LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA

- A. Přímé vyšetření klinického materiálu
- B. Izolace viru

1. Kuřecí embrya
 2. Tkáňové kultury
 3. Identifikace izolátů
- C. Sérologická diagnóza
1. Protilátková odpověď
 2. Test vazby komplementu
 - a) Antigeny
 - b) Referenční séra
 - c) Speciální modifikace testu
 - d) Interpretace testu
 3. Test inhibice hemaglutinace
 - a) Příprava antigenů
 - b) Preparace sér
 - c) Standardní séra
 - d) Provedení vlastního testu
 - e) Interpretace testu
 4. Test virusneutralizace
 - a) Antigeny
 - b) Preparace sér
 - c) Standardní séra
 - d) Provedení vlastního testu
 - e) Interpretace testu

LITERATURA

I. ÚVOD

A. KRÁTKÝ HISTORICKÝ PŘEHLED

Viry parainfluenzy jsou důležitými patogeny respiračního ústrojí. Jako příslušníci skupiny myxovirů jsou středních rozměrů (150 až 200 m μ), obsahují RNK a jsou citlivé na éter. Ačkoli původní kmen (virus Sendai, myší agens) byl izolován z laboratorní myši, použitím technik tkáňových kultur a hemadsorpce byly zjištěny typy, které infikují člověka (3, 7, 10, 36).

Viry parainfluenzy mají mnoho shodných vlastností s viry chřipky, ale v několika směrech se od nich liší. Viry parainfluenzy jsou větší než viry chřipky, mají větší dvojité helix, obsahující nukleoprotein (18 m μ oproti 9 m μ u virů chřipky) a na rozdíl od virů chřipky jsou schopny hemolyzovat některé typy erytrocytů (18, 56—58). Viry parainfluenzy mají společné antigeny, které s nimi viry chřipky nesdílejí. Výše zmíněné vlastnosti virů parainfluenzy, včetně antigenní příbuznosti, mají však i viry parotitidy a Newcastleleské choroby (NDV), (17, 23, 36, 52).

Z člověka byly izolovány čtyři odlišné sérologické typy. Z řady zvířecích druhů byly izolovány také kmeny virů parainfluenzy, které jeví

příbuznost s lidskými typy, ale jsou od nich antigenně odlišitelné (viz tab. 1).

B. EPIDEMIOLOGIE

Viry parainfluenzy typu 1—4 jsou zeměpisně značně rozšířeny. Použitím vhodné techniky tkáňových kultur a hemadsorpce při studiu onemocnění dýchacích cest u dětí byly typy 1—3 zjištěny v mnoha oblastech světa, zatímco typ 4 byl izolován pouze ve Spojených státech amerických, Velké Británii a Československu a sérologicky byla nákaza tímto virem prokázána ve Francii.

Prvotní nákaza typem 3 parainfluenzy se objeví vesměs v časném dětství a předchází nákazy ostatními typy (8, 11, 42). Většina dětí získá neutralizační protilátky proti typu 3 do dvou let života. K získání neutralizačních protilátek proti typům 1 a 2 dochází později, ale ve věku 6 či 7 let má tyto protilátky více než polovina dětí (11, 15, 42).

Každý ze 4 typů viru parainfluenzy může u člověka vyvolat akutní onemocnění dýchacích cest. Tento etiologický vztah je potvrzen dvojným pozorováním. Za prvé, každý z těchto typů byl izolován signifikantně častěji od nemocných s respiračním onemocněním než od jedinců bez tohoto onemocnění (6, 8, 12). Za druhé, každý z těchto typů 1, 2, 3 a 4A vyvolal infekci a onemocnění horních cest dýchacích, jestliže byl podán dospělým dobrovolníkům.

Viry parainfluenzy jsou nejdůležitějšími pa-

VIRUS PŘÍUŠNIC

Werner Henle, M. D.*

I. KLINIKA A PATOLOGIE PŘÍUŠNIC

A. Klinické aspekty

1. Způsob přenosu
2. Patogeneze
3. Inkubační doba
4. Období infekčnosti
5. Symptomy u nekomplikovaných příušnic
6. Komplikace
7. Bílý obraz krevní
8. Sérová amyláza

B. Patologie

II. SPECIFICKÁ DIAGNÓZA

A. Všeobecné poznámky

B. Některé vlastnosti viru

C. Sběr a příprava vzorků

1. Bezpečnostní opatření
2. Materiál pro izolaci viru
3. Materiál pro sérologickou diagnózu

III. VÝROBA IMUNNÍCH SÉR

IV. IZOLACE VIRU

A. Na zvířatech

B. Na kuřecích embryích

1. Inokulace do amnia
2. Postup při pasážování a adaptaci viru
3. Průkaz infekce
 - a) Mortalita a patologie
 - b) Průkaz specifického hemaglutininu
 - c) Určení specifických komplementfixačních antigenů

C. Na tkáňových kulturách

1. Úvodní poznámky
2. Postup při primární izolaci
3. Hemadsorpční test

* Career Award, 5-K6-AI-22, 683. National Institutes of Health, U. S. Public Health Service.

4. Identifikace izolovaného kmene
 - a) Inhibice hemadsorpce
 - b) Neutralizační test

V. SÉROLOGICKÉ METODY

A. Komplementfixační test

1. Aplikace
2. Reagencia
3. Komplementfixační test
4. Interpretace

B. Inhibice hemaglutinace

1. Aplikace
2. Titrace hemaglutininu
3. Titrace antihemaglutininu
4. Interpretace

C. Virusneutralizační test

1. Aplikace
2. Na kuřecích embryích
3. Na sajících myškách a křečcích
4. Na tkáňových kulturách
5. Interpretace

VI. KOŽNÍ TEST

- A. Příprava antigenů
- B. Provedení testu
- C. Interpretace

VII. SOUHRNNÝ PŘEHLED

LITERATURA

I. KLINIKA A PATOLOGIE PŘÍUŠNIC

Přehled klinických, patologických, epidemiologických a virologických aspektů příušnic je uveden v literatuře (10, 38).

A. KLINICKÉ ASPEKTY

1. Způsob přenosu. Příušnice se přenášejí od jednoho jedince ke druhému slinami obsahujícími virus. K přenosu může dojít přímým stykem, kapénkami rozptýlenými ve vzduchu nebo zvrátky kontaminovanými slinami.

2. Patogeneze. Ačkoli patogenese příušnic není dosud přesně známa, dosavadní znalosti podporují následující představu: Virus se nejprve množí na neznámém místě, pravděpodobně v horních cestách dýchacích. Odtud se dostane do krevního oběhu a jím do slinných žláz a ji-

ných orgánů. Je však pravděpodobné, že k postižení jiných orgánů dochází teprve sekundárně šířením viru z dříve infikovaných slinných žláz.

3. Inkubační doba. Ve většině případů uplyne 18 až 21 dní mezi okamžikem nákazy a prvním pozorovatelným zvětšením slinných žláz.

4. Období infekčnosti. Období přenosnosti, stanovené izolací viru ze slin, jak u přirozeně se vyskytujícího onemocnění, tak i u infekce vyvolané experimentálně, začíná 6 dní před postižením slinných žláz a končí za 9 dní po něm (26, 35, 51). Obvyklé období infekčnosti je však pravděpodobně kratší. Virus může být ve slinách také u případů inaparentní infekce a u orchitid nebo meningitid, kdy chybí zvětšení

VIRUS NEWCASTLESKÉ CHOROBY

Werner Henle, M. D. a Maurice R. Hilleman, Ph.D.

I. KLINICKÝ OBRAZ

II. NĚKTERÉ VLASTNOSTI VIRU

III. LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA

A. Izolace viru

1. Sběr materiálu
2. V kuřecích embryích
3. V tkáňových kulturách

B. Sérologická diagnostika

1. Všeobecné poznámky
2. Příprava viru a antigenu
3. Séra
4. Test inhibice hemaglutinace
5. Test vazby komplementu
6. Neutralizační test
7. Hodnocení sérologických výsledků

LITERATURA

I. KLINICKÝ OBRAZ

Newcastleská choroba (ptačí pneumoencefalitida, ptačí mor) je vysoce infekční a smrtelné onemocnění ptáků (kuřat, krocánů, bažantů, perliček, vrabců, vran, papoušků a jiných), působené virem, který postihuje dýchací systém, gastrointestinální systém a centrální nervovou soustavu. Virus se nachází v krvi, mozku, vnitřnostech, trusu a v ústních a nosních sekretech infikovaných ptáků. Je příležitostně přenášen na lidi, kteří jsou ve styku s infikovanými

ptáky, jako jsou pracovníci drůbežáren a veterináři, anebo pracují s virem v laboratoři (1, 11, 25, 26, 35). Onemocnění u lidí se projevuje jako akutní granulární konjunktivitida (někdy hemoragická) bez postižení rohovky. Rovněž se mohou objevit preaurikulární lymfadenitida, bolesti hlavy, nevolnost a zimnice. Onemocnění u člověka probíhá omezenou dobu a během 2 týdnů dojde k spontánnímu uzdravení. Inaparentní infekce u exponovaných osob nejsou vzácností.

II. NĚKTERÉ VLASTNOSTI VIRU

Virus Newcastleeské choroby (Newcastle Diseases Virus - NDV) patří do skupiny myxovirových agens a vyznačuje se značným pleomorfismem. Částice mohou být kulaté v průměru 70—120 mμ nebo

vláknité, někdy více než 200 mμ dlouhé (2, 15, 30). Při negativním barvení (23) je vidět vnitřní, pevně stočený helix (ribonukleoprotein) a vnější obal, který má hemaglutinační aktivitu. Virus aglutinuje červené

RESPIRAČNÍ SYNCYCIÁLNÍ VIRUS

Marc Beem, M. D. a Dorothy Hamre, Ph.D.

I. ÚVOD

- A. Historie
- B. Epidemiologie
- C. Klinika
- D. Patologie

II. POPIS A POVAHA AGENS

- A. Velikost a tvar
- B. Chemická skladba, stabilita
- C. Antigenní skladba
- D. Patogenita pro zvířata
- E. Růst v tkáňových kulturách

III. PŘÍPRAVA IMUNNÍHO SÉRA

IV. SBĚR A ZPRACOVÁNÍ VZORKŮ

- A. Pro izolaci viru
- B. Pro sérologickou diagnózu

V. LABORATORNÍ DIAGNÓZA

- A. Přímé vyšetření klinického materiálu
- B. Izolace viru
- C. Identifikace izolátů
- D. Sérologická diagnóza

LITERATURA

I. ÚVOD

A. HISTORIE

Kmeny respiračního syncyciálního viru byly poprvé rozpoznány v roce 1956 a izolovány ze šimpanzů s rýmovým respiračním onemocněním (29). Ačkoli dostaly název „agens opičí

rýmy“, bylo brzy zřejmé, že přirozeným hostitelem tohoto viru je lidské respirační ústrojí; pozorovala se rozsáhlá tvorba syncycií v buněčných kulturách, infikovaných tímto virem. Proto se vybralo jméno výstižnější „respirační syncyciální virus“ (RS virus) (10).

VIRUS SPALNIČEK

Samuel L. Katz, M. D. a John F. Enders, Ph.D

I. ÚVOD

- A. Historický přehled
- B. Klinické aspekty
 - 1. Způsob přenosu
 - 2. Patogeneze
 - 3. Inkubační doba
 - 4. Období nakažlivosti
 - 5. Příznaky
 - 6. Komplikace
- C. Patologie

II. POPIS A VLASTNOSTI VIRU

- A. Morfologie a složení
- B. Odolnost vůči chemickým a fyzikálním prostředkům
- C. Antigenní složení
- D. Patogenita pro zvířata
 - 1. Neadaptovaný virus na opicích
 - 2. Laboratorně adaptované spalničkové kmeny
- E. Růst na tkáňových kulturách
 - 1. Příprava buněk pro cytologii
 - a) Preparáty na krycích sklíčkách
 - b) Zkumavkové preparáty

III. LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA

- A. Cytologické vyšetření nosních sekretů
- B. Izolace viru na tkáňových kulturách
 - 1. Sběr, skladování a zpracování vzorků
 - 2. Systémy buněčných kultur
 - 3. Doba pozorování
 - 4. Identifikace viru
- C. Sérologická diagnóza
 - 1. Neutralizační test
 - a) Buněčné systémy
 - b) Výběr viru
 - c) Stanovení dávky viru pro test
 - d) Titrace virové suspenze
 - e) Séra

III. Kontagiózní ektyma	451
IV. Encefalomyokarditida	452
V. Exanthema subitum a erythema infectiosum	454
VI. Slintavka a kulhavka	455
VII. Virová hepatitida A a B	457
VIII. Lymfocytární choriomeningitida	458
IX. Marburgská virová nemoc	460
X. Molluscum contagiosum	460
XI. Infekční mononukleóza	461
XII. Veruka (bradavice)	464

RŮZNÁ AGENS

Kapitola 23	466
Mykoplazmata lidského původu <i>Robert H. Purcell, M.D. a Robert M. Chanock, M.D.</i>	
Kapitola 24	488
Rickettsie <i>Bennet L. Elisberg, M.D. a F. Marilyn Bozeman, M.S.</i>	
Kapitola 25	513
Původci psittacosis – lymphogranuloma venereum <i>K. F. Meyer, M.D., B. Eddie, Dr.P.H. a J. Schachter, Ph.D.</i>	
Kapitola 26	535
Skupina TRIC <i>Phillips Thygeson, M.D. a Lavelle Hanna, M.A.</i>	

DODATEK

Kapitola 27	549
Koronaviry <i>Albert Z. Kapikian, M.D.</i>	

ENTEROVIRY

Joseph L. Melnick, Ph.D., a Herbert A. Wenner, M. D.

I. ÚVOD

- A. Historie
- B. Klinické aspekty infekce
 - 1. Klinické syndromy
 - 2. Způsob přenosu
 - 3. Inkubační doba
 - 4. Období infekčnosti
 - 5. Patogeneze
 - 6. Imunologie
 - 7. Epidemiologie
- C. Patologie

II. POPIS A POVAHA ENTEROVIRŮ

- A. Obecné charakteristiky
- B. Reakce na chemické a fyzikální činitele
- C. Klasifikace
- D. Antigenní charakteristika
- E. Patogenita pro zvířata
- F. Růst v tkáňových kulturách

III. PŘÍPRAVA ANTISÉR PRO TYPIZACI ENTEROVIRŮ

- A. Na opicích
- B. Na králících a morčatech
- C. Na myších a křečcích (séra a ascitické tekutiny)
- D. Na koních a jiných velkých domácích zvířatech

IV. SBĚR A PŘÍPRAVA VZORKŮ PRO LABORATORNÍ DIAGNÓZU

- A. Bezpečnostní opatření
- B. Sběr vzorků
- C. Uskladnění a odesílání vzorků
- D. Příprava materiálu pro inokulaci
- E. Vzorky pro mikroskopické vyšetření

V. LABORATORNÍ DIAGNÓZA

- A. Přímé vyšetřování vzorků
 1. Elektronová mikroskopie
 2. Imunofluorescenční mikroskopie
- B. Izolace virů
 1. Na zvířatech
 2. Na tkáňových kulturách
 - a) Příprava kultur
 - b) Izolační postupy
 3. Identifikace izolovaných virů
 - a) Homogenita virových zásobních suspenzí
 - b) Neutralizační test s viry izolovanými na myších
 - c) Neutralizační test s viry izolovanými na tkáňových kulturách
 - d) Příprava a užití kombinovaných směsí pro typizaci izolovaných virů
 - e) Testy inhibice hemaglutinace
 - f) Komplementfixační testy
 - g) Techniky fluorescenčních protilátek
 - h) Precipitační metody
 4. Program postupů pro izolaci a identifikaci enterovirů
- C. Sérologické metody pro diagnózu
 1. Neutralizační testy
 - a) Systémy tkáňových kultur
 - b) Neutralizační test na myších
 2. Komplementfixační test
 3. Test inhibice hemaglutinace

VI. SPOJENÍ ENTEROVIRŮ S INFEKČÍ

LITERATURA

I. ÚVOD

A. HISTORIE

Skupina enterovirů byla vytvořena v roce 1957 (18) pro seskupení poliovirů, coxsackievirů skupiny A a B a echovirů. Všechny jsou obyvateli lidského zažívacího ústrojí; jako skupina jsou spojeny s množstvím různých klinických syndromů, ale jejich nejvýznamnější manifestací jsou nemoci postihující centrální nervový systém (CNS) člověka. Poliovirus, nejstarší člen skupiny, byl identifikován v roce 1908 Landsteinerem a Popperem (64); skupina A coxsackievirů v roce 1948 Dalldorfem a Sicklesem (26) a skupina B coxsackievirů v roce 1949 Melnickem a spol. (86). Pokroky v metodách tkáňových kultur a rozšíření jejich použití ve virologii po roce 1950 vedly k izolaci velkého počtu do té doby neznámých virů, které nejsou patogenní pro laboratorní zvířata. Brzy se stalo zřejmým, že tyto činitele lze izolovat jak od

zdravých dětí (38, 44, 101), tak od pacientů se syndromem aseptické meningitidy (76, 107) a že existuje velký počet jejich typů (76, 101). S rostoucím počtem pracovníků přibýval počet nových virů. Protože jejich vztah k onemocnění u laboratorních zvířat včetně sajících myší, byly označeny jako „sirotčí viry“ nebo lidské enterální viry; toto označení bylo později změněno na enterální cytopatogenní lidské sirotčí viry (enteric cytopathogenic human orphan viruses) čili ECHO viry. Kooperativní studie Melnicka, Sabina a Hammona s prototypovými kmeny, které tehdy byly k dispozici, vedla k rozlišení 13 antigenně odlišných virů (16). Později byly enteroviry klasifikovány jako jedna z velkých podskupin pikornavirů (51). V současné době je známo 64 typů lidských enterovirů; další antigenně odlišné kmeny se studují jako možné nové prototypy.

RINOVIRY

Albert Z. Kapikian, M. D.

- I. ÚVOD
 - A. Historie
 - B. Klinické aspekty
 - C. Patologie
- II. POPIS A POVAHA RINOVIRŮ
 - A. Obecné charakteristiky
 - B. Morfologie
 - C. Chemické složení
 - D. Denzita
 - E. Účinek různých fyzikálních a chemických činitelů
 - 1. Etanol a fenol
 - 2. Éter a chloroform
 - 3. Fluorokarbon
 - 4. Kyselé prostředí
 - 5. Termostabilita
 - 6. Stabilizace kationty proti tepelné inaktivaci
 - 7. 2 (α - hydroxybenzyl) - benzimidazol (HBB) a guanidin hydrochlorid
 - F. Klasifikace
 - G. Antigenní složení
 - 1. Počet imunotypů
 - 2. Kandidáti na zařazení
 - 3. Popis různých antigenů
 - H. Patogenita pro zvířata
 - I. Růst v tkáňových kulturách
 - J. Růst v orgánových kulturách
- III. PŘÍPRAVA IMUNNÍCH SÉR
- IV. SBĚR A PŘÍPRAVA VZORKŮ
 - A. Bezpečnostní opatření
 - B. Pro izolaci virů
 - 1. Vliv původu vzorku na četnost izolací
 - 2. Vliv doby odběru po začátku symptomů na četnost izolací

HERPESVIRY

HERPESVIRUS HOMINIS, HERPESVIRUS SIMIAE, HERPESVIRUS SUI

Tadasu Tokumaru, M. D.

HERPESVIRUS HOMINIS

(Synonymum: Herpes simplex)

I. ÚVOD

A. Klinika

1. Způsob přenosu
2. Onemocnění
 - a) Opakovaný herpes simplex
 - b) Generalizovaný herpes
 - c) Eczema herpeticum
 - d) Traumatický herpes
 - e) Akutní infekční gingivostomatitis
 - f) Keratoconjunctivitis
 - g) Vulvovaginitis
 - h) Herpes progeneralis
 - i) Herpetická meningoencephalitida nebo encephalitida
 - j) Systémové onemocnění

B. Patologie

1. Kůže a sliznice
2. Mozek
3. Ostatní tkáně

II. POPIS A VLASTNOSTI AGENS

A. Velikost a tvar

B. Chemické složení

C. Rezistence

1. Skladování
2. Fyzikální vlivy
3. Chemikálie
4. Enzymy
5. Biologické preparáty

D. Antigenní skladba

1. Počet sérotypů
2. Popis antigenů

- E. Patogenita pro zvířata
 - 1. Sající myši
 - 2. Dospělé myši
 - 3. Králíci
 - 4. Morčata
 - 5. Křečci
 - 6. Bavlníkové krysy
 - 7. Kuřata
 - 8. Mirikina noční (*Astus trivirgatus*)
- F. Kultivace v kuřecích zárodcích
 - 1. Chorioalantoidní membrána
 - 2. Embryo
- G. Kultivace v tkáňových kulturách
 - 1. Králíčí ledviny
 - 2. Ostatní buňky

III. PŘÍPRAVA IMUNNÍCH SÉR

IV. SBĚR A PŘÍPRAVA VZORKŮ

- A. Zvláštní bezpečnostní opatření
- B. Zdroje a odběr materiálu
 - 1. Stěry z vředů úst, očí a genitálií
 - 2. Vezikulární tekutina
 - 3. Sliny
 - 4. Mozkomíšni mok
 - 5. Mozek, mícha a ostatní orgány
 - 6. Krev
- C. Zasilání materiálu

V. LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA

- A. Přímé vyšetření klinického materiálu
 - 1. Světelná mikroskopie
 - 2. Elektronová mikroskopie
 - 3. Imunofluorescenční vyšetření
- B. Izolace a identifikace virů
 - 1. Imunitní test
 - 2. Virusneutralizační test
 - a) Myši: dospělé a sající
 - b) Kuřecí embrya
 - c) Tkáňové kultury
- C. Sérologická diagnostika
 - 1. Komplementfixační test
 - a) Kuřecí zárodky
 - b) Tkáňové kultury
 - c) Mozky sajících myši
 - d) Zkřížená reaktivita mezi herpesviry
 - 2. Hemaglutinační test
 - 3. Hemadsorpční test
 - 4. Virusneutralizační testy

HERPESVIRUS SIMIAE

(Synonymum: B virus)

I. ÚVOD

A. Klinika

1. Opice rodu *Macaca*
2. Opice rodu *Cynomolgus*
3. Člověk

B. Patologie

1. *Macaca rhesus*
2. Králík
3. Člověk

II. POPIS A VLASTNOSTI AGENS

A. Velikost a tvar

B. Chemické složení

C. Rezistence

D. Antigenní skladba

E. Patogenita pro zvířata, kuřecí embrya a tkáňové kultury

III. PŘÍPRAVA IMUNNÍCH SÉR

1. Králíci a morčata
2. Opice
3. Kuřata
4. Koně
5. Ovce

IV. SBĚR A PŘÍPRAVA VZORKŮ PRO LABORATORNÍ VYŠETŘENÍ

A. Bezpečnostní opatření

B. Zdroje materiálu a odběr vzorků na vyšetření

V. LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA

A. Izolace viru

1. Tkáňové kultury
2. Zvířecí hostitelé
3. Identifikace viru

B. Sérologická diagnostika

1. Neutralizační test
2. Zkřížená reakce s *H. hominis*
3. Zkřížená reakce s *H. suis*
4. Imunofluorescenční test

C. Diferenciální diagnostika

LITERATURA

HERPESVIRUS SUI S

(Synonymum: Pseudorabies virus)

I. ÚVOD

A. Klinika

1. Vepř
2. Hovězí dobytek
3. Epizootologie

B. Patologie

II. POPIS A VLASTNOSTI AGENS

A. Velikost a tvar

B. Chemické složení

C. Rezistence

D. Antigenní skladba

1. Počet sérotypů
 - a) „L“ kmen
 - b) „G“ kmen
2. Popis antigenů
3. Patogenita pro zvířata

III. PŘÍPRAVA IMUNNÍCH SÉR

IV. SBĚR A PŘÍPRAVA MATERIÁLU NA VYŠETŘENÍ

A. Bezpečnostní opatření

B. Zdroj materiálu a odběr vzorků

V. LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA

A. Izolace viru

1. Zvířata
2. Kuřecí embrya
3. Tkáňové kultury
4. Identifikace izolovaných virů

B. Sérologická diagnostika

1. Komplementfixační test
2. Neutralizační test
3. Zkřížená reakce s H. hominis a H. simiae

C. Diferenciální diagnostika

SEZNAM ZVÍŘECÍCH HERPESVIRŮ

LITERATURA

CYTOMEGALOVIRY

Matilda Benyesh-Melnick, M. D.

I. ÚVOD

A. Klinické a epidemiologické aspekty infekce

1. Klinické syndromy
2. Doba nakažlivosti a způsob přenosu

B. Patologie

II. POPIS A VLASTNOSTI CYTOMEGALOVIRŮ

A. Velikost a struktura

B. Chemická skladba

C. Reakce na chemické a fyzikální vlivy

D. Antigenní vlastnosti

E. Hostitelé

F. Růst na tkáňových kulturách

1. Buněčný systém
2. Virový cytopatický efekt
3. Pasážování a uchovávání viru
4. Příprava bezbuněčných virových zásobních vzorků
5. Průkaz viru

III. PŘÍPRAVA IMUNNÍCH SÉR

IV. SBĚR A ZPRACOVÁNÍ VZORKŮ PRO LABORATORNÍ DIAGNÓZU

A. Vzorky k izolaci viru

1. Moč
2. Výtěry z úst
3. Bioptické vzorky
4. Pitevní vzorky
5. Zpracování bioptických a pitevních vzorků
6. Leukocyty z periferní krve

B. Sérum pro testování protilátek

C. Vzorky pro exfoliativní cytologii

V. LABORATORNÍ DIAGNÓZA

A. Přímé vyšetřování klinického materiálu

1. Histopatologie
2. Exfoliativní cytologie
3. Elektronová mikroskopie

- B. Izolace viru na tkáňových kulturách
 1. Buněčné kultury a média
 2. Očkování a pozorování kultur
 - a) Moč
 - b) Jiné vzorky
 3. Identifikace izolovaného CMV
 - a) Cytopatologie a hostitelé
 - b) Sérologická identifikace
 - i. Komplementfixační test
 - ii. Neutralizační test
 - iii. Nepřímý test fluorescenčních protilátek
- C. Sérologická diagnóza
 1. Používané metody
 2. Komplementfixační test
 3. Neutralizační testy
 - a) Neutralizační test redukce plaků
 - b) Zkumavkový neutralizační test
- D. Hodnocení výsledků
 1. Exfoliativní cytologie a histopatologie
 2. Izolace viru
 3. Sérologická diagnóza

LITERATURA

I. ÚVOD

Cytomegaloviry (CMV) tvoří skupinu agens řazených mezi herpetické viry, která je známa hojným výskytem u člověka i četných jiných savců. Infekce způsobené těmito viry *in vivo* a *in vitro* jsou vysoce druhově specifické a způsobují charakteristickou cytopatologii, vyznačující se značně zvětšenými (cytomegalickými) buňkami, obsahujícími intranukleární a cytoplazmatické inkluze. Název „virus slinných žláz“, používaný ve staré terminologii, vznikl z častého výskytu patognomonických cytomegalických buněk ve slinných žlázách dětí a také u nižších zvířat. U lidské infekce bývá CMV označován „virus cytomegalické inkluzní nemoci“, což ukazuje na etiologické spojení s disseminovanou, často smrtelnou nemocí novorozenců.

Mnoho let byla diagnóza CMV infekce závislá výlučně na posmrtném vyšetřování tkání. Diagnóza během života byla umožněna teprve po zavedení exfoliativně cytologických metod jako laboratorní metodiky ke stanovení patognomonických buněk v moči dětí s cytomegalickou inkluzní nemocí (27, 51, 60, 88). Izolace cytomegaloviru a jeho pomnožování *in vitro* (68, 74, 86) umožnilo nejen vypracování dalších metod k detekci aktivní infekce během života, ale

poskytlo také základ k vývoji sérologické diagnostiky.

Používání těchto metod ukázalo na diagnostický význam pozitivních virologických i sérologických nálezů u vrozené nebo získané CMV infekce u člověka. Značné rozšíření inaparentních infekcí, zjištěné séroepidemiologickými přehledy (13, 68, 76, 81) a nálezy dlouhodobého vylučování viru za přítomnosti specifických protilátek (45, 46, 67, 75b, 84) ukazuje na nutnost obezřetného hodnocení významu pozitivních laboratorních nálezů. Dále není jasné zjištěno, zda existují jeden nebo více sérotypů lidského CMV. U různých kmenů izolovaných z lidí je naznačen určitý stupeň antigenní různorodosti (23, 58, 85). Dosud však není známo, zda se „antigenní varianty“ liší svou patogenitou.

A. KLINICKÉ A EPIDEMIOLOGICKÉ ASPEKTY INFEKCE

1. Klinické syndromy. Klinické projevy CMV infekce se mění podle věku postižených. *Vrozená infekce* končíva odumřením plodu v děloze nebo může vyvolat klinický syndrom

VIRUS VARICELLY-ZOSTERU

Thomas H. Weller, M. D.

I. ÚVOD

A. Historie

B. Klinika

1. Varicella

a) Přenos

b) Patogeneze

c) Inkubační doba

d) Období nakažlivosti

e) Příznaky

f) Komplikace

2. Herpes zoster

a) Přenos

b) Inkubační doba a patogeneze

c) Období nakažlivosti

d) Příznaky

e) Komplikace

C. Patologie

II. POPIS A POVAHA VIRŮ

A. Charakteristika a klasifikace

B. Velikost a tvar

C. Chemické složení a rezistence

D. Antigenní složení

E. Patogenita pro zvířata

F. Růst v tkáňových kulturách

1. Všeobecná charakteristika

2. Ložiskovitý cytopatický proces

3. Udržování v sériových pasážích in vitro

4. Příprava bezbuněčného infekčního viru z tkáňových kultur

III. PŘÍPRAVA IMUNNÍCH SÉR

IV. ODBĚR A ZPRACOVÁNÍ VZORKŮ

A. Bezpečnostní opatření

B. Izolace viru

1. Z kožních lézí

2. Z jiných míst

C. Odběr vzorků pro sérologickou diagnózu

KAPITOLA 1

**VŠEOBECNÉ ZÁSADY LABORATORNÍ DIAGNOSTIKY
VIROVÝCH A RICKETTSIÁLNÍCH INFEKČÍ**

Edwin H. Lennette, M. D., Ph. D.

- I. Úvod
- II. Základní přístupy k diagnostice virových a rickettsiálních infekcí
- III. Vybavení virologické laboratoře
- IV. Odběr a zpracování vzorků
 - A. Odběr materiálu pro mikroskopické vyšetření
 - B. Odběr a zpracování krevních vzorků pro sérologické testy
 - 1. Odběr
 - 2. Zaslání a uskladnění
 - 3. Zpracování krve v laboratoři
 - 4. Uskladnění a registrace vzorků
 - C. Odběr a zpracování vzorků pro izolaci viru
 - 1. Doba odběru
 - 2. Odběr
 - 3. Odeslání
 - 4. Uskladnění
- V. Diagnostické přístupy
 - A. Mikroskopické metody
 - B. Izolace virů
 - 1. Odběr materiálu
 - 2. Výběr laboratorního hostitele
 - 3. Průkaz infekce
 - C. Sérologické metody
 - 1. Testy vazby komplementu (komplementfixační testy - KFT)
 - 2. Testy inhibice hemaglutinace (hemaglutinačně inhibiční testy - HIT)
 - 3. Testy aglutinace, precipitace a flokulace
 - 4. Neutralizační testy
- VI. Výpočet 50% výsledných hodnot
 - A. Všeobecné poznámky
 - B. 50% výsledné hodnoty při titraci viru
 - 1. Výpočet LD₅₀ metodou Reedovou-Muenchovou
 - 2. Výpočet LD₅₀ metodou Kärberovou

V. ODBĚR MATERIÁLU PRO MIKROSKOPII

- A. Světelná mikroskopie
 - 1. Příprava nátěrů
 - 2. Bioptický materiál
- B. Elektronová mikroskopie
- C. Imunofluorescenční vyšetření

VI. LABORATORNÍ DIAGNÓZA

- A. Přímé vyšetření klinického materiálu
 - 1. Sušené roztěry materiálu z vezikul
 - 2. Materiál z kožní biopsie
- B. Izolace viru
 - 1. Tkáňové kultury
 - 2. Identifikace izolátů z tkáňových kultur
 - a) Podle morfologických kritérií
 - b) Specifické techniky aplikovatelné k identifikaci izolátů z tkáňových kultur
 - i. Imunofluorescenční barvení
 - ii. Jiné přístupy
- C. Sérologická diagnóza
 - 1. Vazba komplementu
 - a) Omezení metody
 - b) Příprava antigenů
 - 2. Imunofluorescenční technika

LITERATURA

I. ÚVOD

A. HISTORIE

Všeobecně se přijímá, že etiologickým agens varicelly (planých neštovic) a herpesu zoster (pásového oparu) je jediný virus, nazývaný virus varicelly-zosteru (virus V-Z) nebo Herpesvirus varicellae. Klinická varicella představuje primární infekci člověka, zatímco zoster se vyvíjí u částečně imunního hostitele. Souhrn důkazů podporuje postulát, že zoster je obvykle výrazem aktivace latentně přezívajícího viru varicelly; aktivační mechanismus však zůstává nejasný.

Důkazy o společné virové etiologii obou klinických jednotek se nashromáždily z více zdrojů. Jako první zaznamenal v roce 1888 von Bokay (6), že varicella se může rozvíjet u citlivých dětí po jejich kontaktu s případy zosteru. Kundratitz (31) očkoval zosterový materiál a vyvolal u pěti dobrovolníků varicelliformní erupce. Studium kožních lézí u varicelly (57) a pásového oparu (32) dokumentovalo identitu histopatologických změn v kůži. Za pomoci

antigenních extraktů z kožních lézí obou nemocí získali různí pracovníci důkazy o imunologickém vztahu původců (2, 7, 35). Pokusy o nalezení experimentálního zvířete, v němž se virus pomnožuje, byly neúspěšné, ačkoli inokulace opičích varlat (42) a fragmentů lidské kůže, implantovaných na chorioalantoidu kuřecího embrya, vedla k ložiskovým lézím (5,21). V roce 1953 bylo konečně dosaženo izolace viru V-Z v kulturách lidských tkání (59). Virus in vitro byl jasně vázán na buňky a pro sériovou propagaci bylo třeba bezvýhradně přenosu infikovaných buněk. Imunologický vztah virových kmenů, získaných z případů varicelly i zosteru, byl definitivně stanoven technikou fluorescenčních protilátek (60) i vazbou komplementu a neutralizačními testy (61).

B. KLINIKA

1. Varicella

a) **Přenos.** Obvyklou cestou přenosu je pravděpodobně kapénková infekce. Kon-

KAPITOLA 22

RŮZNÉ VIRY

Joel Warren, Ph.D.

- I. KOŇSKÁ INFEKČNÍ ANÉMIE
Literatura
- II. NEMOC Z KOČIČÍHO ŠKRÁBNUTÍ
 - A. Použití kožního testu v diagnostice
 - B. Sérologická diagnostika
Literatura
- III. KONTAGIÓZNÍ EKTYMA
 - A. Izolace viru
 - B. Sérologická diagnostika
Literatura
- IV. ENCEFALOMYOKARDITIDA
 - A. Izolace viru
 - B. Neutralizační test
 - C. Reakce vazby komplementu
 - 1. Antigen
 - 2. Pozitivní kontrolní sérum
 - 3. Postup
 - D. Hemaglutinačně inhibiční test
Literatura
- V. EXANTHEMA SUBITUM A ERYTHEMA INTECTIOSUM
Literatura
- VI. SLINTAVKA A KULHAVKA
 - A. Izolace viru
 - B. Sérologická diagnostika
 - 1. Neutralizační test
 - 2. Reakce vazby komplementu
 - Literatura
- VII. VIROVÁ HEPATITIDA A; VIROVÁ HEPATITIDA B
 - A. Etiologie
Literatura

VIII. LYMFOCYTÁRNÍ CHORIOMENINGITIDA

- A. Izolace viru
- B. Neutralizační test
- C. Reakce vazby komplementu
- D. Imunofluorescence

Literatura

IX. MARBURGSKÁ VIROVÁ NEMOC

Literatura

X. MOLLUSCUM CONTAGIOSUM

- A. Mikroskopické vyšetření materiálu z eflorescencí
- B. Reakce vazby komplementu

Literatura

XI. INFEKČNÍ MONONUKLEÓZA

- A. Krevní obraz
- B. Sérologická diagnostika
 - 1. Standardní heterofilní aglutinační testy
 - 2. Diferenciální absorpční testy
 - 3. Rychlý test heterofilních protilátek
 - 4. Jiné postupy

Literatura

XII. VERUKA (bradavice)

LITERATURA

I. KOŇSKÁ INFEKČNÍ ANÉMIE

(koňská malárie, bažinná horečka, perniciozní anémie koní)

Koňská infekční anémie je akutní nebo chronické horečnaté onemocnění koní, mulů a oslů, vyvolávané virem, který stále zůstává málo poznán, ač byl objeven již v roce 1904 Valléem a Carrém (1). Koně jsou vnímaví k onemocnění, které se projevuje primárně poškozením retikuloendoteliální soustavy, vedoucím k anémii, podkožnímu edému a hubnutí. Původce, jehož velikost byla filtračně stanovena na 20 až 50 m μ , perzistuje v krvi po celý život infikovaných zvířat (4). Ačkoliv jsou zprávy, že tento virus je cytopatogenní pro kultury koňských leukocytů, na nichž jej lze sériově udržovat (2) a že je schopen aglutinovat erythrocyty primátů

a ovcí (3), není tato metodika dosud tak vyvinuta, aby sloužila k diagnostice lidských onemocnění.

Koňská infekční anémie se zřídka přenese na člověka. Vyvolává u něho febrilní anémii, diareu a ledvinnou koliku. Obvykle bývá taková příhoda v těsném vztahu ke koním (1). Laboratorní diagnóza může být s jistotou stanovena pouze vyvoláním typického onemocnění u koně podkožní inokulací 10—25 ml filtrovaného séra získaného v průběhu akutní fáze onemocnění. Pokusní koně musí být ustájeni v izolovaných prostorech a denně pozorováni nejméně 90 dní se zřetelem na horečku, anémii a úbytek váhy.

MYKOPLAZMATA LIDSKÉHO PŮVODU

Robert H. Purcell, M. D. a Robert M. Chanock, M. D.

- I. ÚVOD
 - A. *M. pneumoniae*
 - B. *M. hominis*
 - C. T-kmeny
- II. POPIS A VLASTNOSTI MYKOPLAZMAT
 - A. Charakteristika
 - B. Klasifikace
 - C. Antigenní skladba
 - 1. Sérologická charakteristika
 - 2. Imunochemická charakteristika
 - D. Patogenita pro zvířata
 - E. Růst v tkáňových kulturách
 - F. Růst na umělých médiích
- III. PŘÍPRAVA REAGENCIÍ
 - A. Příprava média pro kultivaci mykoplazmat
 - 1. Základ média
 - 2. Kvasnicový extrakt
 - 3. Koňské sérum
 - 4. Taliumacetát
 - 5. Příprava média
 - 6. Substrátová média
 - B. Příprava mykoplazmatického antigenu pro imunizaci zvířat
 - 1. Bujón z masové infúze
 - 2. Kvasnicový ultrafiltrát
 - 3. Příprava média
 - 4. Příprava antigenu
 - 5. Imunizace králíků nebo morčat
- IV. ODBĚR, PŘÍPRAVA A UCHOVÁVÁNÍ VZORKŮ MATERIÁLU NA VYŠETŘENÍ
 - A. Bezpečnostní opatření
 - B. Odběr a zpracování materiálu pro izolaci mykoplazmat
 - C. Odběr a zpracování krve pro sérologickou diagnostiku

V. LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA

- A. Přímé vyšetření klinického materiálu
- B. Izolace mykoplazmat
 1. Izolace *M. pneumoniae*
 2. Izolace T-kmenů mykoplazmat
 3. Izolace mykoplazmat s velkými koloniemi (včetně *M. pneumoniae*)
 4. Inkubace mykoplazmatických kultur
 5. Pasáže mykoplazmatických kultur
 6. Barvení kolonií mykoplazmat
 - a) Dienesovo barvení
 - b) Barvení akridinovou oranží
 7. Biologické určení izolovaných mykoplazmat
 - a) Hemolytický test
 - b) Hemadsorpční test
 8. Sérologické určení izolovaných mykoplazmat
 - a) Růstové inhibiční test
 - b) Imunofluorescenční test
 - c) Metabolismusinhibiční test
 - d) Ostatní sérologické metody určování mykoplazmat
 9. Chemické určování izolovaných mykoplazmat
- C. Sérologická diagnostika mykoplazmatických infekcí
 1. Povaha sérologických odpovědí
 - a) *M. pneumoniae*
 - b) *M. hominis*
 - c) T-kmeny
 - d) Ostatní druhy mykoplazmat
 2. Techniky sérologické diagnostiky
 - a) Komplementfixační test
 - b) Metabolismusinhibiční test
 - c) Titrace chladových aglutininů
 - d) Ostatní sérologické testy
- D. Hodnocení výsledků
 1. *M. pneumoniae*
 2. *M. hominis*
 3. Ostatní mykoplazmata

LITERATURA

I. ÚVOD

Mykoplazmata (pleuropneumonia-like organisms, PPLO) byla poprvé izolována ze zvířat v r. 1898 a z člověka v r. 1937 (27, 83). Je o nich dlouho známo, že vyvolávají vážná onemocnění, jako jsou akutní a chronické respirační choroby, artritidy, sérozitidy, mastitidy a nervové choroby u mnoha druhů savců a ptáků, ale jejich úloha v lidské patologii nebyla zcela jasná až do r. 1962. Tehdy bylo prokázáno, že původce tzv. primární atypické pneumonie, reagující pozitivně s chladovými aglutininy, je myko-

plazma (11). Některé práce z nedávné doby upozorňují na to, že i jiná mykoplazmata mohou být patogenními agens různých lidských chorob, a to především respiračního a urogenitálního ústrojí (21, 39, 47, 48, 56, 61, 79, 80, 93, 123, 124, 131, 139, 140). Z člověka bylo až dosud izolováno 8 druhů mykoplazmat a skupina biologicky podobných, ale sérologicky heterogenních mykoplazmat, tzv. T-kmenů (tabulka 1). Jedině *M. pneumoniae* je bezpečně prokázaný lidský patogen; *M. hominis* a T-kme-

RICKETTSIE

Bennet L. Elisberg, M. D., F. Marilyn Bozeman, M. S.

- I. ÚVOD
- II. PŮVODCI INFEKČÍ
 - A. Obecné vlastnosti
 - B. Klasifikace a antigenní skladba
 - 1. Skupina skvrnivek a purpurových horeček
 - 2. Horečka tsutsugamushi
 - 3. Q horečka
 - 4. Volyňská horečka
 - C. Patogenita pro zvířata a hostitele
 - D. Růst na tkáňových kulturách
- III. ODBĚR A ZPRACOVÁNÍ VZORKŮ K IZOLACI A SÉROLOGICKÉ DIAGNÓZE
 - A. Bezpečnostní opatření
 - B. Lidské onemocnění
 - C. Členovci a zvířecí rezervoáry
- IV. LABORATORNÍ DIAGNÓZA
 - A. Přímé vyšetření vzorků pro izolaci
 - B. Izolace rickettsií
 - 1. Rickettsie skupiny skvrnivek, purpurových horeček a Q horečka na morčatech
 - 2. Horečka tsutsugamushi a rickettsiální neštovice na myších
 - 3. Volyňská horečka
 - C. Identifikace rickettsií
 - 1. Mikroskopické vyšetření
 - 2. Izolace původců na morčatech
 - 3. Izolace původců na myších
 - 4. Kultivace rickettsií na kuřecích embryích
 - D. Příprava imunního séra
 - E. Sérologická diagnóza
 - 1. Weilova-Felixova reakce
 - 2. Komplementfixační test
 - a) Infekce skvrnivkou a skupinou purpurových horeček
 - b) Horečka tsutsugamushi
 - c) Q horečka

PŮVODCI PSITTACOSIS – LYMPHOGRANULOMA VENEREUM

K. F. Meyer, M. D., B. Eddie, Dr. P. H.*) a J. Schachter, Ph. D.

I. ÚVOD

A. Klinické příznaky

1. Psittacosis
2. Lymphogranuloma venereum (LGV)
3. Jiné nákazy urogenitálního ústrojí
4. Jiné savčí nákazy

B. Makroskopická a mikroskopická léze

1. Psittacosis
2. Lymphogranuloma venereum
3. Negonokoková uretritida a cervicitida

C. Epidemiologie

1. Psittacosis
2. Lymphogranuloma venereum
3. Jiné nákazy urogenitálního ústrojí

II. POPIS A VLASTNOSTI PŮVODCE NÁKAZY

A. Morfologie

B. Chemické složení

C. Rezistence

D. Klasifikace

E. Antigenní složení

F. Patogenita pro zvířata

III. PŘÍPRAVA IMUNNÍCH SÉR

IV. SBĚR A ZPRACOVÁNÍ VZORKŮ PRO LABORATORNÍ DIAGNOSTIKU

A. Bezpečnostní opatření

B. Pro izolaci bedsonií

1. Sběr a zpracování diagnostického materiálu
2. Konzervace bedsonií v laboratoři

C. Pro sérologickou diagnostiku – sběr, uskladnění, zpracování

1. Lidské sérum

*) Dr Eddie neočekávaně zemřela 27. června 1969.

2. Ptačí sérum
3. Savčí sérum

D. Pro mikroskopii

1. Světelná mikroskopie
2. Elektronová mikroskopie
3. Imunofluorescenční vyšetření

V. LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA

A. Izolace bedsonií

1. Zpracování vzorků pro izolaci bedsonií
 - a) Krev
 - b) Sputum nebo výplachy z krku
 - c) Pleurální tekutina
 - d) Bubonický hnis
 - e) Vzorky z urogenitálního ústrojí
 - f) Vzorky stolice
 - g) Materiál od nižších zvířat
 - h) Tkáň
 - i) Zpracování kontaminovaného materiálu
2. Očkování indikátorových hostitelů bedsonií
 - a) Laboratorní myš
 - b) Očkování morčete
 - c) Kuřecí embryo

B. Identifikace izolátů

1. Komplementfixační test za použití izolátu jako antigenu
2. Testy virulence a patogenity
3. Testy zkřížené imunity
4. Neutralizační testy
 - a) Toxin-antitoxinový neutralizační test
 - b) Neutralizace infekčnosti na myších a kuřecích zárodcích
 - c) Plakredukční neutralizační test na tkáňové kultuře
5. Důkaz kmenově specifických antigenů u bedsonií
6. Významnost výsledků

C. Sérologická diagnostika

1. Přímý komplementfixační test
 - a) Příprava antigenů
 - b) Postup u komplementfixačního testu
 - c) Interpretace výsledků
 1. Psittacosis
 2. Lymphogranuloma venereum
 3. Jiné nákazy
 - d) Modifikace
2. Nepřímý komplementfixační test
3. Hemaglutinačně inhibiční test

D. Testy kožní citlivosti a intradermální testy

1. Lymphogranuloma venereum
2. Ornithosis

LITERATURA

SKUPINA TRIC

Phillips Thygeson, M. D. Lavelle Hanna, M. A.

- I. ÚVOD
- II. ONEMOCNĚNÍ
 - A. Klinické projevy
 - 1. Trachom
 - 2. Inkluzní konjunktivitida
 - B. Patologie
 - C. Epidemiologie
 - D. Imunologie
- III. VLASTNOSTI PŮVODCE TRACHOMU A INKLUZNÍ KONJUNKTIVITIDY
 - A. Taxonomie
 - B. Odlišení od LGV
 - C. Zvláštní vlastnosti
 - D. Izolace a adaptace
- IV. PŘÍPRAVA IMUNNÍHO SÉRA
- V. LABORATORNÍ DIAGNÓZA
 - A. Příprava a vyšetřování epiteliálních stěrů
 - 1. Zdroj materiálu
 - 2. Barvicí metody
 - a) Barvení podle Giemsy
 - b) Barvení jódem
 - c) Barvení fluorescenčních protilátek
 - 3. Morfologie TRIC částic
 - 4. Morfologie inkluzních tělísek
 - 5. Rozpoznání komplikací
 - B. Příprava a vyšetřování folikulárních expresí
 - 1. Příprava
 - 2. Povaha folikulu
 - 3. Cytologie vytlačeného materiálu
 - C. Příprava a vyšetřování otiskových preparátů a kultur z exsudátu
 - 1. Otiskové preparáty z exsudátu

2. Kultivace
 3. Adenovirové kultury
- D. Izolace původce
1. Zpracování klinických vzorků
 2. Kultivace ve žloutkovém vaku
 3. Bezpečnostní opatření
 4. Identifikace izolovaných kmenů
 - a) Průkaz elementárních tělísek v barvených preparátech
 - b) Průkaz komplementfixační reakcí
 - c) Identifikace izolovaného kmene
 5. Typování izolovaných kmenů
 - a) Protekční test s toxinem na myších
 - b) Test fluorescenčních protilátek v typování
- E. Sérologické techniky
1. Neutralizační test
 2. Komplementfixační reakce
 3. Intradermální test
 4. Imunofluorescenční technika
 5. Hemaglutinační a hemaglutinačně inhibiční testy
- F. Steroidní provokační test
- G. Vakcinační studie
- H. Chemoterapie TRIC infekce

LITERATURA

I. ÚVOD

Trachom je chronická keratokonjunktivitida, rozšířená po celém světě, která vyvolává vážné obtíže zjizvením spojivky (se zkroucením víčka a řas) nebo zjizvením rohovky, vaskularizací a ulcerací. Neléčený trachom mívá dlouhodobý chronický průběh a často způsobuje slepotu. Sekundární bakteriální infekce může zhoršit průběh nemoci. Někdy nastane i spontánní uzdravení, zvláště u malých dětí; v zemích, kde je trachom endemický, bývají běžné reinfekce.

Inkluzní konjunktivitida je očním projevem mírné venerické nemoci, charakterizované u muže chronickým zánětem močové roury, trva-

jícím omezenou dobu a zánětem děložního čípku u ženy. Nemoc probíhá nejčastěji pod obrazem akutního papilárního zánětu spojivek u novorozenců (5 až 12 dní po porodu). Méně často probíhá u dospělých jako akutní či subakutní folikulární zánět spojivek získaný v nechlórovaných bazénech, u zdravotních sester a lékařů, pracujících s nemocnými na porodnicích či na gynekologii a u jedinců s venerickým onemocněním, kteří si znečistili vlastní oči. U dospělých připomíná onemocnění v počátečních stadiích trachomu, avšak je časově omezené, nezpůsobuje zjizvení a není příčinou slepoty, ani význačně nepoškozuje zrak.

II. ONEMOCNĚNÍ

A. KLINICKÉ PROJEVY

1. Trachom. Poněvadž původce trachomu, inkluzní konjunktivitidy a lymphogranuloma venereum (LGV) nelze s určitostí laboratorně

odlišit, je diagnóza trachomu nutně klinickou záležitostí. Onemocnění postihuje obzvláště horní spojivku a horní víčka. V I. stadiu (Mac Callan) jsou diagnostickým znakem folikuly horního víčka, povrchní zánět rohovky a rohov-

C. 50% výsledné hodnoty v neutralizačních testech

1. Určení výsledné hodnoty titru protilátek v systémech užívajících metody „ředěný virus – konstantní sérum“
2. Určení výsledné hodnoty titru protilátek v systémech užívajících metody „konstantní virus – ředěné sérum“

VII. Dodatek

A. Test vazby komplementu

1. Reagencie
 - a) Ředící roztok
 - b) Suspenze senzibilizovaných červených krvinek
 - c) Komplement
 - d) Antigen
 - e) Sérum
2. Vlastní test

B. Metody očkování kuřecích embryí

1. Předběžné zpracování vajec
2. Struktura vejce
3. Techniky očkování
 - a) Očkování do amniové dutiny
 - b) Očkování na chorioalantoidní membránu
 - c) Očkování do alantoidní dutiny
 - d) Očkování do žloutkového vaku

LITERATURA

BIBLIOGRAFIE

I. ÚVOD

Následující kapitoly podávají specifickou a podrobnou informaci o metodách a postupech běžně užívaných v laboratorní diagnostice nemocí nebo infekcí způsobených viry a rickettsiemi. Postupné poznávání důležitosti těchto činitelů, jako původců nemocí člověka, vedlo ke značnému úsilí ve vývoji potřebných laboratorních prostředků. Tato stať proto shrnuje celé spektrum technik – od jednoduchých a laciných až po obtížné, složité nebo drahé. Úmyslně široký rozsah metod zde uváděných vyplývá z dvojího účelu této knihy; za prvé – poskytnout pracovní příručku těm, kteří nejsou zběhlí ve virologii a rickettsiologii, avšak chtějí v diagnostice pracovat; za druhé – zajistit pramen snadno přístupných podrobných informací pro ty, kteří už mají v těchto oblastech práce určitou zkušenost.

Funkcí virologické diagnostické laboratoře je především zajišťování postupů sloužících ke stanovení diagnózy; je tedy samozřejmé, že nejvýhodnější jsou ty metody, které jsou jednoduché, laciné a dovolují rychle vyšetřit velký

počet vzorků. Ideálně má být diagnostická laboratoř schopna pomáhat ve výzkumu infekčních nemocí; v závislosti na rozsahu spolupráce v takovém výzkumu se rozsah jejich metod příslušně rozšíří a také zahrne některé z náročnějších technik.

Bakteriolog nebo sérolog pracující ve virologické diagnostice zjistí, že „modus operandi“ se liší od toho, na co je zvyklý, i když se používá týchž základních technik, s nimiž je obeznámen. Tak ve virologické sérologii se diagnóza opírá jen zřídka o vyšetřování jednoho vzorku krve; místo toho se společně testují dva (párové) vzorky i více od příslušného pacienta, což znamená uskladnění časných vzorků séra až do doby, kdy jsou k dispozici pro vyšetření všechny vzorky. Protože tato séra se musí uskladňovat několik dní nebo týdnů, musí se všechny vzorky samozřejmě zpracovávat také za sterilních opatření. Navíc používají virologické sérologické testy poměrně malých objemů reagensů včetně séra – což je důsledek toho, že se obvykle musí provádět více testů než pouze jeden.

KORONAVIRY

Albert Z. Kapikian, M. D.

- I. ÚVOD
 - A. Historie
 - B. Klinika
- II. POPIS A POVAHA AGENS
 - A. Obecné charakteristiky
 - B. Morfologie
 - C. Chemická skladba a vliv chemických agens
 - D. Klasifikace
 - E. Antigenní skladba
 - 1. Počet imunitypů
 - 2. Popis antigenů
 - a) Komplementfixační antigen
 - b) Hemaglutinační antigen
 - F. Patogenita pro zvířata
 - G. Růst v tkáňových a orgánových kulturách
- III. PŘÍPRAVA IMUNNÍCH SÉR
- IV. SBĚR A ZPRACOVÁNÍ VZORKŮ
 - A. Pro izolaci viru
 - B. Pro sérologickou diagnózu
 - C. Pro elektronovou mikroskopii
- V. LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA
 - A. Izolace viru
 - 1. Na zvířatech
 - 2. Na kuřecích embryích
 - 3. Na tkáňových kulturách
 - 4. Na orgánových kulturách
 - B. Identifikace izolátů
 - 1. 229E virus
 - 2. Koronaviry, které rostou jen v orgánových kulturách
 - 3. Koronaviry, které rostou v orgánových kulturách, mozcích sajících myšek a tkáňových kulturách opičích ledvin

PREVENCE LABORATORNÍCH INFEKČÍ

S. Edward Sulkin, Ph. D. a Robert M. Pike, Ph. D.

- I. Zaznamenané laboratorní infekce
- II. Aerosoly
- III. Některé potenciálně nebezpečné postupy
 - A. Očkování vajec a jejich zpracování
 - B. Používání injekční stříkačky a jehly
 - C. Lyofilizace
 - D. Centrifugace
 - E. Pipetování
- IV. Bezpečnostní skříně
- V. Experimentální zvířata a tkáňové kultury
- VI. Odstraňování kontaminovaných předmětů
- VII. Dekontaminace
- VIII. Obecné úvahy

LITERATURA

Každý, kdo pracuje s viry, rickettsiemi nebo bedsoniemi, je vystaven nebezpečí možné infekce, ať již při nehodě, nebo zanedbání náležitých opatření. Pečlivý pracovní postup a používání různých ochranných zařízení, která jsou běžně

dostupná, značně snižuje nebezpečí infekce. Účelem této kapitoly je poukázat na nedostatky při práci, které nejčastěji vedou k náhodným infekcím a doporučit dosažitelné ochranné prostředky a zařízení.

I. ZAZNAMENANÉ LABORATORNÍ INFEKCE

Analýza různých typů hlášených infekcí a okolností, za jakých k nim došlo, může pomoci při zavádění nejužitečnějších preventivních opatření. Proto se zaznamenané infekce při různých

příležitostech shrnovaly. Kupříkladu v roce 1949 bylo zhodnoceno 222 případů laboratorních infekcí virového původu, z nichž 21 bylo fatálních (27). Známá nehoda byla příčinou jen

TECHNIKA TKÁŇOVÝCH KULTUR PRO VIROLOGICKOU DIAGNOSTIKU

Nathalie J. Schmidt, Ph. D.

I. ÚVOD

- A. Vývoj aplikace techniky tkáňových kultur ve virologii
- B. Výhody použití tkáňových kultur
- C. Druhy buněčných kultur v diagnostické virologii
- D. Detekce množení virů v buněčných kulturách
 - 1. Degenerace buněk
 - 2. Tvorba plaků
 - 3. Inhibice metabolismu
 - 4. Hemadsorpce
 - 5. Technika fluorescenčních protilátek
 - 6. Interference
 - 7. Průkaz virové infekce v orgánových kulturách

II. PŘÍPRAVA BUNĚČNÝCH KULTUR IN VITRO

- A. Média pro buněčné kultury
 - 1. Biologické materiály
 - 2. Chemicky definovaná média
- B. Zpracování a uchovávání čerstvých tkání
- C. Techniky uvolňování buněk
 - 1. Použití proteolytických enzymů
 - a) Trypsinace čerstvých tkání
 - b) Trypsinace jednovrstevných buněčných kultur
 - 2. Použití chelátů
 - 3. Příprava fragmentů z čerstvých tkání
- D. Počítání buněk
- E. Příprava různých typů buněčných kultur in vitro
 - 1. Buněčné kultury lidského původu
 - a) Buněčné kultury lidské amniové blány
 - b) Buněčné kultury lidských fetálních ledvin
 - c) Buněčné kultury lidské fetální kůže a svalu
 - d) Buněčné fetální diploidní kmeny
 - e) Kontinuální buněčné linie lidského původu
 - f) Orgánové kultury lidského řasinkového epitelu z embryonální tracheální nebo nosní sliznice

2. Buněčné kultury opičího původu
 - a) Primární a sekundární kultury buněk opičích ledvin
 - b) Kontinuální buněčné linie opičího původu
3. Buněčné kultury z hlodavců
 - a) Primární kultury buněk králíčích ledvin
 - b) Kontinuální linie králíčích buněk
 - c) Primární kultury křeččích ledvin
 - d) Kontinuální linie buněk křeččí ledviny BHK-21
4. Buněčné kultury z kuřecího embrya

III. IZOLACE VIRŮ NA BUNĚČNÝCH KULTURÁCH

- A. Příprava inokula
 1. Suspenze ze stolice
 2. Rektální výtěry
 3. Výplachy a výtěry nosohltanu
 4. Tkáňové suspenze
- B. Inkubace kultur při izolačních pokusech
- C. Úvahy o účinku virů na tkáňové kultury

IV. TITRACE VIRŮ V JEDNOVRSTEVNÝCH BUNĚČNÝCH KULTURÁCH; STANOVENÍ TCD₅₀

V. PLAKOVÁNÍ VIRŮ

- A. Všeobecné úvahy
- B. Zlepšení podmínek pro tvorbu plaků
- C. Modifikace plakových technik
- D. Příklady plakových technik
 1. Plakování enterovirů v kulturách buněk opičích ledvin v kultivačních lahvích
 2. Plakování virů na kontinuálních buněčných liniích v Petriho miskách
 3. Plakování virů v jamkách plastických panelů

VI. NEUTRALIZAČNÍ TESTY NA TKÁŇOVÝCH KULTURÁCH

- A. Diskuse
- B. Neutralizační testy v jednovrstevných zkumavkových kulturách
- C. Mikroneutralizační testy v jednovrstevných buněčných kulturách
 1. Mikroneutralizační test pro polioviry
 2. Mikroneutralizační test pro myxoviry
- D. Neutralizační testy pro identifikaci izolovaných virů imunním sérem
- E. Neutralizační testy redukce plaků
- F. Barevné (metabolismusinhibiční) neutralizační testy
 1. Barevné neutralizační testy pro enteroviry
 2. Barevné neutralizační testy pro reoviry

VII. POUŽITÍ TKÁŇOVÝCH KULTUR PRO PŘÍPRAVU SÉROLOGICKÝCH ANTIGENŮ

- A. Všeobecné úvahy
- B. Důležité faktory pro přípravu sérologických antigenů s vysokým titrem na tkáňových kulturách

1. Infekce velkých buněčných populací
 2. Složení udržovacího média
 3. Multiplacita infekce
 4. Zjišťování intracelulární nebo extracelulární lokalizace antigenu
- C. Postup při odstraňování antikomplementární aktivity komplementfixačních antigenů
1. Použití fluorokarbonu
 2. Použití inaktivovaného morčecího séra
- D. Příklady postupů pro přípravu virových sérologických antigenů na buněčných kulturách
1. Komplementfixační antigen varicella-zoster
 2. Komplementfixační a hemaglutinační antigeny rubelly

VIII. KONZERVACE, UCHOVÁVÁNÍ A TRANSPORT BUNĚČNÝCH KULTUR

- A. Kuličkové kultury
- B. Udržování buněčných kultur při snížené teplotě
- C. Konzervace buněk ve zmrazeném stavu
- D. Doprava buněčných suspenzí a kultur

IX. KONTAMINACE BUNĚČNÝCH KULTUR MYKOPLAZMATY

- A. Detekce mykoplazmat v buněčných kulturách
 1. Média
 2. Izolační metody
 3. Identifikace kolonií mykoplazmat
 4. Subkultivace mykoplazmat
- B. Ochrana buněčných kultur před kontaminací mykoplazmaty
- C. Odstranění mykoplazmat z buněčných kultur
 1. Použití antibiotik
 2. Použití mykoplazmatických antiser
 3. Použití hypertermie

X. ZAŘÍZENÍ PRO KULTIVACI BUNĚK V DIAGNOSTICKÉ VIROLOGII

- A. Sklo
 1. Mytí
 2. Sklo pro jednorázové použití
 3. Úvahy o sterilizaci skla
- B. Plastické kultivační nádoby
- C. Pryžový materiál
- D. Ostatní zařízení pro techniky tkáňových kultur
 1. Stacionární stojánky na zkumavkové kultury
 2. Zařízení pro uzavírání zkumavkových kultur
 3. Police a stojany na láhvvé kultury
 4. Rolery pro buněčné kultury

XI. DODATEK

- A. Složení a příprava médií a roztoků pro tkáňové kultury
 1. Roztoky antibiotik a antimykotik