

Министерство сельского хозяйства Российской Федерации  
Красноярский государственный аграрный университет

**И.Я. Строганова**

**КУРИНЫЕ ЭМБРИОНЫ И ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ  
В ВИРУСОЛОГИИ**

*Методические указания к лабораторным занятиям*

Красноярск 2013

*Рецензент*

*В.А. Колесников, д-р биол. наук, проф., зав. кафедрой внутренних незаразных болезней и акушерства КрасГАУ*

**Строганова, И.Я.**

**Куриные эмбрионы и их использование в вирусологии:**  
метод. указания к лабораторным занятиям / И.Я. Строганова; Красно-  
яр. гос. аграр. ун-т. – Красноярск, 2013. – 19 с.

Предназначено для студентов очной и заочной форм обучения по дисциплинам «Вирусология» и «Ветеринарная вирусология», модуль 1 «Вирусология», модульная единица 1 «Общая вирусология», специальность 36.05.01 «Ветеринария», направления 36.03.01 «Ветеринарно-санитарная экспертиза» и 06.03.01 «Биология».

Печатается по решению редакционно-издательского совета  
Красноярского государственного аграрного университета

© Строганова И.Я., 2013

© ФГБОУ ВПО «Красноярский государственный аграрный университет», 2013

## ЛАБОРАТОРНОЕ ЗАНЯТИЕ (4 часа)

### Тема: Куриные эмбрионы и их использование в вирусологии

План:

1. Преимущества куриных эмбрионов.
2. Цели использования куриных эмбрионов.
3. Требования, предъявляемые к куриным эмбрионам.
4. Строение куриного эмбриона.
5. Подготовка куриных эмбрионов к заражению.
6. Методы экспериментального заражения куриных эмбрионов.
7. Индикация вируса в курином эмбрионе.
  - 7.1. Признаки размножения вируса в курином эмбрионе.
  - 7.2. Вскрытие куриного эмбриона и получение вирусосодержащего материала.

#### 1. Преимущества куриных эмбрионов

Куриные эмбрионы как живая система вошла в вирусологию в 30-х годах XX века.

Куриные эмбрионы имеют ряд преимуществ перед лабораторными животными:

1. Высокая чувствительность к широкому спектру вирусов (это объясняется недостаточным развитием защитных механизмов, не образуют антител в ответ на заражение).
2. Легкодоступный объект (большое количество птицефабрик и инкубаториев).
3. Стерильность (так как скорлупа и подскорлупная оболочка надежно защищают эмбрионы от бактериального заражения со стороны внешней среды). Однако нельзя полностью исключить содержание в них патогенных агентов (вирусного бронхита кур, гриппа, лейкоза, ньюкаслской болезни и др.).
4. Экономичны (дешевы, не требуют ухода, кормления).

#### 1. Цели использования куриных эмбрионов

В вирусологии куриные эмбрионы используют:

- 1) для обнаружения в биологическом материале активного вируса биопробой;
- 2) первичного выделения вируса и его культивирования;
- 3) поддержания вирусов в лаборатории в активном состоянии;

- 4) титрования вирусов;
- 5) накопления большой массы вирусов для лабораторных исследований при производстве вакцин и диагностических тест-систем;
- 6) как тест-объект в реакции нейтрализации.

## 2. Требования, предъявляемые к куриным эмбрионам

При отборе куриных эмбрионов для заражения вирусосодержащим материалом к ним предъявляют следующие требования:

1. Куриные эмбрионы должны быть получены из благополучных по инфекционным заболеваниям хозяйств.
2. Скорлупа яиц должна быть непигментированной, чистой (мыть нельзя).
3. Возраст эмбриона должен соответствовать выбранному методу заражения.

## 4. Строение куриного эмбриона

Обычно курица откладывает оплодотворенное яйцо, в котором зародыш находится на стадии бластулы или ранней гаструлы. При нагревании яйца до температуры, близкой к температуре тела курицы, происходит дальнейшее развитие зародыша (рис. 1). В период с 5-го по 12-й день инкубации куриные эмбрионы могут быть использованы для заражения вирусами.

Яйцо с развивающимся куриным эмбрионом покрыто снаружи твердой пористой скорлупой, к которой плотно прилегает подскорлупная оболочка. Последняя в тупом конце яйца разделяется на два листка, между которыми образуется воздушная камера. Тело зародыша лежит в яйце эксцентрично, спиной ближе к скорлупе, голова направлена в сторону воздушной камеры.



Рис. 1. Схематическое изображение 10-дневного эмбриона

Зародыш погружен в околоплодную жидкость, заполняющую амниотическую полость, и пуповиной связан с желтком. Желток также располагается эксцентрично и относительно зародыша как бы по другую сторону продольной оси.

Непосредственно под подскорлупной оболочкой находится аллантоисная полость, покрывающая амнион и желточный мешок, а к 10-11-му дню замыкающаяся в остром конце яйца. В процессе развития аллантоисная оболочка срастается с хорионом, образуя единую хорионаллантоисную оболочку (ХАО). В остром конце яйца находится остаток белка.

Размножение вирусов возможно во всех структурах эмбриона, имеющих клеточное строение, к которым относятся зародыш, ХАО и желточный мешок. Накопление вирусов происходит в тех же структурах, но ряд вирусов может накапливаться в аллантоисной и в амниотической жидкостях, образуя практически готовую суспензию вирусов.

Заражение в ту или другую часть эмбриона проводится в период ее максимального развития, когда количество чувствительных клеток будет наибольшим.

В процессе инкубации меняются размеры зародышевых структур, что во многом объясняется их функциональным назначением и определяет оптимальный для заражения возраст эмбриона. Так, желточный мешок как резервуар питательных веществ имеет наибольший объем в начале инкубации, а затем (после 12-го дня) по мере развития зародыша он уменьшается. Заражают в желточный мешок с 5-го по 7-й день инкубации.

Амниотическая полость, являясь буферной средой развития зародыша, покрывает его уже на 5-й день инкубации. Среднее количество жидкости к середине периода инкубации составляет около 1 мл.

Для заражения в амниотическую полость используют эмбрионы в возрасте 6-10 дней.

Аллантоисная полость служит для сбора продуктов обмена, в ней скапливаются мочекислые соли, фосфорные и азотистые соединения. В процессе роста и развития зародыша аллантоисная жидкость приобретает кислую реакцию. Максимальных размеров аллантоисная полость достигает на 9-12-й день развития эмбриона, поэтому заражение в аллантоисную полость проводят преимущественно на 9-11-й день инкубации.

Хорионаллантоисная оболочка богата кровеносными сосудами, которые, тесно прилегая к внутренней поверхности пористой скор-

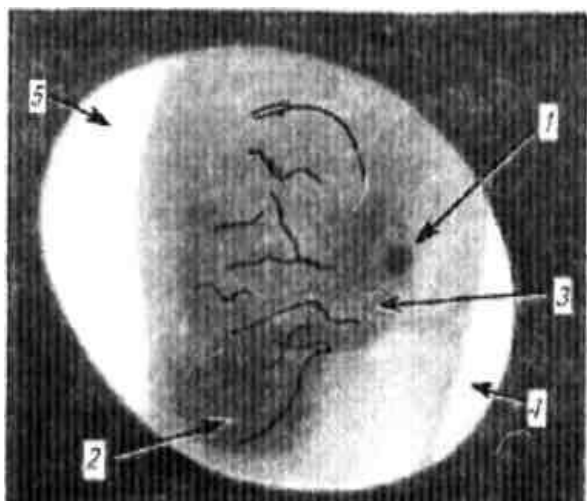
лупы, насыщаются кислородом и снабжают им тело зародыша, выполняя функцию органа дыхания эмбриона. Максимального развития ХАО достигает на 11-13-й день. Заражение на хорионаллантоисную оболочку проводят на 10-12-й день инкубации.

## 5. Подготовка куриных эмбрионов к заражению

Эмбрионы доставляют из инкубатория, не допуская их охлаждения в пути. В лаборатории эмбрионы инкубируют в термостате при температуре 37° С и влажности 60-70 %, что достигается установлением в термостате открытых широкогорлых сосудов с водой. Вентиляционные отверстия термостата должны быть открыты. Эмбрионы размещают воздушной камерой вверх в специальных штативах. Рекомендуется до момента заражения дать возможность эмбрионам в течение суток адаптироваться к новым условиям и нормализовать свои функции после транспортного стресса. Если лаборатория располагает собственным инкубаторием, то снесенные курицей оплодотворенные яйца пригодны для закладки в него в течение 10 дней.

Подготовка куриных эмбрионов к заражению включает овоскопирование и дезинфекцию скорлупы, а также соответствующую подготовку рабочего места. Овоскопирование представляет собой просмотр яиц против достаточно яркого источника света (овоскоп), в результате чего на неосвещенной стороне скорлупы образуются тени от внутренних структур (рис. 2).

Овоскопирование проводят в затемненном помещении. При этом на скорлупе графитным карандашом отмечают границу воздушной камеры, место расположения зародыша и участок бессосудистой зоны размером 0,5x0,5 см. Эти отметки служат ориентиром при выборе места введения вирусосодержащего материала.



**Рис. 2. Овоскопирование 10-дневного куриного эмбриона. Видны тени:**

1 – зародыша; 2 – желточного мешка; 3 – кровеносных сосудов ХАО; 4 – воздушной камеры; 5 – белка

При овоскопировании также определяют, жив зародыш или погиб. Зародышей, проявляющих активные движения при хорошей кровенаполненности сосудов ХАО, считают живыми.

Куриные эмбрионы заражают в асептических условиях (лучше в боксе). В предбокснике скорлупу эмбрионов обрабатывают йодированным спиртом, затем уже в боксе повторно протирают, а иногда еще и фламбируют – обрабатывают пламенем смоченного спиртом тампона.

Эмбрионы фиксируют в специальных подставках, установленных в эмалированной кювете на 3-4-слойной марлевой салфетке, смоченной дезинфицирующим раствором.

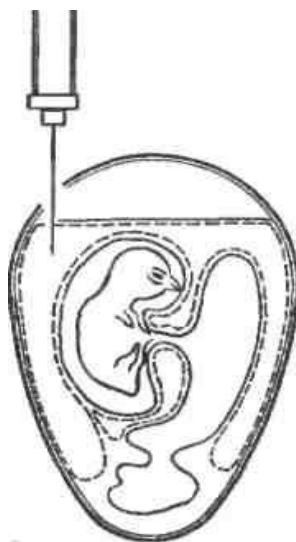
В работе используют инструменты, стерилизованные кипячением. Их ставят в баночку со спиртом и обжигают пламенем горелки перед каждым повторным использованием.

## 6. Методы экспериментального заражения куриных эмбрионов

Существует шесть методов заражения эмбрионов. Наиболее часто используют заражение в аллантоисную полость и на хорионаллантоисную оболочку, реже – в амниотическую полость и в желточный мешочек и совсем редко – в тело зародыша и в кровеносные сосуды ХАО. Выбор метода определяется тропизмом вируса, а также целью заражения. При любом методе заражения вводят 0,1-0,2 мл инфекционного материала.

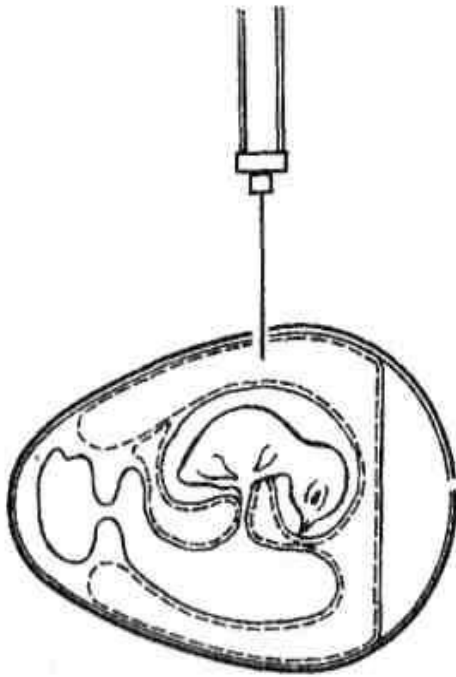
### Заражение в аллантоисную полость.

При заражении этим методом хорошо размножаются вирусы гриппа, ньюкаслской болезни, ринопневмонии лошадей, везикулярного стоматита и др. Существует несколько вариантов метода.



*Первый вариант.* Эмбрион фиксируют вертикально тупым концом вверх. В скорлупе на стороне зародыша, а иногда с противоположной зародышу стороны на 5-6 мм выше границы воздушной камеры делают отверстие диаметром около 1 мм. Иглу вводят параллельно продольной оси на глубину 10-12 мм (рис. 3). После инъекции вируссодержавшего материала иглу извлекают, а отверстие в скорлупе закрывают каплей расплавленного стерильного парафина.

**Рис. 3. Заражение куриного эмбриона в аллантоисную полость (по Николау)**

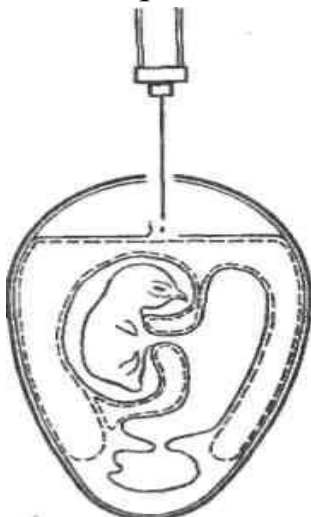


**Рис. 4. Заражение куриного эмбриона в аллантоисную полость (по Николау и др.)**

*Второй вариант.* Сделанное в скорлупе над воздушной камерой отверстие используют лишь для выхода части воздуха. Отверстие же для самого заражения делают на участке бессосудистой зоны хорионаллантоисной оболочки (ХАО) со стороны зародыша. Иглу вводят на глубину не более 2-3 мм. Инъецируют инфицирующую жидкость в объеме 0,1-0,2 мл и закрывают отверстие парафином (рис. 4).

#### **Заражение на хорионаллантоисную оболочку.**

Этот метод заражения куриных эмбрионов чаще используют для культивирования эпителиотропных и пантропных вирусов оспы, инфекционного ларинготрахеита птиц, чумы плотоядных, болезни Ауески, катаральной лихорадки овец и др.



**Рис. 5. Заражение куриного эмбриона на ХАО через естественную воздушную камеру (по Николау)**

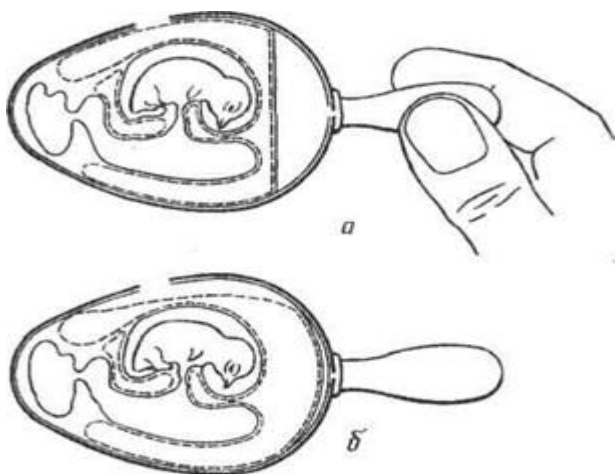
Такое заражение может быть выполнено через естественную или искусственную воздушную камеру.

Для заражения *через естественную воздушную камеру* эмбрион помещают в штатив вертикально тупым концом вверх и в скорлупе против центра воздушной камеры вырезают круглое окно диаметром 15-20 мм. Через это окно пинцетом снимают подскорлупную оболочку. На обнажившийся участок ХАО наносят 0,2 мл вирусосодержащей суспензии (рис. 5), отверстие закрывают лейкопластырем или, реже, покровным стеклом, укрепив его расплавленным парафином.

Заражение *через искусственную воздушную камеру* применяют чаще первого, так как оно



обеспечивает контакт вирусодержащего материала с большей поверхностью ХАО и, следовательно, ведет к образованию большого количества вируса. Для заражения эмбриона этим методом его помещают в штатив горизонтально зародышем вверх.



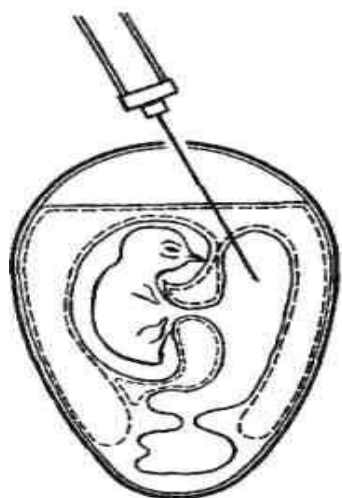
**Рис. 6. Заражение куриного эмбриона на ХАО через искусственную воздушную камеру (по Николау и др.)**

чтобы через образовавшийся дефект мог пройти воздух. После этого резиновой грушей через первое отверстие отсасывают воздух из естественной воздушной камеры (рис. 6, а). В результате через боковое отверстие наружный воздух устремляется внутрь, образуя искусственную воздушную камеру, дном которой является ХАО (рис. 6, б).

Через боковое отверстие на поверхность ХАО наносят инфекционную жидкость и отверстие закрывают кусочком лейкопластыря.

Закрывать первое отверстие нет необходимости, так как внутренний листок подскорлупной оболочки при этом методе заражения не нарушается и продолжает выполнять роль барьера для микрофлоры окружающей среды.

Дальнейшую инкубацию эмбрионов, зараженных этим методом, проводят в горизонтальном положении боковым отверстием вверх.



**Рис. 7. Заражение куриного эмбриона в желточный мешок (по Николау и др.)**

### **Заражение в желточный мешок.**

Большой частью им пользуются для размножения хламидий, а также вирусов болезни Марека, ринопневмонии лошадей, катаральной лихорадки овец и др. Заражают эмбрионы 5-7-дневного, а иногда и 2-3-дневного возраста (вирус лихорадки долины РИФ). Используют два варианта заражения.

*Первый вариант.* Эмбрионы помещают в штатив в вертикальном положении. Делают отверстие в скорлупе над центром воздушной камеры и вводят иглу на глубину 3,5-4 см под углом 45° к вертикальной оси в направлении, противоположном месту нахождения зародыша (рис. 7).

*Второй вариант.* Иногда аналогичный путь заражения осуществляется на горизонтально укрепленном в штативе эмбрионе; при этом зародыш находится внизу, а желток над ним. Отверстие в скорлупе закрывают каплей расплавленного парафина (см. рис. 4).

### **Заражение в амниотическую полость.**

Для этой цели используют эмбрионы 6-10-дневного возраста. Метод используется при культивировании вирусов гриппа, ньюкаслской болезни, ринопневмонии лошадей и др. Есть два способа заражения.

*Закрытый способ.* Заражение проводят в затемненном боксе. Яйцо помещают на овоскопе в горизонтальном положении зародышем. Через отверстие в скорлупе над воздушной камерой вводят иглу с затупленным концом по направлению к зародышу. Доказательством того, что игла проникла в амнион, служит движение тела зародыша в направлении передвижения.



**Рис. 8. Заражение куриного эмбриона в амнион открытым способом (по Николау и др.)**

*Открытый способ.* Скорлупу над воздушной камерой срезают так, чтобы образовалось окно диаметром 1,5-2,5 см. Через него пинцетом под контролем глаза снимают подскорлупную оболочку. Затем анатомический (14 см) пинцет с сомкнутыми браншами ведут, продавливая хорионаллантоисную оболочку по направлению к зародышу. Когда пинцет достигнет его, бранши размыкают, захватывают амниотическую оболочку вместе с ХАО и подтягивают к окну. Удерживая левой рукой пинцет с фиксированной в нем оболочкой амниона, вводят вирусосодержащий материал (рис. 8).

Далее все оболочки опускают, окно закрывают лейкопластырем и эмбрион инкубируют в вертикальном положении.

### **Заражение в тело зародыша.**

Для заражения используют эмбрионы 7-12-дневного возраста. Известно два варианта метода.

*Первый вариант.* Заражают так же, как в амнион закрытым способом, с той лишь разницей, что берут острую иглу и на овоскопе показателем попадания иглы в тело считают подчинение зародыша движениям иглы.

*Второй вариант.* Заражают так же, как в амнион открытым способом: через окно в скорлупе подтягивают пинцетом тело зародыша. Материал вводят в головной мозг или определенные участки тела. При таких методах заражения бывает значительный процент неспецифической гибели эмбрионов.

### **Заражение в кровеносные сосуды ХАО.**

При овоскопировании 11-13-дневных эмбрионов отмечают крупный кровеносный сосуд. По его ходу удаляют участок скорлупы, наносят 1-2 капли спирта, что делает на некоторое время подскорлупную оболочку прозрачной. Под контролем глаза на овоскопе иглу вводят в сосуд, что подтверждается его подвижностью при небольших боковых движениях иглы. Обнаженный участок подскорлупной оболочки закрывают кусочком лейкопластыря.

Можно материал в сосуды ввести и несколькими отличающимся способом: срезают скорлупу над воздушной камерой, подскорлупную оболочку смачивают спиртом и в ставшие видными сосуды ХАО вводят материал. Отверстие закрывают кусочком стерильного лейкопластыря.

Описанные технические приемы экспериментального заражения куриных эмбрионов не единственные, а имеют различные варианты.

Перед дальнейшей инкубацией на скорлупе зараженных любым методом куриных эмбрионов простым (графитным) карандашом пишут, чем заражен эмбрион и когда, а если нужно, то и другие сведения. Зараженные куриные эмбрионы помещают в термостат для дальнейшей инкубации, в процессе которой происходят репродукция внесенных вирусов и их накопление в соответствующих структурах. Температура инкубации эмбрионов варьирует от 33 до 38°C в зависимости от свойств вируса, которым проведено заражение.

За эмбрионами ведут постоянное наблюдение, просматривают на овоскопе, отбирая павшие.

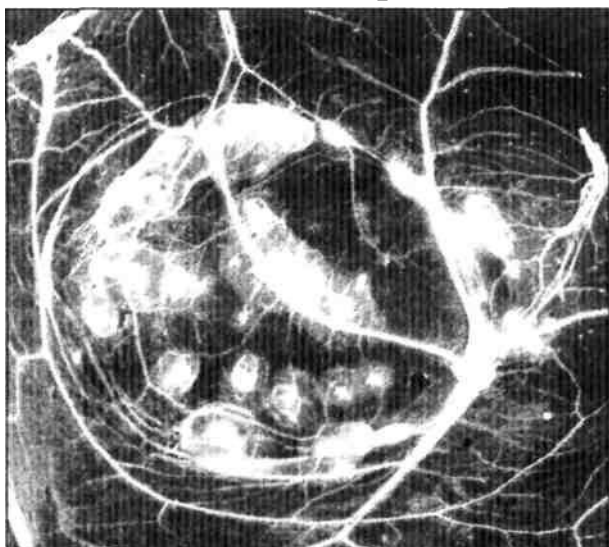
Гибель эмбрионов в первые 24 ч после заражения чаще всего обусловлена размножением грибов, бактериальной микрофлоры, внесенных в эмбрион вместе с инокулятом, или травмированием при заражении. Эта гибель считается неспецифической. В более поздние сроки эмбрионы гибнут в результате, как правило, размножения в эмбрионах вируса. Обнаружив погибшие эмбрионы, их сразу же переносят в холодильник с температурой 4 °С. Такие условия, с одной стороны, способствуют сохранению активности накопившегося в эмбрионе вируса, с другой – уплотнению тканей и запуску сосудов, что значительно облегчает последующее вскрытие.

Эмбрионы инкубируют до момента максимального накопления вируса. Для каждого вируса и даже штамма этот срок является определенным и варьирует в пределах от 2 до 7-8 сут. Так, для вируса ньюкаслской болезни штамма Н он составляет 2-3 дня, для того же вируса штамма В<sub>1</sub> – 5 дней, для вируса инфекционного ларинготрахеита птиц – 5 дней и т. д. Затем все эмбрионы умерщвляют охлаждением при 4°С в течение не менее 3-4 ч и вскрывают.

## 7. Индикация вируса в курином эмбрионе

### 7.1. Признаки размножения вируса в курином эмбрионе

Показателем заражения эмбриона вирусом может служить его



**Рис. 9. Узелки на ХАО куриного эмбриона, зараженного вирусом инфекционного ларинготрахеита птиц**

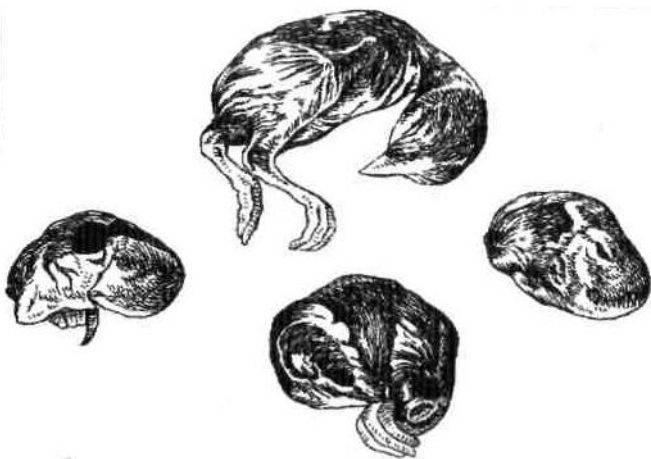
гибель в характерные для данного вируса сроки. Другой признак размножения вируса – патолого-анатомические изменения, появляющиеся в различных структурах эмбриона. Так, ХАО может быть отечной, иметь кровоизлияния, узелки, или, как их называют, оспины. Такого рода поражения наблюдаются при заражении куриных эмбрионов вирусами оспы птиц, инфекционного ларинготрахеита птиц (рис.9), болезни Ауески и некоторыми другими.

При этом размер и морфология оспин заметно различаются

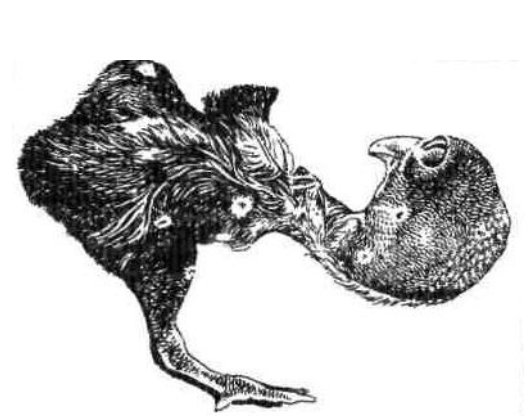
при размножении разных вирусов. Сам зародыш может отставать в росте и развитии от незараженных, т. е. проявлять феномен карликовости. Тело его может быть в разной степени обезвожено или мумифицировано, шея характерно перекручена. Названные признаки характерны для инфекционного бронхита кур (рис. 10). Кожа зародыша может быть гиперемирована, с кровоизлияниями (рис. 11).

Внутренние органы также могут иметь признаки размножения вируса. Например, набухшая желто-зеленого или темно-зеленого цвета печень куриного эмбриона – признак размножения в нем вируса гепатита утят.

Встречаются вирусы (например, штамм В<sub>1</sub> вируса ньюкаслской болезни), которые, размножаясь в куриных эмбрионах, не вызывают ни их гибели, ни патологоанатомических изменений. Обнаружить такой вирус можно лишь в том случае, если он обладает способностью агглютинировать эритроциты, т. е. с помощью реакции гемагглютинации (РГА).



**Рис. 10.** Инфекционный бронхит кур. Карликовость и мумификация куриных эмбрионов. Посередине вверху незараженный эмбрион того же возраста (*по Майру и др.*)



**Рис. 11.** Генерализованная оспа на теле куриного эмбриона, зараженного вирусом осповакцины (*по Майру и др.*)

Явление гемагглютинации представляет собой соединение эритроцитов в хлопья при добавлении к ним суспензии гемагглютинирующего вируса. Образованием таких мостиков между многими эритроцитами и объясняется склеивание эритроцитов в хлопья.

Образование хлопьев, видимых невооруженным глазом, можно наблюдать при смешивании капли суспензии вируса с каплей отмытых эритроцитов на плоской поверхности (стекла, керамики и др.).

При смешивании суспензии эритроцитов и вируса в пробирке хлопья эритроцитов оседают ровным слоем на дно в форме так называемого зонтика.

РГА используют для обнаружения и титрования вирусов. Хлопья эритроцитов появляются через 5-10 мин после смешивания капли вирусосодержащей жидкости и капли взвеси эритроцитов (рис. 12).

Положительная гемагглютинация не только указывает на присутствие вируса, но и выявляет его гемагглютинирующую активность с определенным видом эритроцитов, что может служить вспомогательным диагностическим признаком.



**Рис. 12. Капельная реакция гемагглютинации:**

*a* – гомогенная взвесь эритроцитов сразу после смешивания их с вирусосодержащей жидкостью; *б* – хлопья агглютинированных эритроцитов в той же смеси через 10 мин

Нередко при вскрытии эмбриона не удается обнаружить ни одного признака размножения вируса, хотя он и находится в исследуемом материале. Такой пассаж, как уже говорилось, называется «слепым».

## **7.2. Вскрытие куриного эмбриона и получение вирусосодержащего материала**

Вскрывают куриные эмбрионы с целью обнаружения признаков размножения в них вирусов и получения вирусосодержащего материала. Последнее требует соблюдения правил асептики при вскрытии.

В зависимости от того, каким вирусом был заражен эмбрион (а значит, в какой структуре он накопился соответственно тропизму), вирусосодержащим материалом могут служить ХАО, ткани зародыша, желточный мешок (его стенки), а также аллантоисная и амниотическая жидкости. В последнем случае выделение вируса наиболее удобно, так как экстраэмбриональные (аллантоисная, амниотическая) жидкости представляют, по существу, готовую суспензию вируса.

Перед вскрытием скорлупу эмбриона обрабатывают йодированным спиртом (иногда еще фламбируют). Вскрытие производят в боксе, пользуясь стерильными инструментами и посудой. Скорлупу срезают над той воздушной камерой (естественной или ис-

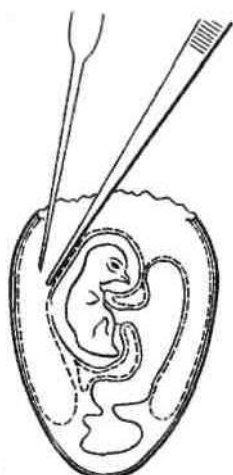


**Рис. 13. Вскрытие яйца**

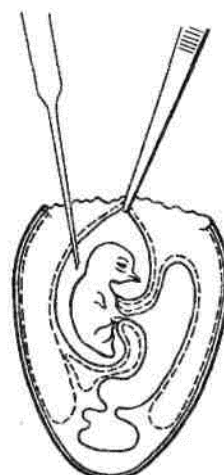
кусственной), через которую заражали. При этом яйцо держат под некоторым углом, чтобы скорлупа не упала внутрь. Ножницы не должны касаться и повреждать лежащую под воздушной камерой оболочку, для этого срез должен проходить несколько выше границы воздушной камеры (рис. 13).

Обнажившуюся ХАО осматривают, приподнимая ее пинцетом, с целью установления в ней патологоанатомических изменений. Часть ХАО, на которую был нанесен вируссодержащий материал, имеет обычно наиболее выраженные изменения. Для более тщательного осмотра ее и взятия этой части приподнимают пинцетом ХАО в этом месте и срезают ножницами возможно больше. Для осмотра и взятия всей ХАО удаляют зародыш, желточный мешок и белок, а хорионлантоисную оболочку отслаивают от внутренней поверхности скорлупы, извлекают и переносят в стерильную чашку Петри с физраствором. Оболочку отполаскивают, а затем двумя пинцетами расправляют так, чтобы она лежала в один слой и могла быть осмотрена по всей поверхности. Для того чтобы патологоанатомические изменения оболочки были видны более отчетливо, под чашку Петри подкладывают лист черной бумаги.

Аллантоисную жидкость в количестве до 10 мл отсасывают пипеткой, которой прокалывают подскорлупную оболочку и ХАО над телом зародыша (рис. 14).

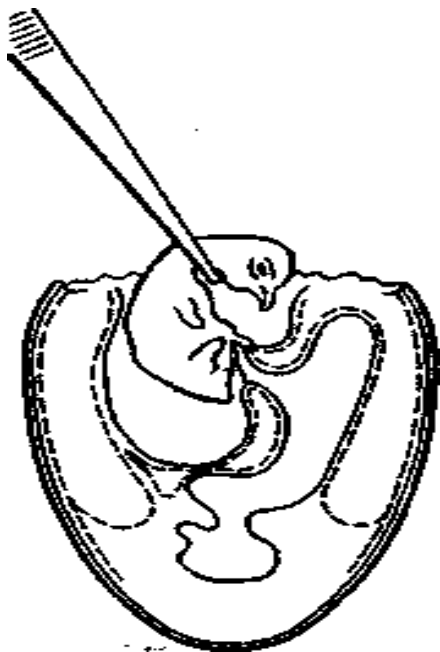


**Рис. 14. Отсасывание аллантоисной жидкости (по Николау)**



**Рис. 15. Отсасывание амниотической жидкости (по Николау и др.)**

Такое направление пипетки предотвращает случайный разрыв стенки желточного мешка и смешивание его содержимого с набираемой аллантоисной жидкостью. Амниотической жидкости удается отсосать до 1 мл. Для этого после удаления аллантоисной жидкости пипетку вводят в амнион между головой и телом зародыша под его шей (рис. 15).



**Рис. 16. Извлечение тела зародыша**  
*(по Николау и др.)*

Для получения стенки желточного мешка как вируссодержащего материала желток извлекают на чашку Петри, стенку его разрезают ножницами и отполаскивают от содержимого в физиологическом растворе. Тело зародыша извлекают, удерживая его за шею (рис. 16).

При вскрытии куриных эмбрионов ставят бактериологический контроль вируссодержащего материала посевом на МПБ, МПА, МППБ и среду Сабуро. Вируссодержащий материал хранят при температуре минус 25°C и ниже.



## Задания

1. Подготовить куриные эмбрионы к заражению.
  - а) провести овоскопирование куриных эмбрионов;
  - б) отобрать жизнеспособные куриные эмбрионы;
  - в) на скорлупе куриного эмбриона графитным карандашом отметить границу воздушной камеры и место нахождения зародыша;
  - г) обработать скорлупу куриного эмбриона йодированным спиртом.
2. Заразить куриные эмбрионы двумя, тремя методами (в аллантоисную полость, желточный мешок и на ХАО).
3. Вскрыть зараженные куриные эмбрионы, получить вируссо-державший материал.
4. Поставить капельную РГА с аллантоисной жидкостью.

## Контрольные вопросы

1. Преимущества куриных эмбрионов перед лабораторными животными.
2. Цели использования куриных эмбрионов в вирусологии.
3. Какое строение имеет развивающийся куриный эмбрион?
4. Какие методы можно использовать для экспериментального заражения куриных эмбрионов?
5. С чем связан выбор метода экспериментального заражения куриного эмбриона?
6. Перечислите признаки размножения вируса в куриных эмбрионах.
7. Какие структуры куриного эмбриона могут содержать вирус?
8. Порядок вскрытия куриного эмбриона и получение вируссо-державшего материала.
9. РГА и методика постановки капельного метода.

## Библиографический список

1. Троценко, Н.И. Практикум по ветеринарной вирусологии / Н.И. Троценко, Р.В. Белоусов, Э.А. Преображенская. – М.: Колос, 1989. – 272 с. (см. также издания 1999, 2000 гг.).
2. Белоусова Р.В. Практикум по ветеринарной вирусологии / Р.В. Белоусова, Э.А. Преображенская, И.В. Третьякова. – М.: Колос С, 2007. – 280с.
3. Госманов Р.Г. Ветеринарная вирусология / Р.Г. Госманов, Н.М. Колычев. – М.: КолосС, 2006. – 288 с.

# **КУРИНЫЕ ЭМБРИОНЫ И ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ В ВИРУСОЛОГИИ**

*Методические указания к лабораторным занятиям*

*Строганова Ирина Яковлевна,  
д-р биол. наук, и.о. проф.*

*Редактор И.Н. Крицына*

Санитарно-эпидемиологическое заключение № 24.49.04.953.П. 000381.09.03 от 25.09.2003 г.

Подписано в печать 4.07.2013 Формат 60x84/16. Бумага тип. № 1

Печать – ризограф. Усл. печ. л. 1,5 Тираж 110 экз. Заказ №

Издательство Красноярского государственного аграрного университета  
660017, Красноярск, ул. Ленина, 117