

Obsah

Úvod	4
1. ZÁSADY PRÁCE VE VIROLOGICKÉ LABORATOŘI	5
Bezpečnost a zdraví při práci ve virologické laboratoři	5
Vybavení virologické laboratoře	5
Principy práce ve virologické laboratoři	6
Infekční materiál v praxi	6
2. KULTIVAČNÍ TECHNIKY VE VIROLOGII	7
Téma 1. Práce s buněčnou kulturou	7
Úkol 1. Pasážování buněk	8
Úkol 2. Počítání buněk v Bürkerově komůrce	9
Úkol 3. Kultivace buněk v 96-jamkového panelu	10
Úkol 4. Kvantifikace CPE	11
Téma 2. Stanovení titru viru	13
Úkol 1. Stanovení virového titru plakovou titrací	13
Úkol 2. Stanovení virového titru jako TCID ₅₀ /mL	16
3. IMUNOLOGICKÉ DIAGNOSTICKÉ METODY VE VIROLOGII	19
Téma 1. Imunofluorescenční barvení	19
Úkol 1. Vizualizace virového antigenu pomocí fluorescenčního barvení	20
Téma 2. ELISA pro stanovení virus-specifických protilátek	23
Úkol 1. Stanovení protilátek proti viru klíšťové encefalitidy z lidského séra	25
Téma 3. Rychlý imunologický test na přítomnost protilátek proti SARS-CoV-2	27
Úkol 1. Stanovení protilátek proti SARS-CoV-2 rychlým imunologickým testem	28
Téma 4. Virus-neutralizační test	30
Úkol 1. Stanovení neutralizačních protilátek proti klíšťaty přenášenému flaviviru	30
4. MOLEKULÁRNĚ - BIOLOGICKÉ METODY V DIAGNOSTICE VIROVÝCH INFEKČÍ	32
Téma 1. PCR pro průkaz viru klíšťové encefalitidy ve vzorcích klíšťat	32
Úkol 1. Izolace RNA viru klíšťové encefalitidy z klíšťat	33
Úkol 2. Vlastní PCR pro průkaz virové RNA	35
Úkol 3. Elektroforéza PCR produktů, jejich monitorování a extrakce z gelu	37
Téma 2. Vyšetření na SARS-CoV-2 pomocí kvantitativní reverzně-transkripční PCR	39
Úkol 1. Izolace virové RNA	39
Úkol 2. RT-qPCR	40
Téma 3. Práce s virovým reportérovým systémem	44
Úkol 1. Využití reportérového virového systému pro virus-neutralizační test	45
5. VIRY A ANTIVIROTIKA	49
Téma 1. Stanovení citlivosti viru na antivirotika	50
Úkol 1. Stanovení citlivosti klíšťaty přenášeného flaviviru na antivirotika	50
Úkol 2. Stanovení toxicity testovaných antivirotik	53
Téma 2. Studium rezistence viru na antivirotikum	54
Úkol 1. Experimentální ověření rezistence viru na nukleosidové antivirotikum	55
Úkol 2. Bioinformatická analýza mutací v sekvenci virové genomové RNA	56
6. LABORATORNÍ ZVÍŘE VE VIROLOGII	57
Téma 1. Manipulace s experimentálním zvířetem	57
Úkol 1. Celková anestezie laboratorní myši a experimentální infekce	58
Úkol 2. Odběr vzorku krve z ocasní žíly, vykrvení zvířete a odběr orgánů	59
7. PŘÍPRAVA RŮSTOVÝCH MÉDIÍ, ROZTOKŮ, BARVIV A DALŠÍCH REAGENTŮ POUŽÍVANÝCH V PRAKTIKU	61
8. DOPORUČENÁ LITERATURA K DALŠÍMU STUDIU	63