

OBSAH

1. Účast virů v etiologii alimentárních infekcí	9
2. Rotaviry a možnost laboratorního průkazu rotavirových infekcí	11
2.1 Přehled možností laboratorního průkazu rotavirů	12
2.2 Klasifikace rotavirů	13
2.3 Kritéria pro zařazení virů do rodu Rotavirus	14
3. Základní údaje o průběhu rotavirové infekce	15
4. Průkaz virů alimentárního ústrojí elektronovou mikroskopií	17
4.1 Příprava materiálu pro vyšetření elektronovou mikroskopií	17
4.2 Metody elektronmikroskopického průkazu virů	18
4.2.1 Přímé elektronmikroskopické vyšetření	18
4.2.2 Imunoelektronmikroskopie	19
4.2.3 Imunoelektronmikroskopie na pevném nosiči	21
4.2.4 Nepřímá imunoelektronmikroskopie	22
5. Průkaz antigenů rotavirů	23
5.1 Imunofluorescenční metoda	23
5.1.1 Průkaz rotavirového antigenu ve stolici imunofluorescenční metodou	23
5.1.2 Průkaz rotavirového antigenu nepřímou imunofluorescenční metodou	24
5.2 Komplementfixační reakce	25
5.2.1 Modifikace komplementfixační reakce pro průkaz rotavirového antigenu (mikroreakce)	25
5.2.2 Standardní komplementfixační reakce pro průkaz rotavirového antigenu	26
5.3 Protisměrná imunoelektroforéza (imunoelektroosmoforéza)	27
5.3.1 Průkaz rotavirového antigenu imunoelektroosmoforézou	27
5.3.2 Počet a poloha precipitačních linií	28
5.3.3 Příprava specifického hyperimunního séra	29
5.4 Test nepřímé aglutinace (koaglutinace)	30
5.4.1 Reverzní pasivní hemaglutinace	30
5.4.2 Latexová aglutinace	31
5.4.3 Průkaz rotavirů koaglutinací Staphylococcus pyogenes	33
5.4.4 Lektinový imunotest	34

5.5 Hemaglutinační test zprostředkovaný imunitní adherencí	35
5.6 Průkaz rotavirového antigenu enzymovou imunoanalýzou	36
5.6.1 Purifikace rotavirového antigenu vyhovující pro přípravu protilátek pro enzymovou imunoanalýzu	36
5.6.2 Průkaz rotavirového antigenu přímou enzymovou imunoanalýzou	38
5.6.2.1 Ověření pozitivitu vzorku blokujícím testem	39
5.6.3 Průkaz rotavirového antigenu nepřímou enzymovou imunoanalýzou	39
5.6.3.1 Konfirmační test	40
5.6.4 Komerční soupravy pro průkaz rotavirů enzymovou imunoanalýzou	40
5.6.4.1 Souprava ELISA (Bioveta, n. p., Ivanovice na Hané)	40
5.6.4.2 Souprava Rotazyme (Abbott USA)	41
5.6.4.3 Souprava Enzygnost (Behring Inst. NSR)	42
5.7 Průkaz rotavirů radioimunoanalýzou na pevném nosiči	43
6. Využití průkazu genomu rotavirů pro diagnostiku rotavirových infekcí a pro epidemiologické studie	45
6.1 Průkaz genomu rotavirů	46
6.1.1 Schema jednotlivých segmentů rotavirové ribonukleové kyseliny v elektroforetogramu	47
6.1.2 Popis jednoduché izolace ribonukleové kyseliny pro polyakrylamidovou elektroforézu	50
6.1.3 Příprava gelu pro elektroforézu	51
6.1.4 Příprava vrstvy gelu a elektroforetické dělení ribonukleové kyseliny	52
6.1.5 Znázornění pruhů ribonukleové kyseliny barvením stříbrem	53
7. Izolace rotavirů v buněčných kulturách	54
7.1 Podmínky izolace lidských rotavirů v buněčných kulturách	54
7.2 Průkaz rotavirů v buněčných kulturách	55
7.2.1 Průkaz rotavirů v buněčných kulturách imunofluorescenční reakcí	55
7.2.2 Průkaz virového antigenu imunoperoxidázovou metodou	56
7.2.3 Průkaz peroxidázy antiperoxidázou	57
7.3 Serologický průkaz izolovaného rotaviru neutralizačním testem	57
7.3.1 Test redukce fluoreskujících ložisek	57
7.3.2 Plakneutralizační reakce	57
7.3.2.1 Získání plakotvorné mutanty	58
7.4 Sérotypy rotavirů	59
8. Sérologický průkaz rotavirových infekcí	60
8.1 Komplementfixační reakce	61
8.2 Nepřímá imunofluorescence	61
8.2.1 Průkaz izotypů imunoglobulinů (tříd protilátek) nepřímou imunofluorescencí	63
8.3 Průkaz rotavirových protilátek enzymovou imunoanalýzou	63
8.4 Průkaz rotavirových protilátek neutralizačním testem	65

9. Enteroadenoviry	66
10. Coronaviry jako vyvolavatelé enteritidy člověka	68
11. Malé kulaté virové částice (SRV)	69
12. Virus Norwalk a příbuzná agens	70
13. Astroviry	72
14. Caliciviry	74
Literatura	76