

Міністерство освіти і науки України
Чернівецький національний університет
імені Юрія Федьковича

ВІРУСОЛОГІЯ

Навчальний посібник для лабораторних занять

Укладач: О. В. Кеца

Харків-Мачулін
2022

УДК 578(076.5)

ББК 28.3я7

В-751

Друкується за ухвалою редакційно-видавничої ради
Чернівецького національного університету
імені Юрія Федьковича

В-751 Вірусологія : навчальний посібник для лабораторних занять. / укл.
О. В. Кеца. - Харків : Мачулін, 2022. – 168 с.

У навчальному посібнику викладено основні відомості про методи дослідження вірусів на різних об'єктах. Представлені сучасні методи діагностики вірусних інфекцій.

Для студентів вищих навчальних закладів у галузі біології, біохімії та біотехнології.

УДК 578 (076.5)

ББК 28.3я7

ПЕРЕДМОВА

Навчальний посібник для лабораторних занять підготовлений згідно з програмою нормативного курсу «Вірусологія» для студентів біологічних спеціальностей.

Видання допоможе студентам у виконанні завдань на лабораторних заняттях та сприятиме засвоєнню теоретичного матеріалу з вірусології як біологічної науки.

Завдання цього навчального посібника – допомогти студентам опанувати базові засади структурної організації вірусів, способів взаємодії вірусів між собою та клітинами, методів діагностики вірусних інфекцій та особливостей противірусного імунітету та противірусної хіміотерапії.

Матеріал у навчальному посібнику поділений на розділи, що полегшить сприйняття та опрацювання значного обсягу фактичного матеріалу. Кожний розділ містить теоретичний матеріал, та завдання лабораторних занять зі схемами та електронними мікрофотографіями, виконуючи які студент самостійно набуває власного елементарного наукового досвіду, підтверджує та закріплює отриманні теоретичні засади. Посібник допоможе краще засвоїти як лекційний матеріал, так і матеріал, який вони отримують при самостійному вивченні з додаткової літератури. В цьому і полягає оригінальність та цінність даного видання, оскільки отримання теоретичних знань нерозривно пов'язано з практикою.

Структурованість теоретичного та практичного матеріалу передбачає поетапну роботу студента, дає змогу перевірити свої знання з вірусології та зробити об'єктивний висновок про їх загальний рівень.

Опрацювання навчального посібника полегшить засвоєння програми з дисципліни «Вірусологія».

РОЗДІЛ 1. СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ВІРУСІВ

ТЕМА 1.1. СТРУКТУРНИЙ АНАЛІЗ ВІРІОНІВ РІЗНИХ СИСТЕМАТИЧНИХ ГРУП

Мета: ознайомитися з основними властивостями вірусів і особливостями молекулярно-генетичної структури віріонів простих і складних вірусів.

Компетенції: розуміти особливості типів упакування вірусних капсидів та молекулярну архітектуру віріонів; знати типи симетрії віріонів.

Віруси – це особливе царство ультрамікроскопічних розмірів організмів, які володіють лише одним типом нуклеїнових кислот, позбавлених власних систем синтезу білка та мобілізації енергії, вони абсолютні внутрішньоклітинні паразити.

Неодмінні хімічні компоненти будь-якої вірусної частинки такі: одна з двох нуклеїнових кислот; протеїн; зольні елементи.

Ці три компоненти загальні для усіх, без винятку, вірусів, тоді як інші два – ліпіди та вуглеводи – входять до складу далеко не усіх вірусів.

Віруси, що складаються тільки з протеїна, нуклеїнової кислоти і зольних елементів, найчастіше належать до групи *простих* вірусів, позбавлених диференціації, власних ферментів або певних спеціалізованих структур. До такого роду вірусів належать віруси рослин, деякі віруси тварин і комах. Віруси, до складу яких поряд з протеїном і нуклеїновою кислотою входять також ліпіди і вуглеводи, як правило, належать до групи *складно організованих* вірусів. Велика частина вірусів цієї групи паразитує у клітинах тварин і людини.

Вірусний геном упакований у протеїнову оболонку – капсид. У інших вірусів можлива наявність ліпідної оболонки та іноді додаткового шару протеїна, які разом оточують структуру, яка позначається як нуклеокапсид.

Розташування протеїну в капсиді зумовлює наявність двох типів симетрії: спіральний і кубічний. При *спіральній симетрії* (її мають ниткоподібні віруси) протеїнові субодиниці розташовуються по спіралі, а між ними, також по спіралі, розташовується геномна нуклеїнова кислота.

У основі *кубічного типу симетрії* знаходяться різні комбінації рівносторонніх трикутників, що утворюються зі сполучення кулеподібних білкових субодиниць. З'єднуючися у певний спосіб одна з одною, вони можуть формувати замкнену сферичну поверхню. З різних поєднань рівносторонніх трикутників, які утворюють загальну вершину і загальну вісь симетрії, можуть виникати різні варіанти багатогранників: тетраедри, октаедри та ікосаедри.

Ікосаедричний тип симетрії – найефективніший та найекономічніший для формування замкненої оболонки, тому що у випадку самозборки використовуються будівельні протеїни мінімального розміру та забезпечується найбільший внутрішній об'єм віріону.

Структурну одиницю можна повторювати знову і знову, щоб утворити більшу сторону ікосаедра. Кількість структурних одиниць, що утворюють кожну сторону, називається числом триангуляції (Т), оскільки структурні одиниці утворюють грань трикутника ікосаедра. У вірусі $T = 1$ лише одна структурна одиниця утворює кожну грань ікосаедра. У вірусу $T = 4$ чотири структурні одиниці утворюють грань. Іноді структурна одиниця перекривається від однієї грані до іншої: у вірусу $T=3$ грань утворюють три загальні структурні одиниці, хоча це відбувається як шість напіводиниць (половина кожної структурної одиниці є частиною суміжної грані). Подібним

чином, структурні одиниці вірусу $T=7$ також трохи перекошені порівняно з трикутником. Геометрія та математика, пов'язані з ікосаедричною структурою капсиду, можуть бути складними. У будь-якому випадку, збільшуючи кількість ідентичних структурних одиниць на кожній грані, ікосаедр може ставати все більшим.

Триангуляційне число визначається за формулою $T=Pf^2$, де $P (= h^2 + hk + k^2)$, де h та k – будь-які цілі невід'ємні числа) може бути будь-яке число з ряду 1,3,7,13,19,21,31, а f – будь-яке ціле число. З цього випливає, що T може бути 3, 4, 7, 9, 12, 13, 16, 19, 21, 25, 27, 28 і так далі. При $P=1$ або 3 утворюються правильні ікосаедри, а всі інші величини P будуть характерні для «викривлених» ікосаедрів. Наприклад, вірус поліомієліту має $T = 1$, у малого вірусу гепатиту В людини $T = 3$, у великого вірусу гепатиту В людини $T = 4$, віруси папілом мають $T = 7$, а у вірусу простого герпесу $T = 16$.

Багато вірусів мають ліпідну мембрану, яка розміщується на поверхні віріону й асоціюється з одним чи більше видами вірусних протеїнів. Ця ліпідно-білкова структура називається оболонкою, яка оточує нуклеокапсид. Вона являє собою звичайну біологічну мембрану, що складається з двох шарів ліпідів, які мають клітинне походження, та вміщених у них глікозилізованих вірусних білків, які виступають над зовнішньою поверхнею віріону у вигляді своєрідних шипів, які володіють життєво важливими для вірусу функціями

Отже, за структурними особливостями віруси можна поділити на прості і складні.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 1

Завдання 1. За хімічним складом та за структурою віріону віруси поділяються на прості і складні.

1.1. На рис.1 зображена структура віріону SARS-CoV-2. Відповідними цифрами позначте основні компоненти віріону і підпишіть їх.

1.2. Розгляньте схематичні зображення віріонів простих і складних вірусів. Зазначте відомі Вам структури віріонів та наведіть їх назви. Завдання 2. За типом упакування білкових субодиноць капсиду розрізняють віруси зі спіральною та кубічною симетрією.

2.1. Розгляньте схематичні зображення віріонів з кубічною та спіральною симетріями. Підпишіть рисунки 3 та 4 та зазначте відповідний тип симетрії.

2.2. Заповніть таблицю, даючи порівняльну характеристику вірусів зі спіральною та кубічною симетрією:

<i>Ознака</i>	<i>Спіральний тип симетрії</i>	<i>Кубічний тип симетрії</i>
Кількість варіантів самозбирання		
Взаємодія між білком та нуклеїновою кислотою		
Площа поверхні віріону		
Звільнення геномної нуклеїнової кислоти		

Завдання 4. Кількісною характеристикою ікосаедричних капсидів є триангуляційне число.

4.1. На рис.5 зображений віріон, який утворений шістдесятьма шестивалентними і дванадцятьма п'ятивалентними капсомерами. Розрахуйте триангуляційне число для зазначеного віріону.

4.2. Розгляньте схематичні зображення ікосаедричних віріонів з різними триангуляційними числами.

ТЕМА 1.2. КЛАСИФІКАЦІЯ ВІРУСІВ. СУБВІРУСНІ АГЕНТИ

Мета: ознайомитися з основними принципами сучасної класифікації та номенклатури вірусів. Ознайомитися з особливостями субвірусних агентів.

Компетенції: розуміти та вміти визначати систематичну належність вірусу за морфологічними характеристиками віріону.

Класифікація вірусів ґрунтується на особливостях будови вірусної частинки та типу нуклеїнової кислоти. Порівняння ознак, що описують вірус дозволяє відрізнити один вірус від іншого. Під час класифікації вірусів враховують такі критерії:

1. Нуклеїнова кислота: тип, форма, число ланцюгів, кількість і розмір сегментів, молекулярна маса, вміст гуаніну та цитозину, наявність модифікацій;
2. Морфологія: тип симетрії чи псевдосиметрії, число капсомерів для вірусів із кубічною симетрією, наявність зовнішньої ліпопротеїнової оболонки, форма, розміри віріонів;
3. Біофізичні властивості: константа седиментації, густина;
4. Білки: кількість структурних білків, їх локалізація, амінокислотний склад;
5. Ліпідний склад;
6. Розмноження у тканинних культурах, особливості репродукції;
7. Коло вразливих хазяїв, особливості патогенезу інфекційного процесу; онкогенні властивості;
8. Стійкість до хімічних і фізичних факторів (гамма-промені, термоінактивація за 37 °С чи 50 °С, дія жиророзчинників й окремих катіонів);
9. Антигенні властивості.

За цими критеріями групуються всі віруси незалежно

від кола їх носіїв (віруси хребетних, безхребетних, рослин). Для побудови назв усіх вірусних родин використовується суфікс «viridae», підродин – «virinae», а назва родів закінчується словом «virus». Деякі вірусні родини групуються у порядки (суфікс «virales»), але вищі таксономічні угруповання, такі як клас, не використовуються. Найменша таксономічна одиниця – вид, але багато видів містить варіанти, відомі як вірусні штами, серотипи (відмінності визначаються різницями в антигенах, наприклад віруси грипу H5N1 та H1N1) чи генотипи (відмінності визначаються різницями у послідовностях геному, наприклад ВІЛ-1 та ВІЛ-2).

Сучасна класифікація ICTV (2017 року) містить 9 порядків вірусів: Bunyavirales, Caudovirales, Herpesvirales, Ligamenvirales, Mononegavirales, Nidovirales, Ortervirales, Picornavirales і Tymovirales. Існування ще одного порядку (Megavirales) тільки припускають. Класифікація не виділяє підвиди, штами та ізоляти. Загалом налічується 9 порядків, 127 родин, 44 підродини, 782 роди, 4686 видів і понад 3000 ще не класифікованих вірусів.

У природі, крім вірусів, виявлені інші дуже дрібні загадкові інфекційні агенти з незвичайними властивостями. Їх об'єднують під назвою субвірусні агенти (колишня назва особливі збудники), до яких належать пріони, віроїди та сателіти.

Пріони (від англ. proteinaceous infectious particles) — інфекційні протеїнові частки. Це аномальна форма протеїна, що змінює на аномальну форму вже існуючий у організмі протеїн. Пріони не передають своїх спадкових ознак молекулам-нащадкам, бо не здатні до розмноження. Ці інфекційні агенти спричиняють невиліковні захворювання центральної нервової системи людини та тварин — губкоподібні енцефалопатії.

Аномальний пріон PrP^{Sc} (Sc – від англ. Scrapie) відрізняється від нормального PrP^C (c – від англ. cell).

вторинною структурою (зменшення кількості α -спіралей та зростання кількості β -складчастих шарів), стійкістю до протеолізу, не розчиняється у детергентах, здатний до самоагрегації/олігомеризації.

Іншими інфекційними агентами, які являють собою низькомолекулярну, висококомплементарну одноланцюгову молекулу РНК є віроїди.

Віроїди вражають лише рослинні організми (є фітопатогенами) та викликають такі захворювання, як хвороба витягнутості бульб картоплі, каданг-каданг кокосів і сонячної плямистості авокадо.

Сателіти – субвірусні агенти, яким не вистачає генів, які кодують функції, необхідні для реплікації. Їх репродукція залежить від коінфікування клітини вірусом-помічником. Геноми сателітів містять значну частину нуклеотидних послідовностей, яка відрізняється від послідовностей геному вірусу помічника. Існують два основних класи сателітів: сателітні віруси та сателітні нуклеїнові кислоти. Сателітні віруси характеризуються наявністю відмінних від вірусу помічника нуклеопротеїнових компонентів. Сателітні віруси мають геномну нуклеїнову кислоту, яка кодує білки, що інкапсидують геном. Сателітні нуклеїнові кислоти або кодують неструктурні білки, або не кодують білки взагалі та інкапсидуються білками вірусу помічника.

Отже, у природі, крім вірусів, виявлені інші дуже дрібні загадкові інфекційні агенти з незвичайними властивостями. Їх об'єднують під назвою субвірусні агенти.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 2

Завдання 1. Під час класифікації вірусів враховують тип симетрії (спіральний або кубічний), наявність або відсутність оболонки. Ліпопротеїновою оболонкою володіють складні віруси, яка визначає форму віріону.

1.1. Заповніть таблицю, зазначаючи родину і типового представника простого чи складного вірусу:

1.2. Заповніть таблицю, зазначаючи родину і типового представника вірусів зі спіральною та кубічною симетрією:

1.3. Розгляньте схематичні зображення віріонів. Заповніть таблицю, зазначаючи родину, типового представника, тип симетрії та форму віріона відповідних вірусів.

Завдання 2. У природі, крім вірусів, виявлені субвірусні агенти, до яких належать пріони та віроїди.

2.1. На рис. 6 за особливостями структурної організації визначте, який з пріонових протеїнів володіє властивостями аномально пріонового протеїну (PrP^{Sc}), а який є нормальним протеїном людини (PrP^C).

2.2. Заповніть таблицю, вказавши відмінні характеристики між віроїдами і вірусами.

Завдання 3. Дайте визначення основним поняттям і термінам.

ТЕМА 1.3. МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ ВІРУСІВ. ВИКОРИСТАННЯ ЛАБОРАТОРНИХ ТВАРИН У ВІРУСОЛОГІЇ

Мета: ознайомитися з основними методами дослідження вірусів, способами культивування вірусів, детекції їх основних компонентів та інфекційності.

Компетенції: знати і вміти визначити характер цитопатичної дії вірусів, ідентифікувати тип вірусної інфекції, обирати метод культивування та ідентифікації вірусу.

Матеріальне забезпечення: Лабораторні тварини (лабораторні миші), разові гумові рукавички, барвники для кольорового маркування тварин (водні розчини пікринової кислоти та фуксину), ефір, вата, ексікатори, пінопластові або парафінові дошки та голки для фіксації тварин, 2% спиртовий розчин йоду, скляні палички, 75% етанол, стерильні шприци на 2 мл з голками, фізрозчин, вата, піпетки Пастера, стерильні інструменти (ножиці, пінцети, корнцанги, скальпелі), склянки для інструментів з дезрозчином, стерильні чашки Петрі для секційного патологічного матеріалу, пакети для сміття (бажано такі, що герметично закриваються), мило, рушник.

Лабораторних тварин використовують для індикації вірусів у патологічному матеріалі, тобто для постановки **біопроби**. З цією метою суспензією патологічного матеріалу уражують лабораторних тварин та враховують реакцію на ураження. Часто ознаки присутності вірусу в організмі бувають малоспецифічними, тобто помітно, що вірус є (можна провести **індикацію** вірусу), але не можна зробити висновок про те, який саме це вірус (не можна провести **ідентифікацію** збудника). Прикладом можуть слугувати типові симптоми ураження верхніх дихальних шляхів дослідних тварин, які можуть індукуватися як

аденовірусами, так і ортоміксо-, параміксо-, герпес-, риновірусами. Однак бувають випадки, коли біопроба супроводжується характерними клінічними проявами, які є специфічними для конкретного захворювання. В такому випадку можна зробити висновок не лише про наявність вірусу, але й про його видову приналежність.

Лабораторних тварин також застосовують в якості індикатора вільного вірусу при постановці реакції **біологічної нейтралізації**.

У лабораторіях часто є потрібним підтримання вірусів протягом багатьох років в активному стані. По суті, підтримання вірусу є чергуванням пасажів вірусу на живих системах, в тому числі на лабораторних тваринах, та його збереженні в законсервованому стані. При будь-якому способі консервації віруси з тою чи іншою швидкістю втрачають свою активність. Новий пасаж дозволяє її відновити. Під **пасажем** розуміють зараження чутливої тварини з метою отримання від неї нової популяції вірусу. Такий вірус в подальшому знову зберігають у консервуючих умовах.

При роботі з вірусом потрібно також знати його **інфекційний титр**, тобто його відносну концентрацію у матеріалі (під титром також розуміють таку мінімальну концентрацію вірусу, яка ще здатна викликати позитивну реакцію у 50% тест-об'єктів). Титр можна визначити за допомогою ураження чутливих модельних об'єктів різними розведеннями вірусомісного матеріалу. Іншими способами вираження відносної концентрації вірусу є інфекційна доза-50 (ID₅₀), летальна доза-50 (LD₅₀) та деякі інші. Відповідно до визначення титру, ID₅₀ є такою дозою вірусу, яка викликає специфічні прояви інфекційного захворювання у 50% інфікованих дослідних тварин. Аналогічно, LD₅₀ є такою дозою вірусу, що індукує загибель 50% інфікованих дослідних тварин.

Маркування лабораторних тварин

При виконанні вірусологічних досліджень виникає необхідність мітити тварин для їх подальшого впізнання протягом експерименту. Запропоновано цілий ряд методичних прийомів мічення, а саме: татуювання, використання радіопередавачів, мічених атомів, різнокольорових фарб, тощо.

1) Татуювання вух у злегка наркотизованих тварин, що мають достатньо великі непігментовані вушні раковини (кролики, собаки, тхорі) голландською сажею чи китайською тушшю з допомогою спеціальних татуювальних щипців або голок. Татуювання використовують також для мічення мавп на внутрішньому боці верхньої третини стегна.

2) Татуювання шляхом нанесення надрізів та насічок на достатньо великих вушних раковинах з допомогою ножиць та проколів компостерними щипцями (кролі, мурчаки, свині).

3) Вистригання шерсті на спині та стегнах у мавп, кроликів, тхорів, хом'яків, кішок. Цей спосіб непрактичний, тому що може використовуватись тільки при короткочасному досліді (шерсть через тиждень відростає).

4) Мітка описом характерних природних плям на поверхні тіла, коли за забарвленням шерсті одна тварина відрізняється від іншої того ж виду (мурчаки).

5) Клеймування тварин з використанням металевих жетонів, бляшок, кілець з м'якої білої жерсті зі штампованими номерами, які наносяться штампом, чи спеціальними чорнилами (до 10 мл насиченого розчину мідного купоросу додається 2 мл концентрованої сірчаної кислоти). Бляшки надягають кроликам на корінь вуха та вставляють мурчакам, як сережку, у вушну раковину. Курям прикріплюють кільце на лапу або бірку на крило. Великим тваринам одягають нашійник з номерами на

металевих жетонах. При використанні цього методу клеймування потрібно слідкувати за поведінкою тварин. Якщо предмет, застосований для мітки, дратує тварину, і протягом тривалого часу вона намагається його зняти, то це необхідно зробити експериментатору, а надалі використовувати інший спосіб маркування. У іншому разі ці тварини відгризають лапку разом з бляшкою чи кільцем.

6) Для маркування ембріонів багатоплідних тварин (мишей, пацюків) використовують введення під шкіру спеціальної забарвленої маркувальної маси (до 10 г безводного ланоліну додається 3 г чорної туші та 0,5 мл розчину антибіотику (пеніцилін або інший 5000 ОД)), яка шприцом з гострою голкою та жорстким мандреном (для штовхання маси через голку) вводять під шкіру ембріону на спині. Мітка після народження дитинчати добре помітна у вигляді плями чи смуги.

7) Кольорове маркування здійснюють шляхом нанесення різнокольорових плям на ділянки тіла тварини (альбіноси мишей, пацюків та кролів) за певними схемами. Використовують анілінові барвники: 0,5% розчин карболового фуксину (червоний колір означає одиниці), насичений розчин пікринової кислоти (жовтий колір означає десятки), 0,5% розчин малахітового зеленого (зелений колір означає сотні), 0,5% розчин генціану фіолетового (фіолетовий колір означає тисячі). Однією фарбою можна помітити 9 тварин, двома - до 100, трьома - до 1 000, чотирма - до 10 000. Фарби наносять на непігментовану шерсть у вигляді крапель, кружечків чи смуг на спину та по боках тварини.

Для кольорового маркування за *методом Тойффеля* потрібний тільки один барвник для позначки 1 000 тварин. Подумки треба уявити спину тварини, розділену на 9 рівних частин, утворених трьома поздовжніми та трьома поперечними смугами. Ліва смуга використовується для позначення сотень, середня - для позначки десятків, а

права - одиниць. Позначки у вигляді плям та смуг наносяться за певною схемою.

Загальним недоліком методів кольорового позначення є нестійкість барвників під час тривалих дослідів - вони знебарвлюються. Найкращим є пікринова кислота, що тримається на шерсті тварин протягом 2-3 місяців.

Наркоз тварин

Перед зараженням тварин застосовують загальний наркоз або місцеве знеболювання. Для наркозу мишей, хом'яків, мурчаків, тхорів, курей, кроликів та собак використовують ефір та хлороформ, для пацюків та котів - ефір (внаслідок того, що вони погано переносять хлороформ). Техніка введення наркотизуючих речовин полягає в інгаляції в замкненому просторі, або ж безпосередньо змоченим ватно-марльовим тампоном поблизу носової чи ротової порожнини.

Перед ефірним наркозом собакам та іншим великим тваринам необхідно заздалегідь ввести анальгетик для зняття переднаркотичного збудження, наприклад, 1%-й розчин пропафеніну в дозі 0,2 мл на 1 кг живої ваги інтрамускулярно. Через 30 хв інтравенозно вводять тіопентал в кількості 20 мг на 1 кг живої ваги. Для більш тривалого наркозу (30-45 хв) можна використовувати 10%-й розчин хлоралгідрату. Метод введення для мурчаків інтраперітонеальний у дозі 0,5 - 0,75 мл, для курей, котів та кроликів - інтравенозний в дозах 0,2-0.4 мл та 3 мл, відповідно. Мавп наркотизують тіопенталом у вигляді 5%-го розчину інтрамускулярно в дозі 1-2 мл на тварину або у вигляді 2,5%-го розчину в кількості 1.5-2 мл на тварину.

Місцеву анестезію проводять 1%-м розчином кокаїну, 5%-м розчином новокаїну по 0,5 г. Для збільшення тривалості анестезії до розчину новокаїну чи кокаїну додають 2-5 крапель розчину адреналіну у концентрації 1:1000. Для анестезії слизових оболонок носа, очей,

порожнини рота чи прямої кишки використовують 5%-й розчин кокаїну.

Потрібно пам'ятати, що шури погано переносять хлороформ; тхорі – надто чутливі до ефіру, і незначне передозування веде до їхньої загибелі. При використанні наркотизуючих речовин треба дотримуватися обережності: у дрібних лабораторних тварин після наркозу часто спостерігається набряк легень і загибель.

Зараження лабораторних тварин. Методи.

Вибір методу ураження визначається тропізмом вірусу. Під *тропізмом* розуміють здатність вірусу реплікуватися в певних типах клітин організму. Віруси, що репродукуються у нервових клітинах, називають *нейротропними* (наприклад, вірус сказу), у клітинах шкіри - *дерматропними* (вірус віспи), в клітинах легень та дихальних шляхів - *пневмотропними* (вірус грипу), в клітинах шлунково-кишкового тракту - *ентеротропними* (вірус гепатиту А). Віруси, які здатні реплікуватися в декількох типах клітин, називають *політропними* (вірус інфекційного ринотрахеїту великої рогатої худоби - клітини органів дихання та розмноження), а в усіх типах клітин - *пантропними* (вірус чуми собак). Така класифікація вірусів за тропізмом називається класифікацією вірусів людини та тварин за Хюбнером.

Знаючи тропізм вірусу, матеріал вводять в органи, які містять чутливі до даного вірусу клітини (табл.). Наприклад, вірус грипу вводять в дихальні шляхи інтраназально (через ніс), вірус віспи у шкіру - субкутанно, кутанно або перкутанно (підшкірно, внутрішньошкірно та нашкірно, відповідно), вірус сказу у мозок - інтрацеребрально. Пантропні віруси швидше поширюються по організму при їх введенні внутрішньовенно або внутрішньочеревинно. Якщо тропізм вірусу невідомий, то використовують декілька груп тварин

для ураження різними методами. При цьому в залежності від способу зараження тварини одним і тим самим вірусом використовується різний об'єм вірусовмісної суспензії.

Для зниження природної резистентності тварин перед зараженням можна опромінювати рентгенівськими променями (мишей - 300 Р, мурчаків - 250-300 Р, білих щурів - 120 Р, кроликів - 600 Р) або обробляти кортизоном (5-10 мг/кг). Ці прийоми прискорюють репродукцію вірусів в організмі тварин та полегшують їх виділення та типування.

Зв'язок тропізму вірусу зі способом ураження чутливого організму та видом патологічного матеріалу

<i>Група вірусів за тропізмом (класифікація)</i>	<i>Приклад вірусу</i>	<i>Метод ураження</i>	<i>Вид патологічного матеріалу</i>
Пневмотропні	Віруси грипу, парагрипу, аденовіруси, риновіруси	Інтраназальний (аспіраційний)	Носоглоткові змиви, шматочки легенів та бронхів
Нейротропні	Вірус сказу, віруси герпесу	Інтраспінальний Інтрацеребральний Субокципітальний	Кров, спинномозкова рідина, шматочки головного та спинного мозку і периферичних
Дерматропні	Віруси віспи, вісповакцини, герпесу	Перкутанний Кутанний Інтракутанний Субкутанний Інтравенозний	Ділянки шкіри та слизової оболонки, кров, вміст пустул та везикул

Ентеротропні	Ентеровіруси, вірус гепатиту А	Оральний Ректальний Безпосередньо у шлунок Інтраперіто-неальний	Фекалії, сеча, блювотні маси, шлунково-кишковий тракт з печінкою, селезінкою, жовчним міхуром та підшлунковою залозою.
Пантропні	Вірус чуми собак, вірус поліомієліту	Інтравенозний Інтракардіальний Інтрамускулярний Оральний Інтраназальний Інтраперітонеальний	Кров, лімфа, змиви носоглотки, спинномозкова рідина, екскрети, секрет, всі органи.

Вірусомісний матеріал перед введенням лабораторним тваринам підлягає спеціальній обробці для очистки його від грубих часток. Шматочки органів попередньо подрібнюють в гомогенізаторах, в банках зі скляним намистом, в фарфорових чи скляних ступках, потім емульгують, а в ряді випадків і екстрагують. Із розтертих органів готують 10%-ну (чи іншої концентрації) суспензію на фізіологічному розчині з додаванням 10%-ї нормальної сироватки (або без неї), бульйону чи буферного розчину. Приготовану суспензію тканин центрифугують протягом 10-15 хв при 3000-4000 об/хв, і надосадову рідину використовують для зараження лабораторних тварин.

При забрудненні досліджуваного матеріалу бактеріальною мікрофлорою його фільтрують через бактеріальні фільтри, що затримують бактерії, чи додають

антибіотики: пеніцилін та стрептоміцин у співвідношенні 1000 ОД на 1 мл інфекційної рідини. Можна додавати і антисептичні речовини (0,25-0,3%-й розчин фенолу, мертиолят натрію 1:10 000, тощо). Слід мати на увазі, що оскільки фільтрація матеріалу через бактеріальні фільтри знижує кількість вірусів внаслідок сорбційних властивостей фільтрів, її здійснюють тільки за достатньої кількості вірусомісного матеріалу.

Потрібно зауважити, що ураження тварин може здійснюватися з різною метою (накопичення вірусів, пасування, титрування, одержання вакцин, тощо). У всіх вищевказаних випадках введення вірусомісного матеріалу називається *ураженням лабораторних тварин*, при цьому найчастіше вірусний матеріал вводиться тварині *одноразово*.

Якщо ж метою експерименту є отримання специфічної антисироватки до відповідного вірусу, то в цьому випадку введення вірусомісного матеріалу називають *імунізацією лабораторних тварин*, при цьому вірус вводиться багаторазово (для отримання кращої імунної відповіді тварини) і обов'язково за певною схемою. Найчастіше, незалежно від тропізму вірусу, перше введення вірусного матеріалу проводиться внутрішньом'язево або ж підшкірно у декілька ділянок (наприклад, з внутрішнього боку всіх кінцівок тварини), а надалі - внутрішньовенно. Перше введення матеріалу робиться внутрішньом'язево та багатоточково з тієї причини, що це призводить до тривалішого депонування вірусу у місці введення, яке активно стимулює периферичні лімфатичні вузли для вироблення первинної імунної відповіді.

Крім цього, імунізація тварин вірусомісним матеріалом часто здійснюється з додаванням до суспензії вірусу так званих *ад'ювантів* - речовин (або їх сумішей), які додатково стимулюють імунну відповідь тварини. У вірусологічній практиці найбільш широко

використовуються *ад'юванти Фрейнда* - повний і неповний. Повний ад'ювант Фрейнда містить різні мінеральні олії та завис інактивованих клітин бактерій *Mycobacterium bovis*. Його можна вводити лише один раз при першому введенні вірусомісного матеріалу (так званій першій імунізації). Повний ад'ювант Фрейнда ні в якому разі не можна вводити тварині внутрішньовенно, оскільки це призведе до ураження крові (сепсису) та загибелі тварини. При наступних імунізаціях використовують неповний ад'ювант Фрейнда, який не містить бактеріальних клітин, а тому може вводитися внутрішньовенно.

Головною вимогою при експериментальному зараженні (імунізації) є виконання його в умовах повної асептики. Для цього використовують стерильний інструментарій, а місце введення інфекційного матеріалу звільняють від волосяного покриву (піддають депіляції) і знезаражують 3%-м розчином йоду. Винятком є два природних методи зараження, а саме інтраназальне та оральне. При кожному методі інфікування з порушенням цілісності шкіри рекомендується після зараження повторно дезинфікувати місце ін'єкції.

Інтраназальне (аспіраційне) зараження

Цей метод зараження в ніс здійснюється різними шляхами. Найчастіше використовують методику закапування інфекційного матеріалу шприцом чи піпеткою Пастера в кожну ніздрю сонній тварині, яка знаходиться під наркозом. При правильно розрахованій дозі наркотичної речовини тварина глибоко втягує (аспірує) матеріал, який попадає в легені. При слабкому наркозі у тварини виникає чхальний рефлекс, тварина поштовхами намагається вивести матеріал з дихальних шляхів, він розбризкується і може інфікувати експериментатора та зовнішнє середовище. При надто глибокому наркозі дихання тварини стає поверхневим, і матеріал погано

втягується в ніздрі. У таких тварин може швидко розвинути набряк легенів, що призведе до їхньої загибелі в першу добу після зараження. Матеріал слід використовувати в малих концентраціях для запобігання виникнення токсичних явищ у тварин.

Друга методика здійснення інтраназального зараження - це введення спеціального зонду з вірусомісним матеріалом в дихальні шляхи, трахею, бронхи. Інша різновидність методу зараження в ніс - це інгаляція матеріалу. Дрібних тварин інфікують в спеціальних герметичних камерах, де створюють в повітрі певну концентрацію вірусу. Великих тварин заражають інгаляційно, використовуючи спеціальні герметичні маски. Розмір часток інфекційного матеріалу не перевищує 2 мкм, через це вони проникають в нижні дихальні шляхи, аж до самих альвеол. Остання методика не дуже зручна внаслідок того, що потрібно багато вірусомісного матеріалу.

Методи зараження через травний тракт

Зараження лабораторних тварин через травний тракт здійснюється трьома шляхами:

1) Оральний спосіб. Досліджуваний матеріал додають до сухого корму чи розчиняють у питній воді, або дають тварині у вигляді пігулок чи желатинових капсул, до складу яких вводять вірусомісний матеріал і харчові продукти. При цьому методі тварин утримують в окремих клітках чи банках і за добу



Рис.7. Оральне зараження

до введення не дають їжі.

2) Матеріал у вигляді водних сумішей можна вводити безпосередньо в шлунок з допомогою різних засобів. Це може бути канюля – скляна трубка з відтягнутим кінцем або шприц з голкою, на якій напаяна на кінці голівка з олова, т.зв «олива» Так інфікують, в основному, мишей та пацюків. Для зараження мурчаків та кроликів використовують катетери, а для інфікування мишей, хом'яків, тхорів, пацюків, курей тонкі гумові або металеві зонди діаметром 2-3 мм. Перед введенням гумовий зонд змочують гліцерином або рідким вазеліном. Металевий зонд виготовляють з трохи зігнутої голки для шприца з оливою на кінці. Зонд повинен проходити над язиком ближче до щік по задній стінці глотки по ходу стравоходу.

3) Ректальне зараження лабораторних тварин вірусомісним матеріалом здійснюють через пряму кишку шляхом введення клізми, яка повинна мати температуру тіла тварини. Анальний отвір заклеюють лейкопластирем, завдяки чому прискорюється проникнення матеріалу в організм.

Крім цих методів інфікування тварин вірусомісним матеріалом існує значна група методів експериментального зараження, коли введення матеріалу в організм здійснюють, обминаючи шлунково-кишковий тракт.

У вірусологічній практиці існує декілька методів зараження лабораторних тварин, при здійсненні яких об'єктом інфікування є шкіра тварин.

Інтраплевральне зараження

Метод інфікування лабораторних тварин в плевру. Для цього тварину фіксують в положенні на боці для того, щоб використати простір, який утворився, для введення голки, не побоюючись поранити легеню. Затупленою голкою роблять прокол у міжреберний простір.

Перкутанне (нашкірне) зараження

Цей метод інфікування лабораторних тварин

вірусомісним матеріалом, так зване нашкірне зараження, проводять на неушкодженій шкірі тварин. Матеріал втирається в неушкоджену депільовану шкіру стерильним інструментом (кінець стерильної пробірки, фарфоровий товчачик). За даними багатьох дослідників цей метод майже не дає позитивних результатів.

Кутанне (шкірне) зараження

Це так зване шкірне зараження лабораторних тварин на ушкоджену шкіру, яке здійснюється методом скарифікації. Для цього вибирають ділянку шкіри, яку тварина не може дістати лапами чи кігтями. Для різних тварин вона різна: спина (миші, мурчаки, пацюки, собаки), плантарна поверхня ступні (миші, хом'яки, мурчаки), бік (кролики), живіт (кролики), груди (кури) та сім'яники (кролики).

На вибраній ділянці шкіри роблять депіляцію та оброблюють її 3%-м розчином йоду. Потім роблять подряпини пером Дженнера чи хірургічною голкою до появи крапель лімфи, але щоб вони не кровоточили. На ушкоджену таким чином ділянку шкіри наносять матеріал краплями і втирають скляною паличкою, лопаткою, шпателем або обстриженою зубною щіткою.

Субкутанне (підшкірне) зараження

Це метод підшкірного інфікування лабораторних тварин. Вибір місця зараження залежить від можливості сформувати складку шкіри на тілі тварини: спина (миші, пацюки, мурчаки, хом'яки, тхорі, кролики), бік (пацюки, хом'яки, мурчаки, кролики), шия (кури), живіт (пацюки, мурчаки, кролики, мавпи), плече (мурчаки, кролики), колінна складка (мурчаки), колінний згин (мурчаки).

Вибрану ділянку шкіри депілюють, оброблюють 3%-м розчином йоду і трохи піднімають пінцетом або двома пальцями. В основу утвореної складки вколюють голку шприца й повільно вводять матеріал. Щоб введений матеріал не вилився назад, потрібно відхилити голку від первинного напрямку трохи вбік під кутом 45°.



Рис.8. Субкутанне зараження

Інтракутанне (внутрішньошкірне) зараження

Для інтракутанного (внутрішньошкірного) інфікування місце для ін'єкції готують таким же чином, як і при субкутанному. Дуже тонку гостру голку вводять в товщу депільованої шкіри майже паралельно її поверхні так, щоб голка просвічувалася через епідерміс. При введенні матеріалу поверхневий шар епідермісу трохи піднімається у вигляді пухирця, утворюючи т.зв. «лимонну кірку».



Рис.9. Інтракутанне зараження

Інтравенозне (внутрішньовенне) та інтракардіальне (внутрішньосерцеве) зараження

В залежності від виду та розміру тварини існують різні способи інтравенозного інфікування. Матеріал вводять у хвостову бічну (миші, пацюки), гомілкову внутрішню (мурчаки), вушну крайову (кролики, мурчаки), стегову, ліктьову, яремну (собаки, поросята, вівці, телята, лошаки), підкрильцеву (птахи) вени. Остання знаходиться на внутрішній поверхні крила птахів, і вона рельєфно виступає при вискубуванні пір'я. Наповнення кров'ю цих судин здійснюється затисненням їх рукою. джгутом або затискачем.

Мишам і пацюкам матеріал найчастіше вводять у бічні вени хвоста, розташовані по обидві сторони хвоста, використовуючи для цього голки з гострим кінцем. Для розширення вен хвіст занурюють на декілька хвилин у гарячу воду (+50-55°C) або протирають ксилолом чи бензолом. Голку шприца скосом назовні вводять під гострим кутом у вену нижньої третини хвоста, де шкіра тонша, у напрямку кореня хвоста (рис.). При попаданні голки у вену матеріал легко, без опору виходить із шприца, в місці знаходження кінчика голки під шкірою не з'являється здуття, і вена біліє.

Для проведення інтравенозного зараження мурчаків в гомілкову внутрішню вену тварину фіксують спиною догори, ножицями зрізають шкіру за ходом вени вище суглоба і відпрепаровують її від оточуючої тканини. Вище відпрепарованої ділянки вену здавлюють джгутом, вона стає чітко помітною. У білих мурчаків вена добре видима і без зрізання шкіри.

Кроликів заражають інтравенозно в крайову вушну вену, яка проходить по тонкому краю вуха на зовнішній поверхні. Шерсть вздовж краю вуха за ходом вени вищипують, шкіру дезинфікують. Для набухання вени вухо масажують чи натирають ксилолом і передавлюють у

основи. Голку шприца вводять у вену майже паралельно поверхні вуха. Після закінчення ін'єкції вену придавлюють нижче місця уколу і витягують з неї голку Місце уколу притискують сухою ватою. Зараження проводиться якнайдалі від кореня вуха, тому що при повторних введеннях можлива облітерація судини в місці уколу.

У хом'яка, мурчака та тхора яремні вени майже недоступні для уколів, і необхідне їх хірургічне оголення. Це - складний процес, і тому для таких тварин найчастіше застосовують інтракардіальне зараження - введення матеріалу в серце. Для цього тварину фіксують під наркозом на спині, курей - на боці, намацують серцевий поштовх та визначають місце ін'єкції, яке у різних тварин різне: у миші - 0,5 см над верхівковим поштовхом серця, безпосередньо поблизу краю грудної кістки; у пацюка - 1 см над верхівковим поштовхом серця, в 1-2 мм від краю грудної кістки; у хом'яка -4-5-й міжреберний простір, в 2-3 мм від краю грудної кістки; у мурчака -2-й міжреберний простір, в 2 мм від краю грудної кістки; у тхора - межа 3/4 верхньої та 1/4 нижньої частин довжини грудної кістки, в 3 мм від краю грудної кістки; у кроликів - 3-й міжреберний простір, в 3 мм від краю грудної кістки; у курки - 3-4 міжреберний простір на лінії плечелопаткового суглобу та каудального кінця грудної кістки.

Голку вводять перпендикулярно поверхні тіла крізь шкіру. проколюючи грудну стінку та серцевий м'яз. На цьому етапі повинна відчуватися пульсація серця, а в голці з'явитися кров Матеріал повільно вводять голкою безпосередньо в серце. Показником проколу серцевого м'язу є поява крові в шприці при легкому відтягуванні поршня.

Матеріал для інтравенозного та інтракардіального заражень не повинен містити значних за розміром часток та пухирчиків повітря, які можуть викликати емболію судин та раптову загибель тварини.

Інтрамускулярне (внутрішньом'язеве) зараження

При цьому методі зараження матеріал вводять голкою майже перпендикулярно поверхні тіла, прокалюючи шкіру, підшкірну клітковину та товщу м'язів (мускулатуру) в області шиї, грудей, сідниць або стегна. Легким натиском на поршень інокулюють необхідну кількість матеріалу (рис.). Місцем ін'єкції у курей є великий грудний м'яз.



Рис.10. Інтрамускулярне зараження

Інтраперітонеальне (внутрішньочеревинне) зараження

Цей метод проводиться шляхом вприскування матеріалу в черевну порожнину. Спочатку тварину спеціально фіксують (тримають або підвішують) головою вниз для того, щоб внутрішні органи та кишечник опустилися до діафрагми. Місце ін'єкції визначають в нижній третині живота вище симфізу, трохи відступаючи від середньої лінії живота. Рукою злегка відтягують лапу тварини, створюючи натяг шкіри та м'язів черевної стінки. В місці проколу стінку живота захоплюють у складку, в основу якої вводять голку на глибину не більше 0,3-0,5 см. Для попередження поранення кишечника та внутрішніх органів кінець голки повинен бути тупим (сточеним).



Рис.11. Інтраперітонеальне зараження

Спочатку проколюють шкіру та м'язи живота, а потім, натискаючи на голку шприца, очеревину. Проникнення у черевну порожнину відчувається за характерним тріскучим звуком та за зникненням опору черевної стінки. Після витягування голки шкіра зсовується на старе місце, закриваючи отвір в черевну порожнину (рис.). У великих тварин при інтраперітонеальному зараженні роблять невеликий (1-1,5 см) розріз шкіри, в який вводять голку шприца і проколюють очеревину. Застосовуючи даний метод зараження тварин, треба пам'ятати, що протягом доби до інфікування їх не годують.

Субошипитальне (каркове) зараження

Цей метод використовують лише при роботі з великими тваринами: кроликами, собаками, тощо. У дрібних тварин він не застосовується за анатомічними показниками: простір між оболонками та мозком надто малий. Тварину під наркозом при цій операції фіксують таким чином. Голову тримають так, щоб між площиною тулуба та шиєю утворився прямий кут, тобто максимально нахилиючи її до грудної клітки. При такому положенні відстань між першим, шийним хребцем та черепом збільшується, а

зв'язка між ними натягується. На ділянці голови між карковим горбком та остистим відростком першого шийного хребця шерсть депілюють, шкіру дезинфікують. Прокол роблять на середині відстані між карковим горбком та остистим відростком, точно по середній лінії, тому що відхилення голки в бік може пошкодити венозні синуси.

Для ін'єкції у велику цистерну використовують гостру голку з не дуже скошеним кінцем, тому що зріз голки повинен поміститися між твердою мозковою оболонкою та мозком (відстань між ними 1-2 мм). Щоб під час проходження м'яких тканин отвір голки залишався вільним, в нього встромляють мандрен. Голку вводять на глибину до 0,5 см дуже обережно, щоб не зачепити твердої мозкової оболонки, до відчуження проколу цієї оболонки. Якщо при проходженні голки чутний тріск, введення матеріалу потрібно негайно припинити.

При правильному введенні голки в цистерну в її отворі з'являється спинномозкова рідина. Тоді на голку надівають сухий стерильний шприц. За рахунок правильного руху поршня, щоб не знизити різко внутрішньочерепний тиск, в порожнині шприца створюється від'ємний тиск, і в шприц надходить спинномозкова рідина в кількості 0,3-0,8 мл в залежності від виду тварини. Після цього на голку надівають інший шприц з матеріалом для введення, який випускають в тому ж об'ємі.

Інтраспінальне (внутрішньоспинномозкове, люмбо-сакральне, крижово-поперекове) зараження

Наркотизовану тварину фіксують у положенні з сильно зігнутим хребтом у крижово-поперековій області. Тонкою голкою роблять прокол під кутом 45° в області останнього поперекового та першого крижового хребців трохи справа від середньої лінії.

Інтрацеребральне (внутрішньомозкове) зараження

При цьому методі зараження тварин матеріал вводять

або під тверду мозкову оболонку, або безпосередньо в головний мозок, найчастіше в тім'яну область, яка відрізняється тонким кістковим покривом, невеликою кількістю м'язів та відсутністю значних судин.

Великим тваринам (мавпам, собакам, вівцям, свиням, лошакам, тощо) зараження у мозок роблять під наркозом через трепанаційний отвір або проколом кістки черепа, фіксуючи тварину спиною догори. Трепанацію черепа роблять бормашиною, буравчиком, трепаном або свердлом. Шкіру натягають і розрізають скальпелем на 1-2 см паралельно поздовжній осі черепа. Розріз повинен проходити трохи вище лінії, яка з'єднує задні кути очей і на 1-2 мм вбік від середньої лінії черепа, щоб не ушкодити поздовжній венозний синус. Потім розсікають надкісницю і трепанують кістку.

Через утворений отвір (у мурчаків та кроликів близько 2 мм, а у великих тварин трохи більший) під тверду мозкову оболонку вводять голку на глибину від 2 мм (мишам) до 10 мм (мавпам) і, злегка натискуючи на поршень, вприскують матеріал малими порціями, щоб запобігти підвищенню мозкового тиску. Отвір в кістці після ін'єкції закривається зсунутою на місце шкірою, а на розрізи надкісниці та шкіри над трепанаційним отвором накладають шви, стягуючи декількома стібками шовкових ниток.

Кроликам, мурчакам та великим пацюкам при інтрацеребральному зараженні трепанацію черепа можна не робити. Після розсікання шкіри та надкісниці їх відсувають в обидві сторони і стерильною канцелярською кнопкою проколюють черепну стінку. В утворений отвір голкою з шприца вводять матеріал безпосередньо в мозок або під тверду мозкову оболонку.

Мишам та невеликим пацюкам черепну коробку проколюють голкою шприца. У більшості тварин ін'єкцію роблять збоку від середньої лінії на половині між верхнім краєм западини ока та зовнішнім слуховим проходом, щоб

не пошкодити поздовжній венозний синус. У курей прокол роблять на лінії, яка з'єднує передні краї вушних отворів, в 1-2 мм збоку від середньої лінії. Зразу ж після ін'єкції у тварин можуть з'явитися шоківі явища, які через деякий час зникають.

Кроликів можна заражати без трепанації черепа через орбіту ока, де тонка кістка. Голка повинна бути тонкою, завдовжки 4-5 см із заточеним гострим кінцем. При цьому способі зараження потрібно зафіксувати тулуб кролика і притискувати голову тварини до столу. При проколі шкіру біля місця ін'єкції зсувають, щоб після неї отвір в черепі закрився шкірою, яка повертається на місце. Голку тримають косо по відношенню до середньої лінії, щоб не попасти в орбіту. Такий спосіб менше травмує тварину, і вона переносить цю операцію без наркозу.

Зараження в периферичний нерв

Цей спосіб зараження великих тварин використовується рідко. Інфікування проводять в сідничний нерв, фіксуючи наркотизовану тварину на верстаті чи операційному столі спиною догори. Наркоз може бути загальним або місцевим. Тильну поверхню стегна депілюють та дезинфікують

Скальпелем роблять розріз шкіри завдовжки 3-4 см. тупим інструментом розсувають м'язи стегна та оголюють нерв. Під нього підводять тонкі марльові турунди і піднімають нерв з глибини рани, щоб виключити можливість попадання матеріалу, що вводиться тварині, на оточуючі тканини. Тонкою голкою шприца в нерв вводять невелику кількість матеріалу під дуже гострим кутом. Щоб матеріал не вилився з нерву, голку виймають дуже обережно. Після введення матеріалу турунди витягають, розріз шкіри зашивають шовковими нитками або накладають скобки

Інтрастестикулярне (внутрішньосім 'яникове) зараження

Головним чином метод зараження усередину сім'яників застосовують на кроликах. Тварину фіксують на спині, її задні кінцівки розставляють якнайширше одну від одної. Сім'яник зсувають трохи вперед і фіксують між великим та вказівним пальцями.

Інтраокулярне зараження

До даної групи методів інфікування тварин (інфікування в око) відносяться корнеальне, інтракорнеальне, кон'юнктивальне та інтраокулярне зараження. При всіх цих методах матеріал вводять тільки в одне око.

Метод інфікування в передню камеру ока {інтраокулярне зараження} використовують головним чином для великих тварин: собак, кроликів, мурчаків, тощо. Наркотизовану під легким наркозом тварину фіксують спиною догори, на око наносять 2-3 краплі 10%-го розчину новокаїну чи вводять в орбіту шприцом 1-2 мл 2%-го розчину новокаїну на 10-15 хв для анестезії. Після її настання тупим інструментом виводять око з орбіти, тонким очним пінцетом захоплюють кон'юнктиву, щоб іммобілізувати очне яблуко. Голку мінімального діаметру вводять в рогівку ока біля лімбу, не ушкоджуючи райдужну оболонку, і просувають у центральному напрямі до тих пір, поки в отворі голки не з'явиться рідина. Шприцом відсмоктують близько 0,03 мл рідини з передньої камери. Потім, не виймаючи голки з камери ока, насаджують інший шприц з матеріалом для інфікування і вводять його в тому ж об'ємі.

Корнеальне зараження

Анестезію ока проводять як і при зараженні в передню камеру ока. Очне яблуко фіксують великим та вказівним пальцями, виводячи його назовні. Обережно скарифікують рогівку гострою голкою або вакциностіллям у вигляді вертикальних та горизонтальних насічок. Матеріал наносять на рогівку і втирають його спочатку стерильним тампоном, а потім повіками.

Інтракорнеальне зараження

Зараження в рогівку проводиться на тваринах, підготовка яких здійснюється аналогічно корнеальному зараженню. Матеріал для інфікування вводять обережно, дуже тонкою голкою в 2-3 ділянки рогівки.

Кон'юнктивальне зараження

Цей метод інфікування тварин в сполучну оболонку ока здійснюється шляхом закапування матеріалу на неушкоджену рогівку.

Одержання патологічного матеріалу від заражених лабораторних тварин

Правильний відбір та обробка патологічного матеріалу мають дуже велике значення для успішного виявлення вірусу.

Матеріалом для виділення вірусів з інфікованого організму людей та тварин є ті біологічні рідини та тканини органів, де віруси містяться у найбільшій кількості, тобто при цьому треба керуватися тропізмом вірусів. Таким чином, простежується логічний взаємозв'язок між тропізмом вірусу (типом клітин, де він успішно реплікується), методом ураження тварини (введенням вірусомісного матеріалу саме туди, де є клітини необхідного типу), та патологічним матеріалом, який відбирають від тварини (органами, рідинами і т.п., де накопичився введений вірус) .

Патологічний матеріал може бути *прижиттєвим* - одержаним від живої тварини (протягом незавершеного експерименту), та *секційним* - одержаним після розтину лабораторної тварини (по завершенню експерименту або ж при передчасній загибелі тварини).

Секрети - це специфічні біологічні рідини, що виділяються залозами людини та тварин. Якщо виділення відбувається назовні, це - залози зовнішньої секреції з

такими секретами: піт, молоко, слина, жир (сальні залози), шлунковий сік, сім'яна рідина, сперма, жовч, спинномозкова рідина, синовіальна рідина суглобових сумок, плевральна та асцитна рідини. Залози внутрішньої секреції виділяють секрети в кров та лімфу, це - гормони.

Екскрети - це кінцеві продукти обміну речовин, які виділяються організмом назовні за участю нирок, легенів, шкіри, кишечника. Екскретами є: сеча, фекалії, піт, надлишок води, солі, вміст трахей та бронхів (при кашлі), чужорідні речовини та біологічно активні речовини, що утворилися в організмі.

Мазок із глотки беруть стерильним ватним тампоном, торкаючись ним до задньої стінки глотки й шпателем натискаючи на корінь язика. Тампон вміщують у 2-3 мл фізіологічного розчину, сполоскують і віджимають. Одержану суспензію центрифугують при 3000 об/хв протягом 10 хв і деконтамінують. Матеріал зберігають замороженим.

Серозну рідину з пустул не треба додатково обробляти й деконтамінувати. Для виділення вірусів її використовують відразу або зберігають замороженою.

Перед взяттям матеріалу з везикул їх поверхню обробляють ефіром або ацетоном. Вміст везикул відсмоктують, шприцом з тонкою голкою та переносять у фізіологічний розчин. Іноді везикули розтинають і збирають їхній вміст ватним тампоном, який потім вміщують у фізіологічний розчин.

Збирання сечі та калу у тварин здійснюють при проведенні балансових досліджень протягом експерименту, застосовуючи або катетер, або спеціальний прилад, який дає можливість роздільного збирання екскрементів. Сечу катетером збирають у стерильну закриту посудину. За необхідністю сечу освітлюють центрифугуванням при 3000 об/хв протягом 20 хв і деконтамінують, тобто звільняють від домішок

супровідної мікрофлори. Для цього додають антибіотики з розрахунку 1000 ОД пеніциліну та 1000 мг стрептоміцину на 1 мл. Зберігають проби сечі замороженими. Кал після відбору поміщають у стерильні флакони з гумовими пробками для щільного закупорювання. Готують 10%-ну суспензію на фізіологічному розчині чи розчині Хенкса. Флакон з пробєю калу старанно струшують протягом 3-5 хв, загорнувши його серветкою, змоченою 70%-м етиловим спиртом. Далі матеріал центрифугують (3000 об/хв протягом 20 хв) для звільнення від великих часток. Відбирають надосадову рідину і деконтамінують її. За неможливістю одержати проби калу роблять мазки з прямої кишки. Ректальні тампони змочують фізіологічним розчином і вводять у пряму кишку обертальним рухом, після чого вмшують їх у флакони з фізіологічним розчином. Тампони віджимають, а з одержаної суспензії роблять 10%-ну, як описано вище. Проби калу зберігаються замороженими.

Прижиттєве одержання кісткового мозку методом пункції можливе у всіх видів тварин та птахів. Кістковий мозок у коней одержують з грудини чи клубової кістки шляхом проколу спеціальною голкою, у кроликів - з грудини чи стегнової кістки, у птахів - з колінного суглобу чи верхньої третини плюснової кістки.

Спинномозкову рідину одержують шляхом люмбальної (спинномозкової) пункції. Відбирають певну кількість рідини у стерильний скляний посуд. Якщо немає бактеріальної контамінації, спинномозкову рідину можна використовувати для виділення вірусів без додаткової обробки. Домішки еритроцитів та інших клітинних елементів видаляють центрифугуванням при 1500 об/хв протягом 10 хв.

Забір крові

Взяття крові проводиться з обов'язковим дотриманням

правил асептики. Це стосується обробки поверхні шкіри тварини дезінфектантами, використання стерильного посуду та інструментарію, спецодягу експериментатора. Потрібно пам'ятати, що шприц повинен бути сухим, щоб запобігти розчиненню еритроцитів взятої крові (гемоліз).

Спосіб взяття крові залежить від необхідності її кількості: невеликої чи великої. Кров у лабораторних тварин беруть з різних вен, пункцією серця та з сонної артерії шляхом кровопускання.

Невелику кількість крові відбирають з зовнішньої крайової вушної та з хвостової бічної вен у кроликів, пацюків та мурчаків; з кінчиків пальців передньої кінцівки у мишей, пацюків, хом'яків та мурчаків; з гребня та підкрильцевої вени у птахів.

У кроликів, мурчаків, тхорів кров з зовнішньої крайової вушної вени беруть після фіксації тварини. Місце розташування вени змочують спиртом, потім ксилолом, щоб викликати прилив крові у вену. Проте треба слідкувати за тим, щоб залишки ксилолу не попали в кров, яка від цієї речовини гемолізується. Судину здавлюють у основи вуха і роблять надріз або пункцію в залежності від розміру тварини. Голку вводять під гострим кутом майже паралельно вені і обережно просувають у порожнину судини. Якщо кров не витікає, то голку слід повернути навколо поздовжньої вісі і знову просунути вперед чи назад. Місце взяття крові сильно стискати не рекомендується, щоб запобігти попаданню у витікаючу кров тканинної рідини, це може змінити результати досліджень. Також не рекомендується брати повторно кров з однієї й тієї ж судини.

У мишей, пацюків невелику кількість крові беруть з хвостової бічної вени. Операцію виконують під наркозом. Хвіст оброблюють спиртом та ксилолом або занурюють його на 1-3 хв в підігріту до +45°C воду. Потім відрізають кінчик хвоста ножицями чи надрізають судину скальпелем

або бритвою. Кров збирають у пробірку або відсмоктують піпеткою Пастера. Після цього рану припікають на вогні або хромовою кислотою з тієї причини, що пацюки гризуть ушкоджений хвіст.

У мавп невелику кількість крові беруть з кінчиків пальців передньої кінцівки шляхом уколу пером Дженнера, скальпелем чи голкою Франка. Скарифікатори для цього не використовуються через їх ускладнену очистку.

У курей кров у незначній кількості беруть з підкрильцевої вени. Для цього птаха фіксують на спині, розпрямляють крило і здавлюють вену. Після обробки шкіри спиртом вену проколюють скальпелем (голку в цю вену важко вводити) і збирають кров. Крім того, кров можна брати також з гребеня, проколюючи його або відрізаючи зубець. Для запобігання кровотечі рану після взяття крові припікають або оброблюють хлоридом заліза.

Одержання великої кількості крові здійснюють пункцією серця або беручи з зовнішньої яремної, стегнової, ліктьової, підкрильцевої вен.

Пункцію серця роблять на анестезованих мишах, пацюках, хом'яках, тхорах, мурчаках, кроликах, собаках, мавпах і курях після відповідної підготовки місця пункції як при інтракардіальній ін'єкції.

У мурчаків та кроликів кров беруть з серця у другому та третьому міжребер'ї, відповідно на 1,5 см та 3 см від лівого краю грудини, де відчувається серцевий поштовх. У мишей та пацюків він чутний з лівого краю грудини. Ділянку на грудях депілюють та дезинфікують. Кінчиком пальця знаходять серцевий поштовх. В це місце з лівого краю грудини вколюють голку і спрямовують її перпендикулярно серцю до середньої лінії на глибину 1,5-2 см. Голка повинна подолати опір плеври, перикарду та серцевого м'яза. Якщо голка попала в лівий шлуночок, кров почне поступати в шприц поштовхами. Без загрози для життя тварини у мурчаків можна брати 10-15 мл крові,

у кроликів - 25-40 мл, у миші - до 0,5 мл, у пацюка - 2-3 мл. Зразу ж після взяття крові для поповнення кровообігу необхідно ввести інтрамускулярно стерильний підігрітий до +36-38°C фізіологічний розчин (0,85% хлорид натрію) кролику - 20-25 мл, мурчаку -10-15 мл, миші - 0,5-1 мл, пацюку - 3-5 мл.

Потрібно мати на увазі, що при використанні цього методу взяття крові бувають летальні випадки, особливо у мишей, пацюків, хом'яків та мурчаків.

З зовнішньої яремної вени кров беруть у мурчаків, тхорів, хом'яків, кроликів, овець, собак, кішок та курей. Тварини повинні знаходитися під наркозом (крім курей), вену треба перед взяттям крові оголити. У великих тварин (вівця, кінь, корова) вену не оголюють, а використовують для зупинки кровообігу джгут, над яким і роблять пункцію. Для цього в області нижньої третини шиї в яремному жолобі вистригають шерсть, шкіру дезинфікують. Вище місця уколу накладають гумовий джгут, вводять голку по ходу добре видимої вени. Потім джгут знімають, і кров стікає у підставлену стерильну посудину.

Взяття крові з стегнової вени роблять у мишей, пацюків, тхорів, овець, собак, кішок, мавп при фіксації тварини на спині під наркозом. Після відповідної підготовки операційного поля розрізають шкіру на внутрішньому боці стегна і оголюють судину. У дрібних лабораторних тварин пункція вени неможлива, тому її надрізають, і кров збирають у шкіряний карман. Після тампонади рану закривають.

Кровопускання через шийну артерію можна здійснити у крупних наркотизованих тварин: кроликів, кіз, баранів, тощо. В області шийного судинного пучка вистригають шерсть, дезинфікують шкіру. Збоку від гортані розрізують шкіру, остерігаючись пошкодити яремну вену. Обережно відводять вбік грудинно-ключично-сосковий м'яз, під ним

знаходять нервово-судинний пучок, який розділяють і піднімають пінцетом шийну артерію. Стискають її зажимом, надрізають ножицями і вставляють канюлю.

В дослідженнях використовують нерозведену кров, плазму, сироватку, еритроцити, лейкоцити. При необхідності, щоб запобігти зсіданню крові, в абсолютно суху посудину наливають 1/4 частину об'єму 25% розчину сульфату магнію чи 1/2 частину об'єму напівнасиченого розчину сульфату натрію і додають свіжоотриману кров у кількості 3/4 та 1/2 частини відповідно. Використовуються також водні розчини: 20% розчин цитрату натрію чи калію, 10% розчин фториду чи оксалату натрію. З цією ж метою використовують речовини тваринного походження: гепарин, пептон, гірудин, синантрин, тощо. В пробірки, градуйовані на 10 мл, наливають 0,3-0,5 мл одного з вищевказаних антикоагулянтів (консервантів) і доливають свіжу кров до мітки. Їх закривають й ретельно перемішують. Треба пам'ятати, що кров з консервантами необхідно досліджувати якнайшвидше.

Евтаназія

Після закінчення досліду тварин, що залишилися живими, піддають евтаназії, або умертвляють. **Евтаназія** - це гуманне безболісне умертвіння тварин, що вийшли з експерименту.

Умертвіння тварин здійснюється в спеціальній секційній кімнаті у відсутності інших тварин. Проводити евтаназію потрібно з максимально можливою швидкістю. Тварину умертвляють своєчасно до настання хворобливого стану і до припинення дії наркозу.

Оптимальним методом умертвіння є введення наркотичної речовини в летальній дозі. Так, собак можна умертвити, вводячи їм інтравенозно хлоралгідрат в дозі не менше 0,5 г на 1 кг живої ваги тварини або сульфат магнію 20-40 мл насиченого розчину. Треба пам'ятати, що останній може викликати збудження. Мавпам для

умертвіння роблять наркоз 5% розчином тіопенталу, вводячи його або інтрамускулярно в кількості 1-2 мл на тварину (в залежності від її розміру), або інтравенозно в стегнову вену в дозі 1,5-2 мл на тварину (в залежності від ваги тіла). Потім тварину знекровлюють через шийні кровоносні судини.

Дрібних тварин (миші, пацюки, тхорі, кролики, хом'яки, мурчаки, птахи, жаби) допускається піддавати евтаназії шляхом розриву спинного мозку. Для цього тіло тварини утримують однією рукою за потилицю, а другою - за хвіст і швидким коротким рухом розтягують до відчуття обриву нитки. Менш гуманний спосіб - *декапітація* (відрізання голови). Найпоширеніший метод евтаназії таких тварин з допомогою інгаляційного наркозу ефіром, хлороформом, який здійснюють або в скляній посудині, або в спеціальній камері з кімнатною температурою. Курям відрізають голову або оглушають ударом по голові та перерізають шийні судини. Кроликів слід забивати шляхом повітряної емболії, великих тварин (дорослих собак, свиней, тощо) - за допомогою електричного струму, вводячи електроди в довгастий мозок та крижі. За необхідністю вивчати мозок тварину піддають миттєвому заморожуванню шляхом занурення тварини в рідкий азот.

Для тотального знекровлювання таких тварин, як мурчаки, кролики, собаки, мавпи перерізають сонну артерію. Роблять поздовжній розріз шкіри на шиї, трохи відступаючи від середньої лінії, і оголюють сонну артерію. Відпрепарувавши її від нерва, накладають на неї дві лігатури, тобто перев'язують у двох місцях на невеликій відстані одну від одної. Перерізують артерію між лігатурами. Кінець судини, що йде до серця, оголюють, направляють в стерильну пробірку і знімають лігатуру. Кров повинна струменем поступати в пробірку. Щоб струмінь крові не слабшав, масажують область серця, печінки, селезінки. Для знекровлювання дрібніших тварин

(мишей, пацюків, хом'яків) роблять звичайний розріз шиї та шийних судин і збирають витікаючу з рани кров. Курей знекровлюють шляхом відрізання голови.

Розтин лабораторних тварин - порядок та техніка

Перед початком розтину збирають докладний анамнез (вивчають історію хвороби), що дозволяє в процесі розтину виділити головні зміни в організмі тварини, точніше визначити хворобу і вивчити її наслідки.

Труп, призначений для розтину, спочатку піддають зовнішньому огляду, визначаючи вік, масу, будову тіла, угодваність, трупні зміни, стан шкіри та видимих слизових оболонок, поверхневих лімфатичних вузлів, скелетних м'язів, кісток, суглобів. Після цього роблять внутрішній огляд - розтин грудної та черевної порожнин, дослідження вилучених органів, розтин носової та придаткової порожнин, шиї, розтин черепа та хребта, вилучення та дослідження головного та спинного мозку.

Зовнішній огляд трупа починають з визначення віку (за станом зубів), виду, статі, масті, породи, маси, розмірів (довжини та висоти) тіла. Будова тіла буває міцною, пропорційною, та слабкою, непропорційною. При виявленні відхилень в будові тіла відмічають, в чому вони проявляються (викривлення хребта чи кінцівок, тощо). Звертають увагу на форму та розмір живота (збільшений, підтягнутий). Угодваність визначається після зняття шкіри за станом підшкірного жиру та мускулатури. У виснажених тварин жир під шкірою відсутній, чітко виступають ребра, хребет. При ожирінні велика кількість жиру накопичується під шкірою, між м'язами та біля нирок.

При описі трупних змін спочатку звертають увагу на охолодження трупа, яке в значній мірі залежить від пори року: холод прискорює, а тепло уповільнює цей процес. При трупному задубінні відмічають нерухомість та затвердіння

скелетної мускулатури, що визначається за рухомістю щелеп та кінцівок в суглобах. При трупному розкладі характерне сіро-зелене забарвлення тканин в області черевних стінок і поява запаху.

Трупні плями (гіпостазии, імбібіція) помітні після зняття шкіри на внутрішній її поверхні, в підшкірній клітковині, в тих частинах трупа, що знаходяться під нею. На відміну від крововиливів плями мають нечіткі межі, бліднуть при натискуванні пальцем.

При огляді шкіри відмічають стан волосяного, шерстяного чи пір'яного (у птахів) покриву: блиск чи тьмяність, скуйовдженість, наявність та характер ділянок без волосся, тощо. Потім звертають увагу на колір, еластичність, цілісність шкіри, наявність на ній ерозій, виразок, рубців, пустул, папул, афт, крововиливів: Далі досліджують шкірні утворення: роги, копита, кігті, гребінь, сережки (у птахів). Вони можуть бути деформованими, різної консистенції, відділятися важко або легко.

Після зовнішнього огляду трупа досліджують природні отвори: рот, очі, анус, клоака, які бувають закриті чи відкриті. Встановлюють стан слизових оболонок - колір, блиск, характер уражень та виділень (кров'янисте, гнійне, пінисте).

При огляді зовнішніх лімфатичних вузлів (підщелепних, заглоткових, поверхневих шийних, пахових) відмічають їхній розмір, консистенцію, колір з поверхні (а подалі й у розрізі), ступінь кровонаповнення.

Внутрішній огляд здійснюють в процесі розтину трупа тварини. Перед розтином трупу надають певного положення. Трупи великих тварин розтинають в боковому лівому (велика рогата худоба) чи правому (коні) положенні, а середніх та дрібних тварин (мави, свині, собаки, кішки, кролики, мурчаки, миші, пацюки, кури, тощо) - в спинному положенні.

Розтинати тварин треба якнайшвидше після їхньої

загибелі, тому що в трупному матеріалі віруси швидко гинуть через протеоліз. Для вірусологічних досліджень лабораторних тварин розтинають відповідно до методики патологоанатомічного розтину з суворим дотриманням правил **асептики, антисептики** та техніки безпеки.

Для того, щоб більш точно визначити забарвлення тканин та органів тварин, трупи розтинають при денному світлі. В приміщенні для розтину (секційний зал чи спеціальна кімната) необхідно мати дезинфікуючі засоби: для обробки місця розтину - хлорне вапно чи 10%-й розчин їдкового натрію, а для дезинфекції трупів дрібних тварин та рук дослідника - 2-3%-й розчин фенолу та хлораміну, відповідно, чи 70%-й етиловий спирт. Набір інструментів для розтину буває мінімальним (секційний ніж, ножі для кісток, прями та зігнуті ножиці, скальпель, хірургічний та анатомічний пінцети, пилка та молоток-сокирка) та повним. Розтин виконують стерильними інструментами.

Перед розтином труп дезинфікують: дрібних тварин занурюють в 2-3% розчин фенолу, тримаючи за хвіст, крупних - змочують шерсть по лінії розрізу 70% етиловим спиртом чи дезинфікуючим розчином. Курей на 20-30 сек. занурюють у 2% розчин карболової кислоти.

Трупи крупних лабораторних тварин фіксують на спеціальних секційних столах, кюветах, пластинах чи дошках, де є пристосування для перешкоджання витoku рідини та фіксації кінцівок і голови. Трупи дрібних тварин фіксують животом догори, приколюючи ін'єкційними чи одностержньовими (кравецькими) голками кінцівки до дошки (дерев'яної чи з пенопласту) або до кювети з парафіном. Можна використовувати спеціальну дошку з прибитими по кутах цвяхами, до яких прив'язують кінцівки тварини. Робочі поверхні всіх секційних приладів повинні бути покритими папером, насиченим дезинфікуючим розчином.

Основне правило розтину: до трупа можна доторкатися тільки інструментами чи руками в гумових рукавичках. Розтин середніх та дрібних тварин здійснюють за певними схемами, одна з яких – *схема Вагенера*. Розріз шкіри роблять по білій лінії живота від лобкової кістки (симфізу) до шиї. Щоб при цьому не перерізати черевну стінку, пінцетом підіймають шкіру і роблять спочатку поперечний надріз складки шкіри поблизу симфіза, а потім, встроївши одну браншу ножиць в утворений отвір, розрізують шкіру до шиї тварини. Потім лінію розрізу продовжують у напрямі всіх чотирьох кінцівок до пахової ямки та колінної складки, які треба оголити для досліджень лімфатичних вузлів. Тупим інструментом відпрепаровують шкіру від підшкірної клітковини та мускулатури, відкриваючи клапті шкіри вправо та вліво і приколюючи їх голками за верхні та нижні кути. Щоб уникнути **контамінації** секційного матеріалу вмістом травного каналу, спочатку роблять розтин грудної порожнини і беруть секційний матеріал перед розтином черевної порожнини.

При розтині грудної порожнини в наддіафрагмальній області роблять поперечний розріз м'язів, пінцетом підхоплюють мечовидний відросток, а ножицями вздовж грудної кістки з двох сторін від неї перерізують ребра. Вирізану грудину разом з ребрами підіймають догори, при цьому утворюється отвір для огляду грудної порожнини.



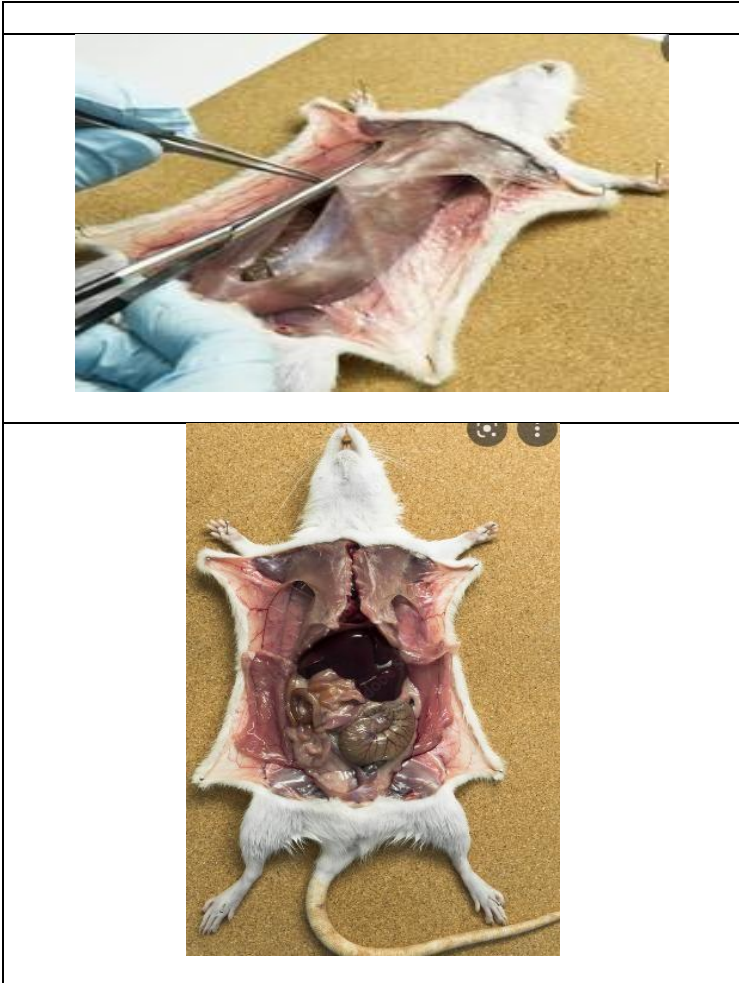


Рис.12. Етапи розтину лабораторного щура

Спочатку досліджують об'єм та консистенцію легень, стан плеври (колір, блиск, тьмяність), наявність крововиливів, вузлів, еластичність, тощо. Далі відмічають форму серця, стан передсердь, шлуночків, епікарду, жирової клітковини, наявність крововиливів. При розрізі порожнин серця досліджують ендокард, міокард, клапани,

кількість крові, її колір та ступінь зсідання. Органи та тканини грудної порожнини беруть перед розтином черевної порожнини і поміщають в стерильні флакони.

Розтин черевної порожнини роблять після заміни інструментів на стерильні. Ножицями роблять розріз від мечоподібного відростку під лінією діафрагми по білій лінії живота до лобкової кістки, відкриваючи піддіафрагмальну область і відділяючи стінку живота з обох сторін від реберної дуги. Утворені трикутники черевної стінки відводять в боки і фіксують. Кишечник відтягують пінцетом вліво до тих пір, поки не відкриються селезінка, печінка та нирки. Змінивши інструмент, видаляють органи. Огляд починають з селезінки. Визначають її розміри, краї (гострі чи округлі), колір, форму, консистенцію (щільна, м'яка, пухка), встановлюють наявність некрозів, інфарктів, крововиливів, тощо. При огляді печінки визначають розміри, вид її країв (гострі, тупі), консистенцію (щільна, пухка), колір (коричневий, жовтий, сіруватий), характер поверхні (гладка, зерниста, вузлувата). При обстеженні нирок звертають увагу на їхні розміри, форму, консистенцію, стан капсули, колір. У сечового міхура визначають об'єм, стан серозної оболонки, кількість та колір сечі.

При необхідності видаляють шлунок та кишечник і досліджують їхні відділи, колір, кількість та запах вмісту.

За умов досліду розтинають ротову (роблячи розріз щік між обома щелепами) та носову порожнини, вивчаючи язик, мигдалики, їхню величину, стан слизових оболонок, наявність гнійників. Розрізують глотку та стравохід, визначаючи стан слизових оболонок. Потім розрізують стінку гортані, трахеї та крупних бронхів, відмічаючи характер вмісту (кров'яниста чи піниста рідина, слиз, гній, тощо), стан слизових оболонок. Оглядають щитовидну, парашитовидну та зобну залози.

За необхідністю дослідження центральної нервової

системи, а саме головного та спинного мозку, спочатку розтинають черепну коробку, закріпивши тварину в черевному положенні шляхом фіксації передніх кінцівок та голови, шкіру голови та шиї обробляють дезинфікуючим розчином. Розріз шкіри роблять перпендикулярно до вісі тіла за вухами, на потилиці і продовжують зліва та справа уперед до орбіт (рис.).

Шкіру разом з вухами відпрепаровують і відкидають вперед, оголюючи черепну коробку. Одну браншу ножиць вставляють у великий черепний отвір (чи у вушний отвір) і розрізують кістки черепа зліва та справа в напрямку до орбіт. Потім розрізують кістки черепа між орбітами і видаляють всю вирізану ділянку. Якщо кістки черепа товсті, їх розпилюють в тих же напрямках. Можна розрізи черепа вести від орбіт назад. Головний мозок тварин, який має м'яку консистенцію, видаляють з основи черепа, піднявши його злегка розкритими браншами ножиць і підрізавши черепно-мозкові нерви. Його досліджують з поверхні, потім поздовжнім розрізом розсікають на дві частини. Розтинають і оглядають бокові шлуночки, довгастий мозок, мозочок, амонові роги, смугасте тіло, епіфіз. Враховуючи, що специфічні для деяких вірусів зміни можуть бути локалізованими в різних відділах головного мозку, роблять відбитки його таким чином. Мозок тварини з розтятої черепної коробки, не ушкоджуючи структури, переносять на аркуш фільтрувального паперу розміром 10x10 см, де він достатньо міцно фіксується. Браншами ножиць відрізають по вертикальній площині невеликий шматочок його і кладуть поряд на папір. Потім відрізають наступний шар мозку, який також кладуть поруч і т.д. Взявши в одну руку аркуш паперу з фіксованими на ньому шматочками мозку, другою рукою прикладають зверху до кожного по черзі предметне знежирене скельце, і отримують відбитки.

Для взяття шматочків спинного мозку випилюють окремі ділянки хребта і стерильним металевим стержнем з ватним

тампоном виштовхують ділянки спинного мозку в стерильний посуд. Забирати спинний мозок необхідно з шийного, грудного та поперекового відділів. Після зняття твердої мозкової оболонки вивчають спинний мозок з поверхні і на поперечному зрізі. Відмічають чіткість меж сірої та білої речовин, колір, вологість, кровонаповнення, консистенцію, стан міжхребцевих вузлів.

При дослідженні скелетної мускулатури відмічають ступінь її розвитку (атрофія, гіпертрофія), колір, консистенцію, малюнок волокон на поздовжньому розрізі, стан міжм'язевої сполучної тканини. Оглядаючи кістки, відмічають їхню цілісність, розмір, консистенцію (тверда, м'яка), вид надкiсници, кісткової тканини, кісткового мозку, форму суглобів, характер вмісту суглобової сумки.

Шматочки відібраного секційного матеріалу та органи зберігаються або в законсервованому вигляді у стерильному 50%-му гліцерині на ізотонічному розчині хлориду натрію (рН 7.4-7.6), або в замороженому при -20-70°C стані. Після розтину тварин і взяття патологічного матеріалу всі інструменти дезинфікують та стерилізують. Труп тварин, залишки корму та води, підстилку знищують в спеціальних лабораторних крематоріях чи кремаційних печах або піддають автоклавованню. Металеві клітки та годівниці знезаражують вогнем паяльної лампи чи обливають бензином та обпалюють. Дерев'яні предмети оброблюють гарячими дезинфікуючими розчинами.

Застережні заходи при роботі з інфікованими лабораторними тваринами

Для догляду за лабораторними тваринами допускаються особи, що мають необхідну кваліфікацію і одержали спеціальний інструктаж по техніці безпеки роботи з інфекційним матеріалом. Осіб віком менше 18 років не слід допускати до роботи з інфікованими лабораторними тваринами. Особи що мають захворювання шкіри чи

відкриті рани, можуть бути допущеними до роботи з лабораторними тваринами тільки з дозволу лікаря і за умовою дотримання санітарно-гігієнічних заходів (щільні захисні пов'язки, гумове взуття, тощо).

Особливу увагу слід приділяти заходам особистого захисту від небезпеки зараження. Під час роботи з лабораторними тваринами обслуговуючий персонал повинен бути одягненим згідно існуючим вимогам в спеціальний одяг та непроникне взуття, що легко дезинфікуються. Спецодяг та взуття повинні бути чистими, їх необхідно міняти не рідше одного разу на тиждень. Після використання гумовий одяг та взуття (фартухи, чоботи, рукавички) необхідно зразу ж вимити водою і продезінфікувати. Спецодяг слід використовувати тільки під час догляду за тваринами та їхнього обстеження, зберігати в спеціальних шафах в роздягальні окремо від повсякденного одягу.

Для осіб, що доглядають за лабораторними тваринами, необхідно створити умови для додержання особистої гігієни. В усіх душових кімнатах, а також в боксах, де утримуються тварини, необхідно мати посудини з дезінфікуючими засобами, гарячу та холодну воду, мило, рушник.

Під час роботи з лабораторними тваринами, особливо з птахами, необхідно стежити, щоб в приміщенні не було пилу.

Витягати тварин з кліток, брати їх в руки, проводити фіксацію, зараження, обстеження та умертвіння можуть тільки працівники, що мають досвід роботи в цій галузі. В залежності від виду тварин необхідно застосовувати відповідні допоміжні засоби (пінцети, корнцанги, зажими, тощо) і використовувати певні захисні пристосування (гумові, шкіряні, металеві рукавички, тощо).

До дрібних тварин по можливості не слід доторкатися незахищеними руками. Під час досліджень з

лабораторними тваринами, інфікованими патогенними для людини вірусами, роботу проводять під захисним ковпаком, за захисним екраном, в масці, захисних окулярах, рукавичках, використовуючи дихальні апарати з подачею повітря.

Інструменти, обладнання та прилади, що знаходяться в приміщенні для тварин і можуть бути заражені інфекційними збудниками, небезпечними для людини, слід дезинфікувати, якщо їх за якимись причинами виносять з приміщень для тварин.

Особливу увагу слід приділяти техніці безпеки при розтині трупів інфікованих лабораторних тварин. Щоб застерегти себе та оточуючих від зараження, трупи розтинають в спецодязі - халат темного кольору, прогумований, гумовий чи синтетичний фартух та нарукавники, гумові чоботи чи калоші, гумові рукавички, полотняна шапочка чи марлева косинка.

Перед розтином руки миють з милом, а при наявності на шкірі рук подряпин, тріщин чи задирок їх дезинфікують спиртовим розчином йоду і закривають колодієм чи пластиром. По закінченні розтину руки миють водою та дезинфікують 3%-м розчином фенолу чи хлораміну. Для знищення трупного запаху їх можна обробити 5%-м розчином хлоралгідрату або марганцевокислим калієм в розведенні 1:1000, а потім насиченим розчином щавлевої кислоти.

Спецодяг та інструменти обмивають водою та дезинфікують 3%-м розчином фенолу, хлораміну або креоліну. Приміщення чи робочий стіл після розтину трупів очищують водою і дезинфікують 3-4%-м розчином їдкого натрію. Трупи складають в спеціальну непроникну для рідини тару і піддають біотермічній утилізації.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 3

Задання 1. Демонстрація викладачем:

а) огляду тварини перед експериментом; б) прийомів роботи зі стерильними інструментами, підготовки шприца та його наповнення інфекційним матеріалом; в) маркування, наркотизації, фіксації, депіляції та експериментального ураження тварин; г) евтаназії лабораторних тварин та розтину за Вагеном; д) відбору секційного патологічного матеріалу (мозку, легень, серця, печінки, селезінки та нирок).

Завдання 2. Відпрацювання прийомів маркування, наркотизації, фіксації та експериментального ураження тварин інтраназальним, інтравенозним, інтрамускулярним та інтраперитонеальним методами.

2.1. Проведіть маркування лабораторних тварин водними розчинами фуксину та пікринової кислоти. Наркотизуйте тварину шляхом інгаляції парами ефіру в ексикаторі чи шляхом ін'єкції. Зафіксуйте тварину на дошці для фіксації. Підготуйте стерильний шприц та наповніть його стерильним фізрозчином для відпрацювання експериментального інфікування лабораторних тварин. Проведіть експериментальне зараження лабораторних тварин інтраназальним, інтрамускулярним, інтравенозним та інтраперитонеальним методами.

2.2. Зазначте на малюнку типи введення вірусомісного матеріалу та його кількість.

ТЕХНІКА БЕЗПЕКИ У ВІРУСОЛОГІЧНИХ ЛАБОРАТОРІЯХ

Основні правила організації вірусологічної лабораторії базуються на загальних біологічних властивостях вірусів як неклітинної форми життя.

Віруси є автономними генетичними структурами, які можуть функціонувати та репродукуватися в сприйнятливих до них клітинах; мають субмікроскопічні розміри, облігатні внутрішньоклітинні паразити.

Ці визначення відображають дві суттєві властивості вірусів: по-перше, наявність у вірусу свого генетичного матеріалу, який використовує біохімічний апарат клітини-господаря, та, по-друге, існування у вірусів позаклітинної інфекційної фази, яка представлена спеціалізованими частками, або *віріонами*, які репродукуються під генетичним контролем даного вірусу і слугують для введення геному вірусу в інші клітини. Перша властивість наголошує внутрішньоклітинний паразитизм вірусу, однак він властивий не лише вірусам. У визначенні вірусів підкреслюється особлива природа паразитизму, який можна назвати паразитизмом на генетичному рівні. Виходячи з цього, по-перше, робота з вірусами має проводитись у стерильних умовах, а по-друге, улаштування сучасної вірусологічної лабораторії має максимально забезпечувати ефективні заходи щодо запобігання виходу вірусів в оточуюче середовище і зараження персоналу та населення вірусними інфекціями.

При роботі у вірусологічній лабораторії треба суворо дотримуватися правил *асептики* та *антисептики*.

Асептика – система профілактичних заходів та прийомів, які попереджають попадання мікроорганізмів та вірусів з оточуючого середовища в організм людини і досліджуваний матеріал, і спрямовані на створення безмікробних умов для запобігання зараженню. Вона

передбачає використання стерильних інструментів та матеріалів, обробку рук, дотримання особливих санітарно-гігієнічних правил та прийомів роботи.

Антисептика – комплекс заходів, спрямованих на хімічне та біологічне знешкодження хвороботворних та інших мікроорганізмів та вірусів, щоб запобігти зараженню при попаданні на ушкоджені і неушкоджені ділянки шкіри та слизових оболонок.

При роботі з вірусомісним матеріалом необхідно забезпечити виконання таких вимог:

- не допускати виходу вірусів у зовнішнє середовище;
- запобігати контамінації вірусів сторонньою мікрофлорою;
- забезпечити особисту безпеку роботи.

Розподіл вірусів на групи за ступенем їхньої небезпеки для людини дозволяє розділити лабораторії на категорії в залежності від того, з якою групою (чи групами) вірусів ведеться робота в тій чи іншій лабораторії.

Для забезпечення можливості роботи з вірусами, що належать за ступенем небезпеки до різних груп, необхідні універсальні багатопрофільні лабораторії.

Всесвітня Організація Охорони Здоров'я запропонувала розділити вірусологічні лабораторії на 3 категорії:

1) базові лабораторії (основні або загального типу); у зв'язку з конкретними особливостями роботи вони можуть бути обладнаними різними захисними засобами та устаткуванням. Це – лабораторії учбові, служби охорони здоров'я, лікарень, діагностичні лабораторії, університетські лабораторії. В них працюють зі збудниками інфекції III (віруси лімфоцитарного хориомеїнігиту, грипу, поліомієліту, вісповакцини, енцефаломіокардиту) та IV груп (ентеровіруси, риновіруси, аденовіруси, коронавіруси, реовіруси, віруси парагрипу, епідемічного паротиту, кору, червоної висипки,

везикулярного стоматиту, герпесу, вітряної віспи, цитомегалії людини), вірусами рослин та бактерій.

2) Режимні лабораторії (ізолювані) або лабораторії утримання. Це спеціальні діагностичні лабораторії, де працюють зі збудниками інфекцій II групи, а саме арбовірусами, аренавірусами, які не увійшли в I групу, вірусами сказу (дикий штам) та натуральної віспи, вірусами гепатитів B та C, ВІЛ.

3) Лабораторії особливого режиму (максимально ізолювані) або лабораторії максимального утримання. Це лабораторії для роботи з особливо небезпечними патогенними вірусами I групи, такими як: віруси геморагічних лихоманок Ебола та Марбург (родина філовірусів), Ласса, Хунін та Мачупо (родина аренавірусів).

Незалежно від того, до якої категорії відноситься та чи інша лабораторія, проводиться зонування приміщень з метою групування їх в самостійні зони з однаковими рівнями реально присутніх або потенційно можливих професійних ризиків для розподілення цих зон між собою та ізоляції їх від зовнішнього середовища необхідними бар'єрами. Розподіл приміщень за зонами дозволяє найбільш доцільно проводити їх знезараження, цільову санітарну обробку персоналу, обробку використаного спецодягу та інших засобів індивідуального захисту, матеріалів та предметів, що передаються між зонами.

Структура вірусологічної лабораторії визначається завданнями та особливостями її діяльності. Проте існує загальний для всіх лабораторій мінімум вимог, без яких неможливе проведення вірусологічних досліджень.

Вірусологічну лабораторію треба розташовувати в місцях, де відсутня вібрація будинку, яка може призвести до неспроможності працювати з мікроскопами, оптичними та аналітичними приладами. Не можна розміщувати лабораторію поблизу димових труб, котелень, місць, де

можливе забруднення повітря пилом або хімічно активними газами. Це може руйнувати точні прилади, утруднюючи при цьому проведення досліджень.

Вірусологічну лабораторію слід розташовувати у світлому ізольованому приміщенні з окремими входом та виходом.

Площа лабораторії повинна відповідати санітарній нормі – 14 м^2 в середньому на одного працівника. Приміщення повинні бути достатньо просторими для безпечного проведення лабораторних досліджень з шириною проходів до робочих місць 1,5 м.

В структурі базової вірусологічної лабораторії обов'язковими є такі підрозділи: мийна, стерилізаційна та препаратозна кімнати, кімнати для вирощування культур клітин, для серологічних досліджень, віварій. В залежності від умов роботи вірусологічної лабораторії, доцільно мати термальні та морозильні кімнати. Мийна кімната площею біля 10 м^2 , з розрахунку 5 м^2 на одного працівника,

повинна мати прилади для миття посуду та прання білизни, раковини з гарячою та холодною водою, столи газові та електричні плити, сушильні шафи. Посуд та інструментарій, забруднені інфекційним матеріалом, миють після знезаражування дезінфекційними речовинами.

В стерилізаційній кімнаті розташовані дистильатор, автоклав, парові стерилізатори, сушильні шафи та інша апаратура для сушіння та стерилізації посуду, інструментарію, одягу, живильних середовищ, води, буферних розчинів. Для кожного парового стерилізатора за правилами техніки безпеки треба відводити площу $7,5\text{ м}^2$.

Препаратозна кімната призначена для зберігання посуду, діагностичних препаратів, хімічних реактивів.

Віварій (приміщення для утримання тварин) повинен мати карантинний відділ, кімнати (ізольовані одна від одної з окремими виходами) для здорових та інфікованих тварин з витяжними шафами, для миття та дезінфекції

кліток, інвентарю та спецодягу, приготування кормів, кладову, кремаційну та інші.

Кімнати, призначені для роботи з вірусами, повинні мати добре природне і штучне освітлення. Вікна повинні виходити на північ або бути зробленими з матового або молочного скла, оскільки віруси інактивуються прямим сонячним світлом. Ці кімнати повинні складатися з двох відділень – боксу площею не менше 9 м² та передбокснику площею біля 4 м², розділених скляною перегородкою з розсувними, а не на петлях, дверима, для економії площі та для того, щоб уникнути коливань повітря та запобігти зайвому попаданню повітря в бокс.

Обладнання вірусологічних лабораторій

Крім устаткування та посуду, який використовується в бактеріологічній та хімічній роботі, у вірусологічних лабораторіях обов'язкова наявність спеціального обладнання.

Для тривалого зберігання в незмінному стані вірусомісного матеріалу, розчинів, сироваток, вакцин, антигенів тощо, необхідно мати холодильні установки з інтервалом температури від +4°C до -170°C. Це камери глибокого та надглибокого заморожування (-30°C, -170°C), холодильні камери (-20°C), холодильники (+4°C), холодильні кімнати з внутрішньою температурою до +4°C. Для інкубування курячих ембріонів та культур клітин необхідні термостати (сухоповітряні та водяні). Вірусологічній лабораторії необхідні центрифуги на 1500 – 3000 об/хв для осадження великих часток подрібненого вірусологічного патологічного матеріалу та трипсинізації тканин. Повна очистка вірусів від баластних речовин та їх концентрація здійснюється за допомогою високошвидкісних центрифуг на 30 000 об/хв і більше з пристроями для охолодження та створення вакууму в робочій камері.

Для зараження та розтину лабораторних тварин та курячих ембріонів і для відбору вірусовмісного матеріалу потрібний набір різних спеціальних інструментів – шприци різних розмірів (туберкулінові на 1 мл, Люера на 2, 5, 10, 20 мл), голки, шпатели, скальпелі, пінцети анатомічні та хірургічні, ножиці, корнцанги тощо.

Для подрібнення патологічного матеріалу використовують гомогенізатор тканин, фарфорові ступки з товкачиками.

У вірусологічній лабораторії в достатній кількості повинні бути емальовані відра, тази, металеві бокси, бактеріальні фільтри, скляний посуд (бажано з боросилікатного скла), матраси, чашки Карреля, пробірки Лейтона та інший скляний та пластмасовий посуд для вирощування культур клітин, флакони, склянки, колби різного об'єму зі шліфами та без них, круглодонні та плоскодонні, конічні (Ерленмейєра), круглі (Кольрауша), з патрубками (Бунзена – для відсмоктування, Вюрца – для дистиляції), мензурки, бюретки, фарфорові тиглі, чашки Петрі, градуйовані піпетки різного об'єму (1, 2, 5, 10 мл), піпетки Мора, Пастера, мікропіпетки, флакони з пробками, що загвинчуються та притираються, пробірки хімічні, біологічні, серологічні, бактеріологічні, центрифужні, автоматичні (самплери), ампули різних розмірів, ексикатори, воронки, мірні циліндри.

Для постановки серологічних реакцій необхідні полістиролові планшети. В лабораторіях такого типу повинні бути різні терези: хімічні, аналітичні, торсійні, центрифужні для зрівноваження пробірок. Необхідним обладнанням є мікроскопи різних типів: біологічний світловий, біологічний інвертований, біологічний бінокулярний, біологічний стереоскопічний, люмінесцентний, електронний.

В лабораторії у достатній кількості мають бути різні металеві та пластмасові штативи для пробірок, гумові

пробки з силіконової та звичайної гуми різних розмірів (№№ 11,12,14), олівці або чорнила для скла, фільтрувальний папір, лейкопластир, тощо.

Значна кількість всього описаного обладнання використовується у стерильному вигляді. Для цього, згідно різних методів обробки інструментарію та посуду, піддають чистці, миттю, дезінфекції та стерилізації.

Сучасні вірусологічні лабораторії мають необхідні прилади та устаткування для проведення експрес-діагностики вірусних інфекцій, а саме імуноферментного аналізу, імунофлуоресцентного аналізу, імуноелектроблотингу, електронної мікроскопії, імуноелектронної мікроскопії, полімеразної ланцюгової реакції.

Правила роботи в учбових вірусологічних лабораторіях

1. Вхід у вірусологічну лабораторію дозволяється лише особам, які пройшли інструктаж по техніці безпеки.
2. Працювати дозволяється лише у спецодязі.
3. Не дозволяється ходити і розмовляти під час роботи з вірусним матеріалом.
4. Категорично забороняється приносити особисті речі, палити, приймати їжу та зберігати продукти і воду, користуватися косметикою.
5. Проводити відсмоктування інфекційного матеріалу тільки за допомогою автоматичних та напівавтоматичних піпеток чи гумових балонів. Категорично забороняється всмоктувати в піпетку досліджуваний матеріал ротом.
6. Для виключення випадкових уколів вміло та обережно користуватися шприцами та голками під час зараження курячих ембріонів та лабораторних тварин.
7. Після закінчення роботи використані предмети, (піпетки, шпатели, предметні та накривні скельця тощо) помістити в дезінфікуючий розчин на 1 добу, після чого

- промиту та прокип'ятити.
8. Посуд з використаними живильними середовищами, кров'ю, мокротинням та іншим інфікованим матеріалом зібрати в банки і продезінфікувати в автоклаві (30 хв при 1,5 атм) або обробити дезінфікуючим розчином, прокип'ятити чи спалити.
 9. Після заняття обов'язково помити руки та при необхідності продезінфікувати їх спиртом.
 10. Забороняється викидати та виливати відходи у каналізаційну мережу.
 11. При аварії під час роботи з вірусомісним матеріалом обов'язково попередити викладача або лаборанта.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

Основна:

1. Шмараков І.О., Марченко М.М., Співак М.Я. Основи вірусології: підручник / за ред. В.С. Підгорського – Чернівці: Чернівецький нац. ун-т, 2011. – 320 с.
2. Основи вірусології : навч.- метод. посібник з лаб. практикуму / уклад. І.О. Шмараков, О. В. Кеца. – 2-е видання, перероблене. – Харків: Мачулін, 2015. – 160 с.
3. Поліщук В.П., Будзанівська І.Г., Шевченко Т.П. Посібник з практичних занять до курсу «Загальна вірусологія». – К.: Фітосоціоцентр, 2005. – 204 с.
4. Вірусологія. Навчальний посібник для лабораторних занять / В.П. Поліщук, І.Г. Будзанівська, Т.П. Шевченко, О.М. Андрійчук, Т.А. Компанець, О.А. Кондратюк, Г.В. Коротєєва, О.В. Молчанець, А.В. Харіна, О.В. Шевченко. – К.: ЦП «Компринт», 2017. – 242 с.

Додаткова:

1. Koonin EV, Dolja VV, Krupovic M. Origins and evolution of viruses of eukaryotes: The ultimate modularity. *Virology*. 2015;479-480:2-25.
2. Lefkowitz EJ, Dempsey DM, Hendrickson RC, Orton RJ, Siddell SG, Smith DB. Virus taxonomy: the database of the International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV). *Nucleic Acids Res*. 2018;46(D1):D708-D717.
3. Lucic B, de Castro IJ, Lusic M. Viruses in the Nucleus. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2021;13(8):a039446.
4. Simmonds P, Aiewsakun P. Virus classification - where do you draw the line? *Arch Virol*. 2018;163(8):2037-2046.
5. Tan KE, Lim YY. Viruses join the circular RNA world. *FEBS J*. 2021;288(15):4488-4502.

6. Алибек К., Севко А.Л., Олишевский С.В., Клименко Т. Вирусный канцерогенез: современный взгляд на проблему // Лікарська справа. – 2007. – № 5-6. – С. 3 – 25.
7. Бойко А.Л. Основи екології та біофізики вірусів. – К.: Фітосоціоцентр, 2003. – 164 с.
8. Загородній Ю.В., Бойко А.Л. Математичні моделі в дослідженні вірусів рослин. – К.: ЕксОб, 2001. – 152 с.
9. Максименок О.В. Сучасні підходи до лабораторної діагностики ВІЛ-інфекції // Лабораторна діагностика. – 2003. – № 4. – С. 31 – 37.
10. Носач Л. Сучасний стан антивірусної хіміотерапії // Вісник фармакології та фармації. – 2004. – № 4. – С. 6 – 10.
11. Онищенко Г.Г., Зверев В.В., Катлинский А.В. и др. Тетравакцина – новый принципиальный подход к предотвращению пандемии гриппа // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2007. – № 4. – С. 15 – 19.

ЗМІСТ

ПЕРЕДМОВА	3
РОЗДІЛ 1. СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ВІРУСІВ	4
ТЕМА 1.1. Структурний аналіз віріонів різних систематичних груп	4
ТЕМА 1.2. Класифікація вірусів. Субвірусні агенти.	5
ТЕМА 1.3. Методи дослідження вірусів. Використання лабораторних тварин у вірусології	24
ТЕМА 1.4. Методи дослідження вірусів. Курячі ембріони та їх використання у вірусології	69
ТЕМА 1.5. Методи дослідження вірусів. Використання клітинних культур у вірусології	82
ТЕМА 1.6. Поширення вірусів. Особливості життєвих циклів вірусів	106
РОЗДІЛ 2. БІОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ ВІРУСІВ ТА ЇЇ ПРАКТИЧНІ НАСЛІДКИ	124
ТЕМА 2.1. Противірусний імунітет. Методи діагностики вірусних інфекцій	124
ТЕМА 2.2. Противірусна хіміотерапія	144
ТЕХНІКА БЕЗПЕКИ У ВІРУСОЛОГІЧНИХ ЛАБОРАТОРІЯХ	157
СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ	165

Навчальне видання

ВІРУСОЛОГІЯ

**Навчальний посібник
для лабораторних занять**

Укладач: Кеца Оксана Віталіївна

Літературний редактор *Ряднова В. П.*
Комп'ютерний набір та верстка *Кеца О.В.*

Формат 60/84. Папір офсетний. Друк цифровий. Тираж 100 екз.

Надруковано Ч.П. Озеров
м. Харків, вул. Університетська 33/9
Свідоцтво про держреєстрацію №818604 від 02.03.2000.