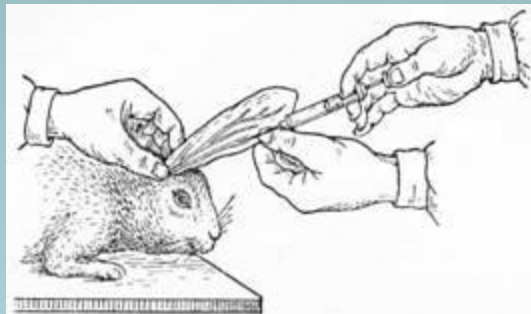


Способы культивирования вирусов

Лабораторные животные



Экспериментальные модели для некоторых вирусов

Наименование вируса	Экспериментальная модель
Вирус бешенства	Мыши, кролики
Вирус Коксаки	Мыши-сосунки
Вирус полиомиелита	Обезьяны, крысы
Вирус гриппа	Мыши, хорьки
Вирус клещевого энцефалита	Мыши

Способы заражения лабораторных животных

- При вирусологических исследованиях применяют:

подкожное, накожное, внутрикожное, внутримышечное, внутрибрюшинное, внутривенное, пероральное, интраназальное, интрацеребральное заражение лабораторных животных.

Культуры клеток

1. Культуры фиксированных кусочков тканей

2. Однослойные культуры клеток:

- а) непереживаемые или первичные культуры клеток (1 генерация);
- б) переживаемые (стабильные) культуры клеток (неограниченное число генераций);
- в) полупереживаемые или культуры диплоидных клеток (40-50 пассажей).

3. Культуры суспензированных клеток.

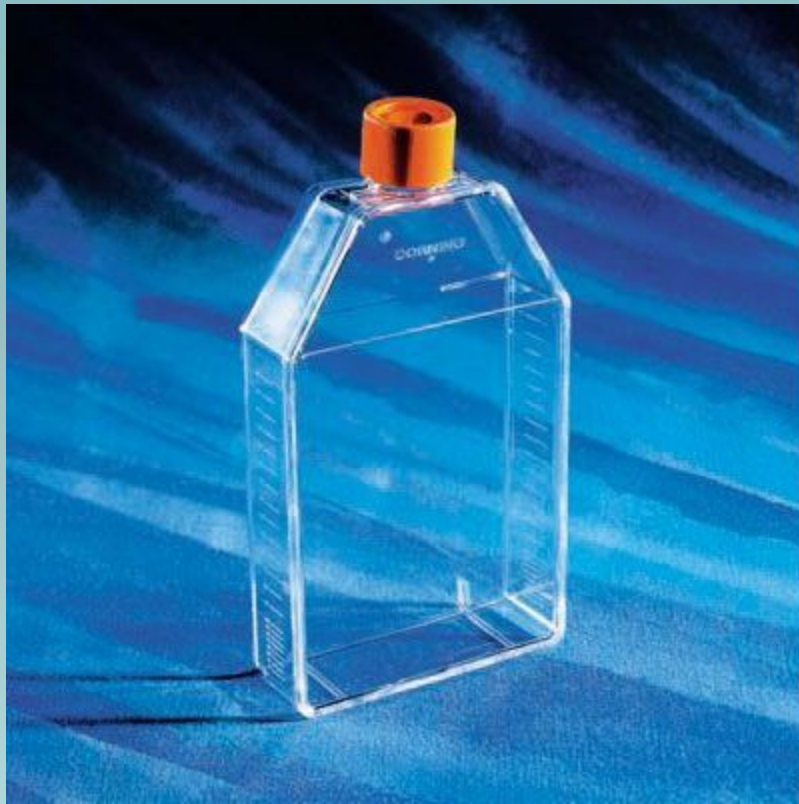
Линии клеток

Таблица 1.3. Примеры стандартных линий клеток животных и их происхождение

Обозначение линии клеток	Животное	Ткань
HeLa (CCL 2) ^a	Человек	Карцинома шейки матки
HLM	Человек	Печень эмбриона
FS-4	Человек	Фибробласт препуциума
МК2	Обезьяна	Почки
CHO (CCL 61)	Китайский хомяк	Яичник
L-M (CCL 2)	Мышь	Соединительная ткань

^a Обозначение CCL применяется Банком культур клеток Американской коллекции типов культур (Cell Culture Repository, American Type Culture Collection, 12301 Parklawn Drive, Rockville, Maryland 20852 USA); эта организация является хранителем и поставщиком линий клеток.

Матрас для культивирования культур клеток и тканей



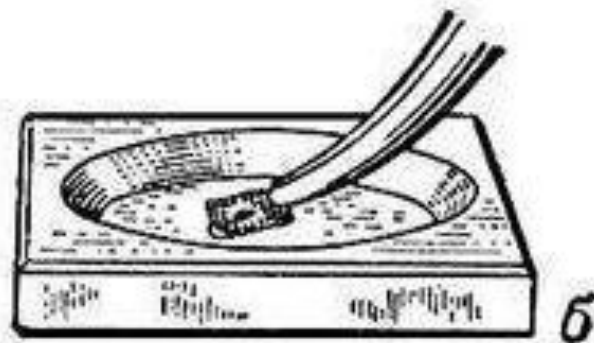
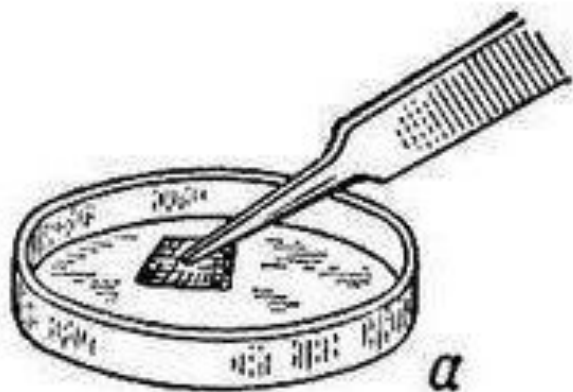
Культивирование клеток





Серологические пипетки

Культивирование культур клеток



Состав сред для культивирования культур клеток

Вещества	Раствор Хенкса	Раствор Эрла
NaCl	8,0	6,8
KCl	0,4	0,4
CaCl ₂	0,14	0,2
MgSO ₄ ×7H ₂ O	0,1	0,1
MgSO ₄ ×6H ₂ O	0,1	-
NaH ₂ PO ₄ ×H ₂ O	-	0,125
NaH ₂ PO ₄ ×2H ₂ O	0,06	-
KH ₂ PO ₄	0,06	-
Глюкоза	1,0	1,0
Фенолрот (не всегда)	0,02	0,05
NaHCO ₃	0,35	2,2

Типы сред для культивирования культур клеток

- **Естественные питательные среды** (применяются редко)

Естественные питательные среды готовят на основе солевых растворов Хенкса и Эрла, к которым добавляют сыворотку, амниотическую жидкость, эмбриональный экстракт. Например, среда для культивирования клеток HeLa: сыворотка человека – 50%, куриный эмбриональный экстракт – 2%, раствор Хенкса – 48%.

- **Ферментативные гидролизаты белковых веществ.**

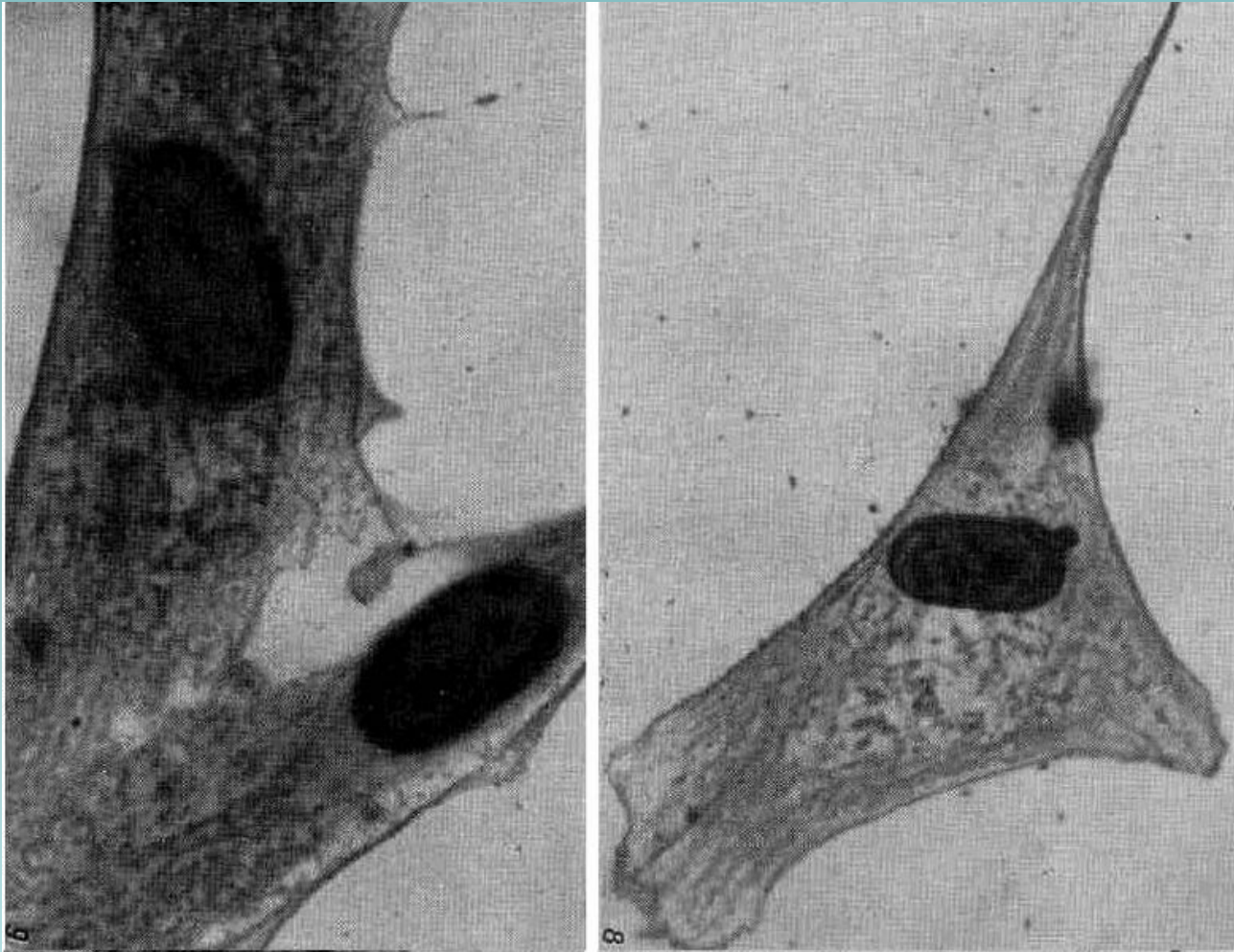
В среды добавляют ферментативные гидролизаты: лактальбумина, казеина, белков крови крупного рогатого скота.

- **Синтетические питательные среды**, которые отличаются сложным составом:

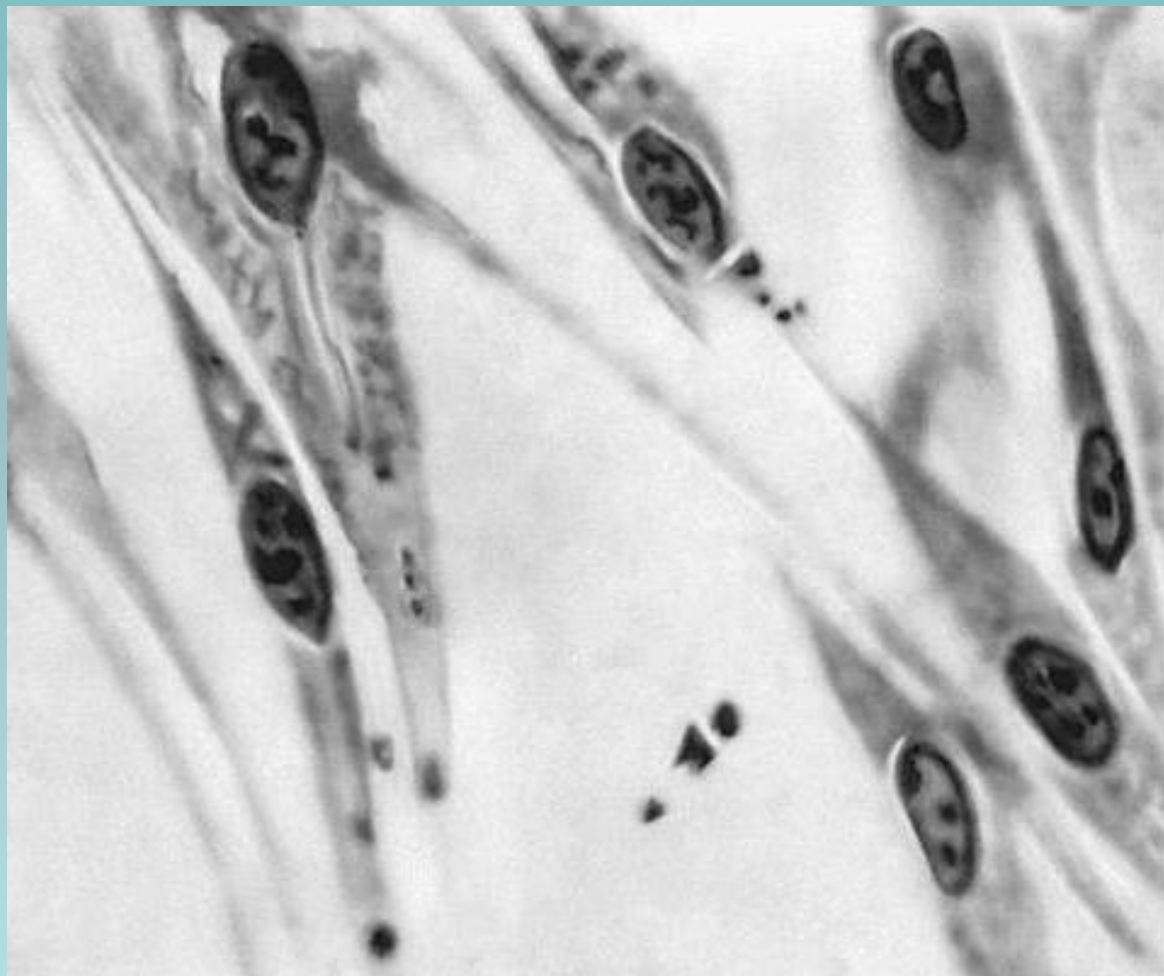
Среда 199 (Паркера) содержит 20 аминокислот, 17 витаминов, пурины и пиримидины, глюкозу, 9 минеральных солей и ряд других веществ. Эту среду готовят на солевом растворе Хенкса, стерилизуют фильтрованием через бактериальные фильтры.

Среда Игла содержит 13 аминокислот, 4 катиона, 3 аниона, 6 витаминов, холин, инозит и углеводы.

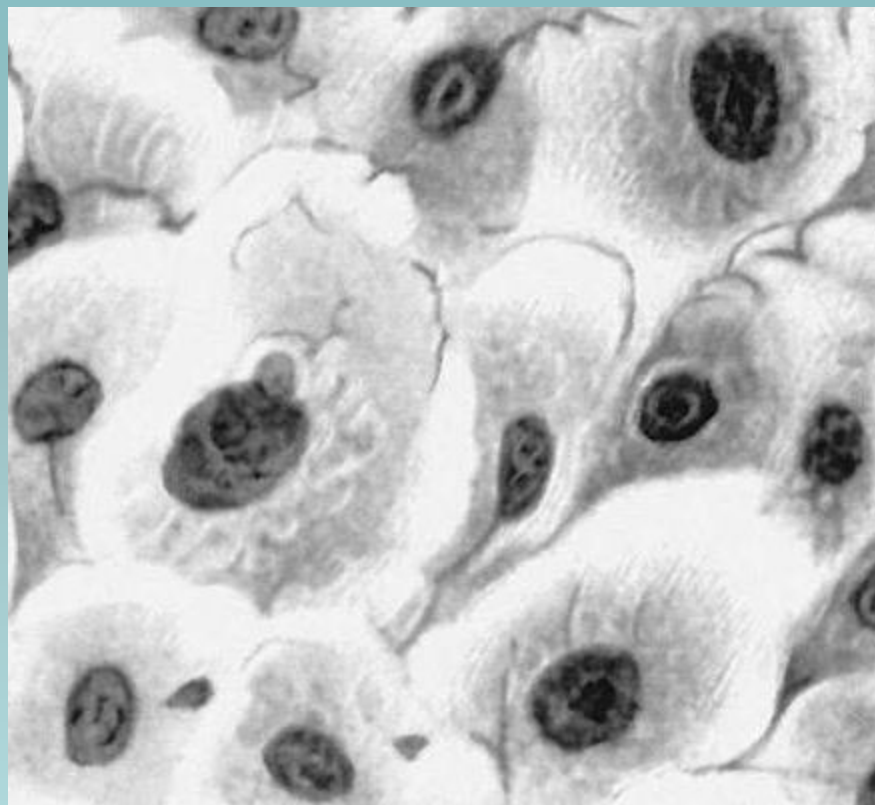
Клетки первичной культуры
фибробластов эмбрионов мыши, видны
фибриллярные элементы цитоскелета



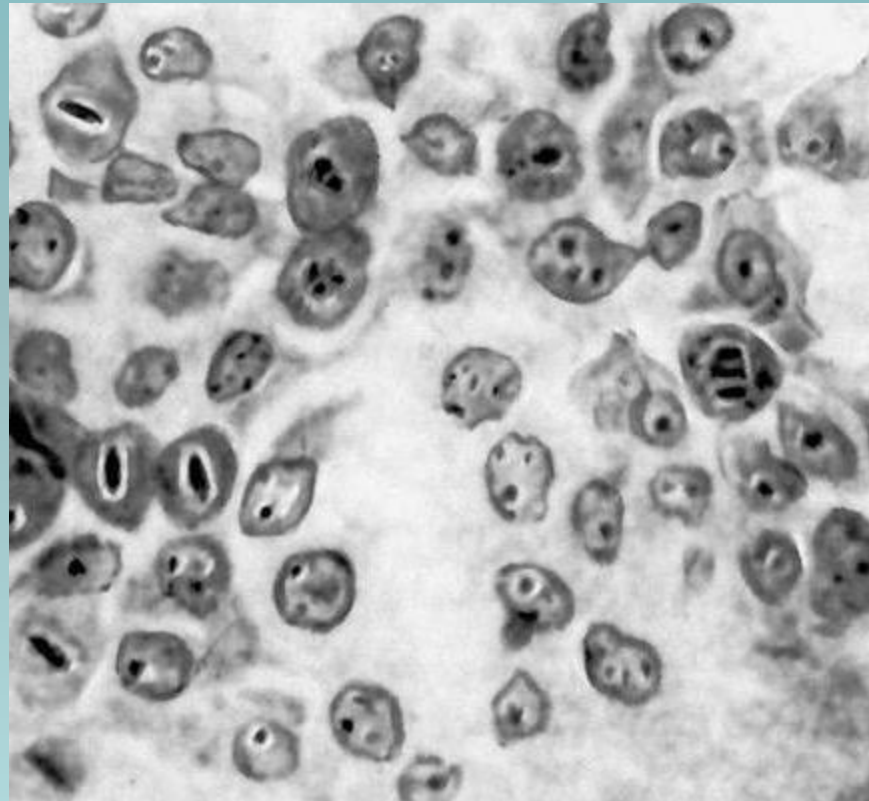
Фибробластоподобные клетки в культуре ткани



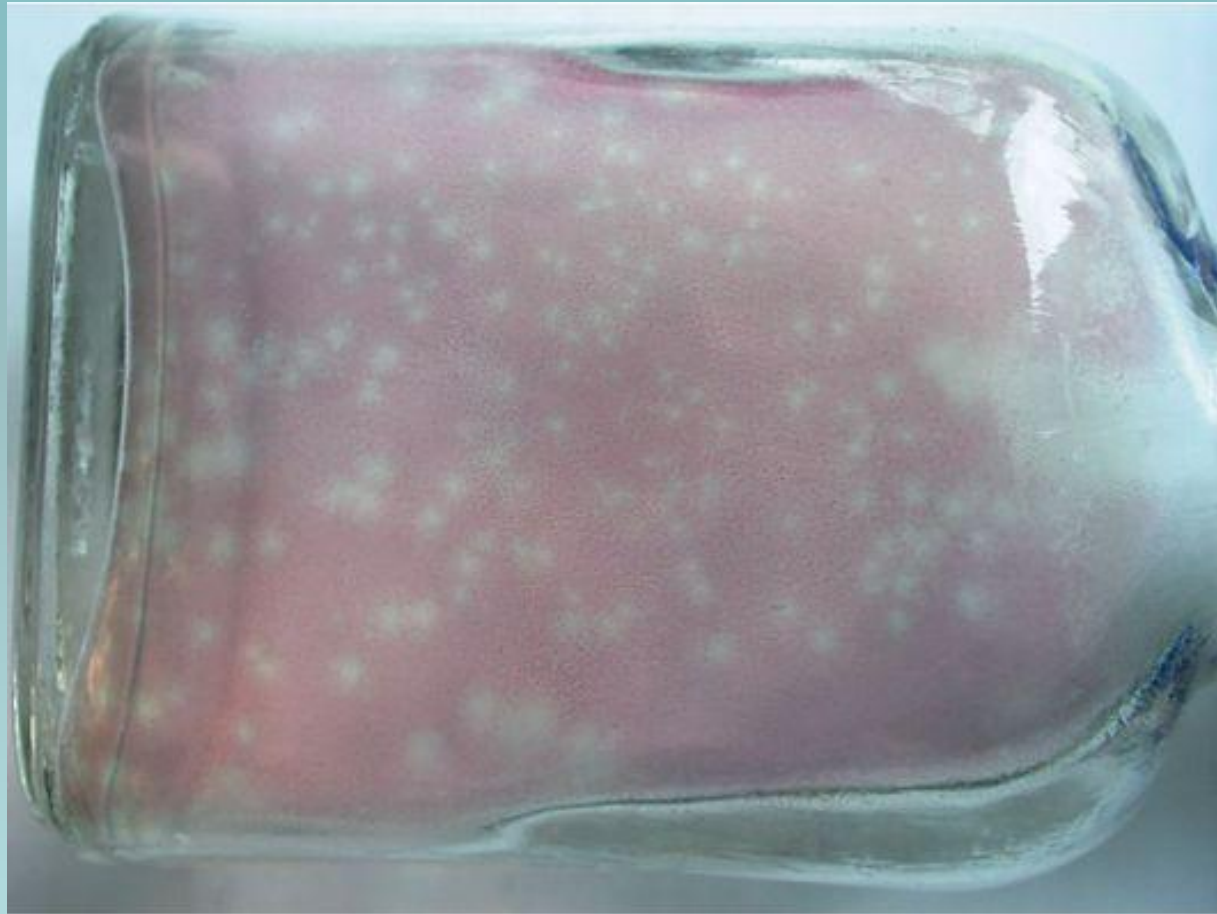
Эпителиоподобные клетки в культуре ткани



Культура перевиваемой линии



Негативные колонии на культуре клеток

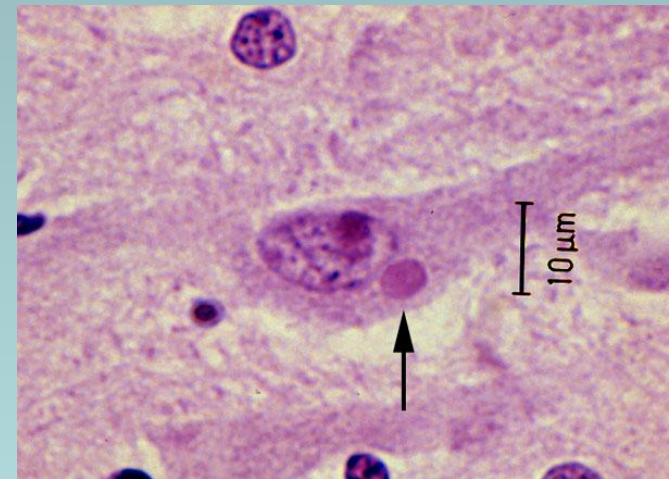
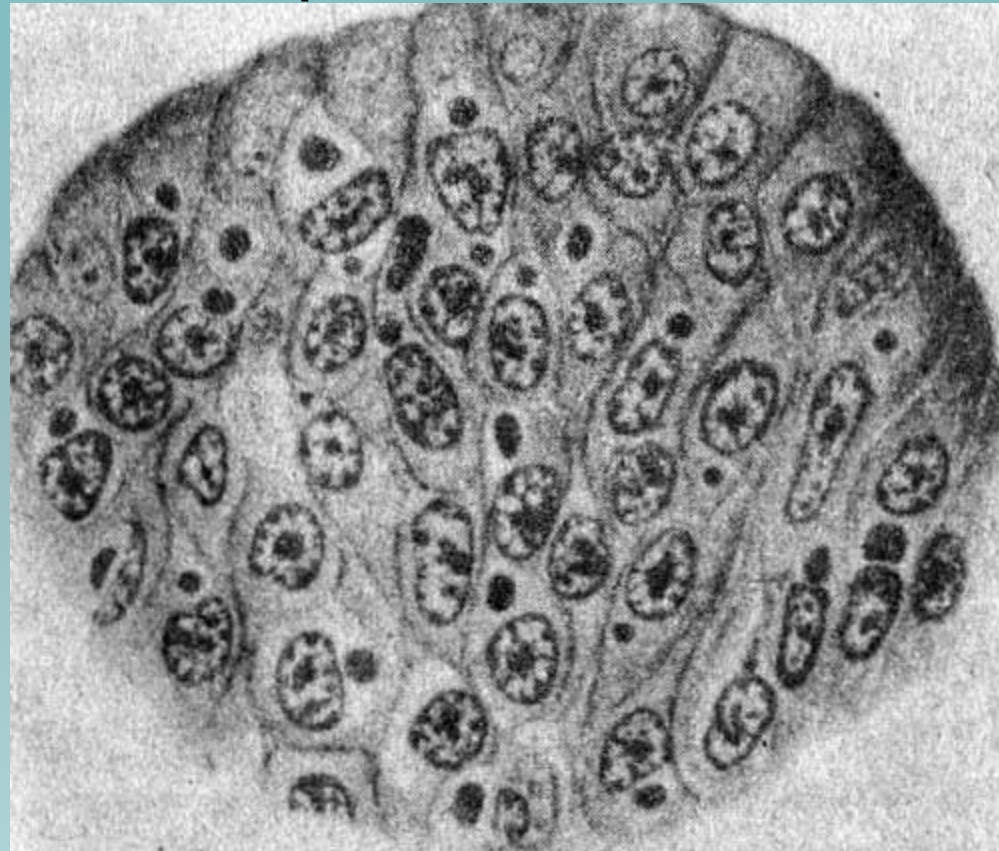


Цитопатическое действие вируса на культуру клеток (ЦПД)

возникновение в клетках видимых морфологических дегенеративных изменений (литическая инфекция);

- - энтеровирусы (вирусы полиомиелита, Коксаки, ЕСНО) вызывают однородную мелкозернистую деструкцию клеток;
- - аденовирусы превращают клеточный слой в скопления мелких, округлых клеток, расположенных в виде гроздьев винограда;
- - парагриппозные вирусы, респираторно-синцитиальный, вирусы кори и паротита образуют симпласты.

ЦПД. Тельца Гварниери (Guarnieri bodies), *Poxvirus*



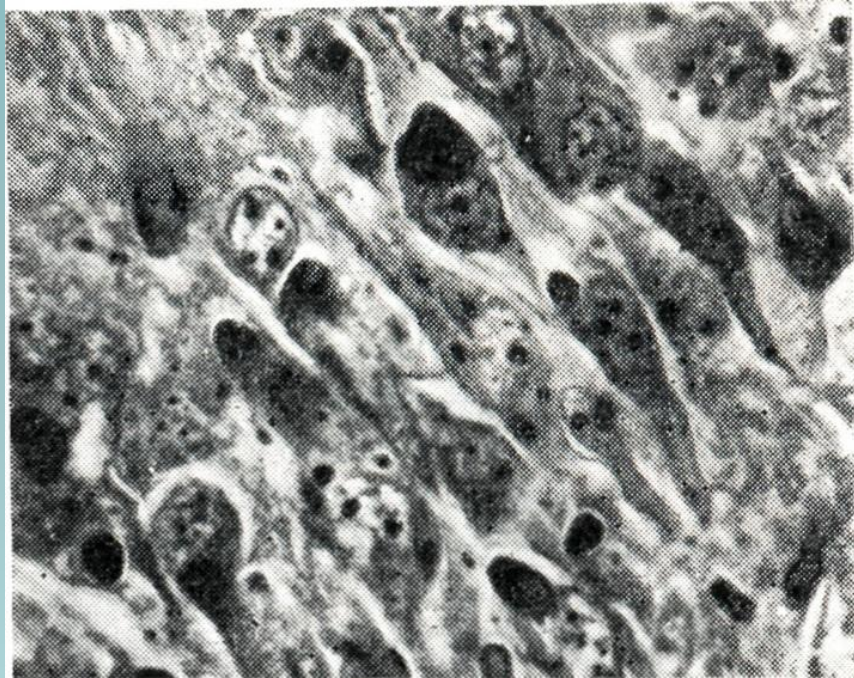


ЦПД. Тельца Бабеша — Негри (Babeş-Negri bodies) *Rhabdovirus*



В.Бабеш (Victor Babeş)
1854-1926
румынский бактериолог

Adelchi Negri, (1876- 1912),
итальянский патолог

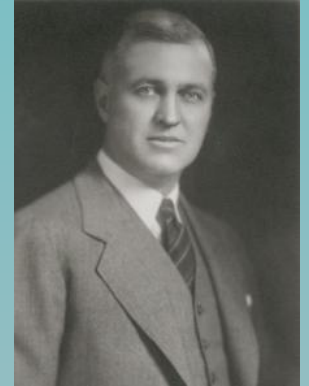


Многочисленные тельца Бабеша —
Негри (в виде гранул черного цвета) в
секторе Зоммера гиппокампа (окраска
по Манну; X400).

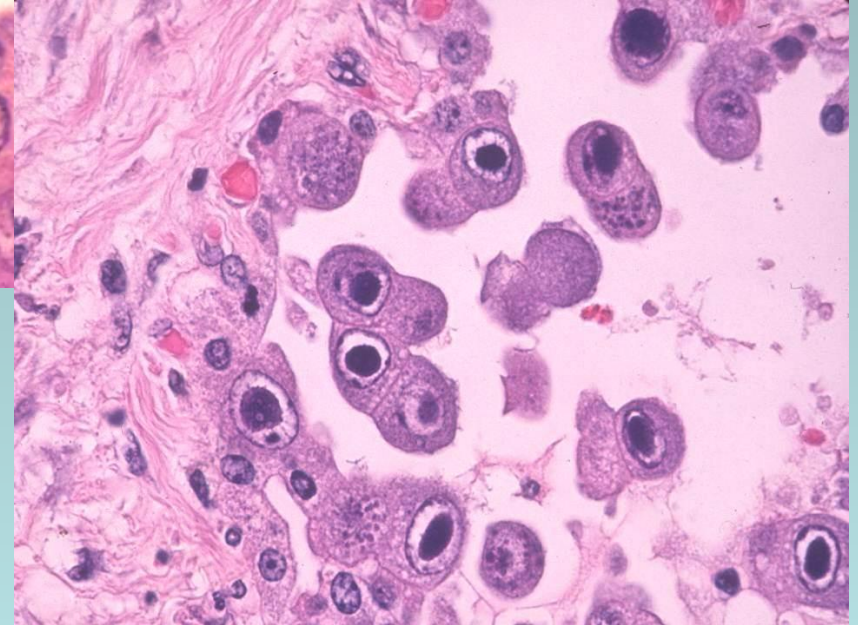
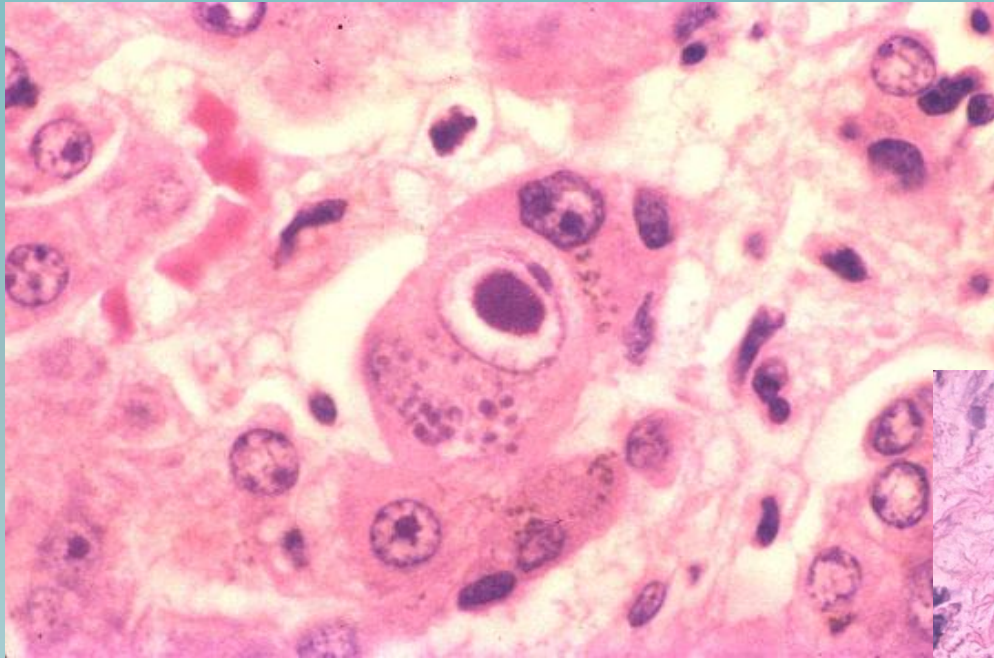


тельца Бабеша – Негри в
аммоновом роге собаки, при
бешенстве

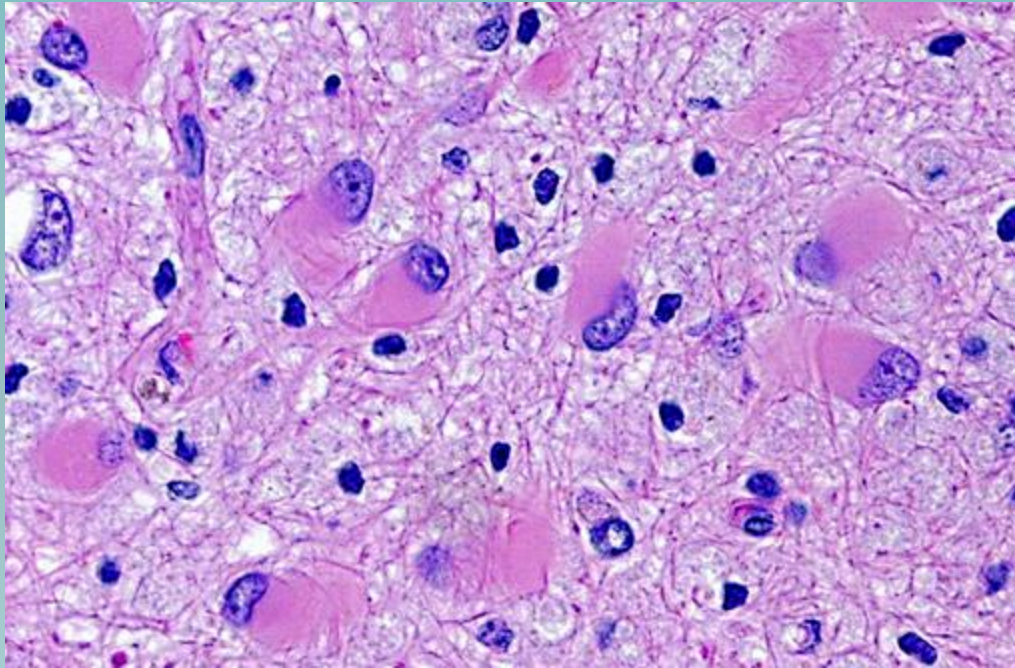
ЦПД. Тельца Каудри (Cowdry bodies), *Herpes simplex*



Edmund Vincent Cowdry
(1888-1975)



ЦПД. Клетки, зараженные Papovavirus SV 40



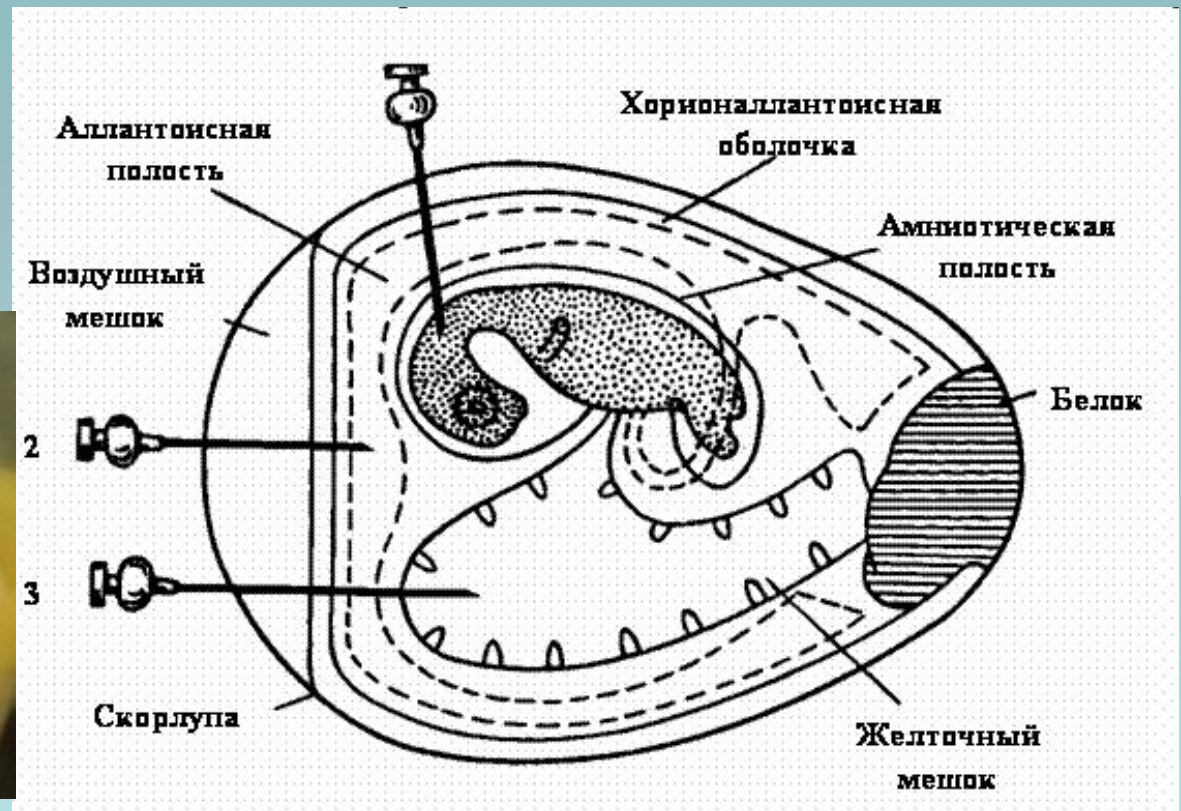
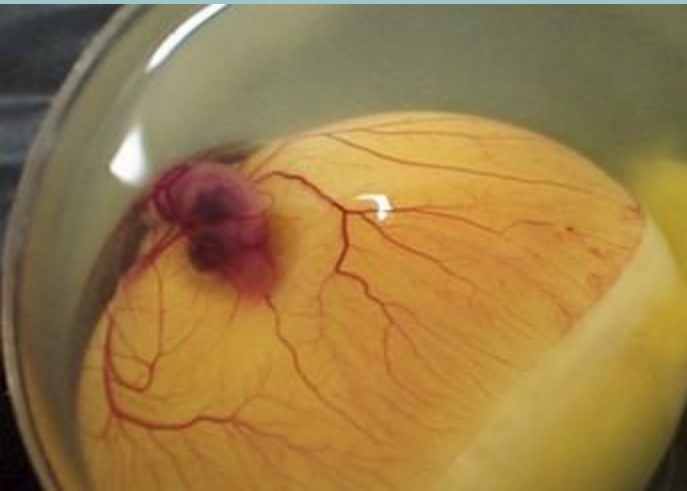
Менингоэнцефалит (вирус SV40). Мозг, белое вещество. Окраска гематоксилином и эозином, х 600.
Астроциты с обильным эозинофильной цитоплазмой и эксцентричными ядрами.

Заражение куриных эмбрионов



Способы заражения куриного эмбриона

Заражение куриных эмбрионов происходит на 5-19 день развития. В результате происходит быстрое накопление вирусов в области заражения. Индикацию вирусов проводят с помощью серологических реакций.



Цветные пробы

- Проба Солка



Серологические реакции

- реакция гемагглютинации (РГА),
- реакции торможения гемагглютинации (РТГА)
- И т.д.