



NAUČNI INSTITUT ZA VETERINARSTVO SRBIJE

**DIJAGNOSTIKA BESNILA
I
MONITORING ORALNE VAKCINACIJE**

Vesna Milićević, dr vet.med.

mart 2011, Beograd



B e s n i l o je akutno virusno oboljenje centralnog nervnog sistema (encefalitis) toplokrvnih životinja i ljudi

B e s n i l o je teška zarazna bolest od koje može oboleti svaki sisar

B e s n i l o je akutna fatalna infektivna bolest toplokrvnih životinja koju karakterišu povišena telesna temperatura, nervni simptomi, paraliza i koma

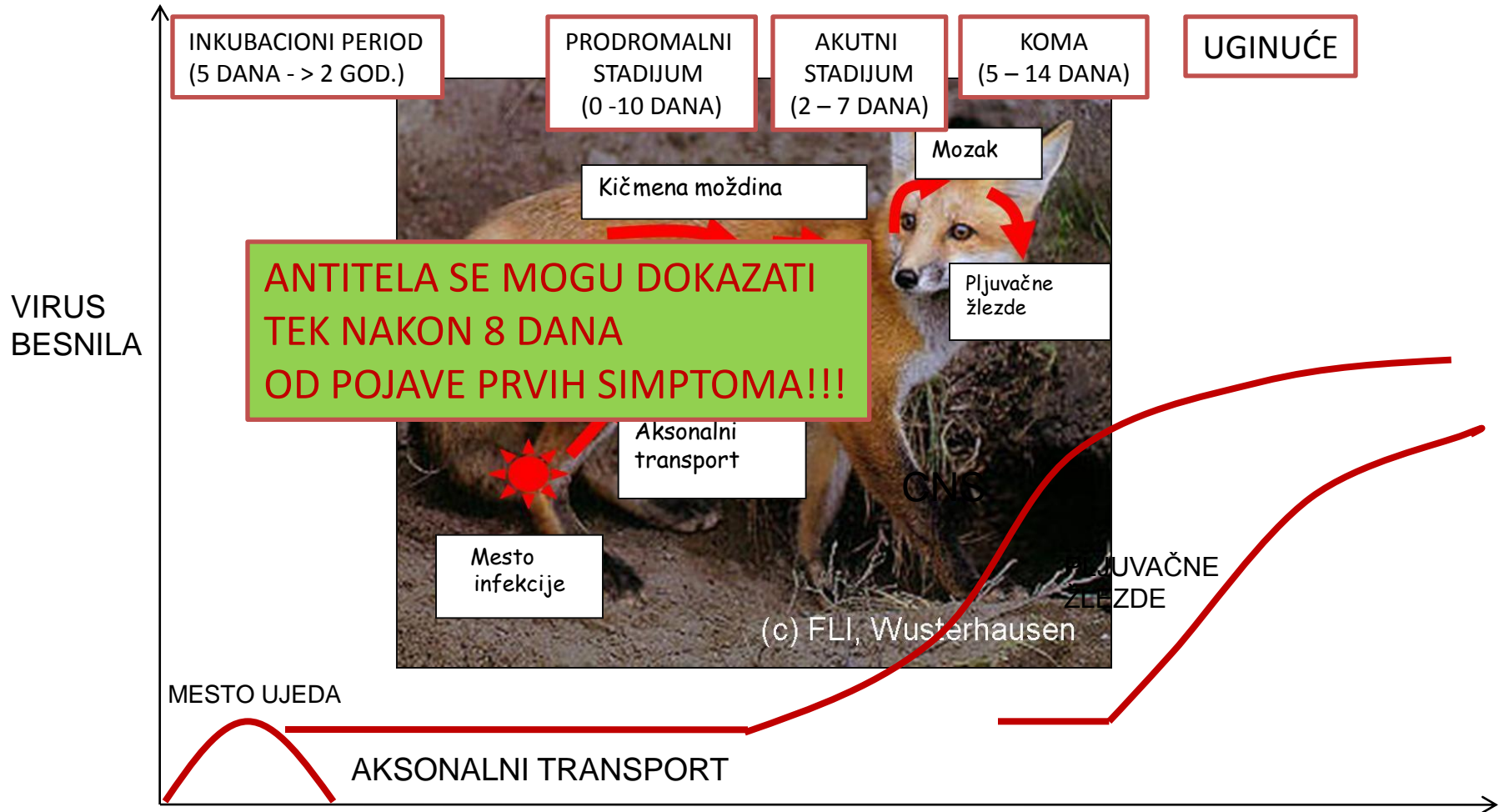
KARAKTERISTIKE VIRUSA BESNILA

- 70x170 nm
- ss -RNK, 11932 nt, 5` N-NS-M2-G-L-3`
- omotač

TAKSONOMIJA

Familija	RHABDOVIRIDAE
Rod	LYSSAVIRUS
Vrsta	RABIES VIRUS MOKOLA VIRUS LAGOS BAT VIRUS DUVENHAGE VIRUS EUROPEAN BAT LYSSAVIRUS 1 EUROPEAN BAT LYSSAVIRUS 2 AUSTRALIAN BAT LYSSAVIRUS

PATOGENEZA BESNILA



DIJAGNOSTIKA BESNILA

PRAVILNIK O UTVRĐIVANJU MERA ZA RANO OTKRIVANJE, DIJAGNOSTIKU SPREČAVANJE ŠIRENJA, SUZBIJANJA I ISKORENJIVANJA ZARAZNE BOLESTI BESNILO I NAČINU NJIHOVOG SPROVOĐENJA:

*** DIREKTNA IMUNOFLUORESCENCIJA
*** BIOLOŠKI EKSPERIMENT NA BELIM MIŠEVIMA

BRZI TESTOVI

DOKAZIVANJE ANTIGENA

POTVRDNI TESTOVI

DOKAZIVANJE GENOMA

IZOLACIJA VIRUSA

DIJAGNOSTIKA BESNILA - Tehnika Fluorescentnih Antitela - dIF- FAT

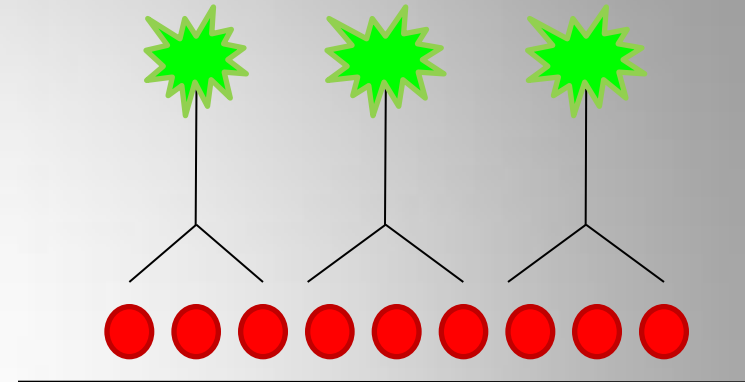
* POTREBNI REAGENSI

- PBS
- FITC KONJUGAT

* POTREBNA OPREMA

- FRIŽIDER
- ZAMRZIVAČ
- TERMOSTAT
- FLUORESCENTNI MIKROSKOP

* PRINCIP TESTA



* UZORAK

MOŽDANO STABLO

MALI MOZAK, AMONOVI ROGOVI???

TRANSPORT UZORAKA

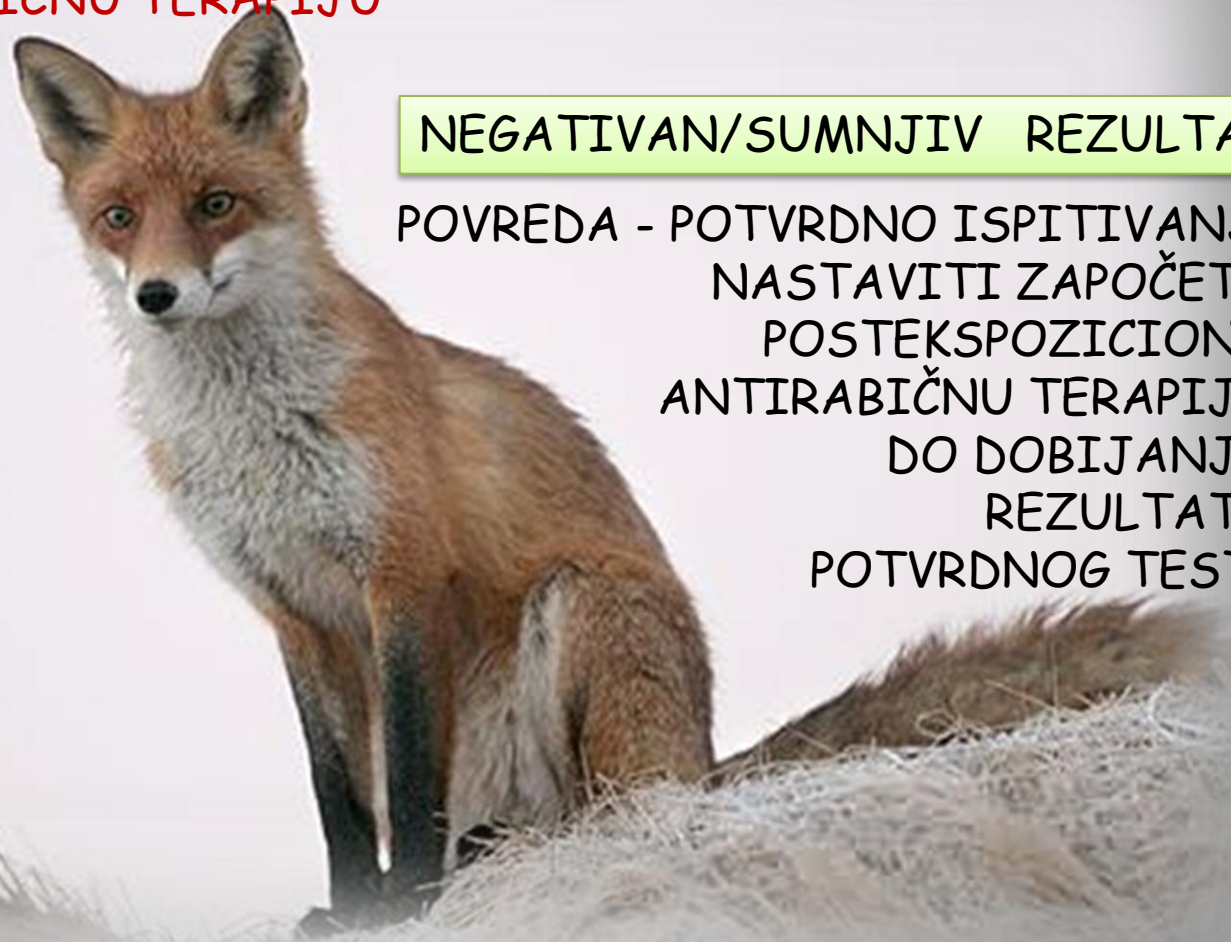
ČUVANJE UZORAKA

DIJAGNOSTIKA BESNILA - Evaluacija rezultata

POZITIVAN REZULTAT

1. POVREDA - DOVRŠITI ZAPOČETU POSTEKSPozICIONU ANTIRABIČNU TERAPIJU

2. SPROVOĐENJE MERA DEFINISANIH PRAVILNIKOM



NEGATIVAN/SUMNJIV REZULTAT

POVREDA - POTVRDNO ISPITIVANJE NASTAVITI ZAPOČETU POSTEKSPozICIONU ANTIRABIČNU TERAPIJU DO DOBIJANJA REZULTATA POTVRDNOG TESTA

DIJAGNOSTIKA BESNILA - Potvrdni testovi

MIŠEVI

IZOLACIJA VIRUSA

KULTURA TKIVA

PREDNOSTI ??? MANE

- * Dužina trajanja
- * Skup
- * Opravdan samo ako nema uslova za izolaciju na kulturi tkiva

*** DOBROBIT ŽIVOTINJA**

- * **Senzitivan**
- * **Jeftin**
- * **Kratko traje**

- ZAHTEVA SKUPU OPREMU I KVALITETNIJE REAGENCIJE - RT-PCR

- VALIDACIJA

RT-PCR



- * Najbrži test
- * Najsenzitivniji test
- * Najspecifičniji test
- * Pogodan za Intra vitam dijagnostiku
- * Neadekvatni uzorci za FAT i izolaciju

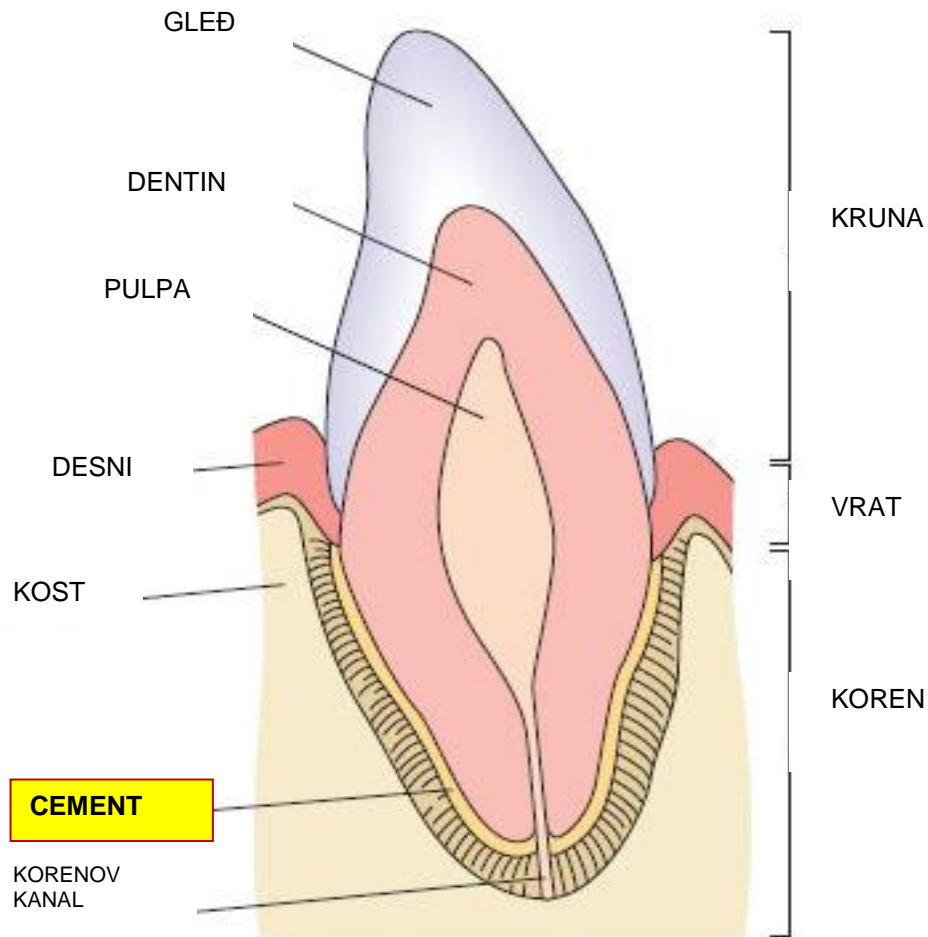
1. ODREĐIVANJE STAROSTI LISICA
2. ODREĐIVANJE KONZUMACIJE MAMACA
3. DOKAZIVANJE VIRUSA BESNILA
4. DOKAZIVANJE I ODREĐIVANJE TITRA ANTITELA
5. KONTROLA VAKCINA ZA ORALNU VAKCINACIJU



MONITORING ORALNE VAKCINACIJE

ODREĐIVANJE STAROSTI LISICA

MONITORING ORALNE VAKCINACIJE



OPREMA

- dijamantska testera
- mikroskop

ELEMENTI ZA PROCENU STAROSTI

- prečnik zubne pulpe
- prisustvo/odsustvo cementa
- broj tamnih linija u cementu
- datum odstrela

ODREĐIVANJE KONZUMACIJE MAMACA

MONITORING ORALNE VAKCINACIJE

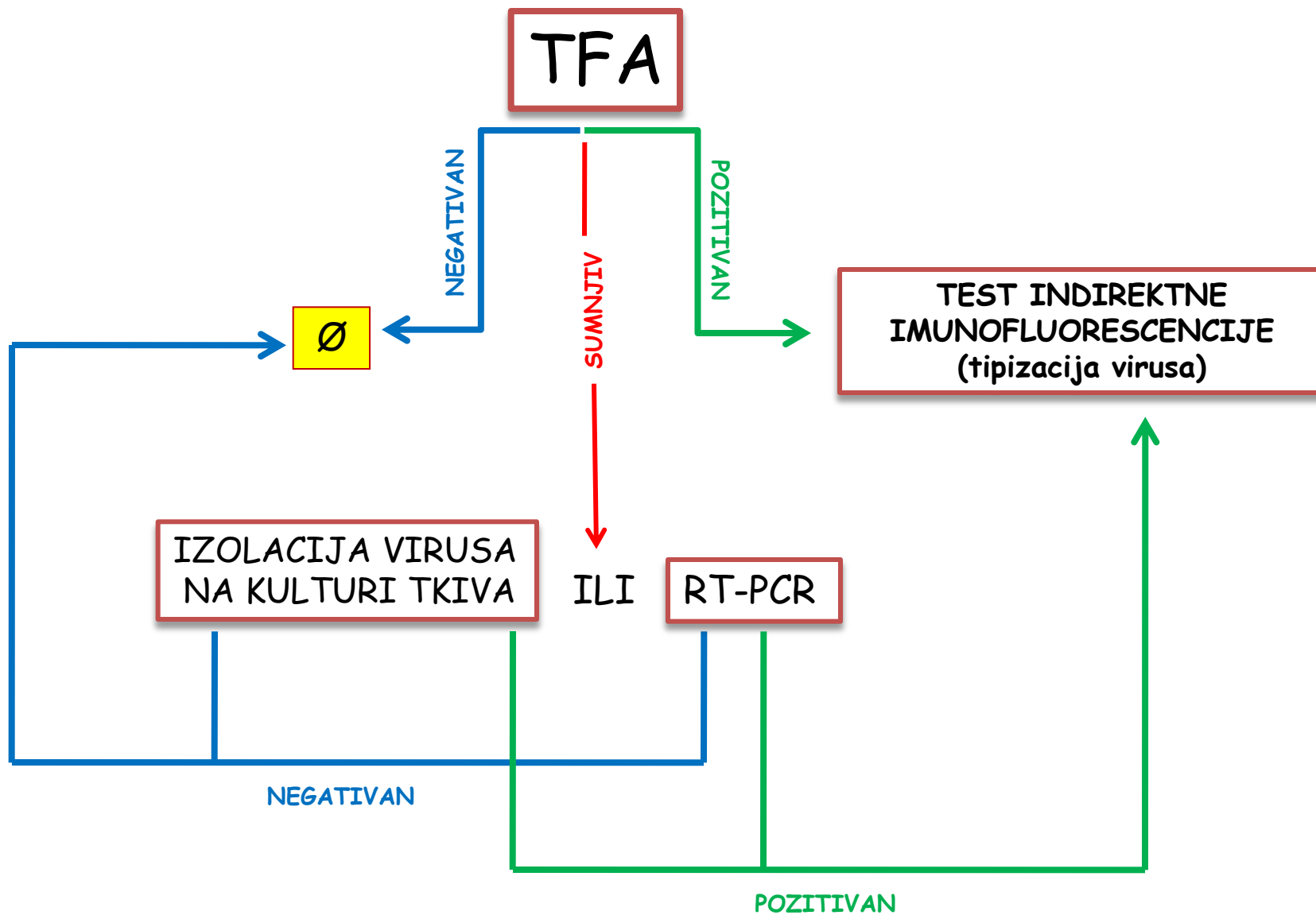
OPREMA

- dijamantska testera
- fluorescentni mikroskop



DOKAZIVANJE VIRUSA BESNILA

MONITORING ORALNE VAKCINACIJE



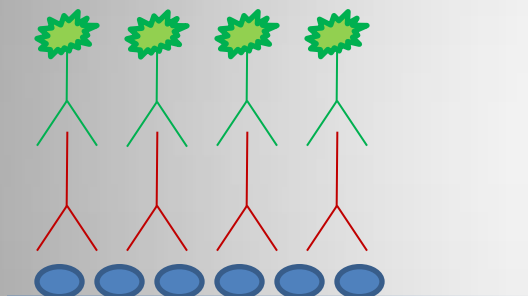
DOKAZIVANJE VIRUSA BESNILA

MONITORING ORALNE VAKCINACIJE

- ✓ TEHNIKA FLUORESCENTNIH ANTITELA
- ✓ IZOLACIJA VIRUSA NA KULTURI TKIVA
- ✓ RT-PCR

✓ **INDIREKTNA IMUNOFLUORESCENCIJA**

(RFLP, sekvencioniranje, diskriminatorni RT-PCR)

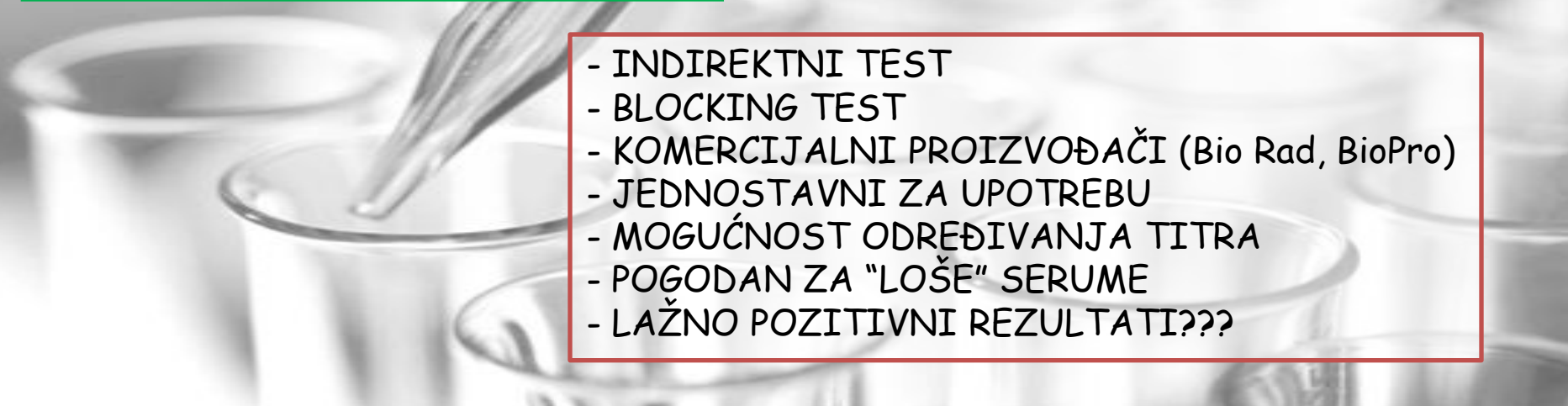


	REPLIKACIJA VAKCINALNOG VIRUSA	INFEKCIJA
MAB - VAKCINA	+	-
MAB - TERENSKI	-	+

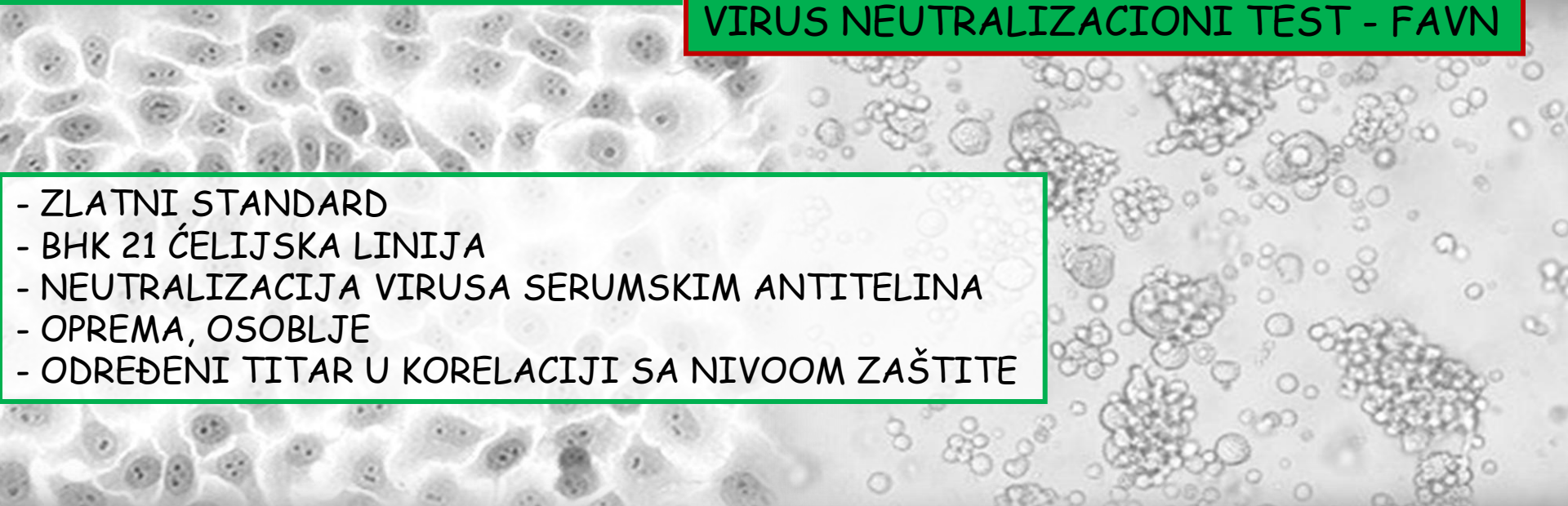
DOKAZIVANJE I ODREĐIVANJE TITRA ANTITELA

MONITORING ORALNE VAKCINACIJE

IMUNOENZIMSKI TEST - ELISA

- 
- INDIREKTNI TEST
 - BLOCKING TEST
 - KOMERCIJALNI PROIZVOĐAČI (Bio Rad, BioPro)
 - JEDNOSTAVNI ZA UPOTREBU
 - MOGUĆNOST ODREĐIVANJA TITRA
 - POGODAN ZA "LOŠE" SERUME
 - LAŽNO POZITIVNI REZULTATI???

VIRUS NEUTRALIZACIONI TEST - FAVN

- 
- ZLATNI STANDARD
 - BHK 21 ĆELIJSKA LINIJA
 - NEUTRALIZACIJA VIRUSA SERUMSKIM ANTITELINA
 - OPREMA, OSOBLJE
 - ODREĐENI TITAR U KORELACIJI SA NIVOOM ZAŠTITE

EVALUACIJA REZULTATA

MONITORING ORALNE VAKCINACIJE

	DETEKCIJA VIRUSA	ANTITELA	MARKERI
VAKCINISANA	-	+	+
NEVAKCINISANA - ZDRAVA	-	-	-
NEVAKCINISANA - OBOLELA	+	-/+	-
MATERNALNI IMUNITET ?	-	+	-
PROBLEM!!!	+	+	+

STAROST !

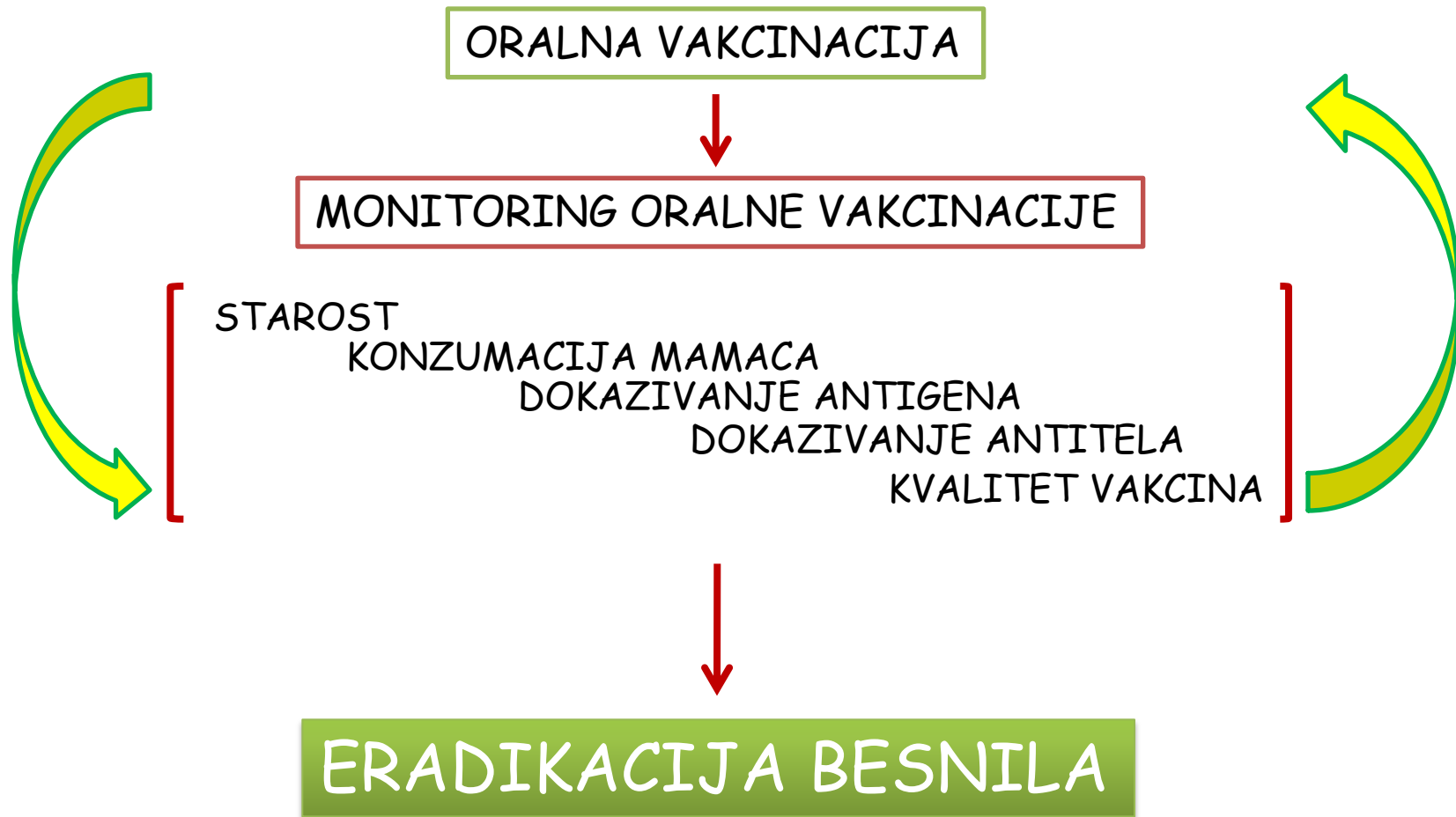
KVALITET VAKCINA

MONITORING ORALNE VAKCINACIJE



1. KONTROLA STABILNOSTI MATRIKSA
2. KONTROLA TITRA VAKCINALNOG VIRUSA

MONITORING ORALNE VAKCINACIJE





HVALA NA PAŽNJI !