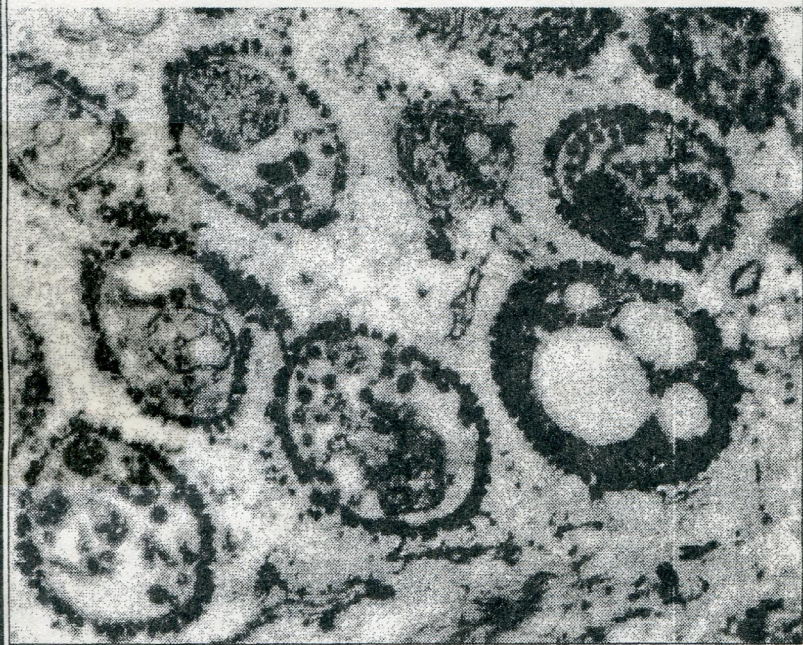


В.С. Кокорев, Д.В. Вахрушева

**БИОТЕХНОЛОГИЯ ВИРУСНЫХ
КУЛЬТУРАЛЬНЫХ
ДИАГНОСТИКУМОВ**



УРАЛЬСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ
СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННАЯ АКАДЕМИЯ
ООО "ЦЕНТР ИММУННОЙ БИОТЕХНОЛОГИИ"

В.С. Кокорев, Д.В. Вахрушева

**БИОТЕХНОЛОГИЯ
ВИРУСНЫХ КУЛЬТУРАЛЬНЫХ
ДИАГНОСТИКУМОВ**

Екатеринбург
1999 г.

ISBN 5-901078-04-7

Кокорев В.С., Вахрушева Д.В. Биотехнология вирусных культуральных диагностикумов. Монография. - Екатеринбург, Уральская ГСХА, ООО "Центр иммунной биотехнологии", 1999 г.

В.С. Кокорев - д-р мед. наук, проф., зав. кафедрой микробиологии и вирусологии УрГСХА; Д.В. Вахрушева - канд. биол. наук, доцент кафедры микробиологии и вирусологии УрГСХА.

В монографии представлены материалы многолетних исследований биологических свойств ряда вирусов, поражающих человека и животных, а также клеточных культур различного происхождения, используемых для репродукции вирусов; факторов, определяющих эффективность репродукции и антигенообразования вирусов *ин vitro*; оптимальных условий для инактивации инфекционной активности, концентрирования и стабилизации антигенных вирусных препаратов. Обобщен опыт производственного выпуска комплекса культуральных арбовирусных диагностикумов.

Книга предназначена для научных сотрудников, специалистов практических вирусологических лабораторий и предприятий по производству вирусных препаратов, для преподавателей и студентов биологических, медицинских и ветеринарных высших учебных заведений.

Библиогр. 452 назв., Табл. 49, Рис. 42.

Рецензент: Заведующая кафедрой микробиологии, вирусологии и иммунологии Уральской Государственной медакадемии, доктор медицинских наук, профессор З.Н. Кондрашова.

© Кокорев В.С., Вахрушева Д.В. 1998 г.

© Уральская Государственная сельскохозяйственная академия, ООО "Центр иммунной биотехнологии", 1999 г.

ОГЛАВЛЕНИЕ

Предисловие	3
Введение	5
Глава I. Материальное и методическое обеспечение работ по конструированию культуральных вирусных диагностикумов	19
1. Вирусологические методы.....	19
1.1. Вирусы, штаммы, диагностикумы.....	19
1.2. Культуры клеток, питательные среды.....	20
1.3. Обработка культуры клеток гормонами.....	22
1.4. Обработка культуры клеток фитогемагглютинином.....	23
1.5. Выращивание культур клеток в среде с сывороточными липидными ингибиторами.....	24
1.6. Культивирование вирусов в различных температурных условиях.....	24
1.7. Исследование инфекционных и гемагглютинирующих свойств вирусов.....	25
1.8. Титрование интерферона.....	25
1.9. Сывороточные препараты.....	26
2. Серологические методы.....	26
2.1. Реакция: биологической нейтрализации, торможения гемагглютинации, связывания комплемента, диффузионной преципитации в агаре, радиального гемолиза, непрямой гемагглютинации, кинетическая реакция торможения гемагглютинации.....	26
2.2. Методы оценки авидитета антигенов, антител и ингибиторов.....	27
2.3. Реакция истощения антигемагглютининов.....	27
2.4. Методы контроля диагностикумов.....	28
3. Физические, физико-химические и химические методы.....	29
3.1. Инактивация инфекционной активности вирусов.....	29
3.2. Концентрирование и очистка антигенных препаратов.....	29
3.3. Обработка антигенных препаратов твином 80-эфиром и ультразвуком.....	29
3.4. Стабилизация антигенов вирусов.....	30

3.5. Ультрацентрифугирование.....	30
3.6. Колоночная хроматография.....	30
4. Цитологические методы.....	31
5. Биометрические методы.....	31
Глава II. Факторы, определяющие размножение вирусов в культурах клеток, формирование и выявление их антигенов.....	33
1. Размножение и гемагглютинирующая активность вирусов.....	33
1.1. Количество зараженных клеток, возраст культуры клеток, способ заражения, тканевые ингибиторы, аутоинтерференция, множественность инфекции, время репродукции вируса и некоторые другие факторы.....	33
1.2. Среда поддержания.....	40
1.3. Биологические особенности вирусов и клеточных культур.....	46
1.4. Значение рН и температуры для выявления гемагглютинирующей активности вирусов репродуцированных в клеточных культурах. Взаимоотношения между гемагглютинирующей и инфекционной активностью вирусов.....	51
1.5 Температура культивирования.....	53
1.6. Ингибиторы в среде роста клеток.....	59
1.7. Стимуляторы репродукции и антигенообразования вирусов.....	68
1.7.1. Гормоны.....	68
1.7.2. Фитигемагглютинин.....	77
2. Некоторые факторы, определяющие комплементсвязывающую и преципитирующую активность вирусов.....	80
3. Характеристика динамики формирования в культуре клеток различных по биологической активности и биофизическим свойствам вирусных частиц.....	92
4. Репродукция некоторых вакцинных штаммов вирусов животных в культуре клеток ин итро.....	105

Глава III. Методические основы инактивации инфекционной активности, концентрирования и стабилизации вирусных антигенов.....	110
1. Вопросы инактивации инфекционной активности диагностикумов.....	112
2. Вопросы концентрирования диагностикумов.....	120
3. Вопросы стабильности и стабилизации антигенов вирусов.....	125
4. Наборы диагностикумов альфа- и флавивирусов.....	131
Глава IV. Развитие исследований по вопросам конструирования культуральных вирусных диагностикумов.....	133
1. Сравнительный анализ представленных материалов с результатами других исследователей.....	133
2. Новые данные по разработке оптимальных условий выращивания клеточных культур, используемых в биотехнологических целях.....	143
3. Новые данные о применении клеточных культур для репродукции вирусов и конструирования вирусных антигенных препаратов.....	150
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	160
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	162
ПРИЛОЖЕНИЕ.....	186