

Радзиховський М.Л., Дишкант О.В.

ОСНОВИ ВЕТЕРИНАРНОЇ ВІРУСОЛОГІЇ

НАВЧАЛЬНИЙ ПОСІБНИК

2- видання, доповнене і перероблене

Київ

2022

УДК 619:578(075.8)

Р 15

Рекомендовано до друку Вченою радою Національного університету біоресурсів і природокористування України (протокол № 4 від 23 листопада 2022 р.)

Рецензенти:

Ушкалов Валерій Олександрович – доктор ветеринарних наук, професор, академік НААН України, професор кафедри епізоотології, мікробіології і вірусології НУБіП України.

Уховський Віталій Вікторович – доктор ветеринарних наук, професор, завідувач науково-дослідного епізоотологічного відділу Державного науково-дослідного інституту з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи.

Ващик Євгенія Володимирівна – доктор ветеринарних наук, завідувачка кафедри ветеринарної медицини та фармації. Національний фармацевтичний університет.

Карчевська Тетяна Миколаївна – кандидат ветеринарних наук, доцент кафедри інфекційних та інвазійних хвороб. Заклад вищої освіти "Подільський державний університет".

Р 15 Основи ветеринарної вірусології : навчальний посібник / М.Л. Радзиховський., О.В. Дишкант – Київ : НУБіП України, 2022. – 180 с.

ISBN 978-617-7992-43-0

Навчальний посібник відповідає навчальній програмі з дисципліни «Ветеринарна вірусологія» та сприяє засвоєнню знань студентів в умовах зростання вимог до підготовки, а також перепідготовки фахівців ветеринарної медицини. За допомогою даного посібника читач може поглибити свої знання як з теоретичної так і практичної значущості, а саме формування уявлення про взаємодію вірусів та клітин тропних тканин, патогенез вірусних інфекцій, а також вивчення впливу на віруси в умовах господарства і клініки. В посібнику розглядається детальна класифікація вірусів, їх основні властивості, генетика та еволюція, значну увагу зосереджено перспективам розвитку сучасної лабораторної діагностики вірусних хвороб тварин.

УДК 619:578(075.8)

Радзиховський М.Л., Дишкант О.В.

НУБіП України

ЗМІСТ

Вступ	4
Історія вірусології	6
Розділ 1. Морфологія вірусів	9
1.1. Будова та симетрія вірусів	11
1.2. Хімічний склад вірусів	16
Розділ 2. Вірусна систематика та номенклатура	21
2.1. Класифікація ДНК-геномних вірусів	23
2.2. Класифікація РНК-геномних вірусів	30
2.3. Вірусна номенклатура	40
Розділ 3. Репродукція вірусів. Вірусна генетика та еволюція	43
Розділ 4. Накопичення вірусів на біологічних об'єктах	56
4.1. Вирощування вірусів в курячих ембріонах	56
4.2. Накопичення вірусів в культурах клітин	56
Розділ 5. Патогенез вірусних інфекцій	63
5.1. Імунна реакція на вірусні інфекції	69
5.2. Формування протівірусного імунітету	76
Розділ 6. Взаємодія віріонів і клітин в тканинах савців ссавців.	82
Фактори впливу на віруси	82
6.1. Вплив фізичних та хімічних факторів	84
6.2. Вплив протівірусних біопрепаратів	96
6.2.1. Профілактичні біопрепарати	96
6.2.2. Діагностичні біопрепарати	99
6.2.3. Лікувальні біопрепарати	99
Розділ 7. Лабораторна діагностика вірусних хвороб тварин	103
7.1. Правила відбору зразків вірусовмісного матеріалу та пересилання їх для лабораторного дослідження	106
Додатки	115
Словник термінів	123
Завдання для самоконтролю	136
Література	176

ВСТУП

Ветеринарна вірусологія вивчає інфекційні захворювання притаманні, з одного боку, лише для тварин, а з іншого – спільні як для тварин так і для людей. Інфекційна хвороба – це фізіологічні розлади здоров'я живих організмів (людей, тварин), спричинені наявністю специфічного збудника, циклічністю його розвитку, здатністю передаватись від зараженого організму до здорового та поширюватись на невизначні відстані.

Збудники інфекційних хвороб можуть паразитувати в організмах щурів, мишей та всіх видів домашніх і диких тварин, а також комах і птахів. Факторами передачі вірусів, як внутрішньоклітинних облігатних паразитів, можуть бути їжа, вода, предмети догляду, тощо.

Історія ветеринарної вірусології, триває лише близько століття, але вона переповнена масштабними відкриттями та практичним застосуванням. Завданням яких постало встановити концепцію специфічності виникнення хвороби, тобто, певні вірусні захворювання викликаються не якоюсь загадково отруйною речовиною, а швидше конкретними вірусами. Ця концепція призвела до впровадження конкретних стратегій профілактики та контролю, конкретних діагностичних тестів та специфічних терапевтичних підходів.

У 1892 Д.І. Івановський відкрив віруси – нову форму існування життя. Своїми дослідженнями він заклав основи низки наукових напрямів вірусології: вивчення природи вірусу, біологічних властивостей, форм мікроорганізмів, і вірусоносійства. Заслуги Дмитро Йосипович не тільки у тому, що він відкрив зовсім новий вид захворювань, а й у цьому, що він дав методи вивчення. Завдяки його дослідженням сформувався уявлення про віруси як про найдрібні організми, адже розмір найбільш дрібних з них дорівнював 20-30 нм., великі 300-400 нм і гігантські розмір яких доходять до 1,5 мкм. У середньому вони в 50 разів менші за бактерії. Їх не можна побачити у світловий мікроскоп, тому що їх довжини менше довжини світлової хвилі.

Положення про те, що віруси є повноцінними організмами, дозволило остаточно об'єднати всі три названі групи вірусів – віруси тварин, рослин та бактерій – в одну категорію, яка займає певне місце серед живих істот, що заселяють нашу планету. Той факт, що їх не вдалося вирощувати на штучних живильних середовищах поза клітинами, оскільки віруси були визначені як суворі внутрішньоклітинні паразити, тобто усі віруси за своєю природою – паразити. Вони здатні відтворювати себе, але лише усередині живих клітин. Ця властивість визнавалася не унікальною, властивою лише вірусам, оскільки внутрішньоклітинні паразити відомі і серед бактерій, і серед більш найпростіших. Тобто віруси здатні до репродукції і мають певну спадковість.

Зазвичай віруси викликають характерні, а інколи і специфічні ознаки захворювання. Потрапивши всередину клітини, вони "включають" її ДНК і, використовуючи свою власну ДНК або РНК, дають клітині команду синтезувати компоненти вірусу. Компоненти вірусу здатні до спонтанного утворення вірусу. Клітина, витрачає весь потенціал на синтез вірусів, що призводить до її загибелі внаслідок перевантаження новоутвореними вірусами. Віруси "розривають" оболонку клітини і отримують здатність передаватися до іншої клітини у вигляді інертних частинок. Віруси поза клітиною неактивна частинка – віріон, але при попаданні в клітину "оживають" тобто переходять у активну структуру і має назву «комплекс вірус-клітина».

Ветеринарна вірусологія має практичне значення як наука про інфекційні хвороби завдяки ряду наукових відкриттів, що впливають на продуктивність тварин, тривалість життя та благополуччя у всьому світі. Наприклад, великі епідемії ящуру, лихоманки, холери та чуми птиці, які були настільки поширеними в 19 столітті, були фактично усунені з розвинених країн шляхом застосування різних профілактичних заходів, стратегії контролю. У той же час багато з зоонотичних та харчових захворювань, які були причиною багатьох смертей людини, значною мірою контролюються в розвинених країнах.

Однак, навіть коли були подолані великі епідемічні інфекційні хвороби, з'явилися нові хвороби, що потребують підвищення кваліфікації та складніших технологічних рішень, ніж такі захворювання, як ящур та холера свиней, які були головними цілями контролю. Ще кілька років тому передове місце у вирішенні вірусної проблематики займала парвовірусна хвороба собак, а сьогодні саме губчаста енцефалопатія великої рогатої худоби, або COVID-19, який вразив більшу частину населення Земної кулі, представляє потребу в передових вірусологічних, в тому числі і ветеринарних, дослідженнях, технологіях та стратегіях контролю. Завтра це будуть інші захворювання, їх причина, природа та засоби боротьби абсолютно непередбачувані. У будь-якому випадку, вірусологічна база знань, яка представлена в нашому посібнику, дасть змогу розпізнавати та контролювати вірусні захворювання, які вражають домашніх й диких тварин, і часто людей, що знаходяться в прямому та опосередкованому контакті з тваринами.

Вірусологія, наука про інфекційні агенти неклітинної природи – віруси. Вірусологія є частиною біології, а також складовою частиною медичної та сільськогосподарських наук – медична, ветеринарна, рослинна. Вірусологія ділиться на загальну і спеціальну.

Загальна вірусологія вивчає фундаментальні проблеми – структуру і хімічний склад вірусних частинок (віріонів), взаємодію вірусів з клітиною і організмом, їх походження та кругообіг у природі та класифікацію вірусів, тощо. Найважливішим розділом загальної вірусології є молекулярна вірусологія, що досліджує структуру та функції вірусних частинок, механізми експресії вірусних генів, молекулярну еволюцію вірусів і т.д. Спеціальна вірусологія вивчає особливості окремих родин вірусів, розробляє методики лікування та профілактики вірусних інфекцій.

На сьогодні досі не вирішили: вважати віруси живими чи не живими. Віруси, з одного боку, мають властивості живого організму, а саме мають відповідний склад який включає нуклеїнову кислоту та білки, проявлять здатність до репродукції та мають спадковість і мінливість щодо особливостей не живого організму то це відсутність метаболізму, неклітинна будова, не мають власного обміну речовин і геном залежність від клітини господаря.

Доля авторів Радзиховський М.Лі (Розділи 1,3,4,5,7); Дишкант О.В. (Розділи 1,2,6,7)

ІСТОРІЯ ВІРУСОЛОГІЇ

Концепції специфічності виникнення хвороб викликаних вірусним інфекційним агентом безпосередньо залежать від початкових відкриттів мікробного світу, а саме бактерій. Теорію щодо поширення захворювань дрібними частинками, перенесеними на великі відстані запропонував Фракасторо (1546 р.).

У 1590 році голландець Захарій Янсен розмістивши 2 скельця від окулярів в трубці спостерігав збільшення предметів в 5-10 разів. Так з'явився прилад, який згодом назвуть мікроскопом. В подальшому співвітчизники Янсена неодноразово удосконалювали пристрій: в 1619 р. Корнеліус Дреббель зробив мікроскоп з опуклими лінзами, трохи пізніше Христіан Гюйгенс вигадав принцип регуляції окулярів. В 1665 англієць Гук удосконалив конструкцію мікроскопу Гюйгенса, провів спостереження щодо структури рослинних тканин і запропонував термін «клітина».

Найменших мешканців нашої планети вперше в історії людства побачив інший голландець з Делфта – купець Антоні ван Левенгук у 1676 році, вивчав природу в якості хобі за допомогою власне виготовленого мікроскопа. Він був відомим майстром і успішним виробником лінз. Облаштувавши лінзи в металеві оправы, він робив «прості» мікроскопи власної конструкції, які в 300 разів збільшували об'єкт спостереження.

Віруси як інфекційні агенти за будовою, механізмом зараження хазяїна принципово відрізняються від клітинних мікроорганізмів. Про їх існування стало відомо ще у 80-х роках 19 ст. Їх неможливо було побачити в оптичний мікроскоп, вони не затримувались бактеріальними фільтрами навіть найменшого діаметру.

В той час метод фільтрації був єдиним надійним критерієм, що дозволяв розрізнити збудників бактеріальних та не бактеріальних інфекцій. Саме тоді для визначення не бактеріальних збудників було запропоновано словосполучення *вірус*, що проходить крізь фільтр” (один з авторів терміну “вірус”, тобто “отрута” – Пастер).

Докладно явище зараження здорового організму при передачі невідомого збудника від хворого до здорового організму було описано наприкінці 19 сторіччя:

□ зараження здорової рослини від “мозаїчної” рослини тютюну (1892 р., Д.Й.Івановський). Вчений не дав відкритій інфекції певної назви, бо вважав, що віруси є найменшими бактеріями, що нездатні розмножуватись на мертвих субстратах. Але він докладно описав явище.

□ 1900 р., американський військовий лікар, бактеріолог Уолтер Рід при ліквідації епідемії жовтої лихоманки в Гавані, використав солдат-добровольців і довів, що хвороба передається не від людини до людини (невідомий збудник переносився комарами). Його співробітник Джеймс Керрол виділив з крові хворих збудника не бактеріальної природи.

Тому кінець 19 ст. можна вважати датою народження нової науки *вірусології*, хоча більшість мікробіологів вважала ці невідомі збудники дуже маленькими бактеріями. Потрібен був час для накопичення значного масиву наукової інформації (табл.1). Віруси стали роздивлятись як окрему групу організмів тільки в 1937 році, після виходу книги Бернета “Вірус як організм”.

З відкриттям такого методу досліджень як електронна мікроскопія з'явилась можливість бачити вірусні частинки, розвиток молекулярної біології та генетики дозволив розпочати докладне вивчення їх хімічного складу і будови.

Сучасна вірусологія – це наука, яка займається вивченням як фундаментальних питань, а саме вивченням фізико-хімічних, біологічних властивостей вірусів, особливостей розвитку вірусу в організмі господаря, вивченням екології та еволюції вірусів, формування імунітету проти вірусного патогену, так і питаннями прикладного характеру, які полягають у вивченні діагностичних напрямків та виробництві вакцин й сироваток.

Засновники вірусології як науки

Вагомий внесок у розвиток галузі вірусології, своїми відкриттями та досягненнями внесли вчені відзначені в таблиці «Хронологія становлення вірусології як науки».

Хронологія становлення вірусології як науки

Дата	Суть відкриття
1	2
1796 р.	Дженнер ввів вакцинацію проти вірусної хвороби віспи
1898 р.	Лоффлер і Фрош працюючи з Кохом, виявили перший вірус тварин (вірус ящуру). Вони описали фільтрабельність вірусу, зазначивши, що відфільтрований матеріал містив розчинену отруту надзвичайної сили (вірулентності) або ще нез'ясований агент, який настільки малий, що здатний пройти крізь пори фільтра, здатного утримати найменші відомі бактерії. На основі його вірулентності після послідовних розведень та апробації на піддослідних тваринах вони дійшли висновку, що збудник ящуру не був розчинним, а відновлював первинну вірулентність
1898 р.	Санареллі виявив вірус міксому
1890-х р.	Бейсрінк та Івановський , у відкрили перший вірус, вірус тютюнової мозаїки
1900 р.	Рід і Керролл , виявили у людини, вірус жовтої лихоманки, і на основі робіт Кертіса та його колег, довели трансмісивний шлях передачі вірусу
1900 р.	М. Фадьєн виявив вірус африканської чуми коней
1901 р.	Кентанні, Лоде та Грубер виявили вірус чуми птиці
1903 р.	Дешвейніц та Дорсет виявили вірус холери у свині
1908 р.	Еллерман і Банг виявили вірус лейкемії птахів, перший вірус, що викликає рак
1909 р.	Ландштайнер і Поппер виявили поліовірус
1911 р.	Раус виявив вірус пухлини, відомий зараз як вірус саркоми Рауса
1926 р.	Лейдлау і Данкін виявили вірус чуми собак
1931 р.	Шопе виявив вірус свинячого грипу
1933 р.	Ендрюес, Лейдлау, Сміт та Бернет вперше виділили вірус грипу, лише через 15 років після великої пандемії грипу 1918-1919 років, у результаті якого загинуло від 25 до 40 мільйонів людей
1935 р.	Макс Тейлер розробив вакцину проти жовтої лихоманки, яку використовують і сьогодні

1	2
1940 – 1950-х рр.	Олафсон, Притчард, Гілзпі, Бейкер – визначили причину виникнення вірусної діареї великої рогатої худоби
1950-х р	Сигурдссон досліджуючи скрепі та вісна-маєді у овець, запропонував концепцію повільних інфекційних захворювань
1954 – 1957 рр.	Салк і Сабін розробили методику інактивування вірусів для створення ослаблених вакцин проти поліомієліту
1984 р.	Монтаньє та його колеги, виявили вірус імунодефіциту людини (ВІЛ)
1986 р.	Прусінер разом з британськими ветеринарними вірусологами, виявили збудника губчастої енцефалопатії великої рогатої худоби і виявили природу пріонів, етіологічних агентів губчастої губчастої енцефалопатії, скрепі та подібних захворювань, а в 1997 році Прусінеру було присуджено Нобелівську премію.
1987 р.	Педерсен та його колеги, виявили вірус котячого імунодефіциту

Такі науки як імунологія, клітинна і молекулярна біології переплітаються з вірусологією та науками про інфекційні хвороби з самого початку їх зачаткування: ці науки також мають великих вчених, які значно вплинули на сучасну ветеринарну вірусологію. У імунології варто відзначити Метнікова, Бордета та Ерліха, які відкриттями, зробленими між 1883 та 1909 роками, описали природу імунної системи; Лоффлер, Раус, Ерсін та Берінг, які в 1888 р. виявили бактеріальні токсини та антитоксини; Евері та Ленсіфілд, які між 1928 та 1933 роками розробили основні концепції діагностики інфекційних захворювань; Портер, Едельман та Нісонофф, які в 1959 р. описали будову та молекулярну функцію антитіл; Джерн і Бернет – в 1974 р. запропонували клональний відбір як основу імунної відповіді; Догерті та Цинкернагель, в 1974 р. виявили, як клітинна імунна система розпізнає заражені вірусом клітини; та Колер й Мільштейн, в 1975 р. розробили перші моноклональні антитіла.

У клітинній біології необхідно відзначити таких науковців, як: Карреля, Штейнхардта, Орела, Пука, Дульбекко, Ендерса та інших, які з 1910-х до 1960-х років винайшли методи ведення клітинної культури, та Палада, Клода, Портера і де Дюва, які описали в 1960-1970-х роках структуру клітин і органел та їх біохімічні функції.

У молекулярній біології відзначають роботи Евері, Герші та Чейза, які між 1944 та 1952 роками показали, що ДНК несе всю спадкову специфіку; Ватсон і Крик, в 1953 р. відкрили структуру ДНК і тим самим молекулярну основу спадковості; Ніренберг, Очоа, Маттай та Хорана, між 1961 та 1966 роками розшифрували генетичний код; Коен і Бойер в 1973 р. розробили технологію рекомбінантних ДНК.

З цієї короткої, далеко не повної історії, видно, що ветеринарна вірусологія з самого початку переплітається з медичною вірусологією та іншими науками про інфекційні захворювання.

Контрольні запитання

- 1. Коли стало відомо про їх існування стало?*
- 2. Коли і ким була започаткована вірусологія і які події цьому передували ?*
- 3. Кому належить перше використання терміну «вірус» і хто ввів його у широкий науковий ужиток ?*
- 4. Назвіть вчених, які працювали у галузі вірусології та стали лауреатами Нобелівської премії ?*
- 5. Історія відкриття вірусів ?*

РОЗДІЛ 1. МОРФОЛОГІЯ ВІРУСІВ

Віруси – це автономні неклітинні генетичні структури, яких відносять до мікробного світу найменших розмірів (10-800 нанометрів). Розмноження вірусів за межами клітини-хазяїна неможливе. Вони не мають функціональних органел і повністю залежать від свого господаря, тобто є внутрішньоклітинними облігатними паразитами та взаємодіють з клітинами на біохімічному та молекулярно-генетичному рівнях, блокують нормальну роботу хромосом хазяїна і тому належать до генетичних паразитів. Вони містять лише один тип функціональної нуклеїнової кислоти – або ДНК, або РНК, ніколи не обидві, і вони відрізняються від мікроорганізмів тим, що мають дві чітко визначені форми у своєму життєвому циклі.

Поза клітиною господаря віруси метаболічно інертні, тобто неактивні частинки (віріони), які мають зневоднений набір хімічних речовин. За цієї форми їх життєвого циклу беруть участь у розповсюдженні в навколишньому середовищі, міжклітинному просторі, крові, лімфі, тощо. Після потрапляння в клітину неактивна частинка – віріон, перетворюється на активну форму і розпочинає інфекційний процес. Якщо імунна система макроорганізму не здатна швидко припинити репродукцію вірусу – виникає хвороба і збудник разом з патологічним матеріалом знову потрапляє у навколишнє середовище. Зважаючи на вище вказане, таким чином виникає кругообіг вірусів (рис.1).

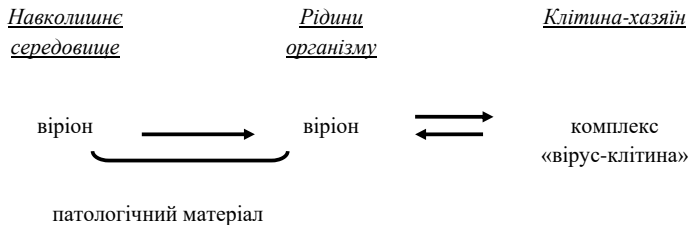


Рис. 1.1. Кругообіг вірусів

Усередині клітини-хазяїна віруси метаболічно активні структури, які розібрані на складові частини, існують лише під час репродукції вірусу в клітинах зараженого (сприйнятливої, чутливої) господаря і мають назву «комплекс вірус-клітина». Це їх реплікаційна фаза, в якій вірусний геном використовує механізм клітини-хазяїна для отримання копій генома нащадків, РНК вірусного месенджера та вірусних білків (часто разом з вуглеводами та ліпідами), які збираються для утворення нових віріонів (вірусних частинок).

Віруси менші ніж мікроорганізми і вимірюються в нанометрах (нм), а це одна мільярдна частина метру (10^{-9} м). Хребетних найчастіше вражають віруси розміром від 30 до 500 нм. Дрібні віріони (карликові) розмірами 18-30 нм, нагадують великі полімерні молекули. Великі віруси (гігантські) – від 500 до 900 нм за розмірами подібні до деяких мікробів (наприклад, мікоплазм, хламідій і рикетсій), проте мають зовсім іншу будову. Маса віріонів вимірюється в Дальтонах (Да). Довжина нуклеїнової кислоти віріона, як і у

клітинних об'єктів набагато більше їх лінійних розмірів. Вона вимірюється в міліметрах або в кбт/с.

Ключові відмінності між вірусами та мікроорганізмами перераховані в табл. 1.1.

Таблиця 1.1

Порівняння вірусів та клітинних мікробів

Характеристика	Віруси	Клітинні мікроби
1	2	3
Розміри	10-800 нм	в мікрометрах (<u>мкм</u>) , а хламідії, мікоплазми в нанометрах (<u>нм</u>)
Назва частинки	віріон	1. Клітина (у бактерій) 2. Спори, гіфи, конідії, спорангіоспори, тощо (у грибів та актиноміцетів)
Генетична інформація	або РНК або ДНК	одночасно ДНК і РНК
Виникнення мутацій	+	+
Мікроскопія	електронна, наноскопія, світлова та флюоресценція	
1	2	3
Наявність органоїдів	-	+
Обмін речовин	-	+
Здатність до паразитизму	+	1. Облігатні паразити (хламідії, рикетсії) 2. Факультативні паразити (мікроби інших морфологічних груп)
Ріст на агарах, бульйонах	-	+ у вигляді колоній, штрихів, плівок
Ріст в організмі тварин	+	+
Відтворення в клітині-хазяїна	репродукція	розмноження

Кількість вірусів в різних органах залежить від тропізму збудника. Найкращі умови для колонізації тканин хазяїна і стрімкої репродукції паразита виникають в тропних тканинах, завдяки відповідній температурі та рН, наявності комплементарних рецепторів в оболонках вірусу та на цитоплазматичній мембрані клітини.

По різних шляхах інфекції мікроорганізми потрапляють в певну систему органів, яка називається воротами інфекції (табл.1.2).

Потрапляння мікроорганізмів в організм тварин

Ворота інфекції	Шлях зараження
Дихальні шляхи	повітря – аерогенний (повітряно-крапельний)
Нервова система	рани, пошкоджена шкіра та слизові оболонки, укуси хворих тварин, предмети догляду за хворими – контактний
Шкіра, слизові оболонки ротоглотки, статевих органів	
Шлунково-кишковий тракт	корм, вода – аліментарний
Кров	укуси комах – трансмівний ; статевим шляхом, ін'єкції (проколи м'яких тканин), переливанні зараженої крові – парентеральний

Явище тропізму призводить до того, що віруси, оптимально для яких є умови шлунково-кишкового тракту називають ентеротропними; нервової системи – нейротропними; шкіри – дермотропними (епітеліотропними); органів дихання – пневмотропними (респіраторними). До одночасного розвитку в різних системах органів здатні пантропні віруси, які одночасно репродукуються в декількох системах органів, саме така властивість інфекційного агента ускладнює діагностику і лікування хвороб вірусної етіології.

1.1. Будова та симетрія вірусів

Віруси характеризуються певними молекулярно-генетичними особливостями та будовою. Для позначення будови вірусів користуються термінами “структура”, “архітектура”, або “архітектоніка” на відміну від термінології, яку використовують для клітинних об’єктів – “морфологія”.

Захист нуклеїнової кислоти віруса, від дії чинників оточуючого середовища, залежить від кількості оболонок, згідно структури віріони поділяються на: прості (безоболонкові) та складні (оболонкові). Такий розподіл вказує не на наявність оболонок взагалі, а на їх кількість у тих чи інших віріонів.

Прості (30-70 нанометрів) і складні (50-800 нанометрів) віруси складаються з єдиної молекули нуклеїнової кислоти або ДНК, або РНК, які вкриті білковою оболонкою – капсидом, складений із капсомерів (рис. 1.2). При цільній взаємодії речовин капсиду з нуклеїновою кислотою спільна структура називається нуклеокапсид. Нуклеокапсид деяких вірусів оточений ліпопротеїновою оболонкою, існує багато варіацій цих конструкцій.

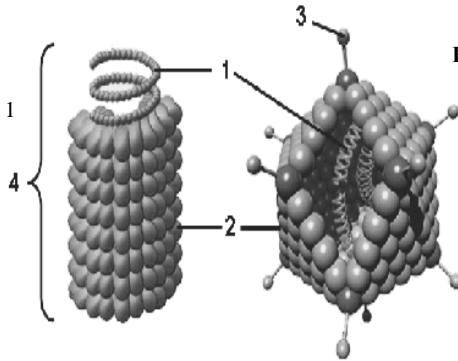


Рис.1.2. Структури простих вірусів:

- геном;
- 2 – капсид чи нуклеокапсид;
- 3 – капсомер з виростами;
- 4 – нуклеокапсид

Нова інформація про структуру та організацію компонентів вірусного капсиду, отриманих за допомогою рентгенокристалографічних аналізів, вимагає нового синтезу термінології, що використовується для опису віріонів. Деякі особливості стосуються морфологічно визначених структур, інші – самих молекулярних компонентів. Капсомери або морфологічні одиниці – це помітні ознаки (випинання, западини тощо), що спостерігаються на поверхні віріонів за допомогою електронної мікроскопії. Складені поліпептидні ланцюги, визначені вірусним геномом, містять білкові субодиниці, що містять структурні підрозділи, і в свою чергу набори цих структурних підрозділів містять будівельні одиниці, які є основними проміжними речовинами при утворенні вірусних капсидів. З первинних продуктів біосинтезу збираються лише найпростіші віріони, тобто білкові субодиниці. У більшості випадків віріони будуються з різних підшарних шарів процесами, що включають послідовний синтез та модифікацію чи розщеплення попередників. Однією з найважливіших потреб у складанні віріона є включення вірусної нуклеїнової кислоти в зароджений віріон – кілька різних механізмів, що ведуть цей процес, були визнані, включаючи наявність сигналів упаковки в послідовності геномної нуклеїнової кислоти.

Ультраструктура зрілих складних (оболонкових) віріонів включає: геном, серцевину (необов'язкова структура, яка властива лише для окремих вірусів де дезокси- або рибонуклеїнова кислота захищена білками, які не являються частиною капсидної оболонки), капсид, у складі таких вірусів додатково є матрикс, суперкапсид, пепломери та у деяких пеплос (необов'язкова додаткова оболонка, яка утворюється за рахунок великої кількості щільно прилягаючих один до одного пепломерів) (рис.1.3). Всі обов'язкові структури простих і складних вірусів виконують певні функції.

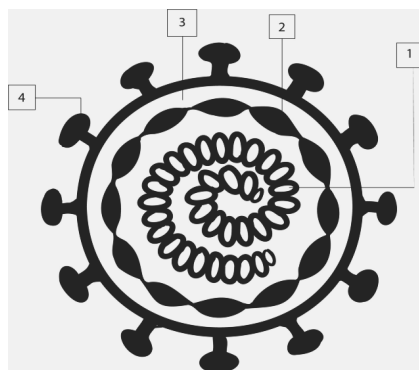


Рис.1.3. Структури складних вірусів: 1 – нуклеокапсид; 2 – матрикс; 3 – суперкапсид; 4 – пепломери

З міркувань генетичного еволюційного прогресування віріони збираються з декількох копій одного або кількох видів білкових субодиниць, повторне виникнення подібних білкових інтерфейсів призводить до складання таких субодиниць у симетричні капсиди. Ця ефективність конструкції також залежить від принципів самозбирання, де конструктивні блоки приводяться в положення шляхом випадкового теплового руху і скріплюються на місці через слабкі хімічні зв'язки. Віруси збираються за різними механізмами тому бувають різних форм і розмірів, залежно від форми, розміру та кількості їх білкових субодиниць та характеру інтерфейсів між цими субодиницями, розпізнано лише два типи симетрії – ікосаедрична та спіральна.

Кубічна симетрія і форма кульки характерна для всіх простих вірусів хребетних, де відбувається процес вбудовання геному в готовий прокапсид. Замикання останнього для утворення кульки призводить до втрати частини або всього геному і утворення дефектних віріонів (до 90% в зразку).

В деяких випадках формування простих віріонів кубічної симетрії може відбутися без вбудовування геному, в таких випадках їх називають «порожніми капсидами». А штучно сконструйовані «порожні» капсиди являються одним з типів вірусних вакцин.

Всі віріони із вкороченим геномом (дефектні частинки) виникають під час репродукції збудника в зараженій клітині (на стадії збирання). За своїми особливостями вони поділяються декілька груп:

1. псевдовіріони та інтегровані віруси є авірулентними або неактивними (не здатними здійснити повноцінне захоплення організму). Клітина, заражена ними, існує довгий час без втрати функцій, передає і власні, і вірусні гени дочірнім клітинам. Але з часом така інтеграція може призвести до онкогенної трансформації клітин-хазяїв і виникнення пухлин.

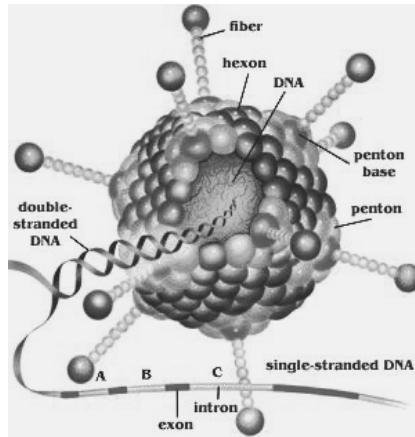
2. інтерферовані віруси та віруси-супутники (ДІ - частинки) містять лише частину стандартного геному. Певні з них ніколи не зможуть створити нові віріони і не викликати хворобу, але як корпускулярні повноцінні імуногенні антигени будуть сприяти формуванню гуморального імунітету.

Інші ДІ-частинки все ж здатні до репродукції. Вона відбувається, коли в заражену клітину проникають повноцінні віруси-помічники того ж типу або віріони спорідненого виду

(віруси-супутники).

Прості віруси з паличкоподібним та нитковидним капсидом (спіральною симетрією) наявні лише у простих вірусів комах і рослин.

Віріони з ікосаедричною симетрією мають 12 вершин (кутів), 30 ребер та 20 граней, кожна з яких має рівносторонній трикутник. Ікосаедри мають осі двох-, трьох- та п'ятикратної обертової симетрії, які проходять відповідно через їхні краї, грані та вершини (рис. 1.4).



1.4. Принцип побудови віріонів із ікосаедричним капсидом

Ікосаедр – це оптимальне рішення проблеми побудови, із повторення субодиниць, сильної структури, що охоплює максимальний об'єм. Ці ж принципи використовував архітектор Бакмінстер Фуллер у своєму дизайні ікосаедричних будівель (геодезичні куполи). Лише певні композиції структурних одиниць можуть утворювати грані, краї та вершини вірусних ікосаедрів. Структурні одиниці або капсомери на гранях і краях, наприклад, аденовірусних віріонів, зв'язуються з шістьма сусідніми капсомерами і називаються гексонами; ті у вершинах зв'язуються з п'ятьма сусідами і називаються пентонами. У віріонах деяких вірусів і гексони, і пентони складаються з одних і тих же поліпептидів, тоді як у інших вірусів вони утворюються з різних поліпептидів. Через відмінності в розташуванні структурних підрозділів щодо різних вірусів, деякі виглядають досить шестикутними в обрисах, а деякі – майже сферичними.

Прості віруси одного виду з різних географічних регіонів, можуть мати капсиди, у яких відрізняється послідовність білків в протомерах. Така зміна призводить до появи нових антигенних варіантів або нових типів віріонів.

Тому на конкретній території для профілактики хвороб повинні застосовуватись вакцини, виготовлені на основі регіональних штамів.

Складні віруси хребетних можуть мати кубічну чи спіральну симетрію, і – через це – різну форму. У окремих видів вірусів наявна так звана складна симетрія капсиду чи всього віріону. В такому випадку форма зовнішньої оболонки складного вірусу не повторює форму

капсиду або вірус складається з 2-х частин, що мають кубічну та спіральну симетрію (бактеріофаги).

Нуклеокапсид декількох РНК-вірусів самостійно збирається як циліндрична структура, в якій структурні одиниці білка розташовані як спіраль, звідси і термін спіральна симетрія. Саме форма і багаторазове виникнення однакових білкових інтерфейсів на структурних одиницях призводять до симетричного складання спіралі (рис. 1.5).

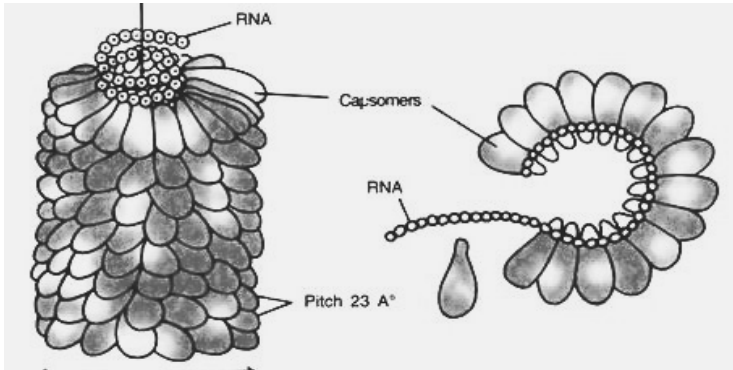


Рис. 1.5. Принцип побудови віріонів із спіральним капсидом

У спіральні симетричних нуклеокапсидах геномна РНК утворює спіраль всередині нуклеокапсиду. Багато вірусів рослин із спіральними нуклеокапсидами мають стрижневу форму, гнучку та нерозвинену. Віруси із спіральною симетрією формують капсид з довгої білкової молекули, яка накручується на нуклеїнову кислоту, як на вторинну котушку і упакується в ліпопротеїнову оболонку, у всіх таких вірусів тварин спіральний нуклеокапсид. Тому віріони з паличкоподібними капсидами майже не утворюють неактивних частинок (5-10% віріонів зразка).

Віріони формують свій зовнішній шар, коли їх нуклеокапсид екструдуються через одну з клітинних мембран. Цей процес відомий як брунькування. Ліпіди вірусної оболонки отримують безпосередньо з клітинної мембрани, але білки, пов'язані з оболонкою, кодується вірусом. Існує кілька видів білків, пов'язаних з оболонкою, пов'язаних щонайменше з чотирма вирішальними діями: зв'язування рецепторів, злиття мембран, покриття та знищення рецепторів. Глікопротеїни, як правило, у формі димерів або тримерів, збираються у пепломери (пеплос – додаткова необов'язкова оболонка) або шипи, що спостерігаються на електронних мікрографах на поверхні ортоміксовірусів, параміксовірусів, рабдовірусів, філовірусів, коронавірусів, буньявірусів, ретровіруси. Злиті білки є глікозилітованими і також пов'язані з пепломерами; вони беруть участь у ключових кроках щодо введення та вивільнення вірусу. Матричні білки неглікозилізовані і знаходяться у вигляді шару на внутрішній стороні оболонки ортоміксовірусів, параміксовірусів, рабдовірусів, філовірусів та ретровірусів, але не коронавірусів, буньявірусів та аренавірусів. Матричний білок забезпечує додаткову жорсткість віріону (наприклад, спіральний нуклеокапсид рабдовірусів

тісно з'єднаний з досить жорстким шаром матричного білка, який, у свою чергу, тісно пов'язаний з суперкапсидом та поверхневими глікопротеїновими пепломерами).

Вірусні капсиди та оболонки – це не просто структури, необхідні для захисту нуклеїнової кислоти, вони повинні бути в первинному стані для полегшення поглинання та зараження клітин-мішеней. Наприклад, при проникненні в клітину-хазяїна вірусу грипу гемаглютинін останнього розщеплюється позаклітинними ферментами, утворюючи базову модифіковану структуру. Після потрапляння в клітину-хазяїна шляхом ендцитозу, гемаглютинін активується при впливі низького рівня рН в ендосомі. Цей активований гемаглютинін опосередковує пошкодження мембрани ендосом, тим самим дозволяючи потрапляння вірусної РНК у цитоплазму.

Знання структури віріонів формує таке практичне значення:

1. функції, що забезпечують приєднання, проникнення та захист віріону як об'єкта для створення протівірусних препаратів;
2. етапи складання віріонів, як об'єкту для розробки та використання протівірусних препаратів;
3. основи, що забезпечують цілісність віріону як об'єкту для дезінфекції;
4. механізми формування вірусів та закономірності передачі вірусу як об'єкту для створення вакцини. Таким чином знання структури віріона сприяє розробці стратегій профілактики та боротьби із захворюваннями.

1.2. Хімічний склад вірусів

Віруси відрізняються від усіх інших форм життя своїм простим хімічним складом, який включає геном, що має одну або кілька молекул або ДНК, або РНК, протеїни, які утворюють віріон (тобто структурні білки, включаючи білки капсиди, в деяких випадках білки оболонки, такі як глікопротеїни та матричні білки), білки, необхідні для складання віріону (неструктурні білки), білки, які полегшують вірусне поглинання механізмом клітин-хазяїна (ферменти, що беруть участь у вірусній реплікації) а деякі віруси включають вуглеводи (переважно як бічні ланцюги на глікопротеїнах) та ліпіди.

Віруси демонструють надзвичайно різноманітну стратегію експресії своїх генів та реплікації своїх геномів. Розуміння таких властивостей вірусів має велике практичне значення, особливо в розумінні патогенезу інфекцій і захворювань та застосуванні раціональних засобів профілактики й контролю захворювань. Багато з виявлених останнім часом вірусів мають дуже обмежений діапазон хазяїв і тканинних тропізми. По мірі виявлення все більшої кількості таких вірусів, можемо очікувати на додаткові нові стратегії реплікації та експресії геному, кожен з яких потребує нових підходів до дослідження.

Прості віріони містять такі органічні речовини як нуклеїнові кислоти та білки, а складні – нуклеїнові кислоти, білки, вуглеводи, ліпіди (табл. 1.3, рис. 1.6).

Хімічні речовини в структурах вірусів

Назва речовини	Тип вірусу	
	Простий	Складний
Нуклеїнова кислота	РНК або ДНК (геном)	
Білки	Прості (капсид)	1. Прості (капсид). 2. Складні (матрикс, білки хазяїна в суперкапсиді, пепломери суперкапсиду)
Вуглеводи	Моноцукри рибоза або дезоксирибоза в геномі	1. Моноцукри рибоза або дезоксирибоза в геномі 2. Фруктоза, сахароза, манноза, галактоза, глюкоза мін, нейрамінова кислота в складі пепломерів
Ліпіди	—	Фосфоліпіди, холестерин в суперкапсиді та пепломерах-гліколіпідах

У складних віріонів наявні різноманітні білки (капсид, серцевина, матрикс, пепломери) та вуглеводи (суперкапсид, пепломери). У простих вірусів є лише 2-3 види білків в капсиді та 1 вид моноцукрів в нуклеотидах геному (або рибоза, або дезоксирибоза).

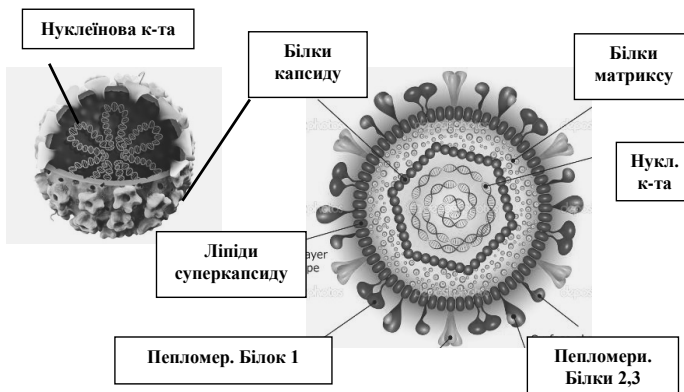


Рис.1.6. Речовини простих і складних вірусів

Вірусні нуклеїнові кислоти

Вірусні гени кодується або в геномах ДНК, які можуть бути дволанцюговими чи одноланцюговими і можуть бути однолінійними (усі вірусні гени, що містяться в одній молекулі нуклеїнової кислоти) або дволінійними, а також сегментованими (вірусні гени, розподілені в декількох молекулах або сегментах нуклеїнової кислоти). Наприклад, серед вірусів РНК лише віруси родин *Reoviridae* та *Birnaviridae* мають дволанцюговий геном РНК, і ці геноми сегментовані (*Reoviridae*: 10, 11 або 12 сегментів, залежно від роду; *Birnaviridae*: 2 сегменти). Усі вірусні геноми є гаплоїдними, тобто містять лише одну копію кожного гена, за винятком ретровірусних геномів, які є диплоїдними.

Вірусний геном ДНК

Геном усіх вірусів ДНК хребетних складається з однієї молекули, яка є дволанцюговою, за винятком парвовірусів.

Геноми ДНК можуть бути лінійними або кільцевими, залежно від родини вірусів. ДНК поліомавірусів, гепатнавірусів та цирковірусів є циркулярними (кільцевими). Кільцева ДНК гепатнавірусів частково дволанцюгова, частково одноланцюгова. Циркулярна (кільцева) ДНК паповавірусів також замикається. Більшість лінійних вірусних ДНК мають характеристики, які дозволяють їм прийняти кільцеву конфігурацію, що є вимогою до реплікації за допомогою механізму кочення, що котирається.

Розмір геномів вірусної ДНК коливається від 1,7 кбіт/с для деяких цирковірусів, до понад 200 кбіт/с для найбільшого з дволанцюгових герпесвірусів ДНК і поксвірусів. Оскільки 1 кб або 1 кбіт для дволанцюгової ДНК містить достатню генетичну інформацію для кодування приблизно одного білка середнього розміру, можна припустити, що вірусні ДНК містять приблизно від 2 до 200 генів, що кодує приблизно від 2 до 200 білків.

Вірусні ДНК містять кілька видів некодуючих послідовностей, деякі з яких збереглися протягом еволюційного часу, оскільки вони кодують життєві функції. До них відносяться: ініціація реплікації ДНК, розпізнавання РНК-полімерази, ініціація трансляції та термінації, сплайсинг РНК, тощо.

Вірусний геном РНК

За винятком реовірусів і бірнавірусів, геноми всіх хребетних РНК-вірусів є однопартійними. Вони можуть бути однопартійними або багатопартійними (ті, що мають сегментовані геноми на часинки, укладені в різні капсули, які незалежно передаються): наприклад, ретровіруси, параміксовіруси, рабдовируси, філовіруси, коронавіруси, артеровіруси, пікорнавіруси, тогавіруси, і флавівіруси мають геноми однопартійний (одночастинний), тоді як ортоміксовіруси, буньявіруси, реовіруси та бірнавіруси є багатопартійними (багаточастинними). Геноми аренавірусів складаються з 2 сегментів, буньявірусів – 3, ортоміксовірусів – 6, 7 або 8 (залежно від роду), бірнавірусів – 2 та реовірусів – 10, 11 або 12 (залежно від роду). Кожна молекула РНК у цих вірусів є унікальною (часто кодує один білок). Однак одноланцюгова РНК буньявірусів і аренавірусів виявляється «круглою» через «липкі» кінці, пов'язані з воднем. Геноми одноланцюгових РНК-вірусів мають вторинну структуру, області базового сполучення, що викликають утворення петель, шпильок, тощо, які, ймовірно, служать сигналами, що контролюють реплікацію нуклеїнової кислоти, транскрипцію, трансляцію та / або упаковку в капсид.

Одноланцюгову геномну РНК можна визначити відповідно до її полярності. Якщо вона має ту саму полярність, що і мРНК, тобто вона може направляти синтез білка – має позитивну полярність. Це стосується пікорнавірусів, каліцивірусів, тогавірусів, флавівірусів, коронавірусів та ретровірусів. Якщо послідовність геномних нуклеотидів є комплементарною послідовності мРНК – має негативну полярність. Це стосується параміксовірусів, рабдовирусів, філовирусів, ортоміксовірусів, арена- та буньявірусів, які мають у віріоні залежну від РНК полімеразу РНК (транскриптазу), яка в зараженій клітині транскрибує позитивну чутливість РНК, використовуючи вірусний геном як шаблон. З аренавірусами та одним родом буньявірусів один із сегментів РНК є амбісенсом, наприклад, частина «+РНК» та частина «-РНК», тобто вібріони у яких в одній популяції зустрічається як позитивна так і негативна полярність геному, називаються амбісенс-вірусами. Там, де вірусна РНК має позитивний сенс, вона зазвичай поліаденільована на своєму 3 кінці (у пікорнавірусах, каліцивірусах, тогавірусах та коронавірусах, але не у флавівірусах) та обмежена на її 5' кінці (тогавіруси, флавівіруси, коронавіруси).

Розмір одноланцюгових вірусних геномів РНК коливається в межах від 1,7 до 21 кбт, а у дволанцюгових РНК-вірусів від 18 до 27 кбт, набагато менший діапазон, ніж серед вірусів ДНК. Відповідно, ці віруси кодують менше білків, ніж багато вірусів ДНК, як правило, менше десятка. Більшість сегментів геномів ортоміксовірусів та реовірусів є індивідуальними генами, кожен з яких кодує один унікальний білок.

Аномальні особливості вірусних геномів

Вірусні препарати часто містять деякі частинки з нетиповим вмістом нуклеїнової кислоти. Кілька копій повного вірусного геному можуть бути укладені в межах одного віріона, або можуть утворюватися віріони, які не містять нуклеїнової кислоти (порожні частинки) або мають неповний геном (дефектні інтерферуючі частинки).

Вірусні білки

Віріони всіх вірусів хребетних містять кілька різних білків, кількість яких становить від 1 у простого вірусу до > 100 у складного. Деякі білки, кодовані вірусами, є структурними, тобто їх використовують для побудови капсиду та інших компонентів віріона. Інші білки неструктурні; деякі з них, що не входять до складу зрілого віріона, беруть участь у складанні віріона, а інші беруть участь у різних аспектах вірусних реплікацій. Останні – це ферменти, більшість з яких беруть участь у реплікації нуклеїнової кислоти, транскрипції та трансляції, а також у відключенні функцій клітин-хазяїв та руйнуванні її механізму вірусно-синтетичної діяльності.

Вірусні глікопротеїни

Більшість вірусних глікопротеїнів зустрічаються у вигляді мембран, закріплених пепломерами (шипями), що простягаються назовні від оболонки складних вірусів, але віріони деяких таких вірусів також містять глікозилізовані внутрішні або зовнішні білки капсиду. Бічні ланцюги олігосахариду (глікони) приєднані N-глікозидними або, рідше, O-глікозидними зв'язками. Оскільки вони синтезуються клітинними глікозильними трансферазами, склад цукру цих гліканів відповідає складу глікопротеїдів клітинної мембрани клітин.

Глікозилювання білків. Віруси експлуатують клітинні речовини, які зазвичай використовуються для синтезу мембранних та експортованих секреторних глікопротеїнів. Додавання цукрів відбувається послідовно, коли білок прогресує від ендоплазматичного ретикула до комплексу Гольджі, а потім до плазматичної мембрани. Бічні ланцюги вірусних оболонок глікопротеїнів, як правило, є сумішшю простих (висока маноза і складних олігосахаридів, які зазвичай зв'язані (до аспарагіну) або, рідше, О-пов'язані (до серину або треоніну). Склад олігосахаридів визначається не тільки за амінокислотою послідовністю та третинною структурою відповідних білків, але за клітинними глікозилтрансферазами, що переважають у типових клітинах, в яких вірус накопичується.

Ліпіди вірусної оболонки

Більшість ліпідів, виявлених в оболонці вірусів кодується вірусними глікопротеїновими пепломерами (шипями). Склад ліпідів окремих вірусів відрізняється залежно від складу мембранних ліпідів клітин-хазяїв, з яких вони походили. Склад мембранних ліпідів вірусів також змінюється залежно від конкретної мембранної системи, використаної для виходу віріона. Наприклад, ліпіди параміксовірусів, що виділяються з плазматичної мембрани клітин-хазяїв, відрізняються від ліній буньявірусів та коронавірусів, які виділяються з мембран внутрішньоцитоплазматичних органел. Ліпіди складають близько 20-35% від сухої маси більшості вірусів, що охоплюються; приблизно 50-60% ліпідів вірусної оболонки є фосфоліпідом, а більша частина залишку – холестерином.

Контрольні запитання

- 1. Назвіть шляхи потрапляння мікроорганізмів до організму тварин?*
- 2. Які форми вірусів Ви знаєте ?*
- 3. Як відрізняються віруси за симетрією?*
- 4. Чим відрізняються прості та складні віруси ?*
- 5. Які структури вірусів відносять до необов'язкових?*
- 6. За яким принципом побудовані віріонів із спіральним капсидом?*
- 7. За яким принципом побудовані віріонів із ікосаедричним капсидом?*
- 8. Які Ви знаєте хімічні речовини в структурах вірусів?*
- 9. У чому полягає різниця між структурними та неструктурними вірусними білками ?*
- 10. Чим представлений геном вірусів ? Чи всі віруси є гаплоїдними ?*

РОЗДІЛ 2 ВІРУСНА СИСТЕМАТИКА ТА НОМЕНКЛАТУРА

Існують дані, які свідчать про те, що всі організми можуть бути заражені тими чи іншими вірусами. Наприклад, 90 % землян, а саме, кожен дев'ятий з десяти заражений герпесвірусом, який після потрапляння в організм залишається в ньому назавжди (так званий сплячий вірус). Кількість різних вірусів, що існують як збудники хвороб сплячий вірус (латентні віруси прихованих інфекцій) у тварин, рослин, безхребетних, найпростіших, грибів та бактерій, відповідно, дуже велика, більше 4600 різних вірусів та більше 30 000 різних штамів і підтипів були розпізнані (окремі штами та підтипи часто мають різний характер впливу на здоров'я або економічне значення). Відомо, що кілька сотень різних вірусів здатні викликати перезараження лише між людьми, а трохи менше від окремих тварин (худоба, коні, дикі та домашні тварини, лабораторні тварини, птахи, плазуни, земноводні та риби). А значна частина всіх існуючих вірусів людей і тварин відокремлені, тобто притаманні лише одному виду.

Оскільки всі віруси, незалежно від їх господарів, мають індивідуальні властивості, вірусологи розробили єдину систему класифікації та номенклатуру, яка охоплює всі віруси – це система Міжнародного комітету з питань таксономії вірусів (ICTV). Тому перед нами постало завдання описати насамперед віруси, які викликають захворювання у тварин; проте в деяких випадках таксономічні лінії розгалужуються серед вірусів тварин, вірусів людини, вірусів, що передаються членистоногими, тощо.

Найперша класифікація вірусів базувалась на загальних клінічних та патогенних властивостях, загальних тропізмах органів та загальних екологічних характеристиках. Наприклад, віруси, що викликають гепатит (наприклад, гепатит собак – аденовірус, та вірус гепатиту В – гепаднавірус), можуть бути об'єднані як «віруси гепатиту».

Наступні таксономічні системи були зосереджені на самих вірусах і базувалися на:

- визначенні розміру віріона (за допомогою ультрафільтрації та електронної мікроскопії);
- морфології віріона, що визначається електронною мікроскопією;
- стабільності віріона, що визначається різними рН та температурою, впливом ліпідних розчинників та миючих засобів тощо;
- антигенності віріона, що визначається різними серологічними методами.

Цей підхід мав успіх, оскільки після вивчення великої кількості вірусів та їх характеристик, які використовували для побудови загальної таксономічної системи, у більшості випадків потрібно було лише дослідити декілька характеристик, щоб розмістити "невідомого" у відповідному таксоні, і звідти конкретно ідентифікувати його

Первинні критерії для розмежування основних вірусних таксонів:

1. тип та характер вірусного геному;
2. стратегія вірусної реплікації;
3. структура віріона.

Послідовність або часткове секвенування вірусного геному забезпечує потужну таксономічну інформацію, і це першочергово зазначають в протоколах ідентифікації. Референтні послідовності геномів для всіх вірусних таксонів доступні у публічних базах даних (наприклад, Gen-Bank, Національний центр інформації про біотехнології, Національна медична бібліотека, Національний інститут здоров'я, тощо). Такий підхід у більшості

випадків дозволяє негайно перейти до конкретного таксономічного розміщення, хоча традиційні методи часто все ще використовуються.

Універсальна система вірусної систематики встановлюється на рівнях порядку (ряду), родини, підродини, роду та видів. Назви ряду закінчуються суфіксом - *virales*, родини із суфіксом - *viridae*, підродини із суфіксом - *virinae*, та роди із суфіксом -*virus*. Нижні рівні, такі як підвиди, штами та варіанти, встановлюються для практичних цілей, таких як діагностика та розробка вакцини, але це не питання формальної класифікації та на цих нижчих рівнях не існує універсальних визначень чи номенклатури.

Сучасна універсальна система таксономії вірусів, яка включає збудників тварин та людини (1269 видів) охоплює п'ять порядків, 38 родин, з яких 12 – ДНК-геномні та 26 – РНК-геномні, 12 підродин і 233 роди.

Сучасна класифікація вірусів базується на їхніх фундаментальних властивостях, з яких основними є ознаки, що характеризують:

I. Вірусний геном.

За будовою геному віруси поділяють на 2 групи: РНК-ові віруси (80% вірусів хребетних) та ДНК-ові (20% вірусів хребетних). На відміну від клітинних організмів, у яких генетична інформація закодована у двониткових спіральних молекулах ДНК (всі еукаріоти) або двониткових кільцевих ДНК (мікроби-прокаріоти), варіантів геномів у вірусів значно більше (рис. 2.1). Лише у РНК-ових вірусів зустрічаються фрагментовані нуклеїнові кислоти (3-12 фрагментів лінійної або кільцевої РНК). Віруси з такими геномами мають спеціальну назву – диплорнавіруси.

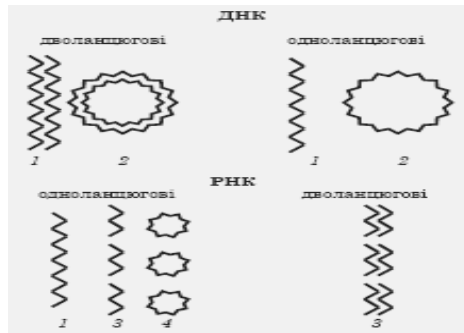


Рис. 2.1. Вірусні геноми (форма, кількість ланцюгів):1– лінійні (одно- і дволанцюгові); 2– кільцеві (одно- і дволанцюгові); 3, 4 – фрагментовані лінійні та кільцеві.

Для характеристики одностричкових лінійних вірусних ДНК та РНК часто використовують позначення «+» та «-». Для вірусних ДНК вирази «+ ДНК» або «- ДНК» означають, що це односпіральні молекули геному аденовірусів (прості віруси сферичної форми). Їх двониткові геноми мають ДНК із різним напрямком закручування спіралей (різна полярність). Інфекційний процес в організмі хазяїна виникає при співвідношенні 50% «+ДНК»: 50% «-ДНК» віріонів. Вірусні популяції, складені з частинок тільки одної полярності – неінфекційні.

Термін «+РНК» позначає вірус з позитивним геномом, структура якого аналогічна інформаційній РНК. Ця молекула в клітині-хазяїні після звільнення геному від оболонки одразу може здійснювати синтез вірусних білків в рибосомі і швидко утворювати нові віріони.

Термін «-РНК» описує вірус з негативним геномом, структура РНК якого не дозволяє швидко розпочати утворення вірусних білків на рибосомі. Цей процес відбувається лише після додаткової стадії репродукції – синтезу комплементарної модифікованої РНК (змінюються 5' та 3'кінці молекули аналогічно +РНК). Віріони, у яких «+РНК» та «-РНК» зустрічаються в одній популяції, називаються амбісенси-віруси (родина аренавірусів).

II. Механізм реплікації та транскрипції.

III. Морфологію віріонів.

При зараженні клітини-хазяїна двома спорідненими вірусами існує можливість обміну генетичним матеріалом, в результаті чого виникають генетичні гібриди. При обміні сегментами геному виникають так звані *реассортанти*. Цей процес описаний для всіх РНК-ових вірусів з фрагментованим геномом (ортоміксо-, бунья-, арена- та реовірусів). Гібриди можуть мати більшу вірулентність, інший термін інкубаційного процесу та клінічні ознаки, ніж вихідні варіанти.

2.1. Класифікація ДНК-геномних вірусів

ДНК-геномні віруси хребетних тварин і людини (546 видів) класифіковано в порядок *Herpesvirales* (об'єднує родини *Herpesviridae* та *Alloherpesviridae*), 12 родин, 5 підродин і 113 родів (Kalinina et al., 2015; Kalinina, 2016).

Родини *Poxviridae*, *Iridoviridae* і *Parvoviridae*, крім вірусів хребетних, містять віруси комах. ДНК-геномним вірусам, незалежно від складності структурної організації, властивий ікосаедральний тип симетрії капсиду. Виняток становлять представники родини *Poxviridae*, які мають порівняно з іншими вірусами нетрадиційну будову (Kalinina et al., 2015; Kalinina, 2016). Таксономічна характеристика ДНК-геномних вірусів хребетних тварин і людини подана згідно з інформацією Міжнародного комітету з таксономії вірусів (МКТВ) випуску 2015 р. (ратифікація 2016 р.).

Родина *Poxviridae* (поксвіруси) – 1 підродина, 10 родів, 38 видів.

Підродина *Chordoroxvirinae* (10 родів).

1. *Avipoxvirus* (10 видів): вірус віспи курей, індиків, перепілок, канарок, горобців, шпаків, папуг та ін.
2. Рід *Capripoxvirus* (3 види) вірус віспи овець, кіз, вірус нодулярного дерматиту ВРХ.
3. Рід *Cervidpoxvirus* (1 вид): вірус віспи мулів та оленів.
4. Рід *Crocodylidpoxvirus* (1 вид): вірус віспи нільських крокодилів.
5. Рід *Leporipoxvirus* (4 види): віруси міксому, фіброми кролів, зайців, білок.
6. Рід *Molluscipoxvirus* (1 вид): вірус контагіозного моллюска.
7. Рід *Orthopoxvirus* (10 видів): віруси вісповакцини, натуральної віспи, віспи корів, верблюдів, мавп, снотів, скунсів та ін.
8. Рід *Parapoxvirus* (4 види): псевдо-віспа корів, вірус папулезного стоматиту ВРХ та ін.
9. Рід *Suipoxvirus* (1 вид): вірус віспи свиней.
10. Рід *Yatapoxvirus* (2 види) віруси пухлин мавп

Характеристики родини. Віріони більшості поксвірусів хребетних мають форми цеглини із заокругленими кутами, розміром (300...450)х(170...260) нм. Виняток становлять

представники роду *Pararoxvirus*, віріони яких овоїдної форми, розміром (220...300)х(140...170) нм, і роду *Molluscipoxvirus* – овоїдної або моллюскоподібної форми, розміром 320х250 нм.

Структура:

- 1) зовнішня оболонка (з трубчастими ворсинками);
- 2) серцевина (у вигляді двовгнутого диска);
- 3) зовнішній шар із циліндричних субодиниць;
- 4) внутрішня гладка мембрана;
- 5) дволанцюгова ДНК з ковалентно замкнутими кінцями розміром 170-250 кбіт;
- 6) латеральні тіла;
- 7) 100 білків, у т. ч. ДНК-залежна РНК-полімераза (транскриптаза).

Реплікація та складання віріонів відбуваються в цитоплазмі. Віріони транспортуються до плазмолемі через комплекс Гольджі та виходять із клітини шляхом екзоцитозу або після її лізису.

Передача здійснюється прямим контактним шляхом (включаючи рани, потертості) та повітрянокрапельним.

Родина *Asfarviridae* (асфарвіруси) – 1 рід, 1 вид.

1. Рід *Asfivirus* (1 вид): вірус африканської чуми свиней.

Характеристики родини. Віріони ікосаедральної форми, діаметр 175-215 нм.

Структура:

- 1) зовнішня ліпопротеїнова оболонка;
- 2) ікосаедральний нуклеокапсид;
- 3) дволанцюгова ДНК розміром 170-190 кбіт;
- 4) 34 білки, у т. ч. ДНК-залежна РНК-полімераза (транскриптаза).

Реплікація відбувається в цитоплазмі, а складання і вихід віріонів із клітини – брунькуванням через плазмолему.

Штами вірусів відрізняються вірулентністю. Деякі штами викликають важку хворобу і летальність складає майже 100%, тоді як інші піддаються лікуванню або проходять навіть у безсимптомній формі. Вірус передається контактним шляхом або кліщами.

Родина *Iridoviridae* (іридовіруси) – 3 роди, 8 видів.

1. Рід *Lymphocystivirus* (1 вид): вірус лімфоцистозу.
2. Рід *Megalocytivirus* (1 вид): вірус інфекційного некрозу селезінки і нирок.
3. Рід *Ranavirus* (6 видів): віруси жаб, тигрових амбістом, європейських сомів, та ін.

Характеристики родини. Віріони сферичної форми, діаметром 130-300 нм.

Структура:

- 1) зовнішня ліпопротеїнова оболонка;
- 2) ікосаедральний нуклеокапсид;
- 3) дволанцюгова ДНК розміром 150-350 кбіт (вірус комара з райдужним кодом має геном розміром 440 кбіт – найбільший геном будь-якого вірусу);
- 4) понад 20 білків, у т. ч. ДНК- залежна РНК-полімераза (транскриптаза).

Реплікація відбувається в цитоплазмі, а складання і вихід віріонів із клітини – брунькуванням через плазмолему.

Родина *Herpesviridae* (герпесвіруси) – 3 підродини, 13 родів, 86 видів.

І. Підродина *Alphaherpesvirinae* (5 родів)

1. Рід *Itovirus* (2 види): альфагерпесвіруси куриних

2. Рід *Mardivirus* (5 видів): альфагерпесвіруси куриних, качиних, індиків, голубиних.
3. Рід *Scutavirus* (1 вид): альфагерпесвірус морських черепах.
4. Рід *Simplexvirus* (12 видів): альфагерпесвіруси людини, великої рогатої худоби, кролів та ін.
5. Рід *Varicellovirus* (17 видів): альфагерпесвіруси людини, великої рогатої худоби, кіз, коней, свиней, оленів, собак, котів та ін.

II. Підродина *Bethaherpesvirinae* (4 роди)

1. Рід *Cytomegalovirus* (8 видів): бетагерпесвіруси людини, нічних мавп, капуцинових мавп, макак, шимпанзе, павіанів, білячих мавп.
2. Рід *Muromegalovirus* (3 види): бетагерпесвіруси мишей.
3. Рід *Proboscivirus* (1 вид): бетагерпесвірус слонів.
4. Рід *Roseolovirus* (3 види): бетагерпесвіруси людини 6А, 6В.

III. Підродина *Gammapherpesvirinae* (4 роди)

1. Рід *Lymphocryptovirus* (8 видів): гаммагерпесвіруси людини, шимпанзе, павіанів, макак та ін.
2. Рід *Macavirus* (9 видів): великої рогатої худоби, овець, кіз, свиней.
3. Рід *Percavirus* (3 види): гаммагерпесвіруси коней.
4. Рід *Rhadinovirus* (9 видів).

Характеристики родини. Віріони сферичної форми, діаметром 85-300 нм.

Структура:

- 1) зовнішня ліпопротеїнова оболонка (з пепломерами);
- 2) тегумент;
- 3) ікосаедральний капсид (162 капсомери);
- 4) серцевина;
- 5) дволанцюгова ДНК розміром 125-235 кбіт;
- 6) 20-32 білки.

Реплікація відбувається в ядрі, а складання віріонів – брунькуванням через ядерну мембрану. Віріони виходять із клітини шляхом екзоцитозу, транспортуючись у цитоплазматичних вакуолях, які зливаються з плазмолемою. Особливістю всіх герпесвірусних інфекцій є пожиттєва інфекція, як правило, в латентній формі. Екскреція, особливо в слині або генітальних виділеннях, може відбуватися постійно або з періодичністю, з або без випадків повторних клінічних ознак. Деякі віруси підродини *Gammapherpesvirinae* викликають пухлини (наприклад, вірус Епштейна-Барра у людини, що асоціюється з раком носоглотки та лімфоною Беркітта).

Родина *Alloherpesviridae* (аллогерпесвіруси) – 4 роди, 12 видів.

1. Рід *Batrachovirus* (2 види): герпесвіруси жаб.
2. Рід *Cyprinivirus* (4 види): герпесвіруси коропових, вугрів.
3. Рід *Ictalurivirus* (3 види): герпесвіруси каналних сомиків, осетрових.
4. Рід *Salmonivirus* (3 види): герпесвіруси лососевих.

Характеристики родини. Віріони сферичної форми, діаметром 150-200 нм.

Структура:

- 1) зовнішня ліпопротеїнова оболонка (з пепломерами);
- 2) тегумент;
- 3) ікосаедральний капсид (162 капсомери);
- 4) серцевина;

- 5) дволанцюгова ДНК;
- 6) понад 20 білків.

Транскрипція та реплікація вірусного геному відбуваються в ядрі, а складання віріонів – брунькуванням через ядерну мембрану й остаточно – через мембрани комплексу Гольджі. Віріони виходять із клітини шляхом екзоцитозу.

Родина *Adenoviridae* (аденовіруси) - 5 родів, 50 видів.

1. Рід *Atadenovirus* (5 видів): атаденовіруси овець D, великої рогатої худоби D, качок A, змії A.
2. Рід *Aviadenovirus* (12 видів): авіаденовіруси курей A, B, C, D, E, гусей A, качок B, індиків B, C, D, голубів A, соколів A.
3. Рід *Ichtadenovirus* (1 вид): іхтаденовірус осетрових A.
4. Рід *Mastadenovirus* (27 видів): мастаденовіруси людини C, A, B, D, E, F, G, великої рогатої худоби A, B, C, овець A, B, свиней A, B, C, коней A, B, собак A, мавп A, B, C, кажанів A, B, мишей A, B, C.
5. Рід *Siadenovirus* (5 видів): сіаденовіруси жаб, індиків A, великих синиць A, хижих птахів A.

Характеристики родини. Віріони ікосаедральної форми, діаметром 70-90 нм.

Структура:

- 1) ікосаедральний капсид (252 капсомери, вершинні капсомери утворюють 12 фібрил);
- 2) серцевина;
- 3) дволанцюгова ДНК розміром від 36 до 44 кбіт;
- 4) 10-14 білків. Реплікація та складання віріонів відбуваються в ядрі, і їх реплікація сприяє великій модуляції імунної відповіді господаря. Вихід віріонів із клітини – внаслідок її деструкції.

Віруси мають вузький діапазон господарів. Багато аденовірусів викликають стійку інфекцію і можуть бути реактивовані імуносупресією – деякі віруси, такі як аденовірус коня, викликають тяжке захворювання у імунокомпроментованих господарів. Деякі з аденовірусів людини, великої рогатої худоби та курей викликають пухлини за вакцинації новонароджених хом'яків і були використані в експериментальних дослідженнях онкогенезу, але жоден не спричиняє пухлин у природного господаря. Імовірно поствакцинальна пухлина (саркома) виникає в наслідок невідповідних або надзвичайно сильних запальних або імунологічних реакціях, пов'язаних з наявністю компонентів вакцини, які призводили до неконтрольованого росту фіброblastів і міофіброblastів.

Родина *Papillomaviridae* (папіломавіруси) – 49 родів, 116 видів.

1. Рід *Alpha papillomavirus* (14 видів): альфапапіломавіруси.
2. Рід *Beta papillomavirus* (6 видів): бетапапіломавіруси.
3. Рід *Chi papillomavirus* (3 види): чіпапіломавіруси.
4. Рід *Delta papillomavirus* (6 видів): дельтапапіломавіруси.
5. Рід *Dyochi papillomavirus* (1 вид): диочіпапіломавірус.
6. Рід *Dyodelta papillomavirus* (1 вид): диодельтапапіломавірус.
7. Рід *Dyoepsilon papillomavirus* (1 вид): диоєпсілонпапіломавірус.
8. Рід *Dyoeta papilloma- virus* (1 вид): диоєтапапіломавірус 1.
9. Рід *Dyoiota papillomavirus* (2 види): диоіотапапіломавіруси.
10. Рід *Dyokappa papillomavirus* (2 види): диокаппапапіломавіруси.
11. Рід *Dyolambda papilloma- virus* (1 вид): диолямбдапапіломавірус.

12. Рід *Dyomypapillomavirus* (1 вид): диомупапіломавірус.
13. Рід *Dyonypapillomavirus* (1 вид): дионупапіломавірус.
14. Рід *Dyoomegapapillomavirus* (1 вид): диоомегапіломавірус.
15. Рід *Dyoomikronpapillomavirus* (1 вид): диоомікронпапіломавірус.
16. Рід *Dyophilapillomavirus* (1 вид): диофіпапіломавірус.
17. Рід *Dyophilapillomavirus* (1 вид): диопіпапіломавірус.
18. Рід *Dyopsipapillomavirus* (1 вид): диопсіпапіломавірус.
19. Рід *Dyorphopapillomavirus* (1 вид): диорорпапіломавірус.
20. Рід *Dyosigmapapilloma- virus* (1 вид): диосігмапапіломавірус.
21. Рід *Dyotaupapillomavirus* (1 вид): диотаупапіломавірус.
22. Рід *Dyothetapapillomavirus* (1 вид): диотетапапіломавірус.
23. Рід *Dyousipapillomavirus* (1 вид): диоусіпапіломавірус.
24. Рід *Dyoxipapilloma- virus* (1 вид): диоксіпапіломавірус.
25. Рід *Dyozetapapillomavirus* (1 вид): диозетапапіломавірус.
26. Рід *Epsilonpapillomavirus* (1 вид): епсілонпапіломавірус.
27. Рід *Etapapillomavirus* (1 вид): етапапіломавірус.
28. Рід *Gammapapillomavirus* (26 видів): гаммапапіломавіруси.
29. Рід *Iotapapillomavirus* (1 вид): іотапапіломавірус.
30. Рід *Karrapapillomavirus* (2 види): каппапа- піломавіруси.
31. Рід *Lambdapapillomavirus* (5 видів): лямбдапапіломавіруси.
32. Рід *Mupapillomavirus* (3 види): мупапіломавіруси.
33. Рід *Nupapillomavirus* (1 вид): нупапіломавірус.
34. Рід *Omegapapillomavirus* (1 вид): омегапапіломавірус.
35. Рід *Omikronpapillomavirus* (1 вид): омікропапіломавірус.
36. Рід *Phiapapillomavirus* (1 вид): фіпапіломавірус.
37. Рід *Piapapillomavirus* (2 види): піпапіломавіруси.
38. Рід *Psipapillomavirus* (1 вид): псіпапіломавірус.
39. Рід *Rhopapillomavirus* (2 види): ропапіломавіруси.
40. Рід *Sigmapapilloma- virus* (1 вид): сігмапапіломавірус.
41. Рід *Taupapillomavirus* (3 види): таупапіломавіруси.
42. Рід *Thetapapillomavirus* (1 вид): тетапапіломавірус.
43. Рід *Treisdeltapapillomavirus* (1 вид): трайсдельтапапіломавірус.
44. Рід *Treisepsilonpapillomavirus* (1 вид): трайсеіпсілонпапіломавірус.
45. Рід *Trei- setapapillomavirus* (1 вид): трайсетпапіломавірус.
46. Рід *Treiszetapapillomavirus* (1 вид): трайзетапапі- ломавірус.
47. Рід *Upsilonpapillomavirus* (3 види): упсілопапіломавіруси.
48. Рід *Xipapillomavirus* (3 види): ксіпапіломавіруси.
49. Рід *Zetapapillomavirus* (1 вид): зетапапіломавірус.

Характеристики родини. Віріони ікосаедральної форми, діаметром 55 нм.

Структура:

- 1) ікосаедральний капсид (72 капсомери);
- 2) дволанцюгова кільцева ДНК, розміром 8 кбіт;
- 3) 2 білки.

Реплікація та складання віріонів відбуваються в ядрі, а вихід віріонів із клітини – внаслідок її деструкції. Окремі папіломавіруси мають вузький діапазон господарів.

Родина *Polyomaviridae* (поліомавіруси) – 4 роди, 76 видів.

1. Рід *Alphapolyomavirus* (36 видів): поліомавіруси хатніх мишей, сірійських хом'ячків та ін.

2. Рід *Betapolyomavirus* (26 видів): поліомавіруси макак-резусів, людини, мишей та ін

3. Рід *Deltapolyomavirus* (4 види): поліомавіруси людини.

4. Рід *Gammapolyomavirus* (7 видів): поліомавіруси птахів, сірих гусей, галок, снігури та ін..

Характеристики родини. Віріони ікосаедральної форми, діаметром 40-45 нм.

Структура:

- 1) ікосаедральний капсид (72 капсомери);
- 2) дволанцюгова кільцева ДНК, розміром 5 кбт;
- 3) 3 білки.

Реплікація та складання віріонів відбуваються в ядрі, а вихід віріонів із клітини - внаслідок її деструкції. Окремі поліомавіруси мають вузький діапазон господарів.

Родина *Hepadnaviridae* (гепаднавіруси) – 2 роди, 9 видів.

1. Рід *Avihepadnavirus* (2 види): віруси гепатиту В качок, чапель.

2. Рід *Orthohepadnavirus* (7 видів): віруси гепатиту В, гепатиту В довгопалих нічниць та ін.

Характеристики родини. Віріони сферичної форми, діаметром 42 нм.

Структура:

- 1) зовнішня ліпопротеїнова оболонка;
- 2) ікосаедральний нуклеокапсид (серцевина);
- 3) дволанцюгова кільцева ДНК;
- 4) 6 білків, у тому числі ДНК-залежна ДНК-полімераза.

Геном складається з однієї молекули кільцевої, частково дволанцюгової, частково одноланцюгової ДНК, що складається з довгого (3,2 кб) і короткого (1,7-2,8 кб) ланцюга (із дефектом плюс-нитки на 20-50%).

Реплікація та складання серцевини віріонів відбуваються в ядрі гепатоцитів і викликають гепатит, який може набути хронічного перебігу хвороби, цирозу та первинної гепатоцелюлярної карциноми. Реплікація включає проміжний РНК і вимагає кодової вірусом зворотної транскриптази.

Віріони формуються брунькуванням через мембрани ендоплазматичної сітки і виходять із клітини шляхом екзоцитозу.

Родина *Parvoviridae* (парвовіруси) – 1 підродина, 8 родів, 41 вид.

Підродина *Parvovirinae* (8 родів).

1. Рід *Amdoparvovirus* (2 види): амдопарвовірус м'ясоїдних.

2. Рід *Aveparvovirus* (1 вид): авепарвовірус куриних.

3. Рід *Bocaparvovirus* (12 видів): бокапарвовіруси копитних, м'ясоїдних та ін.

4. Рід *Copiparvovirus* (2 види): копіпарвовіруси копитних.

5. Рід *Dependoparvovirus* (7 видів): аденоасоційовані депендопарвовіруси А, В, депендопарвовіруси птахів, гусей та ін.

6. Рід *Erythroparvovirus* (6 видів): еритропарвовіруси приматів, гризунів, копитних.

7. Рід *Protoparvovirus* (5 видів): протопарвовіруси гризунів, копитних, м'ясоїдних, приматів.

8. Рід *Tetraparvovirus* (6 видів): тетрапарвовіруси приматів, копитних та ін.

Характеристики родини. Віріони ікосаедральної форми, діаметром 18-26 нм.

Структура:

- 1) ікосаедральний капсид (32 капсомери);
- 2) одноланцюгова ДНК (мінус- або плюс-нитка) розміром 5 кбт;
- 3) 3-4 білки.

Реплікація та складання віріонів відбуваються в ядрі та вимагає функціонування клітин-господарів S фази циклу поділу клітин, що вказує на вірусну потребу в механізмі реплікації ДНК господаря, а вихід віріонів із клітини – внаслідок її деструкції. Імовірно, деякі парвовіруси потребують коінфекції з іншими вірусами, такими як аденовіруси або герпесвіруси, для їх реплікації. Віруси мають вузький діапазон господарів. Віріони дуже стійкі в навколишньому середовищі.

Родина *Circoviridae* (цирковіруси) – 2 роди, 41 вид.

1. Рід *Circovirus* (22 види): цирковіруси свиней, собак, норок, кажанів, качок, гусей, канарок, голубів, хвороби дзьоба і пір'я.

2. Рід *Cyclovirus* (19 видів): цикловіруси людини, ВРХ, кіз, курей, кажанів.

Характеристики родини. Віріони ікосаедральної форми, діаметром 15-25 нм.

Структура:

- 1) ікосаедральний капсид (32 капсомери);
- 2) одноланцюгова кільцева (ковалентно закриті кінці) ДНК (мінус-нитка) розміром 1,7-2,3 кб;
- 3) 1 білок.

Реплікація та складання віріонів відбуваються в ядрі клітин у S фазі клітинного циклу, а вихід віріонів із клітини – внаслідок її деструкції.

Родина *Anelloviridae* (анелловіруси) – 12 родів, 68 видів.

1. Рід *Alphatorquevirus* (29 видів): віруси тонкого намиста.

2. Рід *Betatorquevirus* (12 видів): віруси маленького тонкого намиста.

3. Рід *Deltatorquevirus* (1 вид): вірус тонкого намиста тупай.

4. Рід *Epsilontorquevirus* (1 вид): вірус тонкого намиста тамаринів.

5. Рід *Etatorquevirus* (2 види): віруси тонкого намиста котів.

6. Рід *Gammatorquevirus* (15 видів): віруси проміжного тонкого намиста

7. Рід *Gyrovirus* (1 вид): вірус анемії курчат.

8. Рід *Iotatorquevirus* (2 види): віруси тонкого намиста свиней 1a, 1b.

9. Рід *Kappatorquevirus* (2 види): віруси тонкого намиста свиней k2a, k2b.

10. Рід *Lambdatorquevirus* (1 вид): вірус тонкого намиста каліфорнійських морських левів.

11. Рід *Thetatorquevirus* (1 вид): вірус тонкого намиста собак.

12. Рід *Zetatorquevirus* (1 вид): вірус тонкого намиста нічних мавп.

Характеристики родини. Віріони ікосаедральної форми, діаметром 30-32 нм.

Структура:

- 1) ікосаедральний капсид;
- 2) одноланцюгова кільцева ДНК (мінус- нитка);
- 3) 2-4 білки.

Реплікація та складання віріонів відбуваються в ядрі, а вихід віріонів із клітини – внаслідок її деструкції.

2.2. Класифікація РНК-геномних вірусів

РНК-геномні віруси хребетних (680 видів) класифіковано в 4 порядки, 26 родин, 6 підродин і 119 родів. Порядок *Mononegavirales* об'єднує родини *Paramyxoviridae*, *Pneumoviridae*, *Rhabdoviridae*, *Filoviridae*, *Bornaviridae*, *Nyamiviridae* і *Sumviridae*, порядок *Nidovirales* – родини *Coronaviridae* та *Arteriviridae*, порядок *Bunyavirales* – родини *Hantaviridae*, *Nairoviridae*, *Peribunyaviridae* і *Phenuiviridae*, порядок *Picornavirales* – родину *Picornaviridae*. Родини *Rhabdoviridae*, *Peribunyaviridae*, *Phenuiviridae*, *Nodaviridae*, *Reoviridae* і *Birnaviridae*, крім вірусів хребетних, містять віруси комах, а родини *Rhabdoviridae*, *Phenuiviridae* і *Reoviridae* – віруси рослин. До родини *Reoviridae* входить реовірус китайських крабів, а до родини *Birnaviridae* – вірус морських двостулкових моллюсків. Є один «плавучий» рід *Deltavirus*, який не належить до родин (Virus Taxonomy, 2016).

Таксономічну характеристику родин РНК-геномних вірусів хребетних тварин і людини подано згідно з інформацією Міжнародного комітету з таксономії вірусів (МКТВ) випуску 2016 р. (ратифікація 2017 р.) (Virus Taxonomy, 2016).

Родина *Paramyxoviridae* (параміксовіруси) – 7 родів, 49 видів.

1. Рід *Aquaparamyxovirus* (1 вид): аквапараміксовірус лососів.
2. Рід *Avulavirus* (13 видів): аулавіруси птахів.
3. Рід *Ferlavirus* (1 вид): ферлавірус рептилій.
4. Рід *Henipavirus* (5 видів): хеніпавіруси Хендра, Ніпах, Кедр, Моджіанг, ганських кажанів.
5. Рід *Morbillivirus* (7 видів): морбіллівіруси кору, чуми великої рогатої худоби, дрібних жуйних, собак, тюленів, котів, китоподібних.
6. Рід *Respirovirus* (5 видів): респіровіруси мишей, людини, великої рогатої худоби, свиней.
7. Рід *Rubulavirus* (17 видів): рубулавіруси епідемічного паротиту, людини, свавців, мавп, свиней та ін.

Характеристики родини. Параміксовірус схожий на (орто) міксовіруси; віріони плеоморфної форми (зустрічаються сферичні, а також нитчасті форми), діаметром 150-300 нм. Віріони вкриті великими пепломерами і містять ялиноподібну спіральну-симетричний нуклеокапсид. Геном складається з єдиної лінійної молекули негативної полярності, одноланцюгової РНК розміром 15-16 кб.

Реплікація відбувається в цитоплазмі, а збірка відбувається за допомогою брунькування на плазматичних мембранах.

Віруси мають вузький діапазон господарів і їх виявляють лише у хребетних, насамперед у свавців та птахів. Передача відбувається переважно повітряно-крапельним шляхом

Родина *Pneumoviridae* (пневмовіруси) – 2 роди, 5 видів.

1. Рід *Metapneumovirus* (2 види): метапневмовіруси птахів, людини.
2. Рід *Orthopneumovirus* (3 види): ортопневмовіруси людини, великої рогатої худоби, мишей.

Родина *Rhabdoviridae* (рабдовіруси) – 10 родів, 76 видів.

1. Рід *Ephemerovirus* (8 видів): ефемеровіруси гарячки великої рогатої худоби.
2. Рід *Ledantavirus* (14 видів): ледантевіруси.
3. Рід *Lissavirus* (14 видів): лісавіруси сказу, європейських кажанів та ін.
4. Рід *Novirhabdovirus* (4 види): новірабдовіруси лососевих риб, змієголовів.

5. Рід *Perhabdovirus* (3 види): перабдовіруси окунів, морських форелей, вугрів.
6. Рід *Sprivirus* (2 види): співвіруси коропів, мальків шук.
7. Рід *Sripuvirus* (5 видів): сріпувіруси.
8. Рід *Tibrovirus* (6 видів): тібровіруси.
9. Рід *Tupavirus* (3 види): тупавіруси.
10. Рід *Vesiculovirus* (16 видів): везикуловіруси.

Некласифікований вірус (1 вид): *вірус Мусса*.

Характеристики родини. Віріони рабдовіруса (рабдос, стрижень) мають кулеподібну форму, розміром близько 130-380 x 60-80 нм, і складаються з оболонки, вкритої великими пепломерами, оточуючими спіральні згорнуті циліндричний нуклеокапсид. Геном складається з однієї лінійної молекули негативної полярності, одноланцюгової РНК розміром 13-16 кб.

Реплікація відбувається в цитоплазмі, а збірка відбувається через брунькування на плазматичних (везикуловіруси) або внутрішньоцитоплазматичних (лізавірусах) мембранах. Вірус сказу продукує помітні цитоплазматичні тільця включення (тільця Негрі) в заражених клітинах.

Віруси мають широкий діапазон господарів; багато реплікуються в і передаються членистоногими. Вірус сказу передається при укусі.

Родина *Filoviridae* (філовіруси) – 3 роди, 7 видів.

1. Рід *Cuevavirus* (1 вид): куєвавірус.
2. Рід *Ebolavirus* (5 видів): еболавіруси.
3. Рід *Marburgvirus* (1 вид): марбургвірус Марбург.

Характеристики родини. Філовірусні (філо, ниткоподібні) складні віріони плеоморфної форми і мають вигляд довгих ниткоподібних форм, іноді з розгалуженими відростками, а іноді як «U» у формі, «б» або круглої форми. Віріони мають діаметр 80 нм і сильно різняться по довжині (довжина одиниці вірусу Марбурга становить близько 800 нм, вірус Ебола 1000 нм; багатомерні довгі форми мають довжину до 1400 нм). Віріони великі пепломери, що оточують досить жорсткий спіральний нуклеокапсид. Геном складається з однієї лінійної молекули негативної полярності, одноланцюгової РНК розміром 19,1 кб.

Реплікація відбувається в цитоплазмі, а складання передбачає обволікання через брунькування попередньо сформованих нуклеокапсидів. Нуклеокапсиди накопичуються в цитоплазмі, утворюючи помітні тіла включення.

Родина *Bornaviridae* (борनावіруси) – 1 рід, 8 видів.

1. Рід *Bornavirus* (8 видів): борनावіруси ссавців, горобцеподібних, папугоподібних, водоплавних птахів.

Характеристики родини. Віріони вірусу хвороби Борна є сферичними, оболонковими (складними), діаметром близько 70-130 нм і містять серцевину діаметром близько 50-60 нм. Геном складається з однієї лінійної молекули негативної полярності, одноланцюгової РНК розміром 8,9 кб. Найбільш незвично геном транскрибується в ядрі клітини-хазяїна в субгеномні мРНК і продукує високий рівень полікістронних мРНК. Геном містить три транскрипційні одиниці, які кодують п'ять білків шляхом читування полімерази та посттранскрипційного сплайсування РНК.

Збудники: вірус хвороби Борни є єдиним членом цього таксону; це причина менінгоенцефаломієліту у найрізноманітніших хребетних тварин, включаючи коней, овець, котів та птахів, і експериментально передається гризунам, кролям та приматам (макакам).

Серологічні та молекулярні дані (ланцюгова реакція полімерази з використанням праймерів вірусу Борна на зразках мозку людини) свідчать про те, що вірус може заразити людину та викликати нервово-психічні розлади.

Родина *Nyamiviridae* (ньямівіруси) – 1 рід, 3 види.

1. Рід *Nyavirus* (3 види): ньявіруси.

Родина *Sunviridae* (сунвіруси) – 1 рід, 1 вид.

1. Рід *Sunshinevirus* (1 вид): сунчіневірус рептилій.

Родина *Orthomyxoviridae* (ортоміксовіруси) – 7 родів, 9 видів.

1. Рід *Influenzavirus A* (1 вид): вірус грипу А.

2. Рід *Influenzavirus B* (1 вид): вірус грипу В.

3. Рід *Influenzavirus C* (1 вид): вірус грипу С.

4. Рід *Influenzavirus D* (1 вид): вірус грипу D.

5. Рід *Isavirus* (1 вид): вірус інфекційної анемії лососів.

6. Рід *Quarantavirus* (2 види): вірус Кваранфіл.

7. Рід *Thogotovirus* (2 види): вірус Тогото.

Характеристики родини. Віріони ортоміксовірусів є плеоморфними (часто зустрічаються також кулясті, але і нитчасті форми), діаметром 80-120 нм. Віріони складаються з оболонки з великими пепломерами (які мають або гемаглютинін, або нейрамінідазу), що оточують спірально симетричні нуклеокапсидні сегменти різної величини. Геном складається з восьми (віруси грипу А і В) або семи (вірус грипу С) або шести (вірус грипу Thogoto) прямих ліній негативної полярності, одноланцюгові РНК, розміром 10-13,6 кб.

Реплікація відбувається в ядрі та цитоплазмі, а збірка відбувається через брунькування плазматичних мембран. Особливі віруси грипу А заражають людей та інших видів ссавців та птахів; передача міжвидових видів у поєднанні з мутацією та генетичною рекомбінацією пояснюється появою нових пандемічних штамів людини. Трансмсія здійснюється аерозолем і крапельками і передається водою серед качок. Віруси Тогото передаються кліщами і розмножуються як у кліщів, так і у ссавців.

Родина *Arenaviridae* (аренавіруси) – 2 роди, 36 видів.

1. Рід *Mammarenavirus* (33 види): маммаренавіруси лімфоцитарного хориомеїнігту.

2. Рід *Reptarenavirus* (3 види): рептаренавіруси плазунів.

Характеристики родини. Ареनावіруси (аре́на, пісок, рибосоми клітин господаря, що нагадують піщані зерна) віріони плеоморфні, діаметром 50-300 нм, має великі клубоподібні пепломерами, що охоплюють два вільно спіральних кругових нуклеокапсидних сегмента. Геном складається з двох молекул (L і S) «кругових» негативної полярності і амбісенси, одноланцюгових РНК, загальним розміром 10-14 кб. Кругові нуклеокапсиди утворені кінцевими нуклеотидами в парних базах, а не ковалентними зв'язками. Обидва сегменти РНК кодуєть білки як у вірусних, так і в комплементарних ланцюгах.

Реплікація відбувається в цитоплазмі, а збірка відбувається через брунькування з плазматичної мембрани. Ареनावіруси спричиняють хронічні, часто довічні інфекції у конкретних господарів водійм гризунів. Людина заражається при вдиханні інфікованого аерозолу через висушену сечу гризуна, кал та слину і може спричинити серйозне генералізоване захворювання.

Порядок *Bunyaviridae* має 9 родин, з яких 4 родини вражають хребетних (*Peribunyaviridae*, *Hantaviridae*, *Nairoviridae*, *Phenuiviridae*).

Родина *Peribunyaviridae* (перібуньявіруси) – 1 рід, 48 видів.

1. Рід *Orthobunyavirus* (48 видів): ортобуньявіруси.

Родина *Hantaviridae* (хантавіруси) – 1 рід, 41 вид.

1. Рід *Orthohantavirus* (41 вид): ортохантавіруси.

Родина *Nairoviridae* (найровіруси) – 1 рід, 12 видів.

1. Рід *Orthonairovirus* (12 видів): ортонайровіруси Дагбі, Бурана, геморагічної гарячки.

Родина *Phenuiviridae* (фенувіруси) – 1 рід, 10 видів.

1. Рід *Phlebovirus* (10 видів): флебовіруси гарячки долини Ріфт, москитної гарячки Неаполя, Буяру, Кандіру, Чілібре, Фріджолс, Пунта Торо, Сейлхабед, Укуніємі, SFTS.

Характеристики родини. Віріони порядку буньявірус (Буньямвера, місцевість в Уганді) є сферичними, діаметром 80-120 нм і складаються з оболонки з дрібними пепломерами, усередині яких є три кругових спіральних нуклеокапсидних сегмента. Геном складається з трьох молекул (L, M, S) «кругової» негативної або амбісенси, одноланцюгової РНК, 11-21 кб у всіх розмірах. Кругові нуклеокапсиди утворені кінцевими нуклеотидами, що знаходяться в парі, а не ковалентними зв'язками. Сегменти геному мають негативну полярність, за винятком сегмента S РНК фенувірусів, який кодує білки як у вірусних, так і в комплементарних ланцюгах. Віруси розмножуються в цитоплазмі та бутоні з мембран Гольджі. Через їх сегментовані геноми тісно споріднені віруси можуть зазнавати генетичного пересортименту.

Усі члени родини, крім хантавірусів, є арбовірусами (різні віруси передаються комарами, кліщами, мухами та іншими членистоногими) та вражають хазяїв водою диких тварин; деякі передаються трансмісивно від комарів. Хантавіруси передаються стійко зараженими гризунами шляхом аерозолізації сечі, слини та калу. Деякі віруси мають вузький діапазон господарів, тоді як інші мають широкий діапазон господарів.

Родина ***Coronaviridae*** (коронавіруси) - 1 підродина, 6 родів, 39 видів.

I. Підродина *Coronavirinae* (4 роди)

1. Рід *Alphacoronavirus* (11 видів): альфакоронавірус HCoV-229E (вперше виявили в 1960-х роках), HCoV-NL63 (Нідерланди 2004 рік), коронавіруси людини 229E, NL63, норок, кажанів HKU10, CDPHE15, довгокрилих кажанів HKU8, підковоносів HKU2, жовтих кажанів 512, вірус епізоотичної діареї свиней.

2. Рід *Betacoronavirus* (10 видів): вражають кажанів та деякі людей – HCoV-OC43 та HCoV- HKU11; SARS-CoV та SARS-CoV-2 (відомий як 2019-nCoV) коронавірус кажана *Tylonycteris*, HKU4 (BtCoV- HKU4), коронавірус кажана *Pipistrellus* HKU5 (BtCoV- HKU5) та MERS-CoV (різних видів), коронавірус кажана *Rousettus*, HKU9 (BtCoV- HKU9).

3. Рід *Deltacoronavirus* (8 видів): коронавіруси солов'їв HKU11, молочниць HKU12, муній HKU13, HKU15, очеретянок HKU21, нічних чапель HKU19, білоочкових HKU16, свищів HKU20.

4. Рід *Gammacoronavirus* (2 види): коронавіруси птахів, білуг SW1.

II. Підродина *Torovirinae* (2 роди)

1. Рід *Bafinivirus* (2 види): вірус білих лящів, нідовірус голянів.

2. Рід *Torovirus* (4 види): торовіруси коней, людини, великої рогатої худоби, свиней.

Некласифіковані віруси (3 види): нідовіруси великої рогатої худоби, чавич, королівських пітонів.

Характеристики родини. Складні віріони коронавірусу (пепломери у вигляді корони) розміром 80-220 нм, сферичної форми (коронавіруси), або розміром 120-140 нм та дискової

або стрижневої формою (торовіруси). Віріони мають великі клубоподібні пепломери, що містять внутрішню ікосаедричну структуру ядра, усередині якої є спіральний нуклеокапсид (коронавіруси) або щільно скручений нуклеокапсид у формі пончика (торовіруси). Геном складається з однієї молекули лінійної позитивної полярності, одноланцюгової РНК, розміром приблизно 20 кб (торовіруси) або 27-32 кб (коронавіруси). Транскрипція геномної РНК дає повну довжину комплементарної РНК, яка виступає в якості шаблону для синтезу вкладеного набору з п'яти до семи субгеномних мРНК. Віріони дозрівають у цитоплазмі шляхом пропускання через ендоплазматичний ретикулум та мембрани Гольджі.

Віруси мають вузький діапазон господарів. Повітряно-крапельний, фекально-оральні шляхи передачі, переносники – невідомі.

Родина *Arteriviridae* (артерівіруси) – 5 родів, 17 видів.

1. Рід *Dipartevirus* (1 вид): вірус хиткої хвороби опосумів.
2. Рід *Equartevirus* (1 вид): вірус артеріїту коней.
3. Рід *Nesartevirus* (1 вид): артерівірус африканських сумчастих пацюків.
4. Рід *Porartevirus* (4 види): віруси підвищення рівня лактатдегідрогенази, репродуктивно-респіраторного синдрому свиней, артерівірус пацюків.
5. Рід *Simartevirus* (10 видів): вірус геморагічної гарячки мавп, ведмежих павіанів кінда Кафуе, червонохвостих мавп Кібале, жовтих павіанів Мікумі, геморагічного енцефаліту мавп та ін.

Характеристики родини. Віріони артерівірусу (від артеріїту) діаметром 50-70 нм, складаються із ізометричного нуклеокапсиду, оточеної тісно прилягаючою оболонкою з кільцеподібними поверхневими структурами. Геном складається з однієї молекули лінійної позитивної полярності, одноланцюгової РНК розміром 15 кб. Транскрипція геномної РНК дає повну довжину комплементарної РНК, яка виступає в якості шаблону для синтезу вкладеного набору з шести субгеномічних мРНК. Первинні клітини господаря – це макрофаги. Стійкі інфекції рееструються регулярно. Передача здійснюється контактним шляхом (включаючи статевий контакт) та повітряно-крапельним.

Родина *Togaviridae* (тогавіруси) – 2 роди, 32 види.

1. Рід *Alphavirus* (31 вид): віруси Сіндбіс, східного енцефаломієліту коней, західного енцефаломієліту коней, венесуельського енцефаломієліту коней, південних морських слонів, хвороби підшлункової залози лососів та ін.
2. Рід *Rubivirus* (1 вид): вірус краснухи.

Характеристики родини. Віріони тогавірусу (плащ) складні (оболонкові), сферичної форми, діаметром 65-70 нм, з ікосаедральним нуклеокапсидом (діаметром 50 нм). Віріони мають досить невизначні пепломери. Геном складається з однієї молекули лінійної позитивної полярності, одноланцюгової РНК розміром 9,7-11,8 кб.

Реплікація вірусу включає синтез субгеномної мРНК, з якої синтезуються структурні білки. Реплікація відбувається в цитоплазмі, а збірка включає брунькування через мембрани клітин господаря. Альфавіруси передаються між хребетними комарами та деякими іншими гематофаговими членистоногими. Альфавіруси мають широкий діапазон господарів; вірус краснухи заражає лише людей.

Родина *Flaviviridae* (флавівіруси) – 4 роди, 82 види.

1. Рід *Flavivirus* (53 види): віруси жовтої гарячки, менінгоенцефаліту індиків Ізраїля, японського енцефаліту, лейкоенцефалопатії коротковухих кажанів Монтана, енцефаліту долини Муррей, Омської геморагічної гарячки, кажанів, кліщового енцефаліту та ін.

2. Рід *Hepacivirus* (14 видів): гепацівіруси С, А, В, D, E, F, G, H, I, J, K, L, M, N.
3. Рід *Pegivirus* (11 видів): пегівіруси А, В, С, D, E, F, G, H, I, J, K.
4. Рід *Pestivirus* (4 види): віруси діареї великої рогатої худоби, класичної чуми свиней, прикордонної хвороби.

Характеристики родини. Віріони флавівірусу (флаvus, жовтий) мають оболонкові, сферичної форми та діаметром 40-60 нм. У віріонів є тонкі пепломери, які не демонструють симетричного розміщення. Вірусне ядро сферичне і вважається, що воно має ікосаедричну симетрію, але його структура невідома. Геном складається з однієї молекули лінійної позитивної полярності, одноланцюгової РНК розміром 10,7 (флавівіруси), 12,5 (пестивіруси) або 9,5 (вірус гепатиту С) кб.

Реплікація відбувається в цитоплазмі, а складання передбачає обволікання внутрішніми мембранами клітин господаря. Флавівіруси передаються між хребетними комарами та кліщами; деякі віруси мають обмежений діапазон господарів хребетних тварин, тоді як інші мають широкий діапазон господарів і поширення по всьому світу. Пестивіруси заражають лише певних тварин і передаються прямим та непрямим контактом (наприклад, забрудненою фекаліями їжею, сечею або носовими виділеннями); всі пестивіруси також передаються трансплацентарно. Вірус гепатиту С передається при тісному контакті, статевому контакті та переливанні крові.

Родина Picornaviridae (пікорнавіруси) – 35 родів, 57 видів.

1. Рід *Ampivirus* (1 вид): ампівірус А.
2. Рід *Aphthovirus* (4 види): віруси ящуру, риніту великої рогатої худоби А, В, риніту коней А.
3. Рід *Aquamavirus* (1 вид): аквамавірус А.
4. Рід *Avihepatovirus* (1 вид): авігепаатовірус А.
5. Рід *Avisivirus* (1 вид): авісівірус А.
6. Рід *Cardiovirus* (3 види): кардіовіруси А, В, С.
7. Рід *Cosavirus* (1 вид): косавірус А.
8. Рід *Dicipivirus* (1 вид): кадцівірус А.
9. Рід *Enterovirus* (12 видів): ентеровіруси С, А, В, D, E, F, G, H, J, риновіруси А, В, С. **10.** Рід *Erbovirus* (1 вид): вірус риніту коней В.
11. Рід *Gallivirus* (1 вид): галлівірус А.
12. Рід *Harkavirus* (1 вид): хар- кавірус А.
13. Рід *Hepatovirus* (1 вид): гепатовірус А.
14. Рід *Hunnivirus* (1 вид): хуннівірус А.
15. Рід *Kobuvirus* (3 види): айчівіруси А, В, С.
16. Рід *Kunsagivirus* (1 вид): кунсагівірус А.
17. Рід *Limnipivirus* (3 види): лімніпівіруси А, В, С.
18. Рід *Megrivirus* (1 вид): мелегрівірус А.
19. Рід *Mischivirus* (1 вид): мішівірус А.
20. Рід *Mosavirus* (1 вид): мосавірус А.
21. Рід *Oscivirus* (1 вид): осцівірус А.
22. Рід *Parechovirus* (2 види): пареховіруси А, В.
23. Рід *Pasivirus* (1 вид): пасівірус А.
24. Рід *Passerivirus* (1 вид): пассерівірус А.
25. Рід *Potamipivirus* (1 вид): потаміпівірус А.

26. Рід *Rosavirus* (1 вид): росавірус А.
27. Рід *Rabovirus* (1 вид): рабовірус А.
28. Рід *Sakobuvirus* (1 вид): сакобувірус А.
29. Рід *Salivirus* (1 вид): салівірус А.
30. Рід *Sapelovirus* (3 види): сапеловіруси А, В, птахів.
31. Рід *Senecavirus* (1 вид): сенекавірус А.
32. Рід *Sicinivirus* (1 вид): сіцінівірус А.
33. Рід *Teschovirus* (1 вид): тешовірус А.
34. Рід *Torchivirus* (1 вид): торчівірус А.
35. Рід *Tremovirus* (1 вид): тремовірус А.

Характеристики родини. Віріони *Picornavirus* прості, мають діаметр 27 нм і мають ікосаедральну симетрію. Геном складається з однієї молекули лінійної позитивної полярності, одноланцюгової РНК розміром 7,2-8,4 кб.

Реплікація та збірка відбуваються в цитоплазмі, і вірус вивільняється за допомогою лізису клітин. Інфекція, як правило, гостра але стійкі інфекції відбуваються з деякими вірусами. Віруси мають вузький діапазон господарів. Передача горизонтальна, головним чином контактним, фекально-оральним або повітряним шляхом.

Родина *Caliciviridae* (каліцивіруси) – 5 родів, 7 видів.

1. Рід *Lagovirus* (2 види): віруси геморагічної хвороби кролів, синдрому європейських зайців-русаків.
2. Рід *Nebovirus* (1 вид): вірус Ньюбері-1.
3. Рід *Norovirus* (1 вид): вірус Норволк.
4. Рід *Sapovirus* (1 вид): вірус Саппоро.
5. Рід *Vesivirus* (2 види): вірус везикулярної екзантеми свиней, каліцивірус котів.

Характеристики родини. Віріони Каліцивіруса (калікс, чашка) прості, діаметром 30-38 нм і мають ікосаедральну симетрію. За допомогою електронної мікроскопії з негативним контрастом, віріони часто мають на своїй поверхні 32 симетрично розташовані заглиблені форми. Геном складається з однієї молекули лінійної позитивної полярності, одноланцюгової РНК розміром 7,4-7,7 кб. Капсиди побудовані з 60 копій одного великого білка.

Реплікація та збірка відбуваються в цитоплазмі, і вірус вивільняється за допомогою клітинного лізису. Віруси мають вузький діапазон господарів.

Родина *Astroviridae* (астровіруси) – 2 роди, 22 види.

1. Рід *Avastrovirus* 1 (3 види): авастровіруси.
2. Рід *Mamastrovirus* (19 видів): мамастровіруси.

Характеристики родини. Астровірусні (зіркові) віріони прості (безоболонкові), діаметром 28-30 нм і мають ікосаедральну симетрію. Під час електронної мікроскопії часто виявляється, що віріони мають на своїй поверхні виразну п'яти- або шестикутну зірку. Геном складається з однієї молекули лінійної позитивної полярності, одноланцюгової РНК розміром 7,2-7,9 кб.

Реплікація та збірка відбуваються в цитоплазмі, і вірус вивільняється за допомогою клітинного лізису.

Віруси мають вузький діапазон господарів; передача відбувається фекально-оральним шляхом.

Родина *Hepeviridae* (гепевіруси) – 2 роди, 5 видів.

1. Рід *Orthohepevirus* (4 види): ортогепевіруси А,В, С, D.

2. Рід *Piscihepevirus* (1 вид): пісцігепевірус А.

Родина *Nodaviridae* (нодавїруси) – 2 роди, 5 видів.

1. Рід *Alphanodavirus* (1 вид): вірус Нодамура.

2. Рід *Betanodavirus* (4 види): віруси некрозу нервової тканини смугастих джеків, балфінських камбал, червоних плямистих груперів, тигрових фугу.

Родина *Retroviridae* (ретровїруси) – 2 підродини, 7 родів, 55 видів.

I. Підродина *Orthoretrovirinae* (6 родів).

1. Рід *Alpharetrovirus* (9 видів): віруси лейкозу птахів, мієлобластозу птахів, мієлоцитоматозу птахів, саркоми Рауса, карциноми птахів Mill Hill 2, саркоми птахів СТ10, саркоми птахів Фуджінамі, саркоми птахів UR2, саркоми птахів Y73.

2. Рід *Betaretrovirus* (5 видів): віруси пухлини молочних залоз мишей, лангурів, мавп Мейсон - Пфайзера, ретровїруси овець Джа- агсіекте, саймірі.

3. Рід *Deltaretrovirus* (4 види): віруслейкозу великої рогатої худоби, Т-лімфотропні віруси приматів.

4. Рід *Epsilonretrovirus* (3 види): віруси шкірної саркоми судаків, епідермальної гіперплазії судаків.

5. Рід *Gammaretrovirus* (18 видів): віруси лейкозу мишей, лейкемії котів, лейкемії мавп гібонів, саркоми шерстистих мавп, саркоми котів Гарднер - Арнштайн, Харді - Цукерман, саркоми мишей Харві, ретикулоендотеліозу, некрозу селезінки качок, онковіруси типу-С свиней, мурчаків, синцитіальний вірус курчат, ретровїруси коал, гадюк.

6. Рід *Lentivirus* (10 видів): віруси імунodefіциту людини, мавп, великої рогатої худоби, котів, інфекційної анемії коней, вісни-меді, артриту-енцефаліту кіз, хвороби Джембрана, лентівірус пум.

II. Підродина *Spumaretrovirinae* (1 рід) Рід *Spumavirus* (6 видів): піністі віруси мавп, великої рогатої худоби, коней, котів, мавпячі піністі віруси макак, африканських зелених мавп.

Характеристики родини. Ретровїруси віріони оболонкові, діаметром 80-100 нм, з ікосаедральним капсидом, діаметром близько 60 нм. Геном є диплоїдним, складається з двох молекул лінійної позитивної полярності одноланцюгової РНК, розташованої як перевернутий димер; кожен мономер має розмір 7-11 кб.

Реплікація ретровїрусу унікальна: починається з зворотної транскрипції РНК віріона в дволанцюгову ДНК ферментом зворотної транскриптази. Ці лінійні дволанцюгові проміжні ДНК циркулюють, інтегруються в хромосомну ДНК-хазяїн і потім використовуються для транскрипції, включаючи транскрипцію геномної РНК повної довжини та різних мРНК. Складання віріона відбувається за рахунок брунькування плазматичних мембран.

Ретровїруси асоціюються з багатьма різними захворюваннями, включаючи лейкемії, лімфому, саркоми, карциноми, імунodefіцити, аутоімунні захворювання, захворювання нижніх рухових нейронів та кілька гострих захворювань, пов'язаних з ураженням тканин.

Родина *Reoviridae* (реовїруси) – 2 підродини, 6 родів, 46 видів.

I. Підродина *Sedoreovirinae* (3 роди)

1. Рід *Orbivirus* (22 види): віруси блутанга, африканської чуми коней, перуанської чуми коней, енцефалозу коней, епізоотичної геморагічної хвороби, орбівірус Юньнань та ін.

2. Рід *Rotavirus* (9 видів): ротавїруси А, В, С, D, E, F, G, H, I.

3. Рід *Seadornavirus* (3 види): віруси Банна, Кадіпіро, Ляонін.

II. Підродина *Spinareovirinae* (3 роди)

1. Рід *Aquareovirus* (7 видів): аквареовіруси А, В, С, D, E, F, G.
2. Рід *Coltivirus* (2 види): віруси колорадської кліщової гарячки, Еяч.
3. Рід *Orthoreovirus* (6 видів): ортореовіруси ссавців, птахів, бабуїнів, рептилій, риб.

Характеристики родини. Віріони реовірусів (респіраторно-кишкового тракту) мають майже сферичний контур, діаметр 60-80 нм. Віріони мають дві-три оболонки (кожна з ікосаедричною симетрією), що відрізняються морфологічними деталями в кожному роді. Геном є лінійною дволанцюговою РНК, поділеною на 10 (покоління Ортореовірус і Орбівірус), 11 (рід Ротавірус) або 12 (рід Кольтвірус) сегментів. Загальний розмір генома – 23 (рід Orthoreovirus), 18 (рід Orbivirus), 16-21 (рід Rotavirus) або 27 (рід Coltivirus) кбіт. Реплікація і збірка відбуваються в цитоплазмі, часто в поєднанні з зернистими або фібрилярними включеннями органел.

Ротавіруси та реовіруси поширюються прямим контактом та опосередковано фомітами (фекально-оральна передача); орбівіруси та кольтвіруси передаються через членистоногих (наприклад, комарі або кліщі).

Родина *Birnaviridae* (бірнавіруси) – 3 роди, 4 види.

1. Рід *Aquabirnavirus* (2 види): віруси інфекційного некрозу підшлункової залози, асцити жовтохвостів.
2. Рід *Avibirnavirus* (1 вид): вірус інфекційної бурсальної хвороби.
3. Рід *Blosnavirus* (1 вид): вірус мармурових змієголовів.

Характеристики родини. Віріони *Birnavirus* (birna – два сегменти РНК) нерозвинені, гексагональні обриси, з ікосаедричною симетрією, діаметром 60 – 70 нм. Геном складається з двох молекул лінійної дволанцюгової РНК розміром 7 кбіт. Віріони збираються і накопичуються в цитоплазмі і вивільняються лізисом клітин. Пташині віруси передаються як вертикально, так і горизонтально; географічне поширення є у всьому світі. До природних господарів належать кури, качки, індички та інша домашня птиця, прісноводні та морські риби, моллюски двостулкові.

Родина *Picobirnaviridae* (пікобірнавіруси) – 1 рід, 2 види.

1. Рід *Picobirnavirus* (2 види): пікобірнавіруси людини, кролів.

«Плаваючий» рід *Deltavirus* (дельтавірус) – 1 вид: вірус гепатиту дельта.

Характеристики родини. Вірус гепатиту D, єдиний представник цього роду, є дефектним вірусом, реплікація якого залежить від одночасного зараження вірусом гепатиту В (отже, в природі він зустрічається лише у людини). Віріони кулясті, діаметром близько 36-43 нм і складаються з серцевини, капсульованої білком-помічником гепаднавірусу. Геном складається з однієї молекули кругової негативної чутливості, одноланцюгової РНК, розміром 1,7 кб. У людей, заражених одночасно вірусом гепатиту В, вірус гепатиту D викликає більш важкі захворювання, часто прогресуючи до цирозу. Структура генома та автокаталітична активність вірусу гепатиту D дуже схожі на деякі віруссоїди та супутникові віруси, виявлені у рослин.

Основні таксономічні ознаки родин РНК-геномних вірусів хребетних тварин і людини подано в таблиці 2.1 (MacLachlan and Dubovi, 2016; Virus Taxonomy, 2016) Реплікація більшості РНК-геномних вірусів відбувається в цитоплазмі клітин, за винятком представників родин *Bornaviridae*, *Nyamiviridae*, *Orthomyxoviridae*, *Retroviridae* і «плаваючого» роду *Deltavirus*, які реплікуються в ядрі. Вихід віріонів потомства у просто організованих вірусів здійснюється внаслідок деструкції клітин, а у більшості складно організованих вірусів – брунькуванням через плазмолему, а також через мембрани комплексу Гольджі або

ендоплазматичної сітки в поєднанні з екзоцитозом (*Peribunyaviridae*, *Hantaviridae*, *Nairoviridae*, *Phenuiviridae*, *Flaviviridae*, *Coronaviridae*, *Arteriviridae*) (MacLachlan and Dubovi, 2016; Virus Taxonomy, 2016).

Таблиця 2.1

Основні таксономічні ознаки РНК-геномних вірусів хребтних тварин та людини

Родина	РНК	Форма віріона	Розміри віріона (нм)	Супер-капсид	Тип симетрії капсиду
<i>Paramyxoviridae</i> (параміксовіруси)	1л (л) –н	Плеоморфна, сферична	150 – 350	Є	Спіральний
<i>Pneumoviridae</i> (пневмовіруси)	1л (л) –н	Сферична, ниткоподібна	80 – 140	Є	Спіральний
<i>Rhabdoviridae</i> (рабдовіруси)	1л (л) –н	Кулеподібна	130 – 380 × 60 – 80	Є	Спіральний
<i>Filoviridae</i> (філовіруси)	1л (л) –н	Плеоморфна, ниткоподібна	790, 970 або 1400 × 80 Є	Є	Спіральний
<i>Bornaviridae</i> (борнавіруси)	1л (л) –н	Сферична	70 – 130	Є	Спіральний
<i>Nyamiviridae</i> (ньямівіруси)	1л (л) –н	Сферична	100 – 130	Є	Спіральний
<i>Sunviridae</i> (сунвіруси)	1л (л) –н	Сферична		Є	Спіральний
<i>Orthomyxoviridae</i> (ортоміксовіруси)	1л (ф) –н	Плеоморфна, сферична	80 – 120	Є	Спіральний
<i>Arenaviridae</i> (аренавіруси)	1л (фк) –н	Плеоморфна, сферична	50– 300	Є	Спіральний
<i>Peribunyaviridae</i> (перібуньявіруси)	1л (фк) –н	Сферична	80 – 120	Є	Спіральний
<i>Hantaviridae</i> (хантавіруси)	1л (фк) –н	Сферична	80 – 120	Є	Спіральний
<i>Nairoviridae</i> (найровіруси)	1л (фк) –н	Сферична	80 – 120	Є	Спіральний
<i>Phenuiviridae</i> (фенуівіруси)	1л (фк) –н	Сферична	80 – 120	Є	Спіральний
<i>Coronaviridae</i> (коронавіруси)	1л (л) +н	Плеоморфна, сферична	80 – 220	Є	Спіральний
<i>Arteriviridae</i> (артерівіруси)	1л (л) +н	Сферична	45 – 60	Є	Ікосаедральний
<i>Togaviridae</i> (тогавіруси)	1л (л) +н	Сферична	65 – 70	Є	Ікосаедральний
<i>Flaviviridae</i> (флавівіруси)	1л (л) +н	Сферична	40 – 60	Є	Ікосаедральний
<i>Picornaviridae</i> (пікорнавіруси)	1л (л) +н	Сферична	20 – 32	Немає	Ікосаедральний
<i>Caliciviridae</i> (каліцівіруси)	1л (л) +н	Сферична, ікосаедральна	27 – 40	Немає	Ікосаедральний
<i>Astroviridae</i> (астровіруси)	1л (л) +н	Сферична	28 – 30	Немає	Ікосаедральний
<i>Hepeviridae</i>	1л (л) +н	Сферична	27 – 34	Немає	Ікосаедральний

(гепевіруси)					
<i>Nodaviridae</i> (нодавіруси)	1л (ф) +н	Сферична	25 – 35	Немає	Ікосаедральний
<i>Retroviridae</i> (ретровіруси)	1л (л) +н	Сферична	80 – 100	Є	Ікосаедральний
<i>Reoviridae</i> (реовіруси)	2л (ф)	Сферична	60 – 80	Немає	Ікосаедральний
<i>Birnaviridae</i> (бірнавіруси)	2л (ф)	Ікосаедральна	60 – 70	Немає	Ікосаедральний
<i>Picobirnaviridae</i> (пікобірнавіруси)	2л (ф)	Сферична	33 – 37	Немає	Ікосаедральний
<i>Deltavirus</i> (дельтавірус)	1л (к) –н	Сферична	36 – 43	Є	

Примітка: 1л – одноланцюгова; 2л – дволанцюгова; л – лінійна; к – кільцева; ф – фрагментована; +н – плюс-нитка; –н – мінус-нитка.

2.3. Вірусна номенклатура

Належне використання спеціалізованої лексики біологічних наук та медицини, поряд із додатковою лексикою ветеринарної медицини, ветеринарної та зоонотичної вірусології, є ключовим для точного спілкування у всіх професійних видах діяльності, будь то клінічна, наукова або публічна програмна діяльність. Правильне використання спеціалізованої вірусологічної номенклатури настільки ж свідчить про розуміння інфекційних захворювань, як і про правильне використання номенклатури патології, епідеміології чи клінічної медицини.

При офіційному використанні номенклатури вірусів перші літери родини вірусів, підродини та назви родів пишуться з великої літери, а терміни друкуються курсивом. Написання видів з маленької літери (якщо вони не походять від назви міст) а також вони друкуються курсивом. У формальному використанні ідентифікація таксону передє назви; наприклад: «родина *Picornaviridae*» або «рід *Morbillivirus*».

Приклади формальної таксономічної термінології:

1. Порядок *Mononegavirales*, родина *Rhabdoviridae*, рід *Lyssavirus*, вірус сказу.
2. Родина *Poxviridae*, підродина *Chordopoxvirinae*, рід *Suipoxvirus*, вірус віспи свиней.
3. Родина *Herpesviridae*, підродина *Alphaherpesvirinae*, рід *Simplexvirus*, вірус герпесу ВРХ 2.
4. Родина *Picornaviridae*, рід *Aphthovirus*, вірус ящуру.
5. Родина *Parvoviridae*, підродина *Parvovirinae*, рід *Protoparvovirus*, вид *Rodent Protoparvovirus*, собачий парвовірус.

При неофіційному повсякденному (побутовому) використанні всі терміни пишуться з маленької літери (крім тих, що походять від імен вчених), не виділяються курсивом, не використовують формальний суфікс, а назва таксону впливає з назви. Наприклад, «родина пікорнавірусів» та «ентеровірусний рід».

Групування вірусів на основі епізоотологічних критеріїв

Окремо від формальної універсальної таксономічної системи, формальної та побутової номенклатури, що впливає з неї, існують інші “класифікації” вірусів, які є практичними та поширеними. Вони засновані на тропізмі вірусів та способах передачі.

Щоб запобігти поширенню інфекційних захворювань серед людей і тварин слід знати

шляхи передачі. Передача інфекційних агентів між живими мікроорганізмами здійснюється різними факторами, такими як контакт, вектори, транспортні засоби та фоміти.

Вектор – це організм, який переносить і передає інфекційний агент до іншого (чутливого, сприйнятливого) організму. Комар – один з найвідоміших векторів, який поширює наприклад такі захворювання, як малярія, жовта лихоманка, міксоматоз, тощо. Фоміт – неживий об'єкт, який здатний передавати хворобу від одного організму до іншого. Ключова відмінність між фомітом і вектором полягає в тому, що фоміт – це неживий об'єкт, який може поширювати інфекційних агентів, тоді таких як вектор – це живий в організм, який поширює хворобу.

Більшість вірусів тварин передаються аерогенним (повітряно-крапельним), аліментарним (з їжею, водою), трансмісивним (комахи, укуси тварин, ін'єкції) шляхами, тісного контакту вдихання (включаючи статевий контакт) або вродженого характеру.

Схильність пристосовуватись до оптимальних умов чутливого організму називають явищем тропізму. Оптимальні умови забезпечують відповідні температура та рН в міжклітинній рідині і комплементарність оболонки вірусу й рецепторів цитоплазматичної мембрани клітини-хазяїна.

Відповідно до тропності збудників їх поділяють на:

- ентеротропні (оптимальними є умови шлунково-кишкового тракту);
- нейротропні (оптимальними є умови нервової системи);
- пневмотропні або респіраторні (оптимальними є умови органів дихання);
- дерматропні або епітеліотропні (оптимальними є умови шкіри);
- пантропні (розвиток збудника в різних системах організму).

Ентеротропні віруси розмножуються насамперед в шлунково-кишковому тракті та потрапляють всередину організму з їжею (аліментарним шляхом). Поширення зазвичай обмежується вірусами, які залишаються локалізованими в кишковому тракті, а не викликають генералізовані інфекції. Ентеротропні віруси входять до родини *Picornaviridae* (рід *Enterovirus*), *Caliciviridae*, *Astroviridae*, *Coronaviridae*, *Reoviridae* (роди *Rotavirus* і *Reovirus*), *Parvoviridae* та *Adenoviridae*.

Пневмотропні віруси зазвичай потрапляють в організм аерогенним шляхом (повітряно-крапельна передача) через органи дихання або фомітами (неживі предмети, що переносять вірусну інфекцію) і розмножуються в основному в дихальних шляхах. Поширення зазвичай обмежується вірусами, які залишаються локалізованими в дихальних шляхах, а не викликають генералізовані інфекції. Респіраторні віруси відносяться до родин *Picornaviridae* (рід *Rhinovirus*), *Caliciviridae*, *Coronaviridae* (рід *Coronavirus*), *Paramyxoviridae* (рід *Paramyxovirus*, *Rubulavirus* та *Pneumovirus*), *Orthomyxoviridae* та *Adenoviridae*.

Пантропні віруси в більшості випадків ускладнюють перебіг та діагностику хвороби, а також потребують симптоматичного лікування. Пантропними є збудники більшості хвороб хребетних вірусної етіології, наприклад хвороба Ньюкасла (родина *Paramyxoviridae*), африканська чума свиней АЧС (родина *Asfarviridae*), класична чума свиней КЧС (родина *Flaviviridae*), хвороба Ауескі (родина *Herpesviridae*).

Арбовіруси – віруси, що переносяться членистоногими (трансмісивний шлях передачі), розмножуються в гематофагових векторах членистоногих (кліщі, комарі, тощо) і потім передаються шляхом укусу до хребетних господарів, де реплікація вірусу створює віремію достатньої величини для інфікування інших кровоносних членистоногих. Таким чином утворюється безперервний цикл розвитку – епізоотичний процес. Арбовіруси входять до

родини *Togaviridae*, *Flaviviridae*, *Reoviridae* (рід *Orbivirus* і *Coltivirus*) та *Asfarviridae*.

Існує теорія, що онкогенні віруси набуваються при тісному контакті (включаючи статевий контакт), ін'єкціях, фомітах та невідомими способами. Зазвичай віруси інфікують лише специфічні клітини, зокрема тканини-мішені, де вони зазвичай стають стійкими і можуть викликати трансформацію клітин-господарів, що, в свою чергу, може перерости в злоякісність. Віруси, які продемонстрували здатність бути онкогенними, у експериментальних тварин або в природі, включаються до сімейств *Retroviridae*, *Hepadnaviridae*, *Papovaviridae*, *Adenoviridae* та *Herpesviridae*.

***Таксономічну характеристику описували опираючись на наукові публікації
О.С. Калініної – вітчизняного вірусолога сьогодення.***

Контрольні запитання

- 1. Які основні критерії покладені в основу сучасної класифікації вірусів ?*
- 2. Які таксономічні одиниці має класифікація вірусів ?*
- 3. Скількіна сьогодні відомо видів вірусів? Яка кількість з них класифіковані ?*
- 4. Назвіть порядки вірусів, що описані на сьогодення ?*
- 5. Назвіть родини ДНК-та РНК-вмісних вірусів ?*
- 6. Яке має значення розуміння номенклатури вірусів для ветеринарного лікаря?*
- 7. Як здійснюють групування вірусів на основі епізоотологічних критеріїв?*
- 8. Що таке тропізм вірусів? Як поділяють віруси за тропністю?*

РОЗДІЛ 3 РЕПРОДУКЦІЯ ВІРУСІВ. ВІРУСНА ГЕНЕТИКА ТА ЕВОЛЮЦІЯ

Репродукція вірусів є досить складним процесом, що складається з декількох етапів (фаз), які в свою чергу включають важливі стадії створення нових популяцій віріонів, що проходять послідовно або паралельно (табл. 3.1).

Таблиця 3.1

Фази репродукції вірусів

Назва фази репродукції	Назва послідовних або паралельних стадій			
Підготовча (проникнення в клітину)	<i>Адсорбція</i> на мембрані хазяїна; <i>Пенетрація</i> (взаємодія з мембраною для проникнення в цитоплазму); <i>Депротейнізація</i> (роздягання вірусу)			
Утворення нових віріонів (власне репродукція)	<i>Транскрипція</i> (переписування генетичної інформації)	<i>Трансляція</i> (біосинтез вірусних білків)	<i>Реплікація</i> (синтез вірусних нуклеїнових кислот)	<i>Складання</i> зрілих віріонів
Вихід з клітини	<i>«Вибух»</i> клітини-господаря (прості віруси); <i>Брунькування</i> (складні віруси)			

Проникнення вірусів у клітину

За рахунок комплементарної взаємодії білків вірусів та рецепторів «клітини-господаря» розпочинається процес прикріплення вірусу до чутливої клітини (*адсорбція*), після чого віріони можуть проникати до клітини за одним з двох основних механізмів *пенетрації*: або рецептор-опосередкований ендоцитоз, або злиття.

1. Рецептор-опосередкований ендоцитоз

Більшість клітин ссавців постійно беруть участь в опосередкованому рецепторами ендоцитозі для поглинання макромолекул через специфічні рецептори. Багато вірусів, використовують цю важливу функцію клітин для здійснення інфекційного процесу. Приєднання віріону до рецепторів, що скупчуються в ямках, покритих клатрином, супроводжується ендоцитозом у везикули, покриті особливим клатрином. Везикули потрапляють у цитоплазму і після зняття клатринової оболонки зливаються з ендосомами (кислі передлізосомні вакуолі). Підкислення всередину везикули запускає зміни в білках віріона та поверхневих структур. Наприклад, конфігурація капсидного білка VP4 пікорнавірусів призводить до вивільнення вірусної РНК з віріону в цитозол. Аналогічно, при кислотному рН ендосоми молекула гемаглютиніну вірусу грипу зазнає конформаційну зміну, яка дає змогу відбуватися злиттю між оболонкою вірусу та ендосомною мембраною, що призводить до вивільнення вірусного нуклеокапсиду в цитоплазму.

2. Злиття з цитоплазматичною мембраною

У параміксовірусів за рахунок наявності глікопротеїну призводить до того, що оболонка (суперкапсид) цих вірусів зливається безпосередньо з цитоплазматичною

мембраною клітини навіть при рН 7. Це дозволяє нуклеокапсиду вивільнитися безпосередньо в цитоплазму. Ряд інших вірусних оболонок має здатність зливатися з цитоплазматичною мембраною клітини-господаря власною оболонкою, тим самим отримуючи надходження їх нуклеїнової кислоти.

Депротейнізація («роздягання» вірусу)

Щоб вірусні гени стали доступними для транскрипції, необхідно, щоб віріони були хоча б частково не покриті. У випадку з оболонковими (складними) РНК вірусами, які потрапляють шляхом злиття своєї оболонки або з плазматичною мембраною, або з ендосомальною мембраною, нуклеокапсид скидається безпосередньо в цитоплазму і починається транскрипція з вірусної нуклеїнової кислоти, яка все ще пов'язана з цією структурою. За допомогою нерозвиненого ікосаедрального типу симетрії вірусу видаляються лише певні капсидні білки, а вірусний геном виражає всі свої функції, не вивільняючись з ядра віріона. Для більшості інших вірусів «роздягання» триває до завершення. Для деяких вірусів, які розмножуються в ядрі, пізніші стадії розшарування відбуваються там, а не в цитоплазмі. Якщо вірус не потрапив в місце депротейнізації (наприклад, рецептосомі, лізосомі, комплекс Гольджі, навколядерний простір, пори ядерної мембрани, ядро), то він може бути зруйнований ферментами лізосом клітини-хазяїна.

Особливості транскрипції геномів вірусів

Вірусна РНК одноланцюгових вірусів РНК зв'язується безпосередньо з рибосомами і копіюється повністю або частково без необхідності жодного попереднього етапу транскрипції. З усіх інших класів вірусних геномів мРНК необхідно транскрибувати, щоб розпочати процес експресії зараженого вірусного геному. У випадку вірусів ДНК, які реплікуються в ядрі, клітинна ДНК-залежна РНК-полімераза II виконує цю функцію. Усі інші віруси потребують унікальної та специфічної транскриптази, яка кодується вірусом і є невід'ємним компонентом віріона. Дволанцюгові віруси ДНК, що реплікуються в цитоплазмі, несуть ДНК-залежну РНК-полімеразу, тоді як дволанцюгові РНК-віруси мають специфічну дволанцюгову РНК-залежну РНК-полімеразу і негативної полярності одноланцюгові РНК-віруси несуть специфічну одно-, багатоланцюгову РНК-залежну РНК-полімеразу.

Віруси зворотної транскрипції

Гепатнавіруси. Одноланцюгова частина ДНК частково дволанцюгового геному ДНК гепатнавірусів спочатку комплектується ДНК-полімеразою, асоційованою з віріоном, і ДНК перетворюється у замкнену двошарову ДНК. Потім відбувається транскрипція клітинною РНК-полімеразою II. Повна довжина з позитивною полярністю РНК служить шаблоном для вірусної зворотної транскриптази та ланцюга ДНК негативної полярності, який, в свою чергу, є шаблоном для синтезу дволанцюгової ДНК. Транскрибується мРНК з дволанцюгової ДНК, починаючи від різних промоторів.

Ретровіруси. У ретровірусів вірусна РНК має позитивну полярність, але замість того, щоб функціонувати як мРНК, вона транскрибується вірусно-РНК-залежною ДНК-полімеразою (зворотна транскриптаза) для отримання спочатку гібридної молекули РНК-ДНК, яка в свою чергу перетворюється на подвійну – ланцюгову ДНК (іншою активністю того ж ферменту) і постійно вставляється в геном клітинної ДНК. Ця інтегрована вірусна ДНК (провірус) згодом транскрибується клітинною РНК-полімеразою II з наступним

сплайсінгом транскрипту РНК, а також розщепленням отриманих білків. Деякі повнорозмірні транскрипти з позитивною полярністю РНК асоціюються парами, утворюючи диплоїдні геноми нових віріонів.

Інгібування транскрипції РНК клітини-хазяїна

Багато різних вірусів, включаючи поксвіруси, рабдовируси, реовіруси, параміксовіруси та пікорнавіруси – гальмують транскрипцію РНК клітини господаря. В деяких випадках це гальмування може бути опосередкованим наслідком вірусного впливу на синтез білка в зараженій клітині, що зменшує доступність факторів транскрипції, необхідних для активності РНК-полімерази. В інших випадках віруси кодують специфічні фактори транскрипції з метою регулювання експресії власних генів, а в деяких випадках ці фактори також модулюють експресію клітинних генів. Наприклад, герпесвіруси кодують білки, які безпосередньо зв'язуються з певними послідовностями вірусної ДНК, тим самим регулюючи транскрипцію вірусних генів.

Регулювання транскрипції з вірусної ДНК у 1978 р. Фієрс та його колеги представили перший повний опис геному вірусу тварини. Аналіз кільцевої дволанцюгової молекули ДНК та програми її транскрипції показав деякі уявлення, багато з яких можна узагальнити до інших дволанцюгових вірусів ДНК. Так ранні та пізні гени транскрибуються у протилежних напрямках, з різних ланцюгів ДНК. Певні гени перетинаються, так що їх білкові речовини мають деякі спільні амінокислотні послідовності. Деякі ділянки вірусної ДНК можуть зчитуватися в різних рамках зчитування, так що досить чіткі амінокислотні послідовності переводяться з тієї ж нуклеотидної послідовності. Певні довгі ділянки вірусної ДНК складаються з інтронів, які транскрибуються, але не переводяться в білок, оскільки вони сплайсовані з первинного розшифрування РНК.

Аденовіруси можуть бути використані для з'ясування деяких механізмів, що регулюють експресію вірусних геномів – вони функціонують переважно, але не виключно, на рівні транскрипції. Є кілька блоків транскрипції аденовірусу; на різних стадіях циклу реплікації вірусу одиниці транскрипції “передчасна”, “рання”, “проміжна” та “пізня” транскрибуються у встановленій часовій послідовності.

Роль вірусних білків в другому етапі репродукції вірусів

Білки, перекладені з ранніх стенограм ДНК вірусів, включають ферменти та інші білки, необхідні для реплікації вірусної нуклеїнової кислоти, а також білки, які пригнічують РНК клітини господаря та синтез білка. Великі за розмірами ДНК-віруси (поксвіруси та герпесвіруси) також кодують низку ферментів, що беруть участь у нуклеотидному обміні.

Пізні вірусні білки складаються з пізніх мРНК, більшість з яких транскрибуються з молекул вірусних нуклеїнових кислот потомства. Більшість пізніх білків – це вірусні структурні білки, які часто містяться в надлишку. Деякі вірусні білки, включаючи з іншими важливими функціями, служать регулюючими білками, модулюючи транскрипцію або трансляцію клітинних генів або ранніх вірусних генів. Великі ДНК-ові віруси також кодують численні додаткові білки, так звані вірокіни, які не регулюють сам цикл реплікації вірусу, але впливають на реакцію господаря на інфекцію. До них входять гомологи клітинних цитокінів.

Закриті, поліаденільовані та оброблені моноцистронні вірусні мРНК зв'язуються з рибосомами і переводяться в білок таким же чином, як і клітинні мРНК. Послідовність подій

вивчена в інфікованих реовірусом клітинах. Кожна моноцистронна молекула мРНК зв'язується через обмежений 5 кінець до рибосомальної субодиниці 40S, яка потім рухається по молекулі мРНК до зупинки на ініціаційному кордоні. Потім рибосомальна субодиниця зв'язується разом з РНК-метіонілом і різними факторами ініціації, після чого відбувається трансляція.

У клітинах ссавців молекули мРНК є моноцистронними (кодують лише один білок) і, за невеликими винятками, трансляція починається лише в кодоні 5-ініціації.

Більшість вірусних білків зазнають різного роду посттрансляційних модифікацій, таких як фосфорилювання (для зв'язування нуклеїнової кислоти), ацилювання жирної кислоти (для вставки мембрани), глікозилювання, мірестіляція або протеолітичне розщеплення. Синтезовані вірусні білки також повинні бути транспортовані до різних ділянок клітини, де вони потрібні, наприклад, назад у ядро у випадку вірусів, які там реплікуються.

Посттрансляційне розщеплення вірусних білків

Що стосується пікорнавірусів та флавірусів із позитивним геномом, поліцистронна вірусна РНК переводиться безпосередньо у єдиний поліпротеїн, який здійснює протеазну активність, що розщеплює поліпротеїн у визначених місцях розпізнавання на прості білки. Перші етапи розщеплення проводяться, поки поліпротеїн ще пов'язаний з рибосомою. Деякі з великих проміжних продуктів існують лише швидкоплинно, тоді як інші функціонують протягом короткого періоду, але згодом розщеплюються додатковими протеазами, кодованими вірусами, до простих білків з альтернативними функціями. Посттрансляційне розщеплення відбувається у кількох інших родинах вірусів РНК, наприклад, тогавірусів та каліцивірусів, в яких поліпротеїни, що відповідають великій частині геному, розщеплюються. Деякі віруси кодують кілька різних протеаз. Більшість це або трипсиноподібні (серинові або цистеїнові протеази), пепсиноподібні (аспартилові протеази) або папаїноподібні (тіолові протеази).

Клітинні протеази, присутні в органелах, таких як комплекс Гольджі або транспортні везикули, також є життєво важливими для дозрівання та збирання багатьох вірусів. Наприклад, розщеплення гемаглютиніну глікопротеїном ортоміксовірусів або злитого глікопротеїну параміксовірусів має важливе значення для зараження віріоном.

Закриті, поліаденільовані та оброблені моноцистронні вірусні мРНК зв'язуються з рибосомами і переводяться в білок таким же чином, як і клітинні мРНК. Послідовність подій вивчена в інфікованих реовірусом клітинах. Кожна моноцистронна молекула мРНК зв'язується через обмежений 5 кінець до рибосомальної субодиниці 40S, яка потім рухається по молекулі мРНК до зупинки на ініціаційному кодоні. Потім рибосомальна субодиниця зв'язується разом з РНК-метіонілом і різними факторами ініціації, після чого відбувається трансляція.

У клітинах ссавців молекули мРНК є моноцистронними (кодують лише один білок) і, за невеликими винятками, трансляція починається лише в кодоні 5-ініціації.

Більшість вірусних білків зазнають різного роду посттрансляційних модифікацій, таких як фосфорилювання (для зв'язування нуклеїнової кислоти), ацилювання жирної кислоти (для вставки мембрани), глікозилювання, мірестіляція або протеолітичне розщеплення. Синтезовані вірусні білки також повинні бути транспортовані до різних ділянок клітини, де вони потрібні, наприклад, назад у ядро у випадку вірусів, які там реплікуються.

Особливості реплікації вірусів

Розкриття складності вірусної реплікації є центральним напрямком експериментальної вірусології. Дослідження з бактеріофагами у 40-х та 1950-х роках дали перші уявлення. З розвитком методик культивування на культурах клітин ссавців, які використовували для вивчення бактеріофагів, були адаптовані до вірусів тварин. Прогрес був таким, що основні механізми транскрипції, трансляції та реплікації нуклеїнової кислоти були охарактеризовані для всіх основних родин вірусів тварин, а також були вивчені стратегії експресії та регуляції генів.

Стратегії реплікації вірусів

Реплікація більшості вірусів ДНК передбачає механізми, знайомі в клітинній біології; транскрипція мРНК з дволанцюгової ДНК та реплікація ДНК. Ситуація є досить різноманітною для вірусів РНК, які унікальні тим, що їх генетична інформація кодується в РНК. РНК-віруси з різними типами геномів (одно- або дволанцюгові, позитивної або негативної полярності, лінійної або кільцевої, або сегментованої структури геному) неодмінно еволюціонували різними шляхами до отримання мРНК. У випадку одноланцюгових РНК вірусів з позитивною полярністю сама геномна РНК аналогічна (функціонує) як іРНК, ця молекула одразу може здійснювати синтез вірусних білків в рибосомі і швидко утворювати нові вібріони, тоді як РНК негативної полярності не можуть швидко розпочати утворення вірусних білків на рибосомі, спочатку повинні бути транскрибовані у модифіковану РНК. Оскільки еукаріотичні клітини не містять РНК-залежної РНК-полімерази, негативної полярності, одноланцюгові РНК-віруси та дволанцюгові РНК-віруси повинні містити РНК-залежну РНК-полімеразу у вібріоні, це фермент, що каталізує синтез РНК молекули з РНК матриці. Оскільки за допомогою РНК-залежних РНК полімераз, РНК-вмісні віруси здатні копіювати свій геном. РНК віруси з позитивною і негативною полярністю в одній популяції називаються амбісенси-віруси (наприклад родина аренавірусів).

Молекулярна мРНК несе генетичну інформацію для отримання відповідного білка. У всіх живих організмах загальна мРНК клітин перетворюється на білки шляхом (процесом) трансляції.

Еукаріотичної клітини мРНК є моноцитронною, кодує лише один білок та незмінно являє собою один ген, а отже не здатна кодувати окремі види білків, так як поліцистронні (polycistronic) мРНК де транскрибується одна мРНК з групи суміжних генів, тобто несе інформацію про декілька генів, які переводяться на кілька білків, тому така клітина в цілому не може відновити частину трансляції шляхом молекули РНК.

ДНК-віруси долають це обмеження, використовуючи клітинний механізм розщеплення (а іноді і сплайсинг) своїх поліцистронних РНК-варіантів для отримання моноцистронних (monocistronic) молекул мРНК. РНК-віруси, більшість з яких реплікуються в цитоплазмі, не мають доступу до РНК, що переробляють і сплайсують ферменти ядра, розробили надзвичайно різноманітні рішення такої проблеми. Деякі утворили сегментований геном, в якому кожна молекула, взагалі, є окремим геном. Інші еволюціонували в поліцистронному геномі, але продукують моноцистронні РНК-варіанти шляхом припинення та відновлення транскрипції. Інші користуються вкладеним набором транскриптів, що перекриваються РНК, кожна з яких переводиться в єдиний генний продукт. Так у деяких є поліцистронна вірусна РНК, яка переводиться на поліпротеїн, який згодом розщеплюється протеолітично для

отримання кінцевих продуктів.

Реплікація вірусних нуклеїнових кислот

Реплікація вірусної ДНК. Кожна родина вірусів ДНК використовує різні механізми реплікації ДНК. Оскільки клітинні ДНК-полімерази не можуть ініціювати синтез нового ланцюга ДНК, а лише розширювати синтез з короткого праймера (РНК), можна очікувати, що один кінець новосинтезованих вірусних молекул ДНК залишиться одно ланцюговим (табл. 3.2). Різні ДНК-віруси виробили різні стратегії подолання цієї проблеми. Віруси деяких родин мають кільцевий геном ДНК, інші мають лінійний геном з комплементарними нуклеотидами, які служать праймерами, а інші мають протеїновий праймер, ковалентно прикріплений до кожного 5 кінця.

Таблиця 3.2

Особливості реплікації ДНК - вірусів

Геном	Реплікація геному та синтез вірусних білків
Одно-спіральної ДНК-віруси	+ та – ДНК доповнюються до двоспиральних молекул. Інформаційна РНК та білки синтезуються лише з одної нитки двониткової молекули.
Двох-спіральної ДНК-віруси	Адено-, папова-, герпесвіруси синтезують і-РНК в ядрі за допомогою ДНК-полімераз хазяїна. Покс- та ірідовіруси здійснюють синтез і-РНК в цитоплазмі.

Для реплікації вірусної ДНК, як правило, потрібно декілька вірусів, що кодується вірусом: геліказа (з активністю АТФ фази) для розмотування подвійної спіралі; білок, що дестабілізує спіраль, щоб відстояти дві відокремлені нитки, поки кожна не буде скопійована; ДНК-полімераза для копіювання кожного ланцюга від початку реплікації у напрямку 5 – 3; RNase для деградації праймера РНК після того, як він виконав своє призначення; і ДНК-лігазу для об'єднання фрагментів Оказакі разом. Часто один великий фермент здійснює дві або більше цих дій.

Геном паповавірусу з пов'язаними з ним клітинними гістонами морфологічно і функціонально нагадує клітинну ДНК і використовує ферменти клітини-господаря, включаючи ДНК-полімеразу А, для своєї реплікації. Ранній вірусний білок, великий-Т, зв'язується з ділянками в регуляторній послідовності вірусного геному, тим самим ініціюючи реплікацію ДНК. Реплікація цієї кільцевої дволанцюгової ДНК починається з унікальної паліндромної послідовності і протікає одночасно в обох напрямках. Як і при реплікації ДНК ссавців, на двох зростаючих кінцях відбувається як безперервний, так і розривний синтез ДНК (провідних і відстаючих ниток відповідно). Переривчастий синтез відсталого ланцюга включає повторний синтез коротких олігорибонуклеотидних праймерів, які, в свою чергу, ініціюють короткі зароджувані нитки ДНК (фрагменти Оказакі), які потім з'єднуються ковалентно ДНК-лігазою, утворюючи одну з зростаючих ниток.

Реплікація аденовірусної ДНК зовсім інша. ДНК аденовірусу лінійний, 5 кінець кожного ланцюга є дзеркальним зображенням другого (термінально повторювані перевернуті послідовності) і кожна пов'язана ковалентно з білком, попередником якого служить праймер для синтезу вірусної ДНК. Реплікація ДНК протікає з обох кінців, безперервно, але асинхронно, у напрямку 5' – 3', використовуючи кодовану вірусом ДНК-

полімераза. Він не потребує синтезу фрагментів Оказакі.

Герпесвіруси кодують багато або всі білки, необхідні для реплікації ДНК, включаючи ДНК-полімераза, геліказа, примаду, одноланцюговий білок, що зв'язує ДНК, і білок, що розпізнає походження реплікації. Поксвіруси та асфарвіруси, які повністю реплікуються всередині цитоплазми, є самодостатніми в механізмах реплікації ДНК. Гепаднавіруси, як і ретровіруси, використовують одноланцюгові транскрипти РНК позитивного сенсу як проміжні речовини для отримання ДНК шляхом зворотної транскрипції. Одноланцюгові парвовіруси ДНК використовують 3-паліндромні послідовності, які утворюють дволанцюгову структуру як праймер для зв'язування клітинної ДНК-полімерази.

Поксвіруси, асфарвіруси та іридовіруси, які реплікуються у цитоплазмі, несуть у віріоні власну транскриптазу (залежна від ДНК полімераза РНК). Їх дуже великі геноми кодують численні інші ферменти, які роблять їх практично незалежними від ядра клітини. Моноцистронні мРНК транскрибуються безпосередньо з вірусної ДНК.

Герпесвіруси, аденовіруси мають, з одного боку, найбільш просту стратегію реплікації: вірусна ДНК транскрибується всередині ядра клітинною ДНК-залежною РНК-полімеразою II. Існує два або більше циклів транскрипції, різні транскрипційні одиниці (групи генів під контролем одного промотору) транскрибуються у заданій часовій послідовності. Поліцистронні, але субгеномічні транскрипти РНК (відповідні декільком генам, але менше, ніж весь геном) піддаються розщепленню та сплайсингу для отримання моноцистронних мРНК, при цьому нітрони (ділянки ДНК, які відсутні в зрілій РНК) видаляються.

Парвовіруси та цирковіруси зі своїми одноланцюговими ДНК використовують клітинні ДНК-полімерази для синтезу дволанцюгової ДНК, яка потім транскрибується в ядро клітинною ДНК-залежною РНК-полімеразою II. Потім запис обробляється сплайсингом для отримання мРНК.

Реплікація вірусної РНК. Реплікація РНК – явище, унікальне для вірусів (табл. 3.3). Транскрипція РНК з шаблону РНК вимагає РНК-залежної РНК-полімерази, кодується вірусом фермент, який не виявляється в незаражених клітинах. Реплікація вірусної РНК потребує спочатку синтезу комплементарної РНК, яка потім служить шаблоном для отримання більшої кількості вірусної РНК. Якщо вірусна РНК має негативну полярність (ортоміксовіруси, параміксовіруси, рабдовируси, філовіруси, борнавірус та аренавіруси), додаткова РНК буде мати позитивний геном, а включена полімераза РНК нагадає пов'язану з віріоном транскриптазу транскрипція мРНК.

Таблиця 3.3

Особливості реплікації РНК - вірусів

Геном	Реплікація геному та синтез вірусних білків
Одно-спіральні +РНК-ові	Пікорна-, корона- та тогавіруси здатні синтезувати мінус-нитку нуклеїнової кислоти. Потім з неї робляться чисельні копії +РНК, з яких синтезується вірусний білок, а частина з них займають місце вірусних геномів.
Одно-спіральні – РНК-ові	Ортоміксо-, параміксо-, рабдовируси мають –РНК. Вони синтезують відповідну +РНК, по якій синтезуються вірусні білків. Новоутворені одиночні +РНК синтезують –РНК, які і увійдуть до нових вірусів.

Більшість копій з таких вірусних РНК з негативною полярністю є субгеномічними молекулами мРНК, деякі повнорозмірні ланцюги позитивної полярності також повинні бути створені для того, щоб слугувати шаблонами для синтезу вірусної РНК (реплікації). Для деяких вірусів полімерази РНК, що використовуються для транскрипції та реплікації, відрізняються, тоді як для інших той же фермент функціонує по-різному. Що стосується вірусів РНК з позитивним геномом (пikорнавіруси, каліцивіруси, тогавіруси, флавівіруси, коронавіруси та артеровіруси), то комплементарна РНК має негативну полярність. Кілька молекул вірусної РНК можуть бути транскрибовані одночасно з одного комплементарного шаблону РНК, при цьому кожен стенограф РНК є продуктом окремо пов'язаної молекули полімерази. Отримана структура, відома як реплікативний проміжний продукт, є частково дволінійним, з одноститковими кінцями. Ініціація реплікації РНК пікорнавірусу та каліцивірусу, як і ДНК аденовірусу, потребує зв'язаного білка, а не олігонуклеотиду як праймера. Цей невеликий білок ковалентно приєднаний до 5 кінця зароджуваних позитивних і негативних ланцюгів РНК, а також до РНК віріона, але не до мРНК.

Мало відомо про те, чи буде спрямована дана молекула РНК позитивної полярності пікорнавірусу до:

- комплексу реплікації (структури, пов'язаної з гладким ендоплазматичним ретикулоном), де вона слугує шаблоном для транскрипції залежною від РНК полімерази РНК з негативну РНК;

- до рибосоми, де вона служить мРНК для перекладу в білок або до прокапсиду, з якою вона асоціюється, утворюючи віріон.

Ретровіруси мають геном, що складається з одноланцюгової РНК з позитивним геномом. Особливі вірусні ферменти синтезують двоспіральні молекули ДНК з одноститкової РНК. Остання вбудовується в геном хазяїна. В певний час клітинні ферменти синтезують по цій ДНК і-РНК вірусу, яка і починає синтез білків в рибосомі. На відміну від інших вірусів РНК, вони реплікуються через ДНК-проміжний продукт. Віріон-асоційована зворотна транскриптаза, використовуючи молекулу переносної РНК в якості праймера, робить одноститкову копію ДНК. Потім, функціонуючи як рибонуклеаза, той самий фермент видаляє батьківську молекулу РНК з ДНК: гібрид РНК і одночасно копіює одноститковий ланцюг ДНК негативної полярності, утворюючи лінійну дволанцюжкову ДНК, яка містить додаткову послідовність, відома як тривале кінцеве повторення (LTR) на кожному кінці. Потім дволанцюгова ДНК циркулює та інтегрується в клітинну хромосомну ДНК. Транскрипція вірусної РНК відбувається з цієї інтегрованої (провірусної) ДНК.

Реоіруси та бірнавіруси мають сегментовані дволанцюгові геноми РНК. Смужка негативної полярності кожного сегменту транскрибується окремо в цитоплазму за допомогою віріон-асоційованої транскриптази для отримання мРНК. Ці РНК з позитивною полярністю також служать шаблонами для реплікації. Отримана дволанцюгова РНК, в свою чергу, служить шаблоном для подальшої транскрипції мРНК.

Параміксовіруси, рабдовируси та філовіруси. Несегментований одноститковий РНК параміксовірусів, рабдовирусів та філовірусів містить РНК-залежну РНК-полімеразу (транскриптазу), яка транскрибує п'ять і більше субгеномічних позитивних РНК, кожна з яких служить моноцитронною мРНК. На відміну від цього, транскрипція в режимі реплікації (тією ж полімеразою, що діє як реплікація) створює цілісні позитивні геноми, що використовуються як шаблон для синтезу нової вірусної РНК з негативною полярністю.

Ортоміксовіруси та аренавіруси мають геноми РНК негативної полярності, які

сегментовані, причому кожен сегмент транскрипується окремо транскриптазою, що переноситься у віріон. Транскрибовані з кожного сегмента мРНК переводяться в один або кілька білків. Що стосується ортоміксовірусів, але не аренавірусів, більшість сегментів кодуєть одиничні білки.

Коронавіруси та артерівіруси демонструють незвичну стратегію транскрипції: спочатку частина РНК-віріона діє як мРНК та копіюється для отримання РНК полімерази.

Пікорнавіруси, каліцивіруси, астровіруси, тогавіруси та флавівіруси – одноланцюгові віруси РНК, їх геноми функціонують безпосередньо як мРНК. Геноми пікорнавірусів та флавівірусів, що діють як одна поліцістронна мРНК, переводяться безпосередньо в єдиний поліпротеїн, який згодом розщеплюється для отримання окремих вірусних структурних та неструктурних білків. Одним із таких білків є РНК-залежна РНК-полімераза, яка реплікує вірусний геном, транскрибуючи вірусну РНК у додаткову (негативної полярності) копію, яка, в свою чергу, служить шаблоном для синтезу позитивної (вірусної) РНК. У тогавірусах копіюється лише приблизно дві третини вірусної РНК (5 кінець) молекули; отриманий поліпротеїн розщеплюється на неструктурні білки, всі вони необхідні для транскрипції та реплікації РНК. Вірусна РНК-полімераза створює нитку негативної полярності на повну довжину, з якої скопійовано два види РНК з позитивним геномом. РНК віріони, призначені для інкапсидзації, і РНК на одну третину довжини, яка є колінеарною з 3 кінцем вірусної РНК і переводиться в поліпротеїн, з якого шляхом розщеплення утворюються структурні білки. Каліцивіруси продукують мРНК як довжини генома, так і субгеномних видів.

Складання та вивільнення віріонів

Складання та вивільнення простих (безоболонкових) вірусів. Усі прості тваринні віруси мають ікосаедричну структуру. Структурні білки простих ікосаедричних вірусів спонтанно асоціюються, утворюючи капсомери, які самостійно збираються, утворюючи капсиди, в які упакована вірусна нуклеїнова кислота. Завершення дії віріона часто включає протеолітичне розщеплення одного або декількох видів капсидних білків. Механізм упаковки вірусної нуклеїнової кислоти у заздалегідь зібраний порожній прокапсид аденовірусу, де конкретний білок зв'язується з нуклеотидною послідовністю на одному кінці вірусної ДНК, відомою як «пакувальна» послідовність; це дозволяє ДНК потрапляти в прокапсид, пов'язаний з основними білками ядра, після чого частина білків капсиду розщеплюється, щоб зробити зрілий віріон.

Більшість простих вірусів накопичується всередині цитоплазми або ядра і вивільнюються лише тоді, коли клітина зрештою лізується. А отже при хворобах викликаних простими вірусами швидко відбувається руйнування заражених клітин шляхом її «вибуху».

Складання та вивільнення оболонкових (складних) вірусів. Усі віруси ссавців із спіральними нуклеокапсидами, а також деякі з ікосаедричними нуклеокапсидами (наприклад, герпесвіруси, тогавіруси та ретровіруси) дозрівають і залишають клітину-хазяїна шляхом «брунькування», формуючи свій суперкапсид із внутрішньої цитоплазматичної або з ядерної мембрани зараженої клітини. Віруси, які набувають свою оболонку всередині клітини, транспортуються везикулами до поверхні клітини. Встановлення вірусного глікопротеїну в ліпідну двохшарову мембрану відбувається шляхом бічного переміщення клітинних білків з цієї ділянки мембрани. Мономерні розщеплені вірусні глікопротеїнові молекули асоціюються в олігомери, утворюючи типовий стрижневий або клубоподібний

пепломер з гідрофільним доменом, що виступає з зовнішньої поверхні мембрани, гідрофобним трансмембранним доменом і коротким гідрофільним цитоплазматичним доменом. Що стосується ікосаедричних вірусів (наприклад, тогавірусів), кожна молекула білка нуклеокапсиду зв'язується безпосередньо з цитоплазматичним доменом мембранного глікопротеїнового олігомеру, тим самим формуючи оболонку навколо нуклеокапсиду. У більшості вірусів із спіральним нуклеокапсидом саме білок матриці приєднується до цитоплазматичного домену глікопротеїнового пепломеру, у свою чергу, нуклеокапсидний білок розпізнає матричний білок і це призводить до «брунькування». Вивільнення кожного огорнутого віріона не порушує цілісність плазматичної мембрани, отже, тисячі вірусних частинок можуть бути викинуті протягом декількох годин або днів без значного пошкодження клітин, проте виснажуючи її, тому через певний час вона гине. Багато вірусів, але не всі, що виділяються з плазматичної мембрани, є нецитопатогенними і можуть бути пов'язані зі стійкими інфекціями.

Вивільнення віріонів шляхом екзоцитозу. Флавівіруси, коронавіруси та артерівіруси – брунькуються шляхом пропускання через мембрани комплексу Гольджі або гранулярної ендоплазматичної сітки, і мігрують до плазматичної мембрани, з якою вони зливаються, тим самим вивільняючи віріони шляхом екзоцитозу. Оболонка герпесвірусів набувається заглибленням через внутрішню пластинку ядерної мембрани, потім віріони проходять безпосередньо з простору між двома пластинами ядерної мембрани до зовнішньої частини клітини через цистерни ендоплазматичної сітки.

Вірусна генетика та еволюція

У природі віруси проходять нескінченно довгу серію циклів реплікації, оскільки передаються від господаря до господаря. Під час цього процесу постійно утворюються мимовільні мутанти, деякі з яких будуть мати інші біологічні властивості, ніж батьківський вірус, з якого вони виникають. Навколишнє середовище *in vivo* спричиняє тиск, який сприяє вибору певного з цих біологічних варіантів, насамперед через їх переважну здатність передавати серійно. Властивості, важливі для виживання та еволюційного прогресування різних вірусів у природі, включають: вірусні тропізми та використання специфічних рецепторів клітин господаря визначають багато моделей захворювання. Крім того, еволюція здатності до зростання в імунологічно секвестрованих ділянках, забезпечує швидке реплікування. У багатьох випадках найбільш вірулентні штами вірусу розмножуються швидше, ніж більш помірні.

У багатьох випадках найбільш вірулентні штами вірусу розмножуються швидше, ніж більш помірні штами. Однак надзвичайно швидка реплікація вірусу може не дати достатньо часу для передачі, перш ніж господар почне виділяти патоген – може настати смерть.

Здатність уникати захисних механізмів господаря (носія). Тварини мають розвинуту імунну систему для захисту від вірусів, але віруси, в свою чергу, розробили систему для ухилення від захисних механізмів макроорганізму. У вірусів, особливо з великими геномами, є гени, що кодують білки, які перешкоджають специфічній антивірусній активності господаря. Здатність викликати імунологічно толерантну інфекцію являє собою еволюційне прогресування, яке дає вірусу надзвичайну перевагу виживання (наприклад, вірусна діарея великої рогатої худоби у телят, інфекція викликана вірусом котячого імунодефіциту у кішок).

Розуміння вірусної генетики є центральним у вивченні ветеринарної та зоонотичної

вірусології та розумінні того, як можна втручатися у цикли передачі вірусів, будь то для профілактики, контролю чи лікування вірусних захворювань.

Мутація вірусів

Віруси здатні змінювати свої властивості як в експерименті так і в природних умовах реплікації. Зміни спадкоємних властивостей вірусів залежать від таких процесів:

- 1) **мутація**, виникає у разі змін послідовностей нуклеотидів у певній геномній ділянці вірусу, що призводить до фенотипічно виражених змін окремих властивостей;
- 2) **рекомбінація**, а саме обмін генетичним матеріалом між двома вірусами, що відрізняються між собою спадковими властивостями але є близькими.

Мутація – зміни пов'язані із перетворенням самих генів. Така мутація може мати нерівномірний, періодичний характер і впливає на стійкі зміни властивостей спадковості у вірусів. Такі мутації вірусів можна розділити на дві групи: **спонтанні** і **індуковані**. За тривалістю їх розділяють на **крапкові** та **абераційні**.

Амбераційні мутації виникають в наслідок значної зміни ділянки генома, в той час як крапкові – одного нуклеотиду, для РНК-ових вірусів, або однієї пари комплементарних нуклеотидів ДНК-ових вірусів. Такі крапкові мутації геному іноді можуть змінюватися назад до свого першопочаткового стану, тобто здатні відновлювати свою вихідну структуру геному. Проте мутаційні зміни можуть впливати на великі ділянки молекул нуклеїнових кислот, а саме на декілька нуклеотидів. В таких випадках можуть виникати випадання вставки та транслокація (переміщення) великих ділянок, а також повороти таких ділянок на 180⁰ (інверсія), зміщення ділянки читування, тобто збій генетичної інформації в наслідок великої перебудови структур нуклеїнової кислоти.

Під час вірусних інфекцій тварин віріони реплікуються, щоб генерувати мільйони чи мільярди нащадків. Під час таких циклів реплікації неминуче трапляються помилки при копіюванні вірусної нуклеїнової кислоти; їх називають мутаціями. Більшість мутацій є летальними, оскільки мутований вірус втратив деяку життєво важливу інформацію і більше не може копіювати або конкурувати з вірусом польового типу. Вживання певної не летальної мутації залежить від того, чи є фенотипічна зміна його генного матеріалу не вигідною, нейтральною чи надає мутантному вірусу певну селективну перевагу. У лабораторії генетичні варіанти отримують шляхом підведення популяції вірусів до деякого селективного стану та виділення клону, тобто популяції віріонів, що походять від одного варіанту віріона. Клон зазвичай отримують шляхом відбору одного вірусного нашарування в клітинному моношарі (*in vitro*) з подальшим повторним перезапуском або іншими засобами, щоб переконатися, що виділено лише один генотип.

Мутації можна класифікувати за типом змін, які вони виробляють у вірусному геномі, або за типом змін, які вони виробляють у властивостях вірусу або інфекції, яку він викликає. Перший стосується зміни вірусного генотипу, другий – вірусного фенотипу. Про фенотипічну зміну може свідчити зміна фізичної характеристики віріона, зміна реплікативної характеристики, що спостерігається під час зараження в культурі клітин, або зміна патогенних властивостей у зараженої тварини.

Генотипова класифікація мутантів. Найбільш поширеними мутаціями є поодинокі нуклеотидні заміни – їх називають точковими мутаціями. Мутації можуть також включати проєкції (вставки) одиночних нуклеотидів або невеликих, або великих блоків нуклеотидів. Фенотипічна експресія мутації може бути змінена не тільки зворотною мутацією в

ураженому нуклеотиді, але і супресивною мутацією, що виникає в іншому місці того ж гена або навіть в іншому гені, що призводить до повторної появи фенотипу польового типу. Наприклад, деякі чутливі до температури мутанти вірусу грипу, розроблені як потенційно ослаблені вакцини проти вірусу, повернулися до вірулентності через незалежні мутації супресингу у зовні нез'язаних генах. Мутації, засновані на нуклеотидних замінах, утворюються найчастіше, ті, що базуються на малих проєкціях – рідше, ніж ті, що базуються на великих проєкціях. Також трапляються різні види перегрупування вірусних генів, що імітують прості мутації; вони трапляються особливо у вірусів ДНК та ретровірусів і включають великі дублювання, інверсії та включення чужорідних вірусних чи клітинних послідовностей нуклеїнових кислот шляхом рекомбінації. Такі геномні зміни часто мають важливі біологічні наслідки.

Фенотипова класифікація мутантів. Фенотипова експресія мутантів може розглядатися різними способами: відносно польового типу мутант може утворювати різний тип нашарування в клітинному моношарі (бляшки мутантів), може стати стійким до нейтралізації антитілом, виробленим проти дикого типу (мутанти антитіла) або можуть проявляти будь-які з багатьох інших варіантів властивостей. Мутації, що впливають на антигенні детермінанти на білки поверхні віріона, сильно сприятливі, коли віруси реплікуються в присутності антитіла. Такі мутанти мають важливе значення у стійко інфікованих тварин (наприклад, у овець, інфікованих вірусом *maedi / visna* та коней заражених вірусом інфекційної анемії коней). Мабуть, найвизначнішим прикладом важливості мутацій, що впливають на вірусну антигенність, є віруси грипу, де антигенний дрейф (зміна відносної частоти) відбувається постійно.

Умовно летальні мутанти не можуть рости в певних (несприятливих) експериментальних умовах, але можуть розмножуватися в інших (сприятливих) умовах. Найчастіше умовні летальні мутанти – це ті, чий реплікації блокуються в певних клітинах господаря (мутанти діапазону господаря) або при певних визначених температурах (чутливі до температури мутанти, мутанти адаптовані до холоду). При останньому використанні селективною умовою є температура інкубації заражених клітин. Мутація спричиняє структурно аномальний білок, який, хоча і функціонує при сприятливих температурах, не може підтримувати свою структурну цілісність і функціональну конформацію, коли температура змінюється на кілька градусів. Температурно-чутливі мутанти та мутанти, адаптовані до холоду, широко використовувались у спробах виготовлення ослаблених вірусних вакцин; спостерігається винятковий успіх у розробці вакцин проти грипу, адаптованих до холоду.

У більшості сімей вірусів були продемонстровані дефектні мутанти, які можуть реплікуватися самостійно, але потребують присутності батьківського вірусу дикого типу; в той же час вони заважають і зазвичай знижують репродукцію батьківського вірусу. У вірусів грипу та реовірусу, які мають сегментовані геноми, дефектні віріони не мають одного або декількох більших сегментів і містять натомість менші сегменти, що складаються з неповної частини кодового гена. Що стосується вірусів з несегментованим геном, дефектні інтерферуючі частинки містять РНК, яка є скороченою, або ж, як дві третини геному можуть бути видалені з дефектних інтерферуючих частинок. Морфологічно дефектні віріони зазвичай нагадують батьківські, однак можуть мати, наприклад кулеподібні віріони везикулярного стоматиту – коротші, ніж віріони польового типу.

Генерація деяких дефектних генів вірусу ДНК може відбуватися за допомогою будь-

якого з найрізноманітніших режимів перестановки ДНК. Наприклад, дефектні частинки, що перешкоджають папіломавірусу, зазвичай містять повторні копії геномного походження реплікації, іноді перемежовані з ДНК клітини-хазяїна.

Мутагенез. Спонтанні мутації виникають через помилки під час реплікації. Їх частоту можна підвищити шляхом обробки віріонів або ізольованої вірусної нуклеїнової кислоти фізичними агентами, такими як УФ- або рентгенівське опромінення, або хімічними речовинами, такими як азотна кислота або нітрозогуанідин. Аналоги нуклеотидів, такі як 5-фторурацил (для вірусів РНК) або 5-бромдеоксиридин (для вірусів ДНК), мутагенні лише тоді, коли вірус реплікується в їх присутності, оскільки вони включаються до вірусної нуклеїнової кислоти і виробляють мутації шляхом неправильного кодування під час реплікації.

Контрольні запитання

- 1. Які особливості репродукції вірусів ?*
- 2. Які можливі варіанти адсорбції вірусів?*
- 3. Механізм адсорбції вірусів на поверхні клітин?*
- 4. За яким механізмом здійснюється другий етап репродукції?*
- 5. Що таке депротейнізація віруси, з чим вона пов'язана? Назвіть етапи депротейнізації?*
- 6. Які етапи відносять до «власне репродукції»?*
- 7. Під час якого етапу репродукції відбувається переписування генетичної інформації з вірусного геному на інформаційну РНК?*
- 8. Під час якого етапу репродукції відбувається переведення генетичної інформації з іРНК у послідовність амінокислот і будовання білкової молекули?*
- 9. Що таке реплікативні комплекси?*
- 10. Які існують загальні принципи складання віріонів?*
- 11. Особливість генетичного дослідження вірусів?*
- 12. Що таке генотип і фенотип вірусів ?*
- 13. Модифікація вірусів ?*

РОЗДІЛ 4

НАКОПИЧЕННЯ ВІРУСІВ НА БІОЛОГІЧНИХ ОБ'ЄКТАХ

Необхідним етапом роботи у вірусологічних дослідженнях є накопичення (ізоляція) збудника в придатній для нього системі. Для виділення вірусів із патологічного матеріалу можуть стати цілісні організми (лабораторні тварини). Для постановки біологічної проби, де можна спостерігати за проявами клінічних ознак хвороби, частіше використовують білих мишей, білих щурів морських свинок та кролів, рідше – тхорів і золотистих хом'ячків, іноді використовують кошенят, щенята, курей або голубів. Дуже рідко біопробу ставлять на природно сприйнятливих тваринах, у зв'язку з потенційною небезпекою поширення інфекції та коштовними затратами.

Вимоги до лабораторних тварин, перед використанням їх як об'єктів для накопичення вірусів:

1. Клінічний огляд вказує на задовільний стан організму;
2. Тварин повинні бути чутливими до досліджуваного вірусу (вид, вік, іноді стать).
3. Повинні володіти стандартною чутливістю до досліджуваного вірусу.

4.1. Вирощування вірусів в курячих ембріонах

Для виділення вірусів із патологічного матеріалу також використовують модельні системи, однією з яких є курячі ембріони. Для таких об'єктів характерна висока чутливість до вірусів, що мають недостатній розвитком захисних механізмів. Курячі ембріони, як тест-об'єкти, дають високий вихід вірусу та стерильні, економічно-вигідні й доступні у використанні в вірусологічних лабораторіях. Проте, в виключних випадках, є і нестерильні, оскільки можуть бути від зараженої птиці та містити різні патогени (наприклад, вірус лейкозу, вірус хвороби Ньюкасла, грипу, парагрипу-2, інфекційного бронхіту, а також мікоплазми, сальмонели тощо).

Для зараження використовують 5-ти – 12-добові курячі ембріони із благополучних щодо інфекційних захворювань господарств. Старшого віку ембріони втрачають чутливість до вірусів, пов'язаною з підвищеною в них концентрацією неспецифічних вірусних інгібіторів.

При роботі з вірусом грипу слід пам'ятати, що найбільше накопичення досягається при зараженні розведеним вірусом. Масовані дози дають малий вихід вірусу за рахунок утворення дефектних інтерферуючих часток (**феномен фон Магнуса**) та іноді призводять до загибелі ембріону. Тому при серійних пасажах вірусу грипу, щоб отримати культуру з високим титром, використовують його розведення в межах 10^{-3} - 10^{-4}

4.2. Накопичення вірусів в культурах клітин

Віруси не ростуть на штучних поживних середовищах, а розмножуються тільки внутрішньоклітинно. Культури клітин – найбільш досконала з лабораторних систем для культивування вірусів. Методика культивування клітин особливо успішно стала розвиватися після 40-х років минулого століття. Цьому сприяли такі обставини, як відкриття антибіотиків, що запобігають бактеріальній контамінації культур клітин; відкриття Хуангом (1943) і Ендерсом (1949) здатності вірусів викликати специфічну деструкцію клітин (цитопатичний ефект) – зручний метод індикації вірусів у культурах клітин і, нарешті,

Дульбекко і Фогт (1952) запропонували методику трипсинізації тканин і отримання одношарових культур клітин

Найпоширенішим тест-об'єктом для титрування вірусів із патологічного матеріалу є культура клітин. В більшості випадків культура клітин не має видових обмежень для ізоляції вірусів, оскільки *in vitro* можна вирощувати будь-які клітини різних видів тварин. Оскільки не існує єдиної клітинної культури, придатної для виділення будь-якого вірусу – в вірусологічній практиці застосовують декілька видів культур, підібраних для накопичення передбачуваних вірусів. У лабораторній діагностиці найчастіше використовують моношарову (одношарову) культуру клітин. Це клітини *in vitro*, одержані в результаті тонкого подрібнення тканин (диспергування), які після певних маніпуляцій та в спеціальних середовищах (ростових) прикріплюються до субстрату і здатні до розмноження, утворюють моношар (на дні пробірок, флаконів, матраців). Такі моношарові культури клітин ділять на первинні, субкультури, перещеплювані та диплоїдні.

Первинні (або первинно-трипсинізовані) культури клітин одержують з органів і тканин, що взяті безпосередньо з організму. Первинної культури клітин отримують використовуючи тканини органів, як від ембріонів, так і дорослих тварин. Клітини для культивування відбирають враховуючи їхню чутливість певного вірусу. Між сприйнятливістю тварин *in vivo* і чутливістю клітин їхніх тканин *in vitro* до вірусів прямої залежності не спостерігається. Разом з тим, адаптація досліджуваних вірусів до первинної культури проходить більш успішно, якщо така, отримана з органів природно-сприйнятливої тварин. Для культивування *in vitro* краще використовувати клітини ембріональних тканин, або молодих тварин, оскільки такі клітини швидше діляться.

Первинні культури клітин отримують від клінічно-здорової тварини не пізніше 2 - 3 год. після забою. Для цього відбирають органи або тканини нирок, сім'яників, трахеї, легень, шкіри, тощо, та подрібнюють ножицями на шматочки розміром 2 - 5 мм. Промивають декілька разів розчином Хенкса до одержання прозорої рідини й обробляють протеолітичним ферментом, найчастіше використовують 0,25%-ий розчин трипсину (для дезагрегації тканини). Трипсинізацію проводять на магнітній мішалці з стерильним піском, дробно за температури +37 °С 3 - 5 разів по 5 - 30 хв (залежно від виду тканини до повного її розтирання) або за +4...+6 °С 12 - 16 год. Фермент руйнує міжклітинні речовини, і тканина диспергується на окремі клітини. Трипсин із клітинами, що відділилися, зливають у центрифужні пробірки, дію ферменту при методі теплої трипсинізації припиняють охолодженням або додаванням 2 - 4 % сироватки крові ВРХ і центрифугують при 1000 об/хв 10 - 15 хв. Пісок і залишки клітин видаляють шляхом відбирання надосадової рідини, яку знову піддають центрифугуванню. Після 2-3-го центрифугування відбирають осад клітин і розводять невеликою кількістю ростового середовища (середовище 199, середовище ДМЕМ, середовище Ігла або 0,5%-й гідролізат лактоальбуміну з додаванням 2 - 10 % сироватки крові ВРХ або фетальної бичачої сироватки), фільтрують через 2 - 3 шари марлі. Після підрахунку кількості клітин у камері Горяєва суспензію розводять ростовим середовищем до оптимальної посівної концентрації (200 - 500 тис. клітин у 1 см³), розливають по пробірках (по 1 см³) або матрацах (10 - 15 % від об'єму), поміщають у термостат за температури притаманній організму тварин відібраної тканини, в середньому +37 °С.

Розвиток культури клітин проходить у три фази:

І фаза – адаптація, триває 2 - 24 годин і характеризується прикріпленням клітин до скла (адгезією);

II фаза – логарифмічного росту, супроводжується поділом клітин, які поступово покривають поверхню скла;

III фаза – стаціонарна, характеризується формуванням через 3 – 5 діб моношару внаслідок контактної інгібіції клітин, тобто припинення їхнього поділу при контакті.

Швидкість утворення моношару на склі залежить від виду тканини, віку тварини, якості живильного середовища, посівної концентрації клітин та інших факторів.

Після отримання моношару ростове середовище змінюють на підтримуюче (без сироватки крові ВРХ). Моношар зберігає життєздатність упродовж 1 – 3 тижнів, за періодичної зміни середовища, яке забруднюється продуктами метаболізму клітин, і як наслідок, зміною кольору підтримуючого середовища, від помаранчевого до жовтого кольору. Через деякий час клітини старіють, і настає їхня неспецифічна дегенерація: вони округлюються, відриваються від скла і гинуть.

Первинні культури не мають багатьох клітин, які наявні у вихідній тканині, оскільки не всі клітини здатні прикріпитися до субстрату і вижити в умовах *in vitro*. Проте в первинних культурах клітини найповніше представлені типи клітин тієї тканини з якої вони одержані, тобто є гетерогенними. Недоліком їх одержання є значна трудомісткість та можливість контамінації латентними вірусами і мікоплазмами, що персистують в організмі тварин, тканини яких використовують для трипсинізації.

Субкультури (або вторинні культури клітин) одержують із первинних, вирощених у матрацах, після формування моношару. Клітини знімають зі скла 0,25%-им розчином трипсину або 0,02%-м розчином версену (експозиція 15 – 30 хв при +37 °С до появи перших ознак відшарування клітин), ресуспендують у ростовому живильному середовищі до посівної концентрації й пересівають у матраці або пробірки. Через 2 – 3 доби формується моношар вторинної культури клітин.

За чутливістю до вірусів субкультури не відрізняються від первинних. Проте при субкультивуванні кількість клітин збільшується у 2 – 2,5 рази. Крім того, з'являється можливість виявити контамінацію клітин вірусами і мікоплазмами, а також отримати одноріднішу популяцію клітин. Субкультури можна одержати при 2 – 5 пересівах, зрідка – до 8 – 10. Наступні пасажі призводять до зміни морфології клітин та їхньої загибелі. Якщо клітинні культури пройшли понад 10 пасажів, вони перебувають на стадії переходу до диплоїдних або перещеплених.

Перещеплені культури клітин (стабільні, або постійні, клітинні лінії) одержують із первинних шляхом тривалих пересівів (не менш як 70 разів із триденними інтервалами). Як правило такі клітини порівняно з вихідною культурою, мають змінений каріотип (гетероплоїдний набір хромосом), необмежений строк життя та багато з них виявляють онкогенні властивості (на відміну від первинних культур).

Перещеплені клітинні лінії одержують досить рідко, їх вдається отримати з популяції клітин первинних культур, які мають підвищену активність росту і розмноження. Деякі вчені вважають, що такі клітини з'являються в результаті мутацій або активізації клітинних онкогенів, їх можна одержати із нормальних, та пухлинних тканин тварин і людини. Серед них широко застосовують такі клітинні лінії, як HeLa (з карциноми шийки матки жінки), Нер-2 (з карциноми гортані людини), KB (з карциноми ротової порожнини людини), L (з підшкірної сполучної тканини миші), ВНК-21 (з нирки сирійського хом'яка) (Рис. 4.1.), Vero (з нирки африканської зеленої мавпи) та багато інших. Перещеплені культури клітин мають переваги порівняно з первинними. Їхнє застосування вирішує

проблему сировини, виключає необхідність постійного постачання свіжими тканинами. Перещеплювані культури складаються з відносно однорідних клітин (епітеліоїдних, фібробластоїдних), що забезпечує стандартні умови репродукції вірусів. Окрім того, при пересівах з'являється можливість виявити контамінацію культури вірусами і мікоплазмами. Проте перещеплювані культури мають серйозний недолік: схильність до малігнізації, тобто злоякісного переродження

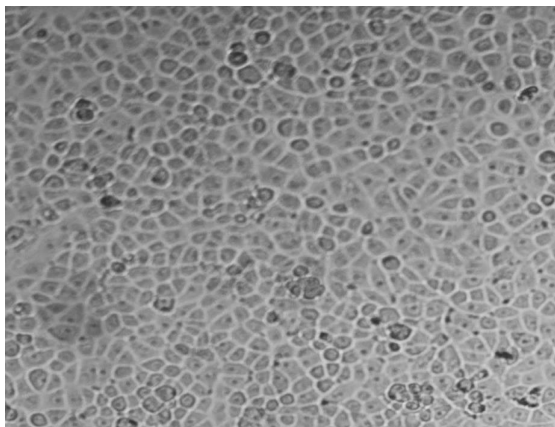


Рис. 4.1 – Культура клітин ВНК-21, 12 год після пересіву, (× 56).

Диплоїдні культури клітин – це морфологічно однорідні популяції клітин, стабілізовані в процесі культивування *in vitro*, які мають обмежений строк життя, характеризуються трьома фазами росту, зберігають каріотип, властивий вихідній тканині, вільні від контамінантів і не виявляють онкогенної активності при трансплантації хом'ячкам.

Диплоїдні культури клітин отримані з різних тканин ембріона людини (легені, нирки, серце, шкірно-м'язова тканина та ін.) і тварин (нирки ембріонів корів, овець, свиней; нирки телят, ягнят, поросят; шкіра, тимус, селезінка, кістковий мозок і лімфатичні вузли кролів і морських свинок та ін.). Одержання диплоїдної культури клітин проходить у три етапи:

I етап – виготовлення посівної концентрації клітин і заморожування його основної частини;

II етап – контроль диплоїдності;

III етап – накопичування диплоїдних клітин для розмноження вірусів.

Строк життя диплоїдної культури клітин витримує 40 – 60 пасажів. Далі поступово настає дегенерація клітин.

Диплоїдні культури мають переваги порівняно з первинними й перещеплюваними. Вони стерильні щодо вірусних контамінантів і мікоплазм, позбавлені онкогенної активності, здатні роками зберігатися в замороженому стані. Тому диплоїдні культури клітин є оптимальною системою для культивування вірусів.

Для виділення вірусів, які важко адаптуються до культур клітин, використовують метод співкультивування, при вивченні хронічних і повільних вірусних інфекцій. Він базується на одночасному культивуванні клітин трипсинізованої зараженої тканини і чутливих клітин моношарової культури (зокрема перещеплюваної).

Виділити вірус, при латентних інфекціях, традиційним шляхом зараження клітинних культур суспензією з патологічного матеріалу вдається нечасто. У таких випадках застосовують метод культивування уражених тканин: із дослідного матеріалу готують первинні культури клітин, що призводить до демаскування латентного збудника. Для виділення вірусів використовують також органні культури. Це підтримання *in vitro* фрагментів органів і тканин при збереженні їхньої структури та функції.

Органні культури не здатні до розмноження, в таких культурах вдало вирощують шматочки слизових оболонок носа, трахеї, бронхів, легень, печінки, кишок, нирок тощо. При вивченні респіраторних вірусних інфекцій широке застосування знайшов метод органного культивування носового, трахеального і бронхіального епітелію. При цьому шматочки тканини розміром 1 – 3 мм занурюють в живильне середовище у чашку Петрі, вносять в такій кількості, щоб фрагменти тканини знаходилися на його поверхні. Поживні речовини проникають в експлантат шляхом дифузії. Це створює умови для збереження органоспецифічної диференціації експлантата при відсутності або помірному розростанні його тканин. При цьому зберігається не тільки структура тканини, а й деякі функціональні особливості, наприклад, миготіння війок, яке припиняється внаслідок репродукції вірусів.

Консервування культур клітин. Клітинні культури консервують з метою запасу клітин із певною біологічною характеристикою. Це стосується насамперед диплоїдних і перещеплюваних клітинних ліній. Сьогодні тисячі клітинних ліній одержані із тканин людини і тварин, зберігаються в національних банках клітинних культур різних країн. Так, Американська типова колекція культур (ATCC) має дані про походження близько 6000 ліній і штамів клітин понад 40 видів тварин.

Найефективнішим методом консервування клітин є заморожування в рідкому азоті (–196 °C). При цьому клітини мають майже необмежений строк зберігання при повній відсутності ризику механічного пошкодження. Для консервування в рідкому азоті клітини знімають зі скла матраців трипсином або версеном і суспендують у живильному середовищі в концентрації 106 клітин на 1 см³. До середовища додають 10 – 40 % сироватки крові ВРХ і 10 % диметилсульфоксиду або гліцерину, як захисні речовини. Суспензію розливають в ампули по 3 см³, запаюють і витримують 1 – 2 год. при 4 °C для контакту з консервантом. Потім клітини заморожують у суміші етилового спирту із сухим льодом до –70 °C, поступово знижуючи температуру, і відправляють на зберігання в посудині Дюара з рідким азотом.

Життєздатність заморожених клітин відновлюють так:

- ампулу на 1 – 2 хв вміщують у водяну баню з температурою 37 °C, при легкому струшуванні.

- суспензію клітин виливають у матрац, додають відповідну кількість ростового середовища і культивують у термостаті при 37 °C. Через добу змінюють середовище для видалення консерванту.

Транспортують культури клітин у матрацах із моношаром, які доверху заливають живильним середовищем із 5 % сироватки крові ВРХ. Можна транспортувати суспензію клітин при 4 °C. За сприятливих умов, що виключають перегрівання або заморожування клітин, 80 – 90 % їх зберігає життєздатність упродовж 7 – 8 діб.

Індикація вірусів в культурі клітин. Методика зараження культури клітин виглядає наступним чином:

1 крок – з матраців або флаконів із сформованим моношаром клітин ростове середовище зливають, культуру промивають 1 – 2 рази розчином Хенкса.

2 крок – у пробірки вносять по 0,1 – 0,2 см³ вірусовмісного матеріалу і залишають на 1 – 2 год. за кімнатної температури або при 37 °С для адсорбції вірусу на поверхні клітин.

3 крок – кожною пробірою заражають по 4 – 10 матраців із культурою клітин (у матраці вносять вірусомісний матеріал у кількості 1 – 1,5 % від об'єму).

4 крок – після контакту вірусомісний матеріал видаляють і додають підтримуюче середовище: в пробірки – по 1 см³, а в матраці – 10 – 15 % від об'єму.

Деякі проби виділеного вірусу з патологічного матеріалу (наприклад, фекалії) можуть мати на клітини токсичну дію. Тому після адсорбції вірусу моношар клітин відмивають 1 – 2 рази розчином Хенкса, а вже після цього заливають підтримуюче середовище.

Заражені культури витримують у термостаті при 37 °С і щодня розглядають під малим збільшенням мікроскопа.

Основною ознакою репродукції вірусу в культурі клітин є цитопатогенна дія (ЦПД), або цитопатичний ефект (ЦПЕ). Це будь-які морфологічні зміни клітин, які виникають після виходу вірусу з клітини. Розрізняють три основні форми ЦПД:

1. Округлення клітин – під дією вірусу клітини, що в нормі розпластані на склі, втрачають зв'язки між собою, зморщуються, округлюються, відділяються від скла, переходять в культуральну рідину і гинуть;

2. Фрагментація клітин – клітини розпадаються на окремі фрагменти, відділяються від скла і переходять у культуральну рідину у вигляді клітинного детриту;

3. Утворення симпластів – під дією вірусу плазматичні мембрани сусідніх клітин зливаються й утворюються гігантські багатоядерні клітини.

ЦПД проявляється через 3 – 14 діб (Рис. 4.2) (залежно від виду вірусу і типу культури клітин) та оцінюється в плюсах:

+ (25 %) – деструкція окремих клітин культури;

++ (50 %) – деструкція 1\5 клітин культури;

+++ (75 %) – деструкція більшості клітин культури й утворення вікон у моношарі внаслідок відривання клітин від скла;

++++ (100 %) – деструкція всіх клітин культури, на склі залишаються невеликі осередки змінених клітин.

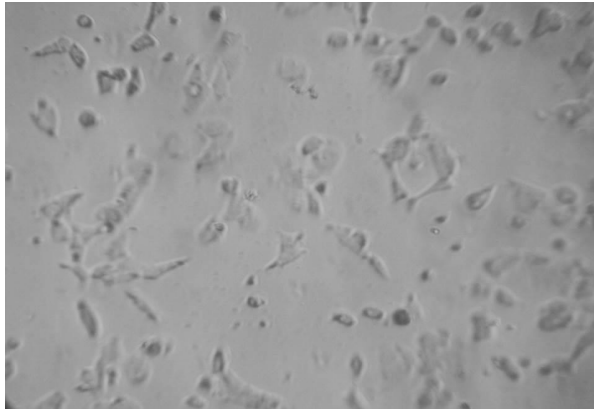


Рис. 4.2 Повна руйнація моношару клітин під впливом парвовірусу 7 – доба після зараження. $\times 56$.

Щоб одержати максимальну концентрацію вірусу, пробірки і матраци із зараженою культурою клітин виймають із термостату на кінцевих стадіях ЦПД після зіфіксованих 3-х – 4-х плюсів.

Вірус, після репродукції та виходу з клітини, поступово нагромаджується в культуральній рідині, але частина вірусу може і залишатися в незруйнованих клітинах. Для того щоб звільнити вірус з клітини, останні потрібно дезінтегрувати 2 – 3-разовим заморожуванням – відтаванням або ж ультразвуком.

ЦПД вірусів потрібно відрізнити від неспецифічної дегенерації клітин, яка виникає при старінні культури, тому для контролю залишають 4 – 6 пробірок із незараженою культурою, в яких лише змінюють середовище.

Для ЦПД багатьох вірусів характерним є утворення внутрішньоклітинних тілець-включень.

Для індикації вірусів у культурі клітин можна застосовувати метод пляшок.

Виявлення вірусів у культурі клітин можна відмітити за *кольоровою пробою*, та її достовірність невисока, тому цей метод використовують нечасто. Суть такої проби полягає в тому, що в незаражених культурах під впливом продуктів метаболізму клітин середовище, яке містить індикатор феноловий червоний, окислюється і змінює свій колір до жовтого. У той час як в заражених культурах клітини, що гинуть під дією вірусу – середовище зберігає першопочатковий червоний колір. Найчіткіші результати дають віруси з високою швидкістю репродукції при культивуванні їх у культурах, які повільно ростуть.

Генетичний аналіз некультивованих вірусів. Використання таких біологічних об'єктів як культури клітин вже не є панасеею у вивченні властивостей вірусів, оскільки практично необмежену кількість необхідної вірусної нуклеїнової кислоти можна отримати методом ампліфікації або клонування. Помітний прогрес був досягнутий у генетичному аналізі патогенів, які не придатні для репродукції на культурах клітин або на інших біологічних об'єктах. Наприклад, папіломавіруси великої рогатої худоби, які неможливо ізолювати у культурах клітин, були сіквензовані за допомогою ДНК, безпосередньо з папілом, відібраних

від клонів.

Взаємодія вірусу з культурою клітин. Більшість досліджень реплікації вірусів тварин було проведено з використанням культивованих клітин ссавців, що ростуть або в суспензії, або моношарі, що прилягає до плоскої поверхні матрацу (флакону). Дослідження такого роду визначали одномоментну криву росту, за якої клітини культури заражаються одночасно з використанням високої кратності антигенів (Ag), а зростання інфекційного титру вірусу з часом супроводжується послідовною вибіркою та титруванням.

Вивільнений вірус у середовищі можна титрувати окремо від культурального вірусу, який залишається накопиченим в клітині. Після зараження, через незначний проміжок часу, внесений вірус *in vitro* неможливо продемонструвати навіть внутрішньоклітинно. Цей період триває до тих пір, поки через кілька годин не будуть виявлені перші ознаки цитопатичної дії (ЦПД). Віруси дозрівають всередині клітини *in vitro* і можуть бути виявлені протягом деякого часу як інфекційні внутрішньоклітинні віріони до того, як вони будуть вивільнені клітинним лізісом. Однак у багатьох вірусів добре розвинені культуральні властивості, вони швидко дозрівають шляхом виділення з плазматичної мембрани клітини-господаря і, таким чином, період розвитку ЦПД зазвичай становить від 2 до 12 годин для вірусів різних сімей.

Ранні дослідження, спираючись на кількісну електронну мікроскопію та аналіз ЦПД, дали інформацію про інтенсивний цикл реплікації (прикріплення, проникнення, дозрівання та вивільнення), після адаптації шляхом «сліпих пасажів». Дослідження експресії та реплікації вірусного генома стало можливим лише завдяки впровадженню біохімічних методів аналізу вірусних нуклеїнових кислот та білків.

Так само як розуміння природи вірусної інфекції у окремої тварини-хазяїна є ключовим для розуміння інфекції у всій популяції хазяїв, так і розуміння природи інфекції в окремій клітині є ключовим для розуміння інфекції в тканинах, органах та в чутливому організмі в цілому. Діапазон змін, спричинених у понад 200 різних видів клітин тварин різними вірусами, надзвичайно різноманітний. Віруси часто кодують гени, які індукують, імітують або вимикають функції клітини хазяїна для власної вигоди, і, звичайно, потенційний організм має розроблені системи для відключення вірусних функцій. Результат зараження може варіюватися від доброякісного до летального результату. Вірусні та клітинні фактори, які впливають на результат інфекції, часто знаходяться в делікатній рівновазі, легко зміщуються в той чи інший спосіб, наприклад, через фізіологічні, імунні або запальні реакції тваринного організму або вираження вірулентних факторів вірусом. Порушення клітинних функцій, загибелі або трансформації клітин, або активізація невідповідної імунної відповіді проявляються як захворювання.

Цитопатичні зміни культури клітин уражених вірусом. Цитопатичні віруси вбивають клітини, в яких вони реплікуються. Коли на моношар культивованих клітин вносять вірусовмісний біологічний матеріал. Взаємодія вірусу, а саме його репродукція на культурі клітин у вигляді пошкодження клітин відоме як цитопатична дія (ЦПД). Цитопатичну дію, як правило, можна спостерігати за допомогою світлової мікроскопії.

У клітинах, інфікованих цитопатичними вірусами, відбувається стільки патофізіологічних змін, що загибель це кінцевий результат кумулятивної дії. Конкретні віруси можуть завдати шкоди клітинам-хазяїна різними способами.

Клітинні мембрани беруть участь у багатьох фазах реплікації вірусу – від прикріплення

та проникнення вірусу до формування реплікаційних комплексів та складання вібріонів. Віруси можуть змінювати проникність плазматичної мембрани, впливати на іонообмін та мембранний потенціал, індукувати синтез нових внутрішньоклітинних мембран та індукувати перестановку раніше існуючих мембран.

Гемадсорбція та гемаглютинація. Клітини в первинних культурах клітин, заражених ортоміксовірусами, параміксовірусами та тогавірусами, всі вони діляться із плазматичної мембрани, набувають здатність адсорбувати еритроцити (аглоїтиніни). Це явище, відоме як гемадсорбція, пов'язане з включенням вірусних глікопротеїнових пепломерів у плазматичну мембрану інфікованих клітин, де вони служать рецепторами лігандів на поверхні еритроцитів. Ті ж глікопротеїнові пепломери відповідають за гемаглютинацію *in vitro*, тобто аглоїтинацію еритроцитів. У цьому випадку віріони, додані до суспензії еритроцитів, утворюють клітинно-вірусні з'єднання, що включають велику кількість еритроцитів. Хоча, як відомо, гемадсорбція та гемаглютинація не грають ролі у патогенезі вірусних захворювань, обидва явища широко застосовуються в лабораторній діагностиці.

Цитоліз імунологічними механізмами. Вірусні білки (антигени), що вставляються у плазматичну мембрану клітини хазяїна, можуть бути мішенями для специфічних гуморальних та клітинних імунних реакцій, які здатні спричинити лізис клітини. Це може статися до появи значного накопичення вірусних клітин, тим самим сповільнюючи або зупиняючи прогрес інфекції та прискорюючи одужання. Альтернативно, у деяких випадках імунна відповідь може спричинити імунопатологічне захворювання, а у клітинах, трансформованих вірусами, антигени, що утворили комплекс вірус-клітина у клітинній мембрані, можуть проявляти специфічну дію на пухлини – трансплантаційні антигени.

Цитопатичні зміни, що включають цитоскелет. Зміна форми клітин є однією з поширених характеристик вірусного впливу (репродукції) на культивованих клітинах. Такі зміни викликаються пошкодженням цитоскелету, який складається з декількох ниткових систем, таких як мікрофіламенти (наприклад, актин), проміжні нитки (наприклад, віментин) та мікротрубочки (наприклад, тубулін). Цитоскелет відповідає за структурну цілісність клітини, за транспортування органел через клітину, а також за певні дії в рухливості клітин. Відомо, що окремі віруси пошкоджують специфічні ниткові системи: наприклад, вірус чуми собак, віруси везикулярного стоматиту, герпесвіруси викликають деполімеризацію мікрофіламентів, що містять актин, та ентеровіруси спричиняють значні ушкодження мікротрубочок. Такій вплив сприяє різким цитопатичним змінам, які передують лізису клітин при багатьох інфекціях. Елементи цитоскелету також використовуються багатьма вірусами в процесі їх реплікації: при вірусному введенні, у формуванні реплікаційних комплексів і місць збирання, і при вивільненні віріону.

Нецитотичні зміни у заражених вірусом клітинах. Нецитотичні віруси зазвичай не вбивають клітини, в яких вони реплікуються. Навпаки, вони часто викликають стійку інфекцію, за якої заражені клітини виробляють і вивільняють віріони, але загальний клітинний метаболізм мало впливає. У багатьох випадках заражені клітини навіть продовжують рости і ділитися. Цей тип взаємодії вірусів з клітинами зустрічається у клітинах, заражених декількома видами РНК вірусів: пестивірусами, аренавірусами, ретровірусами, зокрема, деякими параміксовірусами. Проте у деяких ретровірусів, відбуваються повільно прогресуючі зміни, які в кінцевому рахунку призводять до загибелі клітин. У тварини-господаря заміна клітин відбувається настільки швидко у більшості органів і тканин, що повільне випадання клітин через стійку інфекцію може не впливати на

загальну функцію; однак нейрони, після їх знищення, не замінюються і стійко інфіковані диференційовані клітини можуть втратити свою здатність виконувати спеціалізовані функції.

Основні етапи пасажування на прикладі аденовірусу. Після приєднання до клітин культури віріон проникає в клітину де розщеплюється вірусні оболонки та відбувається вивільнення вірусного геному. Деякі ранні вірусні гени (індукція (активізація) яких виникає надзвичайно швидко) транскрибуються в РНК, які потім можуть бути оброблені різними способами, включаючи сплайсинг (процес «вирізання» ново синтезованої матричної РНК). Ранні генні мРНК мають три основні типи: білки, які вимикають клітинну нуклеїнову кислоту та синтез білка, білки, що регулюють експресію вірусного геному, та ферменти, необхідні для реплікації вірусної нуклеїнової кислоти. Після реплікації вірусної нуклеїнової кислоти транскрибуються пізні вірусні гени. Пізні білки – це, головним чином, вірусні структурні білки, що використовуються для збирання нових віріонів; деякі з них піддаються посттрансляційним модифікаціям перед використанням. Дозрівання відбувається в ядрі. Кожна заражена клітина дає тисячі віріонів, які вільно можуть заражати інші клітини. Отже ферменти реплікації кодується ранніми генами, а структурні білки – пізніми.

Для більшості вірусів ДНК транскрипція та реплікація ДНК відбуваються в ядрі клітини, використовуючи клітинну РНК-полімеразу II (бере участь у розпліттанні ланцюгів ДНК) та інші клітинні ферменти. Більшість вірусів РНК копіюється в цитоплазмі, і оскільки клітинам не вистачає ферментів для копіювання РНК з шаблону РНК, або вірусний геном сам повинен функціонувати як мРНК, або вірус повинен кодувати і переносити власну РНК-полімеразу для транскрибування РНК з генома РНК.

Для того, щоб відбулося зараження, віріони повинні бути здатні зв'язуватися з клітинами. Зв'язування відбувається між лігандами на поверхні віріона (вірусні прикріплювальні білки) та рецепторами на плазматичній мембрані клітини (за рахунок відповідної комплементарності).

Часто теорії, що використовують для опису цієї взаємодії (*in vitro*), виглядають досить спрощено, але існують і інші способи накопичення, один з яких – *in vivo* (в середині живого організму), що забезпечується за рахунок різних пар ліганд-рецепторів. Відсутність кореляції між дослідженнями комплементарності у культивованих клітинах та здоровими тваринами може розглядатися як ознака цієї складності. Розглянемо на прикладі з герпесвірусами, де кілька глікопротеїнів вірусної оболонки можуть служити білками приєднання, і декілька клітинних рецепторів можуть бути задіяні в послідовному порядку, спочатку до досягнення слабкого приєднання через один рецептор, потім незворотного зв'язування через інший. Цей феномен множинного набору забезпечує надмірність, а також полегшує потребу герпесвірусів в інвазії в епітеліальні та нервові тканини, щоб підтримувати їх латентний / повторний цикл зараження. Інші віруси роблять те саме. Хоча існує ступінь конкретності щодо розпізнавання певних клітинних рецепторів певними вірусами, зовсім інша віруси (наприклад, ортоміксовіруси та параміксовіруси) можуть використовувати один і той же рецептор, і, навпаки, віруси в одній родині або роду можуть використовувати різні рецептори. Загалом, віруси еволюціонували з метою опортуністичного використання (інакше кажучи, переслідування своїх інтересів обманним шляхом) найрізноманітніших білків поверхневих клітин-хазяїна як їх рецепторів, у більшості випадків використовуючи в якості рецепторів клітинні білки, що мають вирішальне значення для основних клітинних функцій, такі клітинні білки зберігаються протягом еволюційного часу, так що віруси рідко вилучаються через невдачу знайти улюблені рецептори.

Навіть за умов необхідної температури чи кислотності структурна відповідність вірусних білків та рецепторів клітин спричиняє генетичну стійкість виду.

Концентрування культуральної вірусовмісної рідини

При отриманні антигену за допомогою зворотнього діалізу - вірусовмісний матеріал переморожують три рази, після чого заливають в діалізний мішок, який зав'язують і поміщають на квітку яка розташована під кутом. Діалізний мішок з вірусовмісним матеріалом засипають ПЕГом з розрахунку 12% від об'єму і залишали на 16 год (Рис. 4.3). Після цього вірусовмісний матеріал зливають і визначають ступінь концентрування. Даний вірусовмісний матеріал піддається антигенному контролю в РГА для визначення титрів гемаглютининів і подальшого його використання в серологічних реакціях, як наприклад реакціях затримки гемаглютинації (РЗГА) та реакції дифузної преципітації (РДП). Даний метод дозволяє концентрувати вірусовмісний матеріал, однак не забезпечує стерильне отримання антигену.



Рис. 4.3. Зовнішній вигляд діалізного мішка з вірусовмісним матеріалом.

Контрольні запитання

1. Що таке культура клітин *HeLa*, ким і при яких обставинах вона була отримана ?
2. Чим відрізняються первинні і вторинні культури клітин ?
3. Які вимоги повинні задовільняти клітинаа, у якій культивують вірус ?
4. Які ознаки вказують на зараженість культури клітин вірусами ?

РОЗДІЛ 5 ПАТОГЕНЕЗ ВІРУСНИХ ІНФЕКЦІЙ

Сукупність процесів, які спричиняють захворювання при взаємодії вірусу з організмом хазяїна і визначають закономірність його розвитку, називають *патогенезом вірусних інфекцій*.

У результаті розмноження вірусу вражаються значна кількість клітин, що виявляється у клінічному ознаках хвороби. Задля прояву патогенного впливу вірусам необхідно варіювати від імунних клітин, проте у деяких випадках імунна відповідь може сприяти розвитку інфекційної хвороби.

Патогенез вірусних інфекцій обумовлюють такі фактори:

- тропність вірусу;
- реакція клітини на інфекцію;
- реакція організму на зміни клітин і тканин, спричинені інфекцією;
- швидкість репродукції вірусу і кількість інфекційних віріонів у потомстві.

Розрізняють такі стадії патогенезу вірусних інфекцій:

- 1 стадія – проникнення вірусу в організм;
- 2 стадія – первинна репродукція вірусу;
- 3 стадія – поширення вірусу в організмі;
- 4 стадія – локалізація вірусу в організмі;
- 5 стадія – пошкодження чутливих клітин;
- 6 стадія – імунна відповідь;
- 7 стадія – персистенція вірусу.

Проте не всі віруси під час зараження організму здатні пройти зазначені стадії. Патогенез вірусних інфекцій багато в чому залежить від специфіки самого патогена і хазяїна, взаємовідносини яких виявляються на рівні організму в різних варіаціях. Клінічний прояв хвороби не завжди є чутливим індикатором попередньої інтенсивної репродукції й поширення вірусу в організмі, а також формування противірусного імунітету.

Від локалізації чутливих клітин хазяїна залежать шляхи проникнення вірусу в організм та відповідно визначаються механізми передавання збудника від одного організму до іншого. Воротами інфекції для більшості вірусів є слизові оболонки респіраторного і травного каналів.

Вірус може потрапити в організм у складі крапель або з частинками пилу, чим вони дрібніші, тим глибше проникають віруси, досягаючи альвеол – *аерогенний шлях*. Властивий вірусам двох груп:

1. респіраторні віруси, що розмножуються в епітелії слизових оболонок дихальних шляхів, спричиняючи місцеву (рідше генералізовану) інфекцію;
2. віруси, для яких дихальні шляхи є лише вхідними воротами інфекції; такі віруси спричиняють генералізований процес, нерідко з вторинним ураженням дихальних шляхів.

Аліментарний шлях проникнення характерний для вірусів двох груп:

1. кишкові віруси, що уражають епітеліальні клітини слизової оболонки кишок і спричиняють гастроентерити;
2. віруси, які не спричиняють місцевого ураження слизової оболонки кишок, а призводять до генералізованого процесу.

Контактний шлях зараження відбувається у разі безпосереднього контакту здорової тварини з хворою через шкіру, видимі слизові оболонки (в тому числі статевих органів) або при непрямому контакті через фактори навколишнього середовища (зокрема парентерально). Зараження через шкірний покрив відбувається у разі порушення його цілісності, навіть за мікроскопічних ушкодженнях.

Статевим шляхом у організм потрапляють віруси, які містяться у спермі або вагінальному слизу.

Група вірусів здатні потрапити у організм *парентеральним* шляхом: через контаміновані інструменти або препарати крові.

Вертикальний шлях – вірус потрапляє від батьків нащадкам, що здійснюється чотирма шляхами.

Внутрішньоутробне зараження плоду в утробі матері;

Генетичне передавання трапляється за інтеграційних інфекцій;

Перинатальне зараження виникає за проходження плоду через інфіковані родові шляхи

Лактогенне зараження – з молоком

Низка вірусів, перед тим як поширитися у організмі, репродукуються на місці первинного проникнення, а надалі йде його міграція по організму трьома шляхами: гематогенним, лімфогенним і нейрогенним.

Гематогенний шлях інфікування є характерними серед вірусних захворювань. Вірусемія є звичайним симптомом за значної групи вірусних інфекцій. Вона розвивається під час інкубаційного періоду і зберігається впродовж перших днів хвороби але може й бути постійною. У гематологічне русло віруси потрапляють за допомогою лейкоцитів, що мігрують з первинного місця репродукції у капіляри, з лімфатичних судин, які обслуговують місце потрапляння збудника і безпосередньо з судинного епітелію воріт інфекції. Зазвичай вірус у кровноносному руслі охоплює макрофаги і динамічно мігрує, але незначна група вірусів не пасивно дрейфує до основного місці локалізації. Вірусемія не згасає завдяки постійного потрапляння вірусу у кров'яне русло. Багато вірусів фагоцитують макрофагами, і розносячи по всьому організму тим самим захищаючи від імунних факторів. Окрім макрофагів, віруси можуть зв'язуватися з іншими клітинними крові.

Лімфогенний шлях. З місця первинної локалізації віруси мігрують по організму по лімфатичних судинах. Інфіковані лімфатичні вузли можуть бути вторинним осередком інфекції.

Нейрогенний шлях – міграція вірусів або продуктів їх життєдіяльності можлива завдяки периферійних нервів.

Після проникнення у організм і міграції одним з вище наведених шляхів досягає відповідних тканин, де відбувається його основна репродукція. Здатність вірусу репродукуватися в певних типах клітин організму називається тропізмом. За цією властивістю віруси поділяються на п'ять основних груп:

1. нейротропні, які репродукуються у нервових клітинах ;
2. дерматропні, або епітеліотропні, які репродукуються у клітинах шкіри і слизових оболонок;
3. пневмотропні, що репродукуються у епітеліальних клітинах слизових оболонок верхніх дихальних шляхів і легень;
4. політропні, які здатні репродукуватися у клітинах різних типів;
5. пантропні, що можуть репродукуватися у клітин будь якого типу.

Поняття тропізму є певною мірою умовним. Так безліч вірусів здатні вражати два типи клітин з можливістю репродукції.

Віруси поширюються по всьому організму, проте їхня репродукція відбувається лише у тих клітинах, в яких вони можуть реалізувати свою генетичну інформацію. В основі тропізму лежить чутливість певних клітин, а отже тканин і органів до вірусу, що в свою чергу зумовлено:

1. наявністю на плазмолемі специфічних рецепторів, які забезпечують адсорбцію та проникнення вірусу;
2. наявністю в клітині відповідних ферментів, потрібних для депротейнізації вірусу та синтезу й модифікації вірусних компонентів.

Патогенність вірусу це генетична ознака, що зумовлена взаємодією генів. Проявом патогенності є вірулентність, яка залежить від властивостей клітинного апарату вірус-уражений організм. Відомим є і факт різниці у вірулентності штамів одного і того самого вірусу.

На вірулентність вірусу впливають багато чинників організму: генетична толерантність, вік, стать та вторинні інфекції.

Основним проявом вірулентності вірусу є деструкція чутливих клітин у тканинах-мішенях і виникнення внаслідок цього фізіологічних змін у організмі.

Наслідком значного ураження клітин вірусом є порушення існування макроорганізму, що проявляється розвитком загальних і специфічних клінічних ознак. Проміжок часу з моменту потрапляння вірусу у організм до появи перших клінічних ознак захворювання – інкубаційний період. Тривалість його залежить від багатьох чинників, а саме вірулентності збудника та імунологічної реактивності організму.

Патогенез на клітинному рівні. Позаклітинний віріон біологічно інертний до того часу, поки не проникає у клітину і вірусний геном не почне функціонувати як самостійна генетична структура. Лише з цього моменту проявляється своєрідність взаємовідносин комплекс вірус – клітина. Вірусна інфекція – це сукупність процесів, які виникають за взаємодії клітини і вірусного геному.

Потрапляння вірусу у чутливі клітини не означає безумовну репродукцію остатнього.

5.1. Імунна реакція на вірусні інфекції

У відповідь на постійну загрозу вторгнення інфекційних агентів, включаючи віруси, хребетні виробили складний набір оборонних заходів, що називаються в сукупності імунною системою. Під час первинної зустрічі з вірусом імунна система господаря розпізнає певні вірусні макромолекули (білки, вуглеводи), які називаються антигенами, як чужі, що викликають кілька видів реакцій для усунення вірусу та запобігання реінфекції. В-лімфоцити відповідають (гуморальна імунна відповідь) на антигенний подразник, виробляючи та секретуючи імуноглобуліни або антитіла. Т-лімфоцити реагують (клітинно-опосередкована імунна відповідь) секретуючи цитокіни, які регулюють імунну відповідь, координуючи діяльність різних типів клітин, включаючи вироблення антитіл В-лімфоцитами; Т-лімфоцити також мають прямі ефекторні функції, такі як цитотоксичні функції. В та Т-лімфоцити несуть високоспецифічні молекули рецепторів, які розпізнають дискретні ділянки на вірусних білках, відомі як антигенні детермінанти або епітопи.

Антиген-специфічні імунні реакції спільно з вродженими захисними механізмами знешкоджують багато вірусних інфекцій, перш ніж було завдано значної шкоди; це

призводить до легкого перебігу захворювання або навіть субклінічного.

Клітинні компоненти імунної системи. Клітини імунної системи включають В і Т-лімфоцити, моноцити макрофаги, клітини дендритів та клітини природних кілерів (NK). Лімфоцити мають антигенспецифічні рецептори на своїх поверхнях, які є основою імунологічної специфічності. Будь-який даний Т або В лімфоцит має рецептори зі специфічністю для одного епітопу. Коли Т або В лімфоцити зв'язують антиген вони його презентують, тим самим сприяють діленню клітин, утворюючи розширений клон клітин (клональне розширення). В-лімфоцити диференціюються у плазматичні клітини, які є кінцевими клітинами, що продукують і секретують антитіла. Т-лімфоцити виділяють розчинні фактори, відомі як лімфокіни або інтерлейкіни, що є представниками великого сімейства молекул, гормоноподібних, відомих загалом як цитокіни, ці молекули модулюють діяльність клітин, що беруть участь в імунній відповіді. Деякі Т і В клітини повертаються до довгоживучих малих лімфоцитів, відповідальних за імунологічну пам'ять. Тоді як антитіла та рецептори на В-клітинах розпізнають епітопи на чужорідних антигенах у своїй природній конформації, Т-клітинні рецептори розпізнають дрібні пептиди, що утворюються при розщепленні вірусних білків; вони роблять це лише тоді, коли чужорідні пептиди представлені їм у поєднанні з мембранними глікопротеїнами, відомими як основні білки комплексу гістосумісності.

Антиген-специфічні рецептори на поверхні В-лімфоцитів - це модифіковані молекули імуноглобуліну, що складаються з чотирьох поліпептидів: двох легких та двох важких ланцюгів, що називаються поверхневим імуноглобуліном.

Клітинну ланку імунітету характеризують вміст Т-лімфоцитів. Клітинна ланка є домінуючою за вірусних та бактеріальних інфекцій з внутрішньоклітинним перебуванням збудника.

Сучасні лабораторії імунологічних досліджень використовують дві принципово різні методики визначення вмісту різних субпопуляцій Т-лімфоцитів. Перша з них заснована на взаємодії мічених специфічних моноклональних антитіл з відповідними CD маркерами лімфоцитів, друга – на взаємодії лімфоцитів з еритроцитами барана, внаслідок чого утворюються характерні структури, що отримали назву «розеток» (методика розеткоутворення).

Коротка характеристика основних субпопуляцій лімфоцитів за CD-маркерами:

Т-лімфоцити названі так через їх залежність від вилочкової залози для їх дозрівання з стовбурових клітин. В середині вилочкової залози відбувається відбір клітин здатних розпізнавати чужорідні пептиди на поверхні клітин і нейтралізація тих Т-клітин, які розпізнають лише соматичні задля недопущення розвитку аутоімунних захворювань. Лише 1 або 2 % лімфоцитів, що синтезуються у тимусі, заселяють лімфоїдні тканини. CD 3 загальні лімфоцити. Практично всі зрілі Т-лімфоцити експресують на своїй поверхні CD 3 маркерні молекули, тому і рівень є інтегральним (узагальнюючим) показником Т-клітинної ланки імунітету.

Т-клітини-помічники несуть поверхневий маркер, відомий як CD 4. Вони розпізнають вірусні пептиди як правило. CD 4 лімфоцити. Молекули CD 4 експресують на своїй поверхні Т-лімфоцити, які отримали назву хелперів. Це головні регуляторні клітини імунної системи. Від діяльності Т-хелперів залежить як напрямок розгортання імунної відповіді, так і його ефективність. CD 4 антиген-презентуючих клітини.

Цитотоксичні Т-лімфоцити несуть поверхневий маркер CD 8 і володіють рецепторами

T-клітин, які розпізнають вірусні пептиди, представлені на поверхні вірусних мічених клітин-мішеней.

Клітини лімфоцитів *CD 8* – ефektorні клітини імунної системи, які містять на своїй поверхні цитотоксичні T-лімфоцити. Саме цитотоксичні T-лімфоцити наносять кінцевий удар по мішенях імунної агресії (пухлинних і інфікованих клітин). *CD 8* молекула виступає в ролі корецептора, стабілізуючи взаємодія рецепторів T-супресори.

CD 16, CD 56 лімфоцити. Це так звані природні кілери, також здійснюють цитотоксичну вплив на інфіковані та пухлинні клітини, однак, на відміну від T-супресорів, які не здійснюють специфічної імунної розпізнавання антигенів мішені. Природні кілери розпізнають скомпromетовані клітини за спрощеною схемою. Природні кілери самостійно працюють на ранніх етапах вірусної інфекції, на пізніх до протипікційного захисту долучаються цитотоксичні T-лімфоцити супресори, що регламентують їх кількість. Природні клітини-кілери - це гетерогенна група великих *CD 16, CD 56* гранульованих лімфоцитів здатних вбивати інфіковані вірусом клітини.

CD 22 лімфоцити. Зрілі B-лімфоцити, які несекретують антитіл, експресуються маркерами *CD 22*, такий процес характеризує гуморальну ланку імунітету. В свою чергу плазматичні клітини, що є похідними B-лімфоцитів займаються безпосередньою продукцією імуноглобулінів. Дефекти гуморального імунітету, пов'язані власне з B-клітинами, зустрічаються дуже рідко.

Моноцити. Завдяки їх рухливості та здатності наводити макрофаги та дендритні клітини, через їх ключові місця в різних тканинах (наприклад, альвеолярні макрофаги в легенях, клітини Купфера в печінці, дендритні клітини Лангерганса в шкірі), є важливими ініціаторами імунної відповіді проти вірусної інфекції. Вони залучаються відразу у відповідь організма:

- моноцити інфільтрують тканини і диференціюються, щоб перетворитися на макрофаги
- макрофаги часто стають переважаючою клітиною у вогнищі інфекції через 24 години після вірусної інфекції
- дендритні клітини виконують аферентні імунні функції на всіх поверхнях тіла та в ключових органах, таких як лімфатичні вузли, селезінка та печінка, де відбувається більшість фагоцитарних видалень сторонніх частинок.

Усі три типи клітин несуть на своїх поверхнях рецептори імуноглобуліну, що сприяє фагоцитозу імунних комплексів, тобто віріонів, покритих антитілом. Функціонуючи як антиген-презентуючі клітини, вони здійснюють контрольний вплив на швидкість, величину та динаміку імунної відповіді. Надалі макрофаги дають експресію еферентній ланці імунної відповіді: цитокіни, що секретуються активованими T-клітинами, приносять більше моноцитів у вогнище інфекції та активують їх, коли вони диференціюються на макрофаги. Активовані макрофаги мають інтенсивну хіміотактичну активність, фагоцитарну активність.

Природні клітини-вбивці не демонструють імунологічної специфічності для конкретних вірусних антигенів, що свідчить про відсутність імунної пам'яті. T-кілери є важливим механізмом раннього захисту, оскільки їх активність значно посилюється протягом 1 або 2 днів після потрапляння вірусного антигена. Індукована вірусом активація NK-клітин опосередковується інтерферонами, діючи синергічно з IL-2, а самі NK-клітини виділяють кілька цитокінів, включаючи інтерферон.

Цитокіни – гормоноподібні білки з низькою молекулярною масою, які стимулюють або

пригнічують проліферацію, диференціювання та / або дозрівання імунних клітин. Вони відрізняються від справжніх гормонів тим, що багато з них виробляються Т-лімфоцитами або моноцитами і служать для регулювання імунної відповіді, координуючи діяльність різних типів клітин. Таким чином, хоча цитокіни не є антигенспецифічними, їх продукція та дії часто керуються антигеном.

Цитокіни можуть діяти на клітину, яка їх продукувала або на клітини, що знаходяться в безпосередній близькості, особливо на інтерфейси клітин-клітин, де може відбуватися спрямоване виділення і дуже низькі концентрації, або вони можуть діяти на клітини при більш віддалені місця.

Гуморальну ланку імунітету характеризують рівні В-лімфоцитів у різні фази дозрівання, а також концентрація імуноглобулінів різних класів (*Ig M*, *Ig G*, *Ig E*, сироваткового і секреторного *Ig A*). Для належної оцінки гуморального ланки імунітету слід враховувати рівень Т-лімфоцитів, оскільки синтез антитіл є залежним процесом від тимус продукуючих імунних клітин.

Гуморальна ланка є домінуючою за бактеріальних інфекціях з позаклітинним перебуванням збудника, а також при протозойних хворобах і гельмінтозах.

Кінцевим результатом активації та дозрівання В-клітин є вироблення антитіл, які реагують конкретно з епітопом, визначеним спочатку їх рецепторами. Антитіла поділяються на чотири основні класи: два мономери, *Ig G* та *Ig E*, та два полімери, *Ig M* та *Ig A*. Всі імуноглобуліни певного класу мають схожу структуру, але вони сильно різняться в амінокислотних послідовностях, що визначає їх специфічність для даного антигенного детермінанта. Найпоширеніший імуноглобулін, виявлений у сироватці крові, *Ig G*.

Імуноглобулін М (Ig M) – це антитіла гострого періоду імунної відповіді, які при першому контакті з патогеном синтезуються плазматичними клітинами. *Ig M* має відразу 10 центрів зв'язування антигенів, що особливо актуально саме в гострий період інфекції, коли є необхідність у швидкому розпізнаванні і знищення великої кількості патогена. *Ig M* має найбільш сильну серед усіх імуноглобулінів здатність активувати комплемент, що забезпечує реалізацію комплемент-залежної цитотоксичності. У середньому, високі концентрації специфічних *Ig M* реєструються з 6-7 дня після інфікування, пізніше рівень його помітно знижується на тлі підвищення вмісту *Ig G*, тобто відбувається перебудова с синтезу *Ig M* на *Ig G*.

Діагностичне значення високих рівнів специфічних *Ig M* свідчить за гострий перебіг інфекції, при якій має місце первинне інфікування.

Оскільки *Ig M* формується на початку імунної відповіді і згодом замінюється *Ig G*, специфічні антитіла класу *Ig M* є діагностикою недавньої (або хронічної) інфекції. Низький рівень *Ig M* може бути виявлений у плода, оскільки він розвиває імунологічну компетентність у другій половині вагітності.

Імуноглобулін *G (Ig G)* – це антитіла пізньої фази імунної відповіді, які починають синтезуватися після періоду домінування *Ig M*. У властивостях *Ig G* враховані умови періодів регресу клінічних проявів і реконвалесценції запального процесу, протягом яких кількість патогена зменшується і першочерговим для лікування є якість розпізнавання антигену. У зв'язку з цим, *Ig G* є більш специфічним антитілом, ніж *Ig M*. З іншого боку, у властивостях *Ig G* враховані недоліки молекули *Ig M*, які, в зв'язку з великими розмірами, мають досить обмежену здатність проникати в тканини. Для успішної ерадикації патогена необхідне забезпечення надійного контролю периферичних тканин з боку імуноглобулінів на предмет

наявності патогена. *Ig G*, які мають лише 2 центри зв'язування антигену і меншу молекулярну масу, мають кращу здатність проникати в периферичні тканини.

Високі рівні специфічних *Ig G* реєструються в періоди регресу клінічних проявів і реконвалесценції. Специфічні *Ig G* можуть продукуватися і циркулювати в сироватці крові протягом тривалого терміну після лікування, оскільки саме цей клас антитіл синтезується клітинами імунної пам'яті. Вибір *Ig G* для забезпечення імунної пам'яті є не випадковим, так як це одночасно і найбільш економічні, і найбільш специфічні антитіла. Після перенесеної інфекції може забезпечуватися або стабільна концентрація специфічних *Ig G*, або мати місце поступове зниження їх титрів. Зростання титрів специфічних *Ig G* через тривалий термін після перенесеного захворювання свідчить не про підтримку імунної пам'яті, а про неповне одужання або набування хронічного перебігу, так як *Ig G* є антитілами вторинної імунної відповіді, який реалізується при контакті з уже знайомим антигеном. Таким чином, при повторному інфікуванні або загостренні хронічної інфекції фаза переважання *Ig M* відсутня, так як відразу ж синтезуються *Ig G*. Порушення такої закономірності може бути критерієм імунодефіциту.

Дефіцит *Ig G* найбільш часто проявляється у вигляді хронічних гнійних бронхітів, синуситів і отитів, пневмоній, які є резистентними до лікування антибіотиками, а також у вигляді гнійничкових захворювань шкіри (пустульоз, фурункульоз, карбункули, абсцеси тощо) з хронічним або рецидивуючим перебігом.

Відомо, що популяція *Ig G* є неоднорідною. Клінічні прояви дефектів окремих субпопуляцій *Ig G*.

Імуноглобулін А (Ig A) – це імуноглобуліни слизових оболонок і шкіри, який виконує важливу роль в підтримці імунної пам'яті слизових і забезпеченні феномена імунної солідарності слизових оболонок. При дефіциті *Ig A* є висока сприйнятливість до інфекцій (особливо вірусної природи), вхідні ворота яких формуються на слизових оболонках.

Імуноглобулін Е (Ig E) – є антитілами другого рівня захисту слизових оболонок. Якщо патоген долає захисний бар'єр *Ig A*, він розпізнається *Ig E*, які продукуються в мигдалинах, лімфовузлах, солітарних і лімфатичних фолікулах, що призводить до дегрануляції оградних клітин і розвитку запалення слизової оболонки. Іншими словами, механізм, пов'язаний з діяльністю *Ig E*, є альтернативою нейтралізує ефекту *Ig A*. Крім того, *Ig E* грають ключову роль в антипротозойним і протигельмінтний імунітет.

Імуноглобулін D (Ig D) – імуноглобуліни з невстановленою функцією.

Імуноглобуліни *D* і *E* – другорядні види імуноглобуліну, на які припадає менше 1% загального рівня імуноглобуліну.

Імунологічна пам'ять. Після впливу антигену та клональне збільшення кількості лімфоцитів виникає популяція клітин довгоживучої пам'яті, що зберігається нескінченно. Т-клітини пам'яті характеризуються особливими поверхневими маркерами та адгезією клітин, які пов'язані з різними шляхами рециркуляції. При повторному потрапленні того ж антигену навіть через багато років викликає швидку реакцію а ніж при первинному. Лімфоцити пам'яті Т і В можуть зберігатися роками, поки не буде повторної інфекції.

Імунні реакції на вірусну інфекцію. У основі противірусної імунної відповіді виділяють щонайменше три стадії які сприяють ліквідації інфекції:

- 1 стадія – знищення заражених клітин;
- 2 стадія – вироблення інтерферонів;
- 3 стадія – нейтралізація вірсіона.

Незабаром після зараження деякі вірусні частинки фагоцитуються макрофагами, за винятком тих, що здатні паразитувати у макрофагах.

Синтез антитіл відбувається в основному в селезінці, лімфатичних вузлах, лімфоїдних тканинах, пов'язаних з кишечником, і лімфоїдних тканинах, асоційованих з бронхом. Селезінка та лімфатичні вузли отримують вірусні антигени через кров або лімфатику і синтезують антитіла, переважно до класу *Ig M*, на початку відповіді та підкласи *IgG* згодом. Однак підслизові лімфоїдні тканини дихальних та травних шляхів, такі як мигдалини та перервові бляшки, отримують антигени безпосередньо з епітеліальних клітин та виробляють антитіла переважно класу *Ig A*.

Імунний цитоліз клітин, уражених вірусом. Руйнування інфікованих клітин є важливою ознакою відновлення після вірусних інфекцій, і це є результатом будь-якого з чотирьох різних процесів, включаючи цитотоксичні Т-клітини, цитотоксичність, опосередковану комплектами антитіл, цитотоксичність, опосередковану антитілами, або НК-клітини. Оскільки деякі вірусні білки або пептиди, отримані з них, з'являються в плазматичній мембрані до того, як будуть вироблятися будь-які віріони, лізис клітини на цій стадії припиняє вірусну реплікацію до вивільнення значної кількості останніх.

Цитотоксичність, опосередкована комплектом антитіл, виявляється легко *in vitro* навіть при дуже низьких концентраціях антитіл.

Нейтралізація вірусної інфекції – це не просто питання покриття віріона антитілом, а навіть блокування приєднання до клітини-господаря. За винятком такої високої концентрації антитіла, що більшість або всі доступні антигенні ділянки на поверхні віріона насичені, нейтралізовані віріони все ще можуть приєднуватися до сприйнятливих клітин. У таких випадках нейтралізуючий блок виникає в якийсь момент після адсорбції та введення.

Лімфоцити та макрофаги зазвичай переважають у клітинній інфільтрації вірусно-інфікованих тканин; на відміну від бактеріальних інфекцій, поліморфноядерних лейкоцитів зовсім не багато. Виснаження Т-клітин шляхом тимектомії новонароджених або лікування сироваткою антилімфоцитів збільшує сприйнятливість експериментальних тварин до більшості вірусних інфекцій.

При генералізованих захворюваннях, що характеризуються віремією, при якій віріони циркулюють вільно у крові, циркулюючі антитіла відіграють значну роль у відновленні організму.

Оскільки велика кількість взаємодіючих явищ сприяє одужанню від вірусної інфекції, механізм набутого імунітету до реінфекції тим самим вірусом виявляється набагато простішим. Перша лінія захисту - антитіло, яке, отримане при активному зараженні вірусом, який викликає системні інфекції, продовжує синтезуватися протягом багатьох років, забезпечуючи міцний захист від реінфекції. Ступінь набутого імунітету, як правило, добре корелює з титром антитіл у сироватці крові. Крім того, передача антитіла поодиноці, шляхом штучної пасивної імунізації чи шляхом передачі материнських антитіл від матері до плоду чи новонародженого, забезпечує чудовий захист у випадку багатьох вірусних інфекцій. Таким чином, доцільно зробити висновок, що антитіло є найбільш впливовим фактором імунітету, набутого природним шляхом зараження або вакцинацією. Якщо захисні сили антитіл, що сприяють одужанню, знову відтворюються, основні відмінності з цього приводу полягають у тому, що доза інфікуючого вірусу знижується антитілом і що утворена пам'ять Т і В лімфоцитами генерує більш швидкий вторинну відповідь. Як правило, секреторна відповідь *Ig A* є короткотривалою порівняно із сироватковою реакцією *Ig G*. Відповідно,

стійкість до реінфекції респіраторними вірусами та деякими ентєральними вірусами, як правило, має обмежену тривалість. Більше того, реінфекція в момент зменшення імунітету сприяє відбору мутантів і з'являються нові штами вірусів. Оскільки перехресний захист між антигенно вираженими штамами вірусу є мало, або його немає, повторні напади респіраторних інфекцій відбуваються протягом життя.

Імунна відповідь на перше зараження вірусом може мати домінуючий вплив на наступні імунні відповіді на антигенно-споріднені віруси, оскільки повторне потрапляння вірусу часто індукує відповідь, спрямовану головним чином проти антигенів вихідного вірусного штаму.

Існує безліч доказів ефективності антитіл у запобіганні інфекції. Наприклад, штучна пасивна імунізація (ін'єкція антитіл) тимчасово захищає від зараження. Крім того, природна пасивна імунізація, тобто передача материнського антитіла від матері до плоду чи новонародженого, захищає новонародженого протягом перших кількох місяців життя від більшості інфекцій, які пережила мати.

Природний пасивний імунітет важливий з двох основних причин: по-перше він має важливе значення для захисту молодняка протягом перших тижнів або місяців життя від безлічі мікроорганізмів, у тому числі вірусів, які присутні у оточуючому середовищі, і подруге антитіло, похідне від матері, перешкоджає активній імунізації новонародженого, і тому їх слід враховувати при розробці графіків вакцинації.

Материнські антитіла можуть передаватися в ячному жовтку птахів, через плаценту у приматів або через молозиво та молоко інших ссавців. Різні види ссавців значно відрізняються за шляхом передачі материнських антитіл, залежно від структури плаценти виду. У людей гемохоріальний тип плаценти через який передається близько 75 % материнських антитіл, синдесмохоріальний тип притаманний ВРХ і ДРХ не передбачає трансплацентарну передачу антитіл, а у м'ясоїдних гемоендотеліохоріальний тип плаценти, що забезпечує передачу материнських антитіл на рівні від 5 до 25 %. Материнські антитіла, що передаються нащадкам у більшості це імуноглобуліни G. Хоча рівні Ig A, що передаються молозивом у кишечник новонародженої тварини, значно нижчі, ніж рівень Ig G, все одно це допомагає захистити новонародженого від вірусних кишкових захворювань, проти яких самка має імунітет. Крім того, є дані про те, що після зниження транслокації імуноглобуліни, присутні у звичайному молоці, головним чином, Ig A, але також Ig G та Ig M, можуть продовжувати надавати певний захисний імунітет проти кишкових інфекцій. Часто новонароджений стикається з вірусами, хоча він ще частково захищений. За цих обставин вірус розмножується, але лише в обмеженій мірі, стимулюючи імунну відповідь, не викликаючи значних захворювань. Таким чином, новонароджене набуває активного імунітету, частково захищеного материнським імунітетом.

Збій або часткова недостатність передачі материнських антитіл є найпоширенішим захворюванням на імунодефіцит домашніх тварин.

Біологічними причинами цього є:

- передчасне народження слабких тварин,
- затримка першого висмоктування,
- загибель самки,
- низька продукція молозива самкою,
- низький рівень антитіл у сироватці матері та таким чином, в молозиві,
- поганий материнський інстинкт, особливо ті, що уперше народили,

- передчасна лактація,
- занадто багато у виводку і значна кількість слабких.

З них найважливішими чинниками є кількість наявного молозива та затримка між народженням та першою дачею молозива. Важливою стратегією у ветеринарній медичній є материнська імунізація для майбутнього захисту новонароджених тварин.

5.2. Формування противірусного імунітету

Як тільки антиген виявлено імунною системою, В-лімфоцити починають виробляти антитіла (імуноглобуліни), що повинні в подальшому прикріпитися саме до цього антигену. Продукується багато копій антитіл, які блокують його поширення. Функція імуноглобулінів різних класів (Ig A, D, M, E та підкласів IgG) полягає в боротьбі організму з інфекцією (профілактика, обмеження початкової фази інфекції та подальшої віремії, а також знешкодження інфікованих клітин через цитотоксичність, або комплемент-опосередкований лізис). Імунна система має здатність «запам'ятовувати» та зберігати імунітет до вірусів на роки, десятиріччя або навіть на все життя, тому готова швидко перемогти наступну інфекцію. Для вироблення ефективного захисту від мікроорганізмів, що вперше потрапили до організму, потрібно не менше 10-14 діб.

Результатом щеплення є формування специфічного поствакцинального імунітету, на розвиток якого впливають:

- чинники, що залежать від самої вакцини (чистота препарату, період життя антигену, доза, наявність протективних антигенів, кількість уведень);
- чинники, що залежать від організму (стан імунної реактивності, вік, наявність імунодефіциту, генетична схильність, тощо);
- чинники, що залежать від факторів зовнішнього середовища (харчування, умови роботи та побуту, клімат, фізико-хімічні чинники середовища).

Імунітет (лат. Immunitas – звільнення, позбавлення чогось) – це захист організму від інфекційних і неінфекційних антигенів і речовин, які мають антигенними властивостями. Геном вірусів, при всій їхній генетичній різноманітності та мінливості, кодує від декількох одиниць до десятків простих і складних білків, що мають імуногенність. У протистоянні атаці вірусів організму людини задіяно цілий комплекс неспецифічних факторів резистентності та адаптивного імунітету. Це забезпечує формування на молекулярно-клітинному рівні противірусного імунітету, адекватного активності інфекційного процесу.

В елімінації вірусних антигенів (білки та глікопротеїди суперкапсиду, капсиду, внутрішні білки ферменти, нуклеопротеїди) беруть участь гуморальні (інтерферони, інтерлейкіни, хемокіни, система комплементу, природні антитіла) та клітинні (рецептори цитокінів, рецептори цитокінів, рецептори цитокінів). НК клітини фактори неспецифічного захисту. Першим бар'єром на шляху потрапляння вірусу в організм є шкіра та слизова оболонка, захист якої обумовлена секреторними IgA, що взаємодіють з вірусами та перешкоджають їх адгезії на епітеліоцитах шляхом блокади їх рецепторів.

Інтерферон-гама (IFN- γ) як один з головних факторів противірусного імунітету перешкоджає накопиченню вірусу в клітині-мішені. Різні віруси інгібуються під впливом IFN- γ різними шляхами. Ключовим механізмом противірусної активності є залучення РНК-залежної протеїнкінази, яка призводить до блокади трансляції вірусної мРНК та запуску апоптозу. До другого противірусного механізму залучається ферменти які активують латентну РНК-ендонуклеазу, що призводить до деструкції вірусної РНК. У третій механізм

залучаються білки, які пригнічують транскрипцію низки РНК-вірусів, але діють на ДНК-віруси. Непрямим ефектом біологічної дії інтерферонів є активація експресії соматичними та імунокomпетентними клітинами молекул головного комплексу гістосумісності, що стимулює розпізнавання антигенів. IFN- γ також називають макрофагактивуєчим фактором: вступивши у взаємозв'язок зі своїм рецептором на зовнішній поверхні макрофагу, він посилає до ядра цієї клітини сигнали активації кількох десятків генів, у тому числі Т-лімфоцити. Макрофаги, активовані IFN- γ , забезпечують протівірусну резистентність: наявністю в них факторів внутрішньоклітинної віруліцидності цих клітин, що не дозволяють вірусам реплікуватися у них; проявом антитілозалежної клітинної цитотоксичності; продукцією інших цитокінів та білків системи комплементу, які мають протівірусні властивості.

Природні кілерні клітини можуть руйнувати вірусінфіковані клітини, що втратили антиген і таким чином стали для них «чужими». Встановлено, що саме на ранніх стадіях вірусної інфекції спостерігається процес інтенсивного збільшення вмісту NK-клітин у периферичній крові хворих. NK-клітини беруть участь у механізмах антитілозалежної клітинної цитотоксичності, фіксуючись за допомогою рецепторів на клітинах-мішенях, сенсibilізованих антитілами. Значна роль у протівірусному імунітеті належить Т-ефекторам гіперчутливості уповільненого типу, які розпізнають вірусний антиген з антигенами і виділяють медіатори клітинного імунітету: лімфотоксин, що викликає загибель інфікованих клітин-мішеней, і медіатори. клітин, що розпадаються.

Адаптивний протівірусний імунітет здійснюється за допомогою гуморального та клітинного механізмів і спрямований на нейтралізацію, звільнення організму від вірусу, його антигенів та знищення заражених вірусом клітин. Спочатку антиген потрапляє з джерела запалення до місцевого лімфоїдного органу за допомогою антигенпрезентуючих клітин або з током крові. Сильними антигенпрезентуючими властивостями при вірусних інфекціях мають дендритні клітини та клітини Лангерганса.

Розрізняють дві фази гуморальної імунної відповіді – індуктивну та продуктивну. При індуктивній фазі В-лімфоцити можуть виконувати роль специфічних антигенпрезентуючих клітин, які і представляють антиген Т-хелперам у складі молекул головного комплексу гістосумісності. Після розпізнавання антигену Т-хелпери починають продукцію цитокінів, що сприяють переходу В-лімфоцитів в антитіло продуценти. При продуктивній фазі гуморальної імунної відповіді утворюються ефекторні – плазматичні клітини, які при отриманні специфічного стимулу від антигену та неспецифічного від Т-клітин починають продукцію антитіл лише однієї специфічності.

Тривалість життя такої клітини 4-7 діб, після чого вона піддається апоптозу.

Антитіла, що утворюються при вірусних інфекціях, мають широкий спектр протівірусної активності. Насамперед, це протективна функція, пов'язана, в основному, з їхньою нейтралізуючою активністю щодо віріонів, що знаходяться позаклітинно. В одних випадках вірусної інфекції антитіла можуть нейтралізувати вірус після загибелі клітин-мішеней через цитопатогенні властивості цих вірусів. При цьому віруснейтралізуючі антитіла діють безпосередньо на вірус лише тоді, коли він, зруйнувавши одну клітину, поширюється на іншу. В інших випадках антитіла в основному є свідками імунної відповіді на вірус і не перешкоджають його тривалому персистуванню. Антитіла, аглютинуючи вірусні частинки, викликають конформаційні зміни поверхневих білків віріону, перешкоджають їх взаємодії з рецепторами клітин та блокують проникнення віріонів (депротеїнізацію, піноцитоз) у клітину. Опсонізація комплексу, що утворюється (вірусні

частки + антитіла) комплементом і антиідіотиповими антитілами, що з'являються на пізніших термінах інфекційного процесу і зв'язують імуноглобулінові епітопи комплексу, полегшує процес фагоцитозу з подальшим лізисом збудника.

Інша форма участі антитіл відбувається шляхом імунного лізису інфікованих вірусом клітин у вигляді комплемент залежної та комплемент незалежної цитотоксичності. Комплемент залежна цитотоксичність здійснюється за допомогою приєднання до комплексу антиген-антитіло на поверхні інфікованої клітини комплементу з подальшою його активацією, утворенням мембраноатакуючого комплексу, що призводить до загибелі клітини-мішені. Якщо дія антитіл виявляється недостатньою, то цитотоксичність потенціюється приєднанням до F-рецепторів клітини-мішені О-лімфоцитів, поліморфноядерних лейкоцитів, макрофагів. Антитіла мають протективний ефект і на внутрішньоклітинну фазу реплікації вірусів шляхом проникнення всередину клітин фрагментів антитіл, блокуючи важливі етапи реплікації вірусу та перешкоджаючи його збиранню та виходу з клітини. Негативна роль антитіл при вірусній інфекції обумовлена їх участю в імунозалежному пошкодженні клітин та тканин, утворенні імунних комплексів, надмірній активації системи комплементу, збереженні інфекційності опсонованих віріонів у фагоцитах, тривалим їх виживанням. Репродукція вірусу може посилюватися або за недостатньої концентрації антитіл, або коли останні можуть захищати вірус від дії протективних ферментів клітини, сприяючи збереженню життєздатності вірусу.

У випадку, коли віруси переходять з клітини в клітину цитоплазматичним місткам, не контактуючи з циркулюючими антитілами, то головну роль у формуванні імунітету відіграють клітинні механізми, пов'язані, перш за все, з дією специфічних цитолітичних Т-лімфоцитів, Т-супресорів та макрофагів. На першому етапі імунної відповіді антиген, захоплений антигенпрезентуючими клітинами, переробляється та в імуногенній формі виводиться на поверхню клітини. Наступний етап полягає у презентації комплексу антигену з молекулою головного комплексу гістосумісності Т-супресорам за участю молекули корецептора (CD8) для цитотоксичних лімфоцитів.

Додатковим сигналом активації Т-клітин служать цитокіни, що виділяються активованими антигенпрезентуючими клітинами - фактором некрозу пухлини. Ці цитокіни запалення мають великий спектр дії: сприяють проліферації та диференціювання Т- та В-лімфоцитів в основному, Т-хелперів, які стимулюють продукцію білків гострої фази запалення гепатоцитами; посилюють фагоцитоз; активують клітини ендотелію тощо. Активовані макрофагами Т-лімфоцити диференціюються Т-хелпери. Диференціювання Т-клітин саме в цьому напрямку визначається і інтерферонами, що продукуються НК-клітинами, активованими в ранню фазу відповіді внутрішньоклітинні збудники. Утворившийся клон специфічних Т-лімфоцитів, що утворюється, активує систему мононуклеарних фагоцитів за допомогою двох сигналів. Перший сигнал – IFN- γ , який секретується Т-лімфоцитами і діє через специфічний рецептор, а другий сигнал походить від мембранозв'язаної або цитокінів факторів некрозу пухлин.

Утворенню клону цитотоксичних лімфоцитів сприяє вироблення активованими Th1-клітинами цитокінів, що утворилися, за участю адгезійних молекул мембранними білками CD клітин тобто його ділянок зв'язування зі специфічним рецептором на мембрані зрілого лімфоциту, безпосередньо контактують з клітиною-мішенню і знищують її. По-перше, Т-кілери секретують білок перфорин, що ушкоджує мембрану клітини-мішені, у пори, що утворюють, проникає вода, сприяючи руйнуванню у вигляді осмотичного лізису.

Наступним механізмом летального удару є проникнення через утворений отвір у клітину мішень певної кількості гранзимів (серинових протеаз), що активують каскад внутрішньоклітинних протеаз (каспаз) та ендонуклеаз, ініціюючи апоптоз. Запуск апоптозу починається з активації рецепторів загибелі клітин CD95, клітина гине протягом 4-6 годин. Третій механізм опосередковується цитокінами (факторами некрозу клітин), що виробляється цитотоксичними лімфоцитами, він протікає повільніше і завершується протягом 18-24 годин. Нетривале перебування цитотоксичних лімфоцитів в органах при постійній циркуляції в крові та лімфі виправдовує їх своєчасну та ефективну участь в імунній відповіді при вторгненні чужорідних молекул і клітин.

Тривалість противірусного імунітету досить різна. Так, досить стійкий імунітет та рідкісні повторні захворювання характерні для таких інфекцій, як віспа та кір.

В окремих випадках віруси дещо видозмінюються та уникають нейтралізуючої дії антитіл та інших специфічних механізмів імунного захисту, результатом чого є розвиток менш стійкого імунітету. Наприклад, при грипі відбувається постійний дрейф поверхневих антигенних вірусних білків та зміна циркулюючих штамів. Віруси, використовуючи стратегію придушення молекул головного комплексу гістосумісності шляхом інтерференції з Т-клітинним розпізнаванням, призводять до розвитку вірусної персистенції. Якщо відбувається порушення функції імунної системи, вірус може вислизнути від дії імунних факторів. Віруси, інфікуючи безпосередньо клітини імунної системи, здатні репродукуватися у них, руйнувати імунокомпетентні клітини, викликати патогенетичний ефект як етровірус, що викликає СНІД, вражає як Т-хелпери і макрофаги, а й В-клітини, різко знижуючи, до повного колапса імунного захисту.

Вірус віспи та кліщового енцефаліту стимулюють систему Т-супресорів, а при герпетичній інфекції активність Т-лімфоцитів різко знижується. Зниження оптимальної кількості NK- та специфічних CD8+Т-клітин без рецепторів хемокинів, що беруть участь у регуляції синтезу, призводить до імуносупресії і може сприяти переходу гострої інфекції в хронічну форму. Так, ураження вірусами макрофагів викликає пригнічення їх антиген-презентуючої функції і зупиняє подальшу імунну відповідь; зараження В-лімфоцитів вірусами герпесу може викликати їхню поліклональну активацію та різке збільшення числа інфікованих клітин.

Більше того, віруси можуть пригнічувати утворення лімфокинів і цим порушувати нормальне функціонування імунної системи. Інтенсивний розпад власних інфікованих клітин під впливом імунних факторів, внаслідок чого починають експонуватися власні антигени, які не розпізнаються своєю імунною системою, може призвести до розвитку аутоімунних захворювань. Утворення імунних комплексів з вірусного матеріалу та антитіл та відкладення їх, найчастіше, на клітинній поверхні судин, сприяє виникненню імунокомплексної патології.

Імунна відповідь є специфічною, адже для кожного антигену притаманні певні антитіла. Основними клітинами адаптивного імунітету є Т і В лімфоцити. В- клітини формуються у червоному кістковому мозку. В- клітини переходять у плазматичні клітини, які в свою чергу диференціюються на 5 класів імуноглобулінів: А, D, E, M та G. (Рис. 6.1) Кожен з імуноглобулінів виконує певні функції і має свою будову та валентність. Валентність імуноглобуліна – це кількість його антиген зв'язуючих фрагментів.

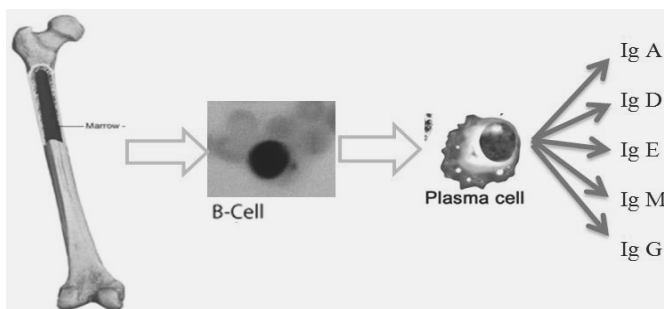


Рис.6.1. Імунопоез

Ig A – це імуноглобулін зовнішніх слизових оболонок тому і виконує бар’єрну функцію між макроорганізмом і оточуючими антигенами. У своїй більшості даний імуноглобулін виявляється у слині, слюзі і сім’яній рідині і має дві форми. Вміст Ig A в межах 20% і він не передається від матері до плода через плаценту.

Ig D – виявляється у сироватці крові у межах 1% і його основна роль це функціональне доповнення Ig M і виконання сигнальної активності до червоного кісткового мозку щодо активізації синтезу зрілих В лімфоцитів.

Ig E – це антитіла алергічного типу із проявом протипаразитарної активності, їх вміст у сироватці крові не значний в межах 0,004%. Дані імуноглобуліни зв’язуються з еозинофілами і базофілами. Потрібно враховувати алергічний тип даного імуноглобуліна і його активність на не патогенні агенти такі наприклад як пил, саме тому Ig E відіграє важливу роль при atopічному дерматиті та сезонних алергіях.

Ig M – антитіла які приймають участь у всіх імунних реакціях, їх вміст у сироватці крові в межах 4%. Перший тип антитіл який виробляється при первинному внутрішньому контакті з патогеном. Ig M активує систему комплемент і може вироблятися без участі Т клітин.

Ig G – є головною складовою гуморального імунітету, які складають ~ 75 % антитіл, що контролюють інфекцію будь якого генезу. Існує 4 класи даного імуноглобуліну. У більшості ссавців Ig G передається від матері до плода через плаценту в залежності від типу останньої.

Імуноглобуліни класів А, М та G можуть виконувати роль опсонинів, тобто з’єднуються з патогенною клітиною, а Т клітери і фагоцити в свою чергу їх ліквідують, що свідчить про роль «навідника» даних антитіл. Основна роль опсоніну це сприяння фагоцитозу і у парі з NK лімфоцитами приймає участь у руйнації інфікованих клітин.

Контрольні запитання

1. Які фактори обумовлюють патогенез вірусних інфекцій?
2. Якими трьома шляхами здійснюється міграція вірусів по організму?
3. Охарактеризуйте патогенез вірусних інфекцій на клітинному рівні ?
4. Що відбувається з імунною системою господаря під час первинної зустрічі з вірусом?

5. Які відомі клітинні компоненти імунної системи?
6. Як можна охарактеризувати основні субпопуляції лімфоцитів за CD-маркерами?
7. Вірусні інфекції на рівні організму?
8. Шляхи поширення вірусів у організмі ?
9. Механізм персистенції вірусів?
10. Що таке імунітет?
11. Що таке антиген?
- 12.Що таке імуноглобуліни, на які класи їх поділяють?
13. Як формується противірусний імунітету?

РОЗДІЛ 6

ВЗАЄМОДІЯ ВІРІОНІВ І КЛІТИН В ТКАНИНАХ ССАВЦІВ. ФАКТОРИ ВПЛИВУ НА ВІРУСИ

Віруси більш чутливі, ніж бактерії чи гриби до інактивації фізичними та хімічними агентами, але є важливі винятки. Знання специфічної вірусної чутливості до умов навколишнього середовища є важливим для забезпечення збереження інфекційності вірусів як еталонних реагентів та в клінічних зразках, зібраних для діагностики, а також для їх вимушеної інактивації для таких практичних цілей, як стерилізація, дезінфекція та виробництво інактивованих вакцин.

Активні збудники вірусних хвороб можуть заражати здорових тварин, персонал тваринницьких господарств, приватних власників тварин, співробітників клінік та лабораторій. Віріони знаходяться:

- в об'єктах навколишнього середовища (повітря, вода, ґрунт, корми, предмети догляду за тваринами, приміщення клініки, ферми тощо);
- в небезпечному біологічному матеріалі (кров, носові витоки, шматки органів, сеча, фекалії, трупи загинув тварин, залишки патологічного матеріалу, забруднений вірусами посуд, тверді та рідкі відходи різних типів).

Зараження тварин в господарстві може відбуватись контактним, аерогенним, аліментарним шляхами. Трансмівне зараження (завдяки укусам комах) можливе в разі не проведення дезінсекції.

При спорадичних інфекціях збудники найчастіше передаються через повітря та воду. Контактний і аліментарний шлях зараження реалізуються у випадках розміщення тварин по сусідству або в одному боксі. Помилки при дератизації дозволяють гризунам передавати збудника через корми та воду.

Зараження співробітників господарств та клінік відбувається контактним чи аерогенним шляхами. При роботі із збудниками інфекцій, в першу чергу, страждає людина, яка відбирає, доставляє заразний матеріал або проводить дослідження.

Ветеринара від контакту з вірусами захищає бар'єр, який інфекційні агенти подолати нездатні (рис.6.1):

- спецодяг, спецвзуття, окуляри та гумові рукавиці (перешкоджають контактному та трансмісивному шляхам). При роботі з потенційно небезпечними збудниками використовують 2 пари гумових рукавичок (верхню – герметизують) або рукавиці із захистом від проколів, розрізів та розривів;
- маски, респіратори, системи автономного постачання повітря (запобігають аерогенному зараженню).



а



б



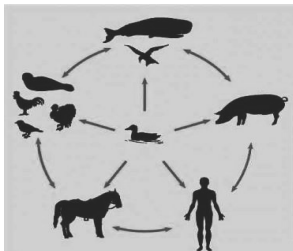
в

Рис.6.1. Спецодяг ветеринарного спеціаліста: а – лікар клініки та окремих відділів діагностичної лабораторії; б – ветлікар під час проведення розтину, відбору патологічного матеріалу, планової або вимушеної дезінфекції;

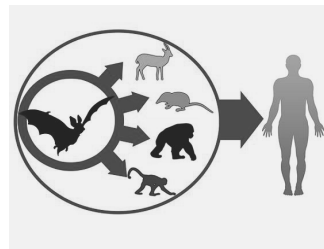
Навіть при максимальному рівні техніки безпеки (виробнича або діагностична лабораторія), згідно статистичних досліджень, випадки хвороби персоналу виникають за таких обставин:

- прокол спецодягу голкою ($\approx 22\%$);
- контакт з аерозольним чи розлитим матеріалом ($\approx 22\%$);
- пошкодження склом чи гострим предметом ($\approx 20\%$);
- неправильне користування піпетками ($\approx 18\%$);
- зараження через нестерильний скляний посуд ($\approx 2\%$);
- зараження від тварини під час розтину ($\approx 3\%$);
- укуси заражених лабораторних тварин ($\approx 1\%$).

Ліпідний склад суперкапсиду змінюється при переході від одного хазяїна до іншого та при міжвидовій циркуляції (рис. 6.2). Оскільки структура ліпідних мембран впливає на кут нахилу та конфігурацію активного центру білків пепломерів, що призводить до появи нових антигенних варіантів вірусу, для нейтралізації яких будуть потрібні нові варіанти вірусних вакцин.



а



б

Рис. 6.2. Циркуляція РНК-ових складних вірусів між представниками різних видів: а – грип; б – лихоманка Ебола

6.1. Вплив фізичних та хімічних факторів

Віруси можна знищити або дезактивувати за допомогою природних та штучних факторів:

Господарство. Соляне опромінення, підвищення температури під час протікання мікробіологічних процесів в гної, обробка вірусомісних матеріалів хімічними речовинами (дезінфекція впродовж 0,5 – 3 годин).

Лабораторія. Багаточасова дезінфекція (10-12 годин), багатостадійні обробки інфікованих матеріалів, ультрафіолетове опромінення, дія високих температур. В залежності від виду та інтенсивності дії фактору вірусні частинки або руйнуються, або у них знищуються прикріплювальні білки капсомерів та пепломерів. Це дозволяє захистити тварин, їх господарів, лікарів, персонал господарств (неможливо проникнути в тропну клітину, розмножитись в ній, розповсюдитись в тканині).

На методику підготовки та проведення дезінфекції суттєво впливають чому розміри вірусів. Чим менше розмір вірусної частинки, тим вища імовірність того, що речовини робочого розчину дезінфектанту не зможуть досягти поверхні віріону. Саме тому під час впливу на збудників хвороб із малими розмірами частинок важливим є:

1. рівномірне нанесення найдрібніших крапель розчину на поверхні та об'єкти (аерозоль, туман);
2. дотримання рекомендації щодо часу експозиції розчину;
3. використання гарячих розчинів (50-70°C), під час дії яких речовини вірусу зазнають не лише хімічної, але й термічної денатурації.

Температура. Основний стан навколишнього середовища, який може негативно вплинути на зараженість вірусами – це температура. Поверхневі білки денатуються протягом декількох хвилин при температурі 55-60 ° C, внаслідок чого віріон більше не здатний до нормального клітинного проникнення. При температурі навколишнього середовища швидкість занепаду інфекційності повільніша, але значна, особливо влітку або в тропіках. Для збереження патогенності вірусні препарати (вакцини) повинні зберігатися при низькій температурі, від 4 °C не більше 70-ти годин, а для тривалого зберігання потрібні значно нижчі температури (-10 – -20 °C).

Іонне середовище та рН. В цілому віруси найкраще зберігаються в ізотонічному середовищі при фізіологічному рН, проте деякі переносять широкий іонний та рН-діапазон. Наприклад, тоді як більшість вірусів, інактивуються при рН 5-6, ротавіруси та багато пікорнавірусів переживають кислий рН шлунка.

Ліпідні розчинники та миючі засоби. Оскільки більшість патогенних для людини і тварин вірусів є складними (оболонковими), тобто мають ліпопротеїнову оболонку (суперкапсид), яка містить ліпіди, пронизана вірус специфічними білками, їх легко знищити ліпідними розчинниками, такими як ефір, хлороформ, або миючими засобами, такими як дезоксихолат натрію. Таких хімічних речовин слід уникати в лабораторних маніпуляціях, пов'язаних із підтримкою життєздатності вірусів. Однак миючі засоби зазвичай використовують вірусологи для солюбілізації вірусних оболонок і для вивільнення білків з метою використання останніх, виготовленні вакцини або для хімічного аналізу.

Дезінфекція в господарстві

Дезінфекція (від франц. *des* – «знищення» і лат. *infectio* – «інфекція») – комплекс заходів, які використовуються для знезараження різних об'єктів. Існує окремий розділ

біології – дезінфектологія (вивчає механізми дії дезінфікуючих засобів на клітинні та неклітинні мікроби, на організм людей і тварин, розробляє засоби і способи знезараження).

Одним з найпоширеніших методів дезінфекції є хімічний, при якому використовують речовини-дезінфектанти, здатні знищувати різні форми та види мікроорганізмів. Такі дезінфікуючі засоби володіють герміцидною (антимікробною або мікробоцидною) здатністю.

Засобами дезінфекції можуть бути речовини різних типів:

Неорганічні. Хлорне вапно, його розчини та інші речовини з активним хлором, розчини кальцинованої соди та гідроксиду натрію, перексид водню;

Органічні. Етиловий, пропіловий та ізопропиловий спирти, розчини хлораміну та хлоргексидину біглоконату, четвертинні амонієві сполуки, розчини молочної та лимонної кислот, йодоформ, лізол тощо.

Вибір дезінфектантів залежить від біологічних властивостей вірусу, епізоотичної ситуації в господарстві, типу предметів та обладнання для обробки.

Кожен дезінфектант або їх суміш:

1. має певний спектр антимікробної дії. Швидко і згубно впливає на певні структури патогенних мікроорганізмів, що запобігає утворенню у них резистентних штамів (рис.6.1). Проникна активність дезінфектанту дозволяє знезаражувати поверхні під шаром крові, слизу та ін. органічних речовин. Саме тому до багатьох сумішей вводять речовину-детергент (*англ. очищувач*) з поверхнево-активними властивостями. Детергенти або поверхнево-активні речовини (ПАР) знижують поверхневий натяг, забезпечують проникнення основних речовин до об'єкту дезінфекції;

Сучасні деззасоби – це комплексні системи, речовини яких ефективно впливають як на білки капсидів простих віріонів, так і на ліпідно-білкові структури суперкапсидів з нуклеокапсидом у складних вірусів (табл. 6.1).

Таблиця 6.1

Основні групи сучасних дезінфектантів

Група засобів	Назва дезінфектанту	Варіант знезараження
Полімерні похідні гуанідинів	«Епідез», «Славін», «Полідез», «Кристал 1000», «Гембар»	Поверхні у приміщеннях (стіна, підлога) та заключна дезінфекція
Четвертинні амонійні сполуки	«Віроцид», «Дезефект», «Гексакварт С», «Септабік», «Сокрена», «Септодор», «Саніфект-128», «Декопекс 54 ДР»	Поверхня стін, підлоги, меблі тощо

Сполуки, що містять галогени (хлор, йод, бром)	Сульфохлорантин, гіпохлорити, хлорантоїн, «Комет», «Доместос», хлоргексидин, дезактин, хлорамін Б, неохлаор та йодинол, йодонат, бетадин дибромантин, екватор	Дезинфекція води, виділень та посуду від них, органічних субстратів і рідин, санітарно-технічного обладнання, відходів
Аміни	«Екобріз концентрат», «Бланідас актив»	Поточна та заключна дезинфекція поверхонь
Кисневмісні засоби	«Грилен», «Пемос-1» «Перамін», (комбінують з миючими добавками)	
Аніонні та неіоногенні ПАВ	Деконекс», «Корзолекс АФ», «Лізоформін».	

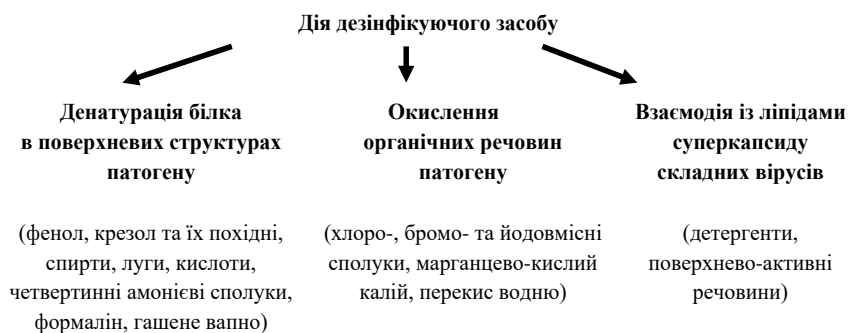


Рис. 6.1. Механізм дії монодезінфектантів або їх сумішей.

2. не повинен бути мутагеном або токсикантом для людей і тварин, не нагромаджується в організмі або продуктах. Тому деззасоби ретельно перевіряють на → канцерогенність → тератогенність (виродливість) → ембріотоксичність → алергенні та кумулятивні властивості → шкірнорезорбтивну здатність.

3. має мінімальний показник корозійної активності (метали) чи агресивності до інших матеріалів (гума, пластик, фарбовані поверхні);

4. є стійким при зберіганні та транспортуванні, при розчиненні у воді легко утворює розчини або стійкі емульсії (використання хлорного вапна, хлорізоціанурових кислот, параформу утруднено через їх слабку розчинність).

5. швидко розпадається при попаданні у навколишнє середовище (безпечний для ґрунтів, рослин, корисних комах, тварин і людини);

6. є відносно дешевим і виробляється з місцевої сировини (ціна і доступність).

Масове знищення вірусів (рис.6.2) відбувається при профілактичній (декілька разів на рік) або вимушеній дезінфекції (за потреби).

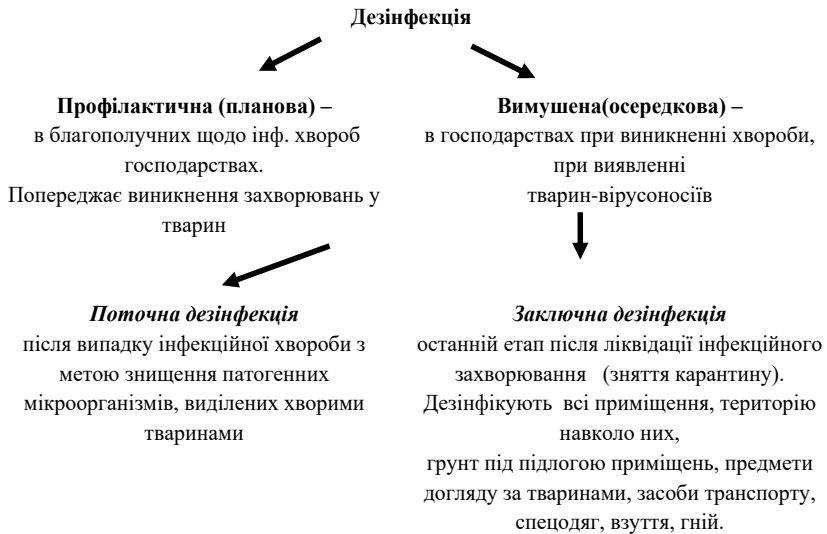


Рис. 6.2. Варіанти дезінфекції в господарствах різного підпорядкування та типу власності

Профілактична дезінфекція. 1-2% розчин дезінфектанту або дезінфектантів, температура 20-25° С. Для одноразового зрошення – 1 л/ м² в типових приміщеннях і 2 л/м² – в пристосованих.

Вимушена дезінфекція. Концентрацію діючої речовини підвищують до 2-5%. Для збільшення впливу на віруси розчин нагрівають (70-80° С). Після нанесення дезінфікуючих розчинів приміщення закривають на 3 год. Якщо є можливість, то експозицію збільшують до 6-12 год. При виборі експозиції необхідно враховувати також стійкість обладнання тваринницьких приміщень до дії використаного дезінфікуючого засобу.

По закінченню дезінфекції будь-якого типу: провітрювання, промивання водою поверхонь та обладнання та провітрювання будівлі до повного зникнення запаху препарату.

Для санації зовнішнього середовища і об'єктів тваринництва від вірусів використовують не лише хімічні, але й фізичні фактори:

1. перед застосуванням хімічних речовин необхідно провести ретельне механічне очищення об'єкту, яке дозволяє видалити збудника інфекційних хвороб з гноєм, пилом, залишками корму, підстилкою. Проводиться без попереднього зволоження (суха очистка малозабруднених поверхонь, електроустановок, освітлювальних приладів тощо) або з попереднім зволоженням (вологе очищення сильно забруднених поверхонь або проведене у випадку вимушеної дезінфекції).

2. за ясної погоди та температури 25-40 ° основним фактором, який діє на віруси в умовах господарства є сонячне опромінення (ультрафіолет + рентгенівське). Для дезінфекції

приміщень широко використовуються штучні джерела ультрафіолетового випромінювання (бактерицидні лампи, які генерують промені з довжиною хвилі 254-257 нм). УФ-хвилі з такою довжиною «зшивають» сусідні тимінові основи в ДНК або урацилові в РНК вірусу. Виникнення фотодимерів робить нормальну репродукцію вірусу неможливою.

3. За допомогою відкритого вогню спалюють підстилки, гній, залишки кормів та труп тварин. Використовують паяльну лампу (довге, до 30 см, полум'я з температурою 400-600° C) або газові пальники.

У вірусологічній практиці найчастіше використовують лужні дезрозчини (рН = 9-10), кислоти (рН=2-3) та нейтральні – під час дезінфекції в присутності тварин.

Робочі розчини дезінфектантів готують на водній основі, тому їх застосування за "мінусових" температур є досить обмеженим. В холодний період року відбувається кристалізація розчинника (води) і використання препарату стає неможливим. Ці обставини змушують додавати до розчинів антифриз, що суттєво підвищує вартість обробки.


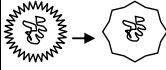

Сила дії дезінфектанту залежить від:

- ступеня стійкості мікроорганізмів;
- специфічності та концентрації деззасобу;
- температури розчину й поверхні об'єкта;
- часу дії дезрозчину (експозиції);
- від структури (щільна, пориста), поверхні (гладенька, шорстка) та матеріалу (пластик, дерево, бетон) об'єкту дезінфекції

В залежності від складу дезрозчину, часу експозиції та способу нанесення спостерігається: руйнація прикріплювальних білків (ПБ) і як наслідок руйнація віріонів.

Таблиця 6.2

Варіанти впливу дезрозчину на віріони

Місце проведення дезінфекції	Вплив на віруси			
	повна руйнація ПБ	часткова руйнація ПБ	руйнація віріону	тимчасова зміна структури ПБ з поновленням активності
Вигляд збудника				
ферма	++	+++	±	невідповідна концентрація, склад або температура розчину
клініка	++	+++	±	
лабораторія	+++	±	++	

За наявності тварин в місцях утримання де є хворі або загині тварини при локальній дезінфекції гідроочищення не проводять задля уникнення розсіювання збудника серед тварин. В звільнених від тварин приміщеннях вологе очищення запобігає розсіюванню вірусів з пилом, знижує небезпеку зараження персоналу.

Процес знешкодження вірусів на фермах і клініках полягає у виконанні наступних етапів:

1. Очищення приміщення від гною, кормів, сміття, верхнього шару ґрунту, збираючи у водонепроникні контейнери, які відправляють на знезараження, або утилізацію;
2. Зволоження дезінфектантом;
3. Основна дезінфекція очищених приміщень за допомогою моно розчинів або багатокомпонентних розчинів з відповідною температурою та рН (час експозиції за інструкцією);
4. Змивання залишків розчину та вентиляція приміщення (за потреби – фільтрація повітря і води).

Дезінфекція приміщень за наявності тварин

На фермах та клініках необхідна постійна санація середовища і обладнання. Але безперервна дезінфекція небезпечна для обслуговуючого персоналу і для тварин. Тому при підборі дезінфекційного засобу необхідно враховувати наступне:

1. його дія має бути максимально наближена до природних механізмів захисту організму тварин у процесі їх росту і розвитку;
2. препарат має гальмувати репродукцію патогенів, повинен мати пролонгований ефект дії, може посилювати існуючі природні механізми захисту;
3. бажано, щоб компоненти препарату не створювали дискомфорту в роботі персоналу, не викликали професійних захворювань, не чинили шкідливу дію на навколишнє середовище та устаткування.

У цивілізованих державах з розвинутим тваринництвом для дезінфекції давно не використовують формальдегід через його підвищену канцерогенність (злоякісні пухлини у обслуговуючого персоналу) і негативну дію на організм тварин.

Перелік препаратів придатних для використання в тваринницьких приміщеннях.

Алкамон – препарат з групи катіоноактивні ПАР, володіє широким спектром дії, не викликає корозію металів. Препарат застосовують в 3%-й концентрації, з розрахунку 100-200 мл на 1 м³.

Виркон С – препарат застосовують в 0,5-1%-ої концентрації з розрахунку 1 л розчину на 100 м³ приміщення.

Перекис водню 3%-вий – готують з 30%-го пергідролу. Для стабілізації в нього додають молочну або оцтову кислоту з розрахунку 0,5% кислоти до загального обсягу розчину перекису водню. Застосовують для дезінфекції тваринницьких приміщень та пташників. Витрата розчину 100-200 мл/м². Для аерозольної дезінфекції приміщень – 3-4 мл/м³.

Гіпохлорит натрію готують з кальцинованої соди і хлорного вапна (з вмістом не менше 25% активного хлору) з розрахунку по 200 г обох препаратів на 1 л води. Готовий розчин витримують 24 години. Відстоюваний розчин гіпохлориту натрію містить 5-6%

активного хлору. З цього розчину готують робочий розчин, який повинен містити 1,5-2% активного хлору. Застосовують при обробці тваринницьких приміщень.

Глутаровий альдегід застосовується у вологому, аерозольному і пінній формах. Водні розчини використовують в 0,3-0,4%-ній концентрації.

Сполуки йоду та алюмінію. Для приготування препарату беруть подрібнений очищений кристалічний йод, який з'єднують з алюмінієм під дією кислоти (сульфатної). Дезинфікує повітря і одночасно санує дихальні шляхи

Йодіноколь. Препарат випускається у двох видах: марка «К» як розчинник містить водний розчин молочної кислоти, марка «В» – воду.

Йодез. Високоєфективний препарат, використовують в 4,5%-ої концентрації при нормі витрати 6 мл/м³ для аерозольної обробки.

Екоцид С. Водорозчинний порошок на основі перексимоносльфату, ПАР, яблучної та сульфамінової кислот та ін.. компонентів. В тваринницьких приміщеннях і пташниках використовують 0,5 % розчин у дозі 1 л/100 м³. Ефективно і безпечно, впродовж 30-60 хвилин, знезаражує поверхні від 18 родин патогенних мікроорганізмів.

Аерозолі хлор-скипидару. Для дезінфекції повітря змішують хлорне вапно і скипидар в співвідношенні 4:1, з розрахунку 2 г хлорного вапна і 0,5 мл скипидару на 1 м³ приміщення. Дозу препарату, розраховану на дане приміщення, розливають в 5 – 6 ємностей і рівномірно розставляють уздовж середнього проходу ферми.

Молочна кислота. Рекомендується для аерозольної дезінфекції повітря в тваринницьких приміщеннях і пташниках, з розрахунку 25 мл препарату на 1 м³ приміщення.

Резорцин. Застосовують для аерозольної дезінфекції повітря в пташниках, з розрахунку 25 мл препарату на 1 м³ приміщення.

Бальзам – ЕКБ. Отримують з природної рослинної сировини. Має лікувальні (при респіраторних хворобах), дезінфікуючі і дезодоруючі властивості, нетоксичний, не викликає алергії. Його застосовують аерозольно для санації приміщень з розрахунку 0,3 мл/м³.

Знищення трупів тварин

Трупи тварин перевозять на спеціально обладнаному транспорті (непроникне для рідини дно, а борти обшиті залізом). Місце, де лежав труп, інвентар і транспортні засоби, підлягають обов'язковій дезінфекції. Знищення трупів можна проводити 3-ма способами:

1. переробкою на заводах з виробництва м'ясо-кісткового борошна;
2. спалюванням у спеціальних печах (у випадку особливо небезпечних інфекцій). За відсутності спеціального обладнання трупи спалюють в попередньо викопаній ямі, яку надалі закопують;
3. біотермічним знезараженням в спеціальних ямах (ями Беккари), які мають глибину не менше 10 м, ширину 3 м, укріплені стінки та подвійну кришку. Над ямою влаштовують навіс 5 х 6 м. При розкладанні трупів температура гниючої масі досягає 65-70° С, що забезпечує загибель певних груп і видів патогенних мікробів.

Знезараження гною

Залежно від технології утримання тварин одержують гній підстилковий (вологість 68-85%), напіврідкий (вологість 86-92%), рідкий (вологість до 97%) і гнойові стоки (вологість понад 97%).

При виникненні інфекційних хвороб гній знезаражують таким чином:

□ біологічний спосіб. Заповнені інфікованим гноєм секції гноєсховища вкривають ґрунтом, торфом або незараженим гноєм шаром не менше 10 см і витримують 12 міс.

□ хімічний спосіб.. Рідкий (до поділу на фракції), напіврідкий гній та гнойові стоки дезінфікують рідким аміаком під поліетиленовою плівкою або 1-2 мм масляною альдегідом (30 кг/м³ гною впродовж 5-ти діб) або формальдегідом (7,5 л формаліну з вмістом 37% формальдегіду/м³ гною, експозиція 72 год.);

□ фізичний спосіб (термічна обробка чи спалювання). Рідкий гній, гнойові стоки, рідку фракцію і осад з відстійників нагрівають впродовж 10 хв. в мобільних установках при температурі 130° С і тиску 0,2 МПа.

Послід сушать в установках барабанного типу впродовж 45-60 хв. (температура 100-140° С).

Підстилку, виділення і гній від тварин, хворих і підозрілих щодо інфекційної анемії, сказу, чуми великої рогатої худоби, африканської чуми коней, СПАЛЮЮТЬ.

Дезінфекція у вірусологічній лабораторії

Перед початком роботи слід включити в шафі-ламініарі ультрафіолетове випромінювання (15-20 хвилин), потім ламинарний потік повітря.

Перед роботою в ламініарі необхідно обробити руки ватою, змоченою в спирті. Після цієї процедури уже не слід виносити руки за ламинар. Якщо це сталось, то процедуру слід повторити. Використання стерильних рукавичок не завжди є безпечним, оскільки використання етанолу та пальника в ламініарі може призводити до виникнення пожежі.

Приміщення, в якому проводиться стерильна робота з клітинами не відвідують сторонні люди, воно не провітрюється, а обладнано кондиціонером. Стінки та поли повинні бути покриті матеріалом, який добре промивається дезінфікуючими розчинами. В приміщення з ламинаром слід входити в змінному спецодязі та взутті. Для допуску спеціаліста до роботи слід провести з ним інструктаж, а також пройти всі етапи підготовчих робіт, і в особливості, робота з газовими пальниками в шафі-ламініарі.

Організують роботу так, щоб «чисті» і «брудні» розчини та інструменти знаходились якнайдалі одне від одного в часі та просторі.

Таблиця 6.3

Методи знищення збудників хвороб

№ з/п	Назва і призначення методу	Віруси	Клітинні мікроби
1	Ультрафіолетове опромінення Зшивка сусідніх азотистих основ в ланцюгах ДНК. Неможливість реплікації генетичного матеріалу, припинення розмноження збудника	знищення мікробів в повітрі, стінах боксу та на робочому місці <u>до роботи</u> дезінфекція приміщення + 20 – 30 хв. УФ (знищення клітинних м/о) <u>після роботи</u> 1– 2 год. УФ (знищення віріонів) + дезінфекція	<u>до роботи</u> дезінфекція приміщення + 20 – 30 хв. УФ <u>після роботи</u> 30 – 60 год. УФ + дезінфекція

2	Термічна стерилізація Незворотня теплова денатурація білків, РНК та ДНК збудників	<u>Сухий жар (посуд)</u> Обгортка – папір (165° С 90 хв); фольга (180° С 30 хв) <u>Автоклавування розчинів, середовищ для м/б контролю та культур клітин</u> 110-130 ° С 30-40 хв <u>Фламбування отворів скляних флаконів, металевих предметів</u>	<u>Сухий жар (посуд)</u> Обгортка – папір (165° С 90 хв) <u>Автоклавування розчинів, середовищ для росту м/о</u> 120-145 ° С 15-80 хв <u>Фламбування металевих мікробіологічних голок та петель</u> <u>Тиндалізація середовищ</u>
3	Дезінфекція Вплив органічних розчинників та речовин з кислим або лужним рН на речовини оболонки збудників. Незворотня денатурація поверхневих антигенів	Етиловий, ізопропіловий спирти, хлорне вапно, хлорексидін хлорамін, четвертинні амонієві сполуки, йодоформ, пероксид водню, луги, лізол Діють на прикріплювальні білки капсули та суперкапсиду, ліпіди суперкапсиду карболова кислота, розчини соди, йоду, формалін, пероксид водню, лікарські барвники Дія залежить від морфологічних особливостей мікроба (поліцукри капсул бактерій; ліпіди і білки мембрани мікоплазм; речовини клітинної стінки бактерій, грибів; актиноміцетів)	

НЕДОПУСТИМО, щоб в одному ламінарі проводились роботи з бактеріями, грибами, дріжджами тощо, для цього використовують окремі приміщення. Стаціонарно в ламінарі можуть знаходитись, пенали зі стерильними піпетками, коробки із автоклавованими пластиковими наконечниками, необхідна кількість пластикового посуду, стерильна вода, фізіологічний розчин, фосфатно-сольовий буфер.

В лабораторії часто потрібно зберігати запаси вірусів роками. Це досягається одним із двох способів:

- швидке заморожування невеликих доз вірусу, суспензованого в середовищі, що містить захисний білок та/або диметилсульфоксид, з подальшим зберіганням при -70° або -196 °С;

- ліофілізацією, тобто зневодненням замороженого вірусу суспензію у вакуумі з подальшим зберіганням отриманого порошку при 4 °С або 20 °С. Заморожувальна сушка

(ліофілізацією), значно збільшує життєздатність навіть при температурі навколишнього середовища і використовується при виробництві ослаблених вірусних вакцин. Винятком з цього є пріони, які стабільні практично за будь-яких умов навколишнього середовища, витримуючи кип'ятіння, заморожування, багато фізичних та хімічних образ і навіть великі дози опромінення.

Для знищення вірусів в умовах лабораторії застосовують таку схеми:

1. Ультрафіолетове опромінення боксу впродовж 1 – 2 годин;
2. Дезінфекція інфікованих об'єктів впродовж 10 – 12 годин;
3. Кип'ятіння використаного обладнання в розчинах дезінфектантів з додаванням синтетичних миючих засобів;
4. Використання концентрованих розчинів (5-10% хлорамін, 2% розчини лугів чи лізолу, 20% сірчана кислота).

Знезараженню підлягають всі види скляного та пластикового посуду, обладнання лабораторії, групи лабораторних тварин тощо, за допомогою миючих та дезінфікуючих розчинів.

Перед проведенням досліджень нового посуду та обладнання необхідно тільки промити. Для використаного (забрудненого вірусами) обладнання, приміщень боксів та віварію першим і обов'язковим етапом обробки є проведення дезінфекції.

Дезінфекція в лабораторії допомагає:

- знищити вегетативні форми мікроорганізмів (бактерій, грибів) в повітрі, стінах, підлозі боксу, на лабораторних столах
- запобігає рознесенню вірусної інфекції за межі лабораторії після закінчення дослідів;
- запобігає вторинному інфікуванню систем клітин, в яких вирощують віруси (курачі ембріони, культури клітин).

Найуживанішими дезінфектантами у вірусологічній лабораторії є хлорамін, лізол, формальдегід, три етиленгліколь, йодоформ, етиловий, пропіловий, ізопропіловий спирти, четвертинні аміни (табл. 6.3). Термін дії дезінфектанту залежить від хімічного складу даного вірусу, механізму дії дезінфектанту та інших факторів. 5% хлорамін можна вживати у вірусологічних лабораторіях для дезінфекції всіх видів обладнання:

1. *До проведення дослідів* (марля, якою накривають робочий стіл, металеві інструменти для розтину тварин, прибирання віварію, боксу та ін приміщень);
2. *Після дослідів* (робочий стіл, гумові рукавички, інфіковані курачі ембріони (10% розчин), взуття на дезінфекційному килимку, металеві інструменти для розтину лабораторних тварин, групи лабораторних тварин перед автоклавуванням, клітки та банки, в яких знаходились заражені тварини).

Перелік дезінфектантів для використання в лабораторії

Група дезінфектантів	Використання
Спирти та дезінфікуючі засоби на їх основі	Дезінфекція шкіри, невеликих площ, важкодоступних поверхонь, окремих видів обладнання (термометри, окуляри)
Альдегіди та засоби на їх основі	Дезінфекція виробів медичного призначення, інструментарію, дихальної апаратури, обладнання для наркозу
Засоби на основі надкислот	Дезінфекція медичних виробів високого рівня, можлива стерилізація інструментів
Хлорактивні сполуки	Дезінфекція виділень, органічних субстратів і рідин, посуду від виділень, відходів, залишків патматеріалу, дезінфекція при особливо небезпечних інфекціях

Після проведення дезінфекції в боксі (10-12 годин) посуд та обладнання обробляються за відповідними схемами.

Методи обробки посуду для вірусологічних досліджень

Лабораторний посуд після вірусологічних досліджень передбачає кип'ятіння в лужних розчинах, обробку кислотами і остаточну стерилізацію, яка включає автоклавування або стерилізацію сухим жаром. Зміна схем обробки може бути пов'язана з матеріалом, з якого виготовлене відповідне обладнання (термостійкі або нетермостійкі пластик та гума).

Лабораторний посуд поділяється на скляний та пластиковий: планшети, чашки Петрі (скляні та пластикові), скляний посуд для середовищ, флакони; піпетки.

Пластиковий посуд – одноразовий і, тому стерилізації не підлягає. В залежності від завдань та основних цілей наукового, або виробничого процесу використовують посуд різного гатунку. Найбільшою популярністю користуються флакони з різною робочою поверхнею (від 25 см² до 500 см²) та чашки Петрі з різним діаметром. В залежності, від умов експерименту та типу культивованих клітин (суспензійні та адгезивні) відбирають флакони, або чашки з низько- та високо-адгезивними властивостями.

Планшети, які частіше всього використовують – це 6-ти, 24-х, 36-ти, 96-ти лункові, останні бувають трьох видів (плоскодонні, V-подібні, та круглдонні).

Серед іншого пластикового посуду слід відмітити – пробірки для кріоконсервації клітин, центрифужні пробірки на різний об'єм, одноразові піпетки і т.д. Особливо, необхідними є насадки для багаторазового фільтрування розчинів із змінними фільтрами (нітроцелюлозні з діаметром пор 0,22 мкм) та одноразові фільтри, так звані шприцеві, які розраховані на фільтрування невеликої кількості розчинів та буферів. Найбільш відомі

фірми, які є постачальниками пластикового посуду є *Nunc, Gibco, Falcon, Sarstadt, TPP, Cellstar*.

Скляний посуд – основна частина якого відноситься до допоміжного посуду. Це посуд різної ємності, основне призначення якого приготування розчинів для культивування клітин. Цей посуд проходить спеціальну підготовку. Миття посуду обов'язково включає процедуру замочування в спеціальних детергентах, або в розчині біхромату калію “хромовка” (93 г біхромату калію в гумових рукавичках та в респіраторі, або ватно-марлевій пов'язці добре розтирають в порошкоподібну масу в ступці, додають мінімально необхідний об'єм води та порційно добавлять 1 л сірчаної кислоти). Посуд помитий чисто в певному детергенті, бажано такому, що не містить біодобавок, сполоснути в потоковій воді проводиться через розчин “хромовки”, після чого добре вимивається в потоковій воді, потім виполіскується у двух-трьох порціях дистильованої та бідистильованої води.

Стерилізація посуду проводиться декількома способами:

1. Стерилізація гарячим паром з використанням автоклавування. Для цього скляний посуд закривається двома-трьома шарами фольги, акуратно замотується в папір для автоклавування. Зверху слід на одній із бутилок, або чашок Петрі прилаштувати спеціальну смужку, яка б засвідчила стерильність посуду. Якщо режим в автоклаві додержано (40 хв, 1,5 атмосфери), то на даній смужці проявляються чорні поперекові смужки, а це свідчить за стерильність посуду. Також автоклавуванню підлягають:

- спецодяг (до і після дослідів),
- сміття із кліток лабораторних тварин, трупи тварин (в баках, залитих лужним розчином),

- всі живильні середовища та сольові розчини,
- всі миючі розчини (содові, мильні та ін.), в яких після обробки рук, інструментів, посуду та ін. лабораторного обладнання може знаходитись вірус

- порожній скляний посуд перед початком роботи;
- шприци,
- предмети з термостійкої гуми або пластмаси.

Обробка насиченою водяною парою в автоклаві здійснюється при різних температурних режимах. Якість автоклавування (температуру) також можна перевірити за допомогою спеціальних паперових папірців. Значення температури визначається додатковим тиском, який встановлюють в автоклаві:

- ✓ 111-116 ° C + додатковий тиск 0,5 – 0,75 атм (40 – 60 хв.). Знищуються віруси та вегетативні форми клітинних мікробів, спори бацил залишаються неушкодженими.
- ✓ 121-126 ° C + додатковий тиск 1 – 1,5 атм (30 – 45 хв.). Знищуються і всі віруси, і всі форми клітинних мікроорганізмів
- ✓ 134-138 ° C + додатковий тиск 2 – 2,5 атм (10 – 15 хв.). Знищуються і всі віруси, і всі форми клітинних мікроорганізмів.

При неможливості проведення автоклавування, використовують такий метод знищення вірусів, як кип'ятіння. Справа в тому, що віріони руйнуються, починаючи з температури 80 °С. Тому посуд, металеві інструменти після попередньої дезінфекції, до початку роботи можна обробляти при 105 °С 15 – 20 хвилин.

2. Стерилізація сухим повітрям з використанням спеціальних “сухожарових” шаф. Режим роботи приладу – температура 165°C – 1,5 години або 180°C – 30 хв. Перед стерилізацією отвори скляного посуду закриваються фольгою.

Скляні піпетки різного об'єму ретельно миють в детергентах з наступним ретельним ополіскуванням, багаторазово змінюючи проточну та дистильовану воду. Перед стерилізацією тупі кінці піпеток закривають ватними тампонами, поміщають в спеціальні пенали, або замотують кожен піпетку окремо в папір, який витримує стерилізацію при 180 °С.

Від ступеню абсолютної стерильності посуду залежить якість роботи.

6.2 Вплив противірусних біопрепаратів

6.2.1. Профілактичні біопрепарати

Вакцини – це засоби активної імунпрофілактики заразних хвороб, основу яких складають проєктивні антигени живого чи вбитого збудника або окремі антигенні субстанції. Основними показниками якості профілактичних препаратів є – стерильність і чистота, нешкідливість, допустимий ступінь реактогенності, антигенна активність і імуногенність, епізоотична ефективність.

На сучасному етапі вакцини розподіляють на чотири покоління:

перше покоління – *корпускулярні вакцини*;

друге покоління – *хімічні вакцини*;

третє покоління – *рекомбінантні вакцини*

четверте покоління – *синтетичні пептидні вакцини (ДНК-вакцини)*.

1. Корпускулярні вакцини. До першого покоління вакцин належать живі атенуйовані та інактивовані вбиті вакцини. В залежності від кількості антигенів збудників чи серотипів збудника розрізняють моно- та полівалентні вакцини наприклад Мультикан-8 полівалентна вакцина в якій зібрані антигени збудників чуми м'ясоїдних, інфекційного гепатиту, парво-, та корона вірусного ентериту, сказу. Хоча можлива полівалентна вакцина проти одного захворювання, але різних серологічних типів збудника. Полівалентними вакцинами є біопрепарати Вангард, Дурамун, Дефенсор, Мультифел, Полівак, Хіпрабовіс, Еурікан, Гаксадог, в основному закордонного виробництва.

Живі атенуйовані вакцини. Вони виготовляються із слабвірулентних штамів бактерій, які не здатні викликати захворювання у тварин, але вони розмножуючись в організмі тварин спричинюють доброякісний перебіг інфекційного процесу і викликає розвиток гуморального та клітинного імунітету.

Атенуації штамів можна досягти відбором спонтанних природних мутантів, впливом фізичних (різні температури, ультрафіолет, радіація) та хімічних факторів (жовчні кислоти). Можна отримати атенуйовані штами шляхом багаторазових пасажів через організм тварин, які не чутливі до даного збудника наприклад вірус класичної чуми свиней через організм кролика. Тому вакцини інколи отримують спеціальну назву наприклад, жива лапінізована вірус вакцина проти КЧС із штаму К в даному випадку слово лапінізована означає, що вакцинний штам було ослаблено багаторазовими пасажами через організм кроликів. Бувають вакцини капрінзовані – через організм кіз, авінізовані – через організм птахів. Деякі вакцинні штами характеризуються зворотністю атенуації і можливістю відновлювати вірулентність наприклад вакцинні штами вірусу ящуру і тому використання таких біопрепаратів може становити загрозу спалаху інфекційного захворювання і від таких вакцинацій у сучасній епізоотології відмовилися. У більшості випадків живі вакцини є ліофілізованими. Ліофілізація – це висушування в умовах глибокого вакууму з попереднім заморожуванням препарату. Ліофілізація збільшує термін придатності біопрепарату та

підвищує концентрацію активної речовини. Температурним оптимумом зберігання живих вакцин є $+2 \dots +8^{\circ}\text{C}$. Живі вакцини більш імуногенніші ніж вбиті, але мають ряд недоліків: можливе захворювання після щеплення, тиждень після використання не можна застосовувати антибіотики. До атенуйованих вакцин належать наприклад: вакцина проти міксоматозу кролів із штаму В-82, вірус-вакцина ВДНКІ проти хвороби Ауескі, вакцина проти КЧС із штаму «К» та «АВС».

Інактивовані вбиті вакцини. Ці біологічні препарати готують із цілих вірулентних мікроорганізмів, що вбиті фізичним чи хімічним методами. Інактивовані вакцини виготовляють із вірусної чи бактеріальної біомаси, яка вирощена на поживних середовищах, культурах клітин чи курячих ембріонах та інактивована гамма опроміненням, ультрафіолетом, формальдегідом, глутаровим альдегідом, бета-пропіонлактоном, кристал-віолетом, азиридином, хлороформом чи дією інших хімічних та фізичних факторів. Контролюють інактивовані вакцини на стерильність, нешкідливість, повноту інактивації, імуногенність. Субодичні або спліт-вакцини (від. англ. *split*- розщеплення) – це препарати, які виготовлені із розщеплених детергентами (поверхнево активними речовинами) живих збудників інфекційних хвороб.

Інактивовані вакцини відносно нешкідливі для тварин, але їх імуногенність у порівнянні з живими вакцинами значно нижча, тому їх вводять в організм тварин у більших дозах з інтервалом 7-14 днів. З метою підвищення імуногенності вбитих вакцин до них додають ад'юванти.

Ад'ювант (від. франц. *adjuvans* – доповнювач, той, що сприяє, допомагає) – речовина, яка неспецифічно посилює імунну відповідь на антигени. Ад'юванти за походженням розподіляють на групи:

- 1) масляні (олійні жири, жири тваринного походження, синтетичні масляні) наприклад персикова олія, вазелінове масло, ланолін;
- 2) мінеральні (колоїдні сполуки, кристалоїди) міцели, полісахариди;
- 3) рослинні сполуки наприклад сапоніни мильнянки лікарської;
- 4) мікробного походження (ліпополісахариди, білки);
- 5) цитокіни та пептиди з властивостями цитокінів (цитокіни, лімфокіни, інтерлейкіни);
- 6) синтетичні речовини (полінуклеотиди, полікатіони) наприклад – мурамілпептид, ліпопептид, гідроокис алюмінію, солі золота та срібла;
- 7) препарати тимусного походження (Т-активін, тималін, тимоптин);
- 8) препарати кістково-мозкового походження (мієлопептиди);
- 9) штучні ад'ювантні системи (ліпосоми, мікрокапсули);
- 10) природні біополімери (хітозан).

В якості ад'ювантів-сорбентів використовують: гель гідроксиду алюмінію, фосфат алюмінію, двоокис кремнію, частинки латексу, акрилату, бентоніту, декстрину.

Розрізняють два способи дії ад'ювантів. Дія одних з них спрямована на зміну властивостей антигену, а інших – на стимуляцію функції імунної системи організму. Вплив ад'ювантів на властивості антигену стосується змін його структури, полімерності, розчинності, молекулярної маси та інших фізико-хімічних параметрів.

Ад'юванти, залежно від їх властивостей, стимулюють гуморальний імунітет або пригнічують клітинний імунітет. Наприклад, повний ад'ювант Фрейнда (вазелінове масло, емульгатор ланолін та витяжка з вбитих культур мікобактерій туберкульозу) переважно перешкоджає розвитку клітинного імунітету, а неповний ад'ювант Фрейнда (вазелінове

масло, емульгатор ланолін) і мінеральні сорбенти стимулює меншою мірою клітинний імунітет, а більшою сприяє гуморальному. Інколи можливі поєднання двох ад'ювантів у одному препараті. Повний ад'ювант Фрейнда (запропоновано в 1937 році) є таким прикладом, він містить два види стимулюючих речовин: масло і фільтрат вбитої культури мікобактерій. Через високу токсичність повний ад'ювант Фрейнда майже не використовується. При застосуванні масляних ад'ювантів створюють емульсії типу «масло у воді» та «вода-масло-вода». В якості речовин-емульгаторів використовують спан, твін, арлацель. Основний механізм дії ад'ювантів – це створення «депо» антигену, сповільнення його розсмоктування, поява запальної реакції, посилення реакції з боку лімфатичних вузлів, посилення синтезу білків, активація системи комплементу, презентація антигену Т-клітинами, стимуляція утворення цитокінів.

2. Хімічні вакцини. Ці біологічні препарати складаються з антигенів, отриманих різними способами, переважно хімічними методами. Як правило, хімічні вакцини не є гомогенними, містять домішки окремих органічних сполук або комплексів, що складаються з окремих білків, полісахаридів, ліпідів.

Головний принцип у отриманні хімічних вакцин полягає у виділенні проєктивних антигенів, очистці їх від баластних речовин. Хімічні вакцини мають невисоку реактогенність, можуть вводитись у високих дозах та багаторазово. Хімічні вакцини, особливо сухі, стійкі до факторів зовнішнього середовища, добре стандартизуються і можуть використовуватися в асоціаціях одночасно проти декількох інфекційних захворювань.

3. Рекombінантні вакцини. Ці біологічні препарати відносяться до третього покоління вакцин, які виникли в еру генної інженерії та біотехнології два-три десятиліття тому. Основні принципи отримання таких вакцин включають в себе основні етапи біотехнології: клонування генів, які забезпечують синтез необхідних антигенів, введення цих генів у вектор (плазмід), введення вектора у клітину продуцент (бактерії, дріжджові грибки) та культивування їх *in vitro* з наступним очищення отриманого антигену. Іншим шляхом отримання таких вакцин є застосування клітин продуцентів як вакцин. Різновидами рекombінантних вакцин є: делеційні, прокапсидні, векторна, генно-інженерна вакцина.

Векторні вакцини – це біопрепарати, які являють собою антигени, що експресійовані у різних векторних системах. Прикладами таких вакцин є вакцина проти сказу, хвороби Ньюкасла. В Україні запропонована рекombінантна вакцина Броварабіс-V-RG- вакцина для пероральної імунізації м'ясоїдних тварин виробництва ТОВ «Укрветпромстач», м. Бровари, рекombінантна вакцина проти бешихи.

Делеційні (маркерні) – це вакцини, які виготовлені із мутантного збудника інфекційного захворювання з геному якого видалені гени, що кодують несуттєві антигени або епітопи. Прикладом такої вакцини є – жива вакцина проти хвороби Ауескі із сконструйованого делеційного мутанта вірусу, у якого вилучено один із глікопротеїнів (вакцина розроблена в 1987 році).

Прокапсидні вакцини – це пусті вірусні вібріони, які отримують шляхом самозбирання структурних білків, експресійовані у різних векторних системах. Прикладами таких вакцин є вакцина проти гепатиту А людини та парвовірозів тварин. Практичне застосування таких біопрепаратів поки, що стримується різними нормативними документами про заборону широкого використання генно-інженерних продуктів і вони перебувають на стадії розробки та випробування.

4. Синтетичні пептидні вакцини (ДНК-вакцини). Це вакцини, антигени яких являють

собою штучносинтезовані пептиди, що мають антигенну активність, яка відповідає активності детермінантам проєктивного антигену збудника. Розроблені експериментальні вакцини такого типу проти ящуру, кліщового енцефаліту. Різновидами синтетичних пептидних вакцин є антиїдіотипічні та ДНК-вакцини.

Антиїдіотипічні вакцини – це біологічні препарати, антигени яких є антитілами до ідіотипної структури антигін специфічної до антигенної детермінанти збудника.

ДНК-вакцини – це біологічні препарати, які являють собою ДНК плазмід, які кодують проєктивні антигени збудників інфекційних захворювань. Останні біопрепарати теж не використовуються практично і перебувають на стадії розробки та випробування. Розробляють також рослинні вакцини («їстівні вакцини»), мукозальні вакцини.

6.2.2. Діагностичні біопрепарати

Набори діагностикумів для постановки серологічних реакцій – вони включають в себе антигени для серологічних реакцій РА, РП, РЗК, РГА, РЗГА, РДП, ІФА, РІФ, а також діагностичні сироватки: аглютинаційні, преципітувальні, флуоресціюючі, гемолізуючі, комплементзв'язуючі. Інколи в якості додаткових компонентів до наборів включають комплемент, сенсбілізовані еритроцити, полістирольні пластини з адсорбованим антигеном, сироватки мічені флюоро-хромом. Їх виробляють на біологічних фабриках і використовують з метою діагностики серологічної діагностики інфекційних хвороб.

Антигени – це чужерідні для організму високомолекулярні органічні речовини, які здатні при парентеральному введенні викликати синтез антигін. Біологічна промисловість виробляє стандартизовані антигени для постановки реакції аглютинації, реакції преципітації, реакції мікроаглютинації, реакції зв'язування комплементу. Ящурний, лейкозний антигени за допомогою яких можна виявити у сироватці крові відповідні антигенам антигін.

Діагностичні сироватки – це сироватки, які виготовляють на біофабриках і використовують з метою діагностики багатьох вірусних захворювань і також з метою типізації збудників. Виробництво діагностичних сироваток схоже на виробництво лікувальних гіперімунних сироваток. Основні критерії, які контролюють при виробництві – це стерильність, висока специфічність, правильний підбір реципієнта (кролі, мурчаки, півні, коні, осли). Біопромисловість випускає діагностичні сироватки з метою виявлення антигенів: інфекційного ринатрахеїту, парагрипу-3, інфекційної анемії коней, ринопневмонії, грипу.

6.2.3. Лікувальні біопрепарати

Лікувально-профілактичні сироватки. До цього виду біопрепаратів відносять: гіперімунні сироватки, гаммаглобуліна, специфічні та неспецифічні сироватки, сироватки реконвалесцентів, моноклональні антигін, асцитні рідини.

Сироватка крові (від. лат. *serum* – рідина, сироватка) – це рідка частина крові, яка отримана шляхом відстоювання у теплому місці без додавання антикоагулянту і позбавлена формених елементів та фібрину.

Лікувально-профілактичні сироватки поділяють на противірусні, антибактеріальні, антиоксичні (проти ботулізму, правця), протиотрутні (змій, павуки). Використовують сироватки з метою серопротекції та серотерапії. Сироватки вводять підшкірно, внутрішньом'язово, внутрішньовенно та у середину лімфатичних вузлів. Після введення сироваток імунітет настає через кілька годин і зберігається протягом 2-3 тижнів.

Багаторазове використання сироваток може призвести до анафілактичного шоку і загибелі тварини.

Гіперімунні сироватки – це сироватки крові, які отримують від тварин-продуцентів шляхом гіперімунізації на біологічних фабриках та використовують з метою профілактики та лікування інфекційних хвороб тварин.

Гіперімунізація – це метод парентерального введення тваринам наростаючих доз антигенів з метою отримання найвищої імунної реакції організму і як наслідок – максимальне збільшення в крові тварин титру специфічних антитіл з метою забезпечення максимального профілактичного, діагностичного та лікувального ефекту.

Вперше, звернули увагу на здатність сироватки крові тварин імунізованих правцевим токсином нейтралізувати його, два дослідника – Сібасабуро Кігазато (1890) та Еміль Ру (1893). Обидва вчені належали до наукових шкіл-антагоністів відповідно Роберта Коха та Луї Пастера.

Гіперімунні сироватки виготовляють на біологічних фабриках і технологія їх виробництва включає наступні етапи: підбір тварини-продуцента, виготовлення та очищення антигену і посилення його імуногенності ад'ювантами та введення антигену у наростаючому титрі тварині-продуценту протягом 1-2 місяців, отримання сироватки крові, фільтрація її через бактеріальні фільтри, консервування стабілізація та фасування в ампули чи флакони. Слід пам'ятати, що надмірне введення високих доз антигену в організм тварини-продуцента може призвести до «*імуногенного паралічу*» або стану за якого організм стає ареактивним до будь-якої більшої дози антигену .

Тварини продуценти за своє життя на біофабриці можуть загинути після першої гіперімунізації внаслідок знекровлення або використовуватися 5-8 виробничих циклів по завершенню яких тварину забивають та утилізують. Використовувати таких тварин в харчових цілях суворо заборонено.

В умовах господарства, інколи можна виготовити та використати аналог гіперімунної сироватки зробленої на біологічній фабриці – *сироватку реконвалесцентів*. *Реконвалесценція* – це період одужання після перенесеної інфекційної хвороби. *Сироватки реконвалесцентів* – це імунні сироватки, які отримані із крові здорових тварин, що перехворіли на певне інфекційне захворювання та мають в крові специфічні антитіла у високих титрах. Їх застосовують внутрішньом'язово, внутрішньошкірно, аерозольно.

На сучасному етапі розвитку епізоотології ветеринарна практика озброєна великою кількістю гіперімунних препаратів. Сироватки можуть бути моно- та полівалентні. Наприклад, гіперімунна сироватка проти сказу – антирабічна та відповідно препарат Гіскан-5 – це комплекс гіперімунних сироваток проти чуми м'ясоїдних, парво- та корона вірусного ентериту та аденовірусної інфекції. З метою лікування та профілактики сироватки використовують проти багатьох інфекційних захворювань.

Гамаглобуліни. За допомогою електрофорезу вчені навчилися розділяти сироватки крові на окремі їх складові або білки різних фракцій α , β , γ . Фракція гамма-глобулінів була пов'язана з імунними білками різних класів наприклад $Ig G$, $Ig M$, $Ig E$, $Ig D$, $Ig A$. Ці очищені імунні білки називають гамаглобуліни і використовують з метою профілактики та лікування деяких інфекційних хвороб. Наприклад, сказ, хвороба Ауескі. Звідси, біопрепарати мають назву: антирабічний гамаглобулін тощо. Крім електрофорезу імуноглобуліни отримують ще методами висолювання, преципітації, а також хроматографічним та спиртово-хлороформним методами.

Моноклональні антитіла. З удосконаленням методів промислового виробництва вченим вдалося не тільки виділити фракцію гаммаглобулінів, а й отримувати імуноглобуліни певних класів *Ig M*, *Ig E*. Використовують моноклональні антитіла з метою діагностики, профілактики та лікування інфекційних хвороб. Виробництво моноклональних антитіл надзвичайно складне і тому вартість таких препаратів дуже висока і практично в Україні вони використовуються рідко або не використовують зовсім.

Інтерферони. У 1957 році вчені Айзекс та Ліндеман встановили, що при вірусних інфекціях у клітинах утворюється особлива речовина – інтерферон. Розрізняють три групи інтерферонів: α -інтерферон – утворюється в В-лімфоцитах;

β -інтерферон – утворюється в епітеліальних клітинах та фібробластах;

γ -інтерферон – синтезується в Т- та В-лімфоцитах за участі клітин макрофагів. Також розрізняють 12 підвидів α -інтерферонів, 3-4 підвиди β -інтерферону та 2-3 підвиди γ -інтерферону. Інтерферони володіють противірусною, протипухлинною та імунорегулюючою дією. За хімічною будовою інтерферони є глікопротеїдами з молекулярною масою 20000-30000 м.о., а специфічна активність їх складає 10^9 ОД на 1 мг речовини. Механізм дії інтерферонів – інгібування специфічного вірусного ферменту протеїнази і зупинка збирання віріонів вірусу на стадії трансляції, тобто на початку синтезу вірусних білків, а також інтерферони розпізнають та пригнічують вірусні РНК серед інших клітинних РНК.

Біопромисловість виробляє препарати інтерферону: кінорон для собак, який являє собою суміш субтипів лейкоцитарного інтерферону собак, Сліні – свинячий лейкоцитарний інтерферон з не інактивованим індуктором, ролейкін.

В практиці ветеринарної медицини частіше використовують з метою лікування та профілактики вірусних хвороб *індуктори ендogenous інтерферону* – це похідні акридин оцтової кислоти. Наприклад це такі препарати як: камедон, фоспреніл, циклоферон, анандин. Вони називаються ще сеперіндуктори інтерферону та ефективні проти ДНК- та РНК вмістних вірусів. Введення таких препаратів до організму підвищує вміст інтерферонів інколи в 1000 разів та генерує утворення противірусних білків, які притаманні певному виду тварин. Єдиний мінус використання цих індукторів інтерферонів це висока собівартість курсу лікування навіть для дрібних тварин не кажучи вже про корів та коней. Тому широке використання таких препаратів обмежується лікуванням цінних тварин (породистих собак, котів та інших непродуктивних тварин-супутників).

Контрольні запитання

- 1. Як може відбутися зараження співробітників господарств та клінік?*
- 2. За яких обставин виникають випадки хвороби персоналу?*
- 3. Які фізичний та хімічний вплив на віруси можна здійснити на господарстві?*
- 4. Які фізичний та хімічний вплив на віруси можна здійснити у вірусологічній лабораторії?*
- 5. Що таке дезінфекція? Який механізм впливу дезінфікуючих речовин на віріони?*
- 6. Які існують групи сучасних дезінфектантів?*
- 7. Яка різниця між профілактичною і вимушеною дезінфекцією?*
- 8. Які дезінфікуючі речовини можна використовувати в присутності тварин?*
- 9. Охарактеризуйте методи знищення вірусів в лабораторії, і від чого залежить порядок їх використання?*

10. Лапінізована вакцина ?
11. Авінізована вакцина ?
12. Капринізована вакцина ?
13. Гіперімунні сироватки ?
14. Вакцини розподіляються ?

РОЗДІЛ 7

ЛАБОРАТОРНА ДІАГНОСТИКА ВІРУСНИХ ХВОРОБ ТВАРИН

Діагностика має надзвичайно важливе значення в системі заходів боротьби з вірусними хворобами тварин. Швидко і правильно поставлений діагноз забезпечує успіх ліквідації спалахів захворювання, оскільки дає змогу чітко уявити конкретну епізоотичну ситуацію та своєчасно вжити цілеспрямованих заходів щодо оздоровлення поголів'я тварин із найменшими втратами. І навпаки, помилковий діагноз або затримка з його постановкою може призвести до поширення інфекції, ускладнить заходи щодо її ліквідації та спричинить значні економічні збитки.

Постановка діагнозу на вірусні хвороби тварин складається з двох етапів:

- клініко-епізоотологічна діагностика;
- лабораторна діагностика.

Клініко-епізоотологічна діагностика проводиться безпосередньо в господарстві або лабораторії на основі аналізу клінічних симптомів хвороби, патологоанатомічних змін органів і тканин та епізоотологічних даних (відомості про види і вікові групи захворілих тварин, швидкість і широту поширення інфекції, захворюваність і летальність тощо).

Аналіз усіх цих даних дає змогу поставити лише попередній діагноз, оскільки при багатьох вірусних хворобах вони можуть бути подібними. Крім того, трапляються випадки атипичних і латентних форм перебігу захворювання, а також асоційованих (змішаних) інфекцій, які спричинюються кількома збудниками одночасно.

Вирішальне значення в постановці остаточного діагнозу належить лабораторній діагностиці. Навіть при такій хворобі, як ящур, коли клініко-епізоотологічний діагноз ставиться, як правило, точно, обов'язково треба проводити лабораторні дослідження з метою встановлення типу і підтипу збудника, що необхідно для застосування відповідної вакцини. Лабораторна діагностика проводиться в спеціалізованій лабораторії ветеринарної медицини на основі дослідження патологічного матеріалу від хворих і загиблих тварин. Враховуючи попередній діагноз, складають схему лабораторного дослідження патологічного матеріалу.

Сучасна вірусологія має широкий вибір різноманітних методів виявлення, культивування та ідентифікації вірусів, що дало змогу розшифрувати етіологію вірусних інфекцій тварин і людини. Проте не всі методи науково-дослідної роботи знайшли застосування в діагностичній практиці. Лабораторна діагностика може ґрунтуватися на таких із них, які не потребують унікального обладнання, регулярно відтворювані, забезпечені доступними реагентами і дають змогу оперативно дослідити велику кількість проб.

Лабораторна діагностика вірусних хвороб тварин складається з:

- 1) експрес-методів;
- 2) вірусологічних методів;
- 3) методів серологічної (ретроспективної) діагностики.

Вибір конкретного методу вирішується в кожному окремому випадку залежно від характеру захворювання, підозрюваного збудника і можливостей лабораторії.

1. Експрес-методи базуються на швидкому виявленні вірусу або його компонентів безпосередньо в патологічному матеріалі. До цієї групи належать такі методи:

- а) виявлення віріонів вірусів методами світлової (вірусоскопія), електронної та імуоелектронної мікроскопії;
- б) виявлення внутрішньоклітинних тілець-включень вірусів;

в) виявлення вірусних антигенів у серологічних реакціях: РІФ, ІФА, РІА, РЗК, РДП, РРІД, ЗІЕФ, РГА і РЗГА, РНГА, РЗНГА, РАЛ;

г) виявлення вірусних нуклеїнових кислот методом молекулярної гібридизації та в полімеразній ланцюговій реакції.

Експрес-методи дають змогу відносно швидко (не більше 2 – 3 діб) виявити та ідентифікувати вірус у дослідному матеріалі. Проте вони не завжди достовірні й тому потребують підтвердження іншими методами.

2. Вірусологічні методи ґрунтуються на виділенні вірусу з патологічного матеріалу шляхом зараження чутливих біологічних об'єктів і його наступній ідентифікації в серологічних реакціях. Для виділення вірусу використовують лабораторних тварин, курячі ембріони і культури клітин. При виборі біологічних систем враховують дані клініко-епізоотологічного діагнозу і вид тварини, від якої взято патологічний матеріал. Сукупність цих даних дає змогу вибрати потрібну лабораторну модель і метод її зараження. В окремих випадках ставлять біопробу (або імунологічну пробу) на природно сприйнятливих тваринах.

Досить часто трапляються випадки, коли при первинному зараженні дослідним матеріалом лабораторні об'єкти не реагують на вірус. Це зовсім не означає, що збудника немає. Відсутність реакції на зараження за наявності вірусу в патологічному матеріалі можна пояснити двома причинами:

1. недостатньою адаптацією вірусу до біологічної системи;
2. низькою концентрацією вірусу в патологічному матеріалі.

В такому разі перший пасаж вважають «сліпим». Від інфікованих біологічних об'єктів беруть відповідний вірусомісний матеріал і заражають ним нову партію лабораторних тварин, курячих ембріонів або культур клітин, тобто проводять другий пасаж. Якщо і в другому пасажі не виявиться реакція на вірус, його також вважають «сліпим» і проводять третій пасаж. З кожним пасажем вірус адаптується до біологічних систем, концентрація його збільшується, і він виявляє свою інфекційну дію. Зазвичай для ізоляції вірусу з патологічного матеріалу потрібно провести не менш як 3 – 4 «сліпих» пасажів.

Наступним етапом вірусологічного дослідження є ідентифікація виділеного вірусу в серологічних реакціях: РН, РІФ, ІФА, РІА, РЗК, РЗГА, РНГА, РЗНГА, РЗГАд, РДП, ЗІЕФ. Окрім того, вірус ідентифікують методом ЕМ та ІЕМ.

Вірусологічні методи в лабораторній діагностиці вірусних хвороб є найдостовірнішими, тому що їхня мета – ізоляція збудника з патологічного матеріалу і наступна його ідентифікація. Проте вони потребують багато часу, особливо в разі проведення «сліпих» пасажів.

3. Методи серологічної (ретроспективної) діагностики. Незалежно від результатів ізоляції вірусу з патологічного матеріалу і його ідентифікації, проводять дослідження парних проб сироваток крові на наявність специфічних антитіл. З цієї метою від тварини беруть кров двічі, з інтервалом 2 – 3 тижні, на початку і наприкінці хвороби. Зростання титру антитіл у другій пробі сироватки в чотири рази і більше свідчить про перенесену інфекцію.

Для постановки діагнозу проведення одноразового серологічного дослідження недостатньо, оскільки позитивний результат не має діагностичної цінності, навіть якщо титр антитіл високий (за винятком ситуації, коли на певній території з'являється зовсім новий вірус). Наявність сироваткових антитіл може бути наслідком раніше перенесеної хвороби, безсимптомної інфекції або вакцинації. Сироватки крові новонароджених і молодих тварин нерідко містять антитіла колострального походження. Позитивний результат одноразового

серологічного дослідження свідчить про контакт тварини з вірусом, однак не визначає, коли саме він відбувся. Серологічні дослідження мають діагностичну цінність тоді, коли вони виявляють зростання титру антитіл.

Для дослідження сироваток крові використовують різні серологічні реакції: РН, РЗГА, РНГА, РАЛ, РНГАд, РЗК, РРГ, РДП, РРІД, ЗІЕФ, РНІФ, РІА, ІФА (в модифікації ELISA).

Недоліком методів серологічної діагностики є їхня ретроспективність, тому що до моменту постановки діагнозу тварини перебувають на стадії видужування.

Вірусоскопія

Вірусоскопію використовують для індикації у патологічному матеріалі віріонів вірусів розміри яких досягають $(170...260) \times (300...390)$ нм. Для діагностики роблять мазки які висушують на повітрі й фарбують. Для фарбування віріонів найчастіше використовують три методи: Морозова, Пашена або Герцберга. Перевагою вірусоскопії є швидкість одержання результатів (упродовж 0,5 – 1 год.), простота і доступність техніки виконання. Недоліком є те, що найчіткіші результати можна отримати тільки досліджуючи мазки зі свіжих новоутворень.

Електронна мікроскопія вірусів

Деякий час віруси також називали «ультрамікроскопічними», оскільки вони менші за межу роздільної здатності світлового мікроскопа (що становить близько 300 нм; саме поксвіруси приблизно такого розміру), але видно у світлому мікроскопі, використовуючи лише оптику темного поля або певні методи фарбування). Лише з появою електронного мікроскопа вдалося візуалізувати віруси.

Ранні електронні мікроскопічні дослідження вірусів Руськом у 1939-1941 рр., в яких використовувались металеві відтинки очищених вірусних препаратів, були розширені протягом 1950-х років, щоб включити ультратонке секціонування вірусних інфікованих клітин. У 1959 р. Візуалізація вірусної ультраструктури трансформувалася при розробці негативного фарбування. Для негативного фарбування до суспензії вірусу на сітці з покриттям зразків додають розчин фосфотунгтату калію, який є щільним електроном; він оточує і заповнює проміжки в поверхні віріонів, створюючи негативне зображення віріона, показуючи деталі. Чудова різноманітність вірусів очевидна, коли можна порівнювати морфологію різних вірусів з такою, що вони з'являються при негативному забарвленні. Це різноманіття виявляється по-іншому, коли складається морфологія різних вірусів, коли вони з'являються в надтонких ділянках інфікованих клітин. В останні кілька років ультратонке секціонування вірусних інфікованих клітин і тканин та негативне фарбування очищених віріонів були доповнені декількома новими технологіями мікроскопії, зокрема скануючою електронною мікроскопією та побудованими на комп'ютері конструкціями зображень заморожених нестійких віріонів.

Електронна мікроскопія є важливим методом ідентифікації вірусів, який дає змогу диференціювати їх за морфологією. Особливе значення цього методу у дослідженні вірусів, слабо або зовсім не розвиненими культуральними властивостями, а також у ідентифікації нововиділених збудників.

Рентгенокристалографія вірусів

Електронно-мікроскопічні підходи значно покращили наше розуміння природи та будови вірусів, але за останні кілька років не було значно покращено їх здатності, для цього

застосовували рентгенівську кристалографію та комп'ютерний аналіз отриманих дифрактограм. Рентгенокристалографічний аналіз багатьох важливих вірусів дав чудове розуміння організації та складання віріона, розташування антигенних ділянок на поверхні віріонів та аспектів приєднання віріону та проникнення в клітини.

Виявлення тілець-включень вірусів

У патологічному матеріалі хворих і загиблих тварин за багатьох вірусних хвороб виявляють тільця-включення, природа яких може бути різною залежно від виду вірусу: 1) скупчення віріонів потомства; 2) нагромадження вірусних білків, що не увійшли до складу віріонів потомства; 3) клітинний матеріал, змінений у результаті репродукції вірусу. Здебільшого тілець-включення є вірусними «фабриками» – місцями синтезу вірусних білків і нуклеїнових кислот та складання віріонів потомства, включаючи клітинні структури (наприклад, рибосоми, осміофільні волокна).

Значна частина ідентифікованих тілець-включень отримали назви на честь авторів, які вперше виявили їх: сказ – тільця Бабеша – Негрі, натуральна віспа – тільця Гварнієрі, віспа птиці – тільця Боллінгера, інфекційний ларинготрахеїт птиці – тільця Зейфреда (також Мей-Грюнвельд-Гімзе), чума м'ясоїдних – тільця Лентца, інфекційний гепатит м'ясоїдних – тільця Рубарта.

Полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР)

В основу ПЛР покладено секвенування молекули ДНК та синтез олігонуклеотидів різної довжини і специфічності (праймерів). Суть ПЛР (або методу ампліфікації генів) полягає в збільшенні *in vitro* генетичного матеріалу вірусу, який треба ідентифікувати у дослідному матеріалі.

На сьогодні ПЛР успішно використовують для діагностики значної кількості інфекційних хвороб не тільки людей, а й тварин. ПЛР незамінна при ідентифікації вірусів, для яких ще не знайдені чутливі культури клітин або не розроблені серологічні тести.

7.1. Правила відбору зразків вірусомісного матеріалу та пересилання їх для лабораторного дослідження

Матеріал, відібраний від тварин з вираженими клінічними ознаками хвороби називають прижиттєвим патологічним (клінічним). До переліку такого патматеріалу відносять: кров, носові виділення, ураження шкіри, ураження кон'юнктиви, фекалії, слину тощо. А за наявності мертвої тварини, відібраний матеріал у вигляді ураженого цілого органу, або його частини (лімфатичні вузли, селезінка, легені, трахея, бронхи, печінка, нирки, мозок, кишківник, новоутворення) називають посмертним патологічним.

У здорових тварин, які контактували з хворими, ознаки хвороби відсутні, в деяких випадках тварина може бути вже хворою, але безсимптомно (приховано), або ж перебувати в інкубаційному періоді хвороби, коли клінічні ознаки ще не проявились. У таких тварин відбирають зразки крові. Після проведення аналізів розуміють, що тварина може залишатись здоровою, тобто є резистентною до даного збудника або має активний імунітет внаслідок перехворювання тією чи іншою хворобою чи вакцинованою.

У тварин, які хворіли і одужали (реконвалесценти), імовірність вірусоносійства також визначають в такому прижиттєвому матеріалі як зразки крові. Свійськими тваринами із значною тривалістю життя, яких перевіряють після перехворювання є продуктивні, плідники

(бугаї, жеребці, кнурі тощо). Показники імунітету, а саме прижиттєвий клінічний матеріал – кров, перевіряють у здорових щеплених тварин перед ревакцинацією, перед змаганнями, у тварин які приймають участь у змаганнях, виставках, перетинають кордон і таке інше.

У хворих чи підозрілих тварин на інфекційні захворювання вірусної етіології, ветеринарний лікар може відібрати декілька видів патологічного матеріалу. В кожному з них (через нестерильність об'єктів оточуючого середовища) містяться віруси та клітинні мікроби з різних морфологічних груп (бактерії, актиноміцети, мікоплазми, гриби) і такий матеріал називають вірусомісним.

Кількість сторонніх (супутніх) мікробів в зразках та швидкість їх розвитку залежить від: мікробного пейзажу навколишнього середовища, кількості природного обсіменіння тропних тканин, температури, вологості та інсоляції середовища, часу відбору матеріалу та тривалості транспортування.

Максимум сторонніх мікробів може міститися в зразках через природне обсіменіння та попадання сторонніх мікробів із навколишнього середовища.

При відборі прижиттєвого матеріалу (кров, ураження шкіри, носові, очні та вагінальні виділення, фекалії, спинномозкова рідина) ступінь забруднення сторонніми мікроорганізмами є головним фактором, який визначає якість зразка.

І тому за наявності ураження пантропними вірусами для лабораторного дослідження використовують не фекалії чи шкіру, а інші матеріали (кров, носові витоки, ураження кон'юнктиви).

Посмертний матеріал або шматки органів (головний мозок, печінка, селезінка, легені, нирки, трахея, бронхи, лімфовузли) відбирають після розтину мертвої тварини. Для мінімального попадання сторонніх мікробів при відборі таких матеріалів, окрім попередньо зазначених обставин, необхідно враховувати від і вік тварини, розмір органу, його локалізацію тощо.

Початкові стадії роботи з вірусомісним матеріалом передбачають збереження активності вірусу та знищення сторонніх мікробів. Метод вплив на всі групи мікробів – консервація.

Для вірусологічного дослідження матеріал відбирають не пізніше 2 годин після загибелі тварини, поміщають в первинний, стерильний, герметично закритий скляний або пластиковий контейнер (флакон, пробірку), консервують. Для консервації вірусомісного матеріалу застосовують сольові розчини і заморожування. Для безпосереднього впливу на віруси застосовують багатокомпонентні сольові розчини Хенкса або Ерла. Ці розчини імітують склад клітинної рідини організму, дозволяють зберегти в зразках максимальну кількість активних віріонів.

Сторонні клітинні мікроби різних груп, які потрапили в зразок, можуть ефективно знищити антибіотики широкого спектру дії. Саме тому ветеринарні лікарі не використовують антибіотики при відборі вірусологічних зразків. Застосування антибіотиків можуть дозволити собі вірусологи-науковці за наявної теоретичної інформації щодо мікробного пейзажу конкретної екосистеми, завдяки проведенню тривалих досліджень в базових господарствах, у наявних мікробів відома чутливість до антибіотиків.

Нейтральна або слаболужна кислотність вірусомісних зразків сприяє розмноженню сторонніх мікробів. Але їх надійно знищують при замороженні зразка. При повільному заморожуванні (від 0 до -5°C) в цитоплазмі мікробів утворюються кристали льоду, які руйнують його органіди, ферменти та клітинну стінку. Після розморожування зразка в

лабораторії сторонні мікроби (окрім ендоспор бацил) гинуть завдяки лізису. Тому подальші дослідження (після певної підготовки) проводять із зразками, в яких містяться лише вірусні частинки. сторонні мікроби швидше гинуть при температурах до -10°C , ніж при -15° , -24°C чи більш низьких температурах. Тому в 21 ст. доставка проб у вірусологічну лабораторію проводиться при дотриманні «холодового ланцюга», але охолоджуючи речовини містяться в холодоелементах, які є жорсткими або м'якими пластиковими герметичними контейнерами різної форми.

При відборі та пересиланні патологічного матеріалу керуються рядом правил, основними з яких є:

- в зразок має потрапити мінімальна кількість сторонніх мікробів;
- для припинення розмноження супутньої мікробіоти та збереження збудника матеріал консервують;
- виключають можливість розсіювання збудника інфекції (при транспортуванні) за рахунок герметичного, водонепроникного пакування матеріалу.
-

Обладнання для відбору зразків

Захворювання будь-якої кількості тварин спричинює низку взаємопов'язаних дій:

1. ізоляцію хворих тварин;
2. відбір матеріалів від хворих тварин. В одну посудину не можна поміщати матеріал з різних частин організму (ураження кон'юнктиви + носові змиви) чи однакові матеріали від різних тварин. Виключення: посмертні матеріали від одної тварини, які направляються лише на гістологічне дослідження;
3. патологічний розтин і вивчення характеру змін в органах загиблих тварин;
4. збір даних щодо можливих ознак хвороби у здорових тварин, відбір крові у підозрілих тварин-контактерів;
5. обробку приміщень та обладнання, направлену на знищення збудників хвороби;
6. заборону продажу чи перевезення тварин з даного господарства.

Постановка діагнозу хвороби в мінімальні терміни, з максимальною економічною вигодою можлива лише за наявності зразків високої якості.

Якісний зразок – це швидко відібраний біологічний матеріал з максимальною кількістю активних частинок збудника. Всебічне обстеження такого зразка (рис. 7.1) дозволить визначити збудника хвороби, вибрати адекватні схеми її лікування та профілактики, забезпечити стабільні прибутки господарствам різного підпорядкування.

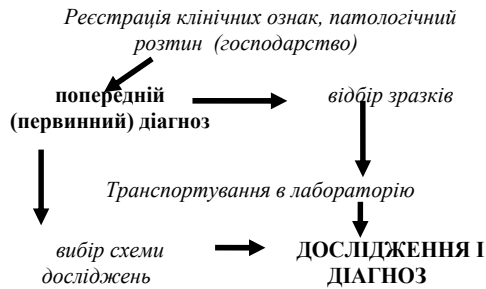


Рис. 7.1. Методика постановки діагнозу хвороби

Відбір прижиттєвих матеріалів

В сучасній лабораторній практиці, в якості прижиттєвих матеріалів, найчастіше аналізують зразки крові (імунологічні дослідження в гострій стадії хвороби, чи при хворобах неясної етіології, при перевірці вірусносійства реконвалесцентів та визначенні оптимальних строків ревакцинації здорових тварин).

Зручним приладом для відбору крові є градуйовані шприци-контейнери систем S-Monovette, BD Vacutainer.

Голка шприца має покриття для м'якого просування в тканині, алмазну заточку та форму, яка забезпечує мінімальне травмування тканин. Після відбору крові, видалення голки та поршня шприц закривається герметичною кришкою, перетворюючись на транспортний контейнер, придатний для центрифугування.

Складовими шприців є вакуумні пробірки із поліетилентерефталату (PET), призначені для забору венозної крові. PET (лавсан, поліестер) – представник класу поліефірів. Легкий, стійкий до механічних впливів, центрифугування, поломки під час стандартних процедур ів разі випадкових падінь. Прозорість матеріалу на рівні скла, що дає можливість візуального огляду біологічних рідин.

Пробірки стерильні, зі стійким дном та герметичною кришкою, верхній край витончений і розширений у вигляді лійки (для зручності відбору капілярної крові). Виготовляють в 3-х розмірах: 13x75, 13x100 та 16x100 мм для сумісності з лабораторними аналізаторами та центрифугами різних марок (1300 обертів/хв. впродовж 10 хв.). Це робить непотрібним купівлю окремих центрифужних пробірок, значно економить час та кошти. Пластиково-гумові корки пробірок забезпечують їх контрольоване відкриття, вакуум – відбір певного об'єму проби під час венопункції, наповнювачі в пробірках (активатори згортання, розділяючи гелі, антикоагулянти) виготовлені відповідно до міжнародних стандартів ISO і СЕ (табл. 7.1).

Маркування пробірок для забору крові









Колір кришки	Реагенти	Примітка
Червоний	Активатор згортання	—
	активатор згортання + гель	
Зелений	літій гепарин	при відборі перегортати 8-10 р.
Фіолетовий	ЕДТА К3	
	ЕДТА К2	
Сірий	ЕДТА + флуорид натрію	при відборі перегортати 3-4 р. центрифугувати при 2-2,5 тис. об./хв. впродовж 10-15 хв.
Голубі	3,2% цитрату натрію	при відборі перегортати 8-10 р.
Чорні	3,8% цитрату натрію	

Цитрат натрію, ЕДТА та літій-гепарин – це антикоагулянти, активатор згортання дозволяє отримати сироватку крові при транспортуванні зразка, а гель розділяє шари в пробірці після центрифугування. ЕДТА – це донатрієва сіль етилендіамінтетраоцтової кислоти, Використовується як консервант, стабілізатор та регулятор в'язкості. Зв'язує іони кальцію, блокує каскад реакцій згортання крові. Не впливає на концентрацію і характеристики клітинних та неклітинних компонентів.

Пробірка має паперову етикетку звичайного розміру, збільшеного розміру (блокова етикетка для запису інформації про хворого) або прозору етикетку, у випадку нанесення інформації на скло. Загальна упаковка пробірок має позначки, які вказують на вид додаткового реагенту, метод стерилізації, стійкість пробірок за різних обставин.

Особливу увагу при виборі і користуванні пробіркою слід звернути на спеціальні позначення (на пробірці чи транспортній коробці), сенс яких наведено в табл. 7.2. Саме вони дозволяють і практичному спеціалісту, і працівнику лабораторії оптимізувати дослідження відібраних зразків.

Спеціальні позначення на упаковках

Позначення	Зміст позначки	Позначення	Зміст позначки
	Не використовувати повторно	Z	Без реагенту
	Стерилізовано автоклавуванням	LH або LN	Гепарин літій або гепарин натрію
	Стерилізовано радіацією	FE	Флуорид/ ЕДТА
	Стерилізовано оксидом етилену	K2E ; K3E	Калій 2 ЕДТА або Калій 3 ЕДТА
	Зберігати від сонячних променів	N2E	Натрій 2 ЕДТА
	Зберігати від джерел освітлення	9NC ; 4NC	Цитрат натрію 9:1 або 4:1
	Температура зберігання	RST	Активатор згортання
	Можлива переробка	SST ™ II	Активатор згортання/гель

Для відбору зразків носового слизу, вагінального секрету, гною з кон'юнктиви призначені одноразові порожні пластикові пробірки, які стерилізуються опроміненням та мають вмонтовані зонд-тампони.

Матеріал пробірок – прозорий, нетоксичний за нормальних умов, стійкий до масел, кислот, лугів, синтетичних миючих засобів, придатний до повторного використання після розплавлення. Стандартні пластики витримують перепад температур від -40°C до $+90^{\circ}\text{C}$, модифіковані марки – нагрівання до температури 113°C . Технологія подвійної засувки між корком та горловиною пробірки запобігає проникненню біологічного матеріалу в навколишнє середовище.

Характеристика зондів одноразових пробірок

Металеві зонди. Діаметр зонду 0,9 мм, діаметр тампону 1,5 мм. Металеві штоки зондів можуть бути жорсткими, м'якими (набувають форму за бажанням дослідника) або крученими для відбору носового слизу. Зонди із крученими штоками є найдорожчими, оскільки зроблені з ніхрому – сплаву 55-78 % нікелю, 15-23% хрому, с добавками Mn, Al, Fe та Si.

Дерев'яні та пластикові зонди. Діаметр зонду 2,5 мм, діаметр тампону 5 мм. Довжину певних пластикових тампонів можна зменшити. Шток для відбору назофарінгального або урогенітального слизу, відламується на певній висоті завдяки мітці на поверхні пластику.

Пластикові зонди біологічно нейтральні, але вони не витримують сухожарової стерилізації (пластик стає м'яким з температури 140°С, плавиться – при 175°С).

Тампони прикріплюють до поверхні зонду медичним клеєм – фенолформальдегідною смолою з додаванням полівінілацеталу чи полівінілбутиралю, розчинених в етиловому спирті чи хлороформі (клей БФ-2). Ця серія клеїв розроблена в 1942-1945 р.р. проф. Петровим із співробітниками.

Матеріали наконечників зонд-тампонів

«Штучний шовк» - це друга назва віскозного волокна, яке виробляється із специфічно обробленої і полімеризованої деревної целюлози. Процес синтезу віскози розроблено французьким хіміком де Шардонне (1838–1924), удосконалено англійським вченим Чарльзом Кросом (патент № 8.700, 1892 р.).

Дакрон (лавсан, терилен, поліестер) – поліефірний пластик, продукт конденсації етиленгліколю з терефталевою кислотою. Штучна органічна речовина. В її складі нуклеїнові кислоти відсутні, тому за використанням дакронового наконечника не можна зіпсувати результати такого лабораторного дослідження як полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР).

Велюр-тампон складається з декількох тисяч коротеньких нейлонових волокон (нейлон – синтетичний поліамід), перпендикулярних пластиковому аплікатору. Він має гарні сорбційні властивості, збирає більше частинок інфекційних агентів, максимально вивільнює їх в рідке середовище, підвищуючи ефективність діагностичних досліджень;

Тампон з альгінату після відбору зразка розчиняється в транспортному середовищі і весь об'єм зразка потрапляє в розчин. Токсичний для деяких бактерій. Але частина тампону може розчинитись вже під час відбору зразка у фізіологічних рідинах тварини, тому альгінатні тампони використовують лише досвідчені спеціалісти-практики.

Найбільш невдалий матеріал для вірусологічного тампону – бавовна. Її волокна – це одна рослинна клітина, яка розвивається із шкірки насіння і містить певну кількість ядерної ДНК. Чужорідна нуклеїнова кислота може призвести до помилок під час проведення ПЛР-аналізу вірусних проб.

Після відбору зразка в порожні пробірки можна залити сольові розчини для збереження активності вірусів.

На ринку наявні і пробірки з готовими стандартизованими товарними середовищами. Це – транспортні системи, складені із пробірки з гвинтовою герметизацією, зонд-тампону та спеціального середовища.

Для максимального вивільнення вірусів із зразка пробірки транспортних систем комплектуються стерильними скляними кульками та мають всередині вигляд «пісочного годинника». Тому в момент внесення зразка більша частина мікробів з тампону (особливо, за наявності велюрового йоржика в якості наконечника) потрапляє в середовище.

Для відбору фекалій та шматків ураженої шкіри можна використовувати нестерильний або стерильний посуд (скляний, пластиковий). Пластикові нестерильні контейнери випускаються із ложечками чи шпателями, вмонтованими в герметичну кришку тари.

Використання стерильного пластикового посуду (обробка β- та γ-променями) дозволяє

не вносити додаткові сторонні мікроби в зразки фекалій та шкіри. Додавання середовищ та консервантів в проби фекалій не допускається.

Відбір посмертних матеріалів

В разі смерті тварини ветеринарний спеціаліст обов'язково проводить розтин¹³ та виявляє морфологічні зміни в органах і тканинах. У випадку хвороби саме в тропних тканинах збудник знаходиться в максимальній кількості. Загальна назва зразків відібраного для дослідження посмертного патологічного матеріалу – шматки органів.

Шматки органів (легені, печінка, мозок тощо) зручно відбирати у герметичні, скляні, полікарбонатні або полістирольні склянки, закриті пластиковими чи металевими кришками (об'єм склянки від 12 до 1000 см³).

Виробниками пластикового лабораторного обладнання для відбору біологічного матеріалу є «Greiner Bio-One GmbH», «Burkle», «Sarstedt» (Німеччина), «Deltalab» (Іспанія), «Kartell» (Італія), ТОВ «Спецтехоснастка» (Україна).

На зовнішній стінці контейнери мають матове поле (панель) або наклейку для записів. Це дозволяє спеціалісту як при роботі у відділеннях великого господарства, так і на виїзді провести детальне маркування зразка із зазначенням:

- назви підприємства;
- клички (номеру) тварини;
- найменування зразка;
- часу і дати його відбору;
- підпису лікаря.

Одноразові контейнери з полістиролу (прозорі) стерилізуються опроміненням, зберігають стерильність до відкриття кришки.

Непрозорі білі поліпропіленові контейнери мають кришку, що нагвинчується. Вони володіють значно вищою механічною та хімічною стійкістю, порівняно з контейнерами із поліестеролу, стерилізуються автоклавуванням (1 атм., 110°C).

Для відбору шматків органів ветеринарний лікар може користуватись спеціальними чи побутовими широкогорлими скляними флаконами з металевою кришкою. Лабораторний посуд такого типу виготовляють в Чехії (банки Simax з боросилікатного скла) або Китаї (скляні банки з темного термостійкого скла). Пластикові гвинтові корки склянок витримують температуру до 140°C (рис.18).

І спеціальні, і побутові флакони стерилізують сухим жаром чи автоклавуванням. Але скляні флакони є крихкими, мають здатність до розбиття, витоків патологічного небезпечного матеріалу. Тому вимоги до їх упаковки при транспортуванні вищі, ніж для посуду інших типів.

Контрольні запитання

1. Як називається відбір зразків сироватки крові і виявлення в них рівня антитіл?
2. Як називається комплекс досліджень, направлений на виявлення специфічних речовин вірусу в патматеріалі?
3. Які є найуживаніші експрес-методи у вірусології?
4. Для чого проводиться центрифугування на початкових стадіях роботи з патматеріалом?

5. *Що виявляють за проведення ретроспективної діагностики?*
6. *Що дозволяє визначити постановка серологічних реакцій?*
7. *Лабораторна діагностика вірусних хвороб тварин складається ?*
8. *Яке використовують лабораторне обладнання на різних етапах діагностики збудника вірусних хвороб?*

ДОДАТКИ

1. Загальні положення.

Для з'ясування причин захворювання або загибелі тварин у господарствах лікарів ветеринарної медицини проводять клініко-епізootичні обстеження поголів'я, патолого-анатомічний розтин трупів, відбирають необхідний патматеріал і направляють його для дослідження у державну лабораторію ветеринарної медицини або науково-дослідну установу.

У всіх випадках відбору та пересилання матеріалу фахівець ветеринарної медицини зобов'язаний керуватися цими Правилами, а також відповідними інструкціями щодо боротьби з хворобами тварин.

Лабораторії не приймають для дослідження трупи та патологічний матеріал від піддослідних тварин. Їх досліджують у тих же установах, де проводились ці досліді.

2. Відбір і пересилання патологічного матеріалу для дослідження на інфекційні та інвазійні захворювання.

2.1. Патологічний матеріал від кожної тварини відбирають стерильними інструментами в окремий стерильний посуд. Поверхню органу (тканини), від якого беруть патологічний матеріал, на місці розрізу обпалюють над полум'ям пальника або припікають нагрітою металеву пластинкою (шпателем).

2.2. Для відбору патологічного матеріалу використовують труп тварини в перші години після смерті або забивають хвору тварину, яку не лікували. Патологічний матеріал відправляють у лабораторію в неконсервованому вигляді. При неможливості доставки в лабораторію протягом 24 годин патологічний матеріал заморожують у термосі з льодом або консервують.

2.3. Трупи дрібних тварин направляють цілими у водонепроникній тарі.

2.4. Цілі трубчасті кістки з неушкодженими кінцями очищають від м'язів і сухожилків, загортають у марлю або полотно, змочені дезінфікуючою рідиною (5%-м розчином карболової кислоти). Кістки можна також консервувати кухонною сіллю.

2.5. Для бактеріологічного і вірусологічного досліджень відбирають ділянки кишечника з найхарактернішими патологічними змінами. Потім кишечник відмивають від фекальних мас і кладуть у склянки окремо від інших органів. При необхідності консервують 40%-м розчином гліцерину у співвідношенні 1:10.

У випадках, зазначених у 3 розділі Правил, відрізки тонкого відділу кишечника пересилають з вмістимим, перев'язавши їх кінці з обох боків. Матеріал не консервують.

2.6. Фекалії для дослідження надсилають у стерильних склянках, пробірках чи банках, щільно закритих пергаментним папером. Від трупів тварин фекалії можна надсилати у відрізьку кишечника, перев'язаному з обох кінців. Матеріал доставляють у лабораторію не пізніше 24 годин від часу його відбору.

2.7. При необхідності дослідження шкіри відбирають найбільш уражені її частини розміром не менше 3 x 3 см. Матеріал надсилають у стерильному, герметично закупореному посуді.

2.8. Кров, слиз, ексудат, гній, жовч, сечу, інший рідкий патологічний матеріал для бактеріологічного і вірусологічного досліджень направляють у запаяних пастерівських піпетках, стерильних пробірках або у флаконах, добре закритих стерильними гумовими

корками.

2.9. Кров, гній, виділення з різних порожнин, природних отворів для мікроскопічного дослідження (для виявлення в них мікроорганізмів, паразитів і для визначення лейкоцитарної формули) надсилають у вигляді мазків. Предметні стекла попередньо кип'ятять протягом 10–15 хвилин в 1–2%-му водному розчині соди, потім добре промивають чистою водою і насухо витирають. Сухі стекла кладуть у розчин спирт-ефіру, взятих порівну. Де і зберігають до використання.

У тварин кров беруть із вени вушної раковини або краю верхівки вуха, у птахів – з поверхні гребеня або підкрильцевої вени. Шерсть на місці взяття крові вистригають або виголюють, шкіру ретельно протирають ватними тампонами, змоченими спиртом, а потім ефіром. Інструменти (голки, скальпель) повинні бути стерильними.

Першу краплю крові знімають стерильною ватою (за винятком дослідження крові на піроплазмідози, коли для мазка беруть першу краплю крові). Наступну краплю, що вільно виступила, беруть на попередньо підготовлене скло швидким і легким дотиком до краплі його поверхнею. Потім скло швидко повертають вгору краплею між пальцями лівої руки в горизонтальному положенні. До лівого краю краплі торкаються під кутом 45° шліфованим краєм іншого предметного (чи накривного) скла. Коли крапля рівномірно розподілилася по ребру цього скла, ним швидко проводять по поверхні предметного скла справа наліво, не доводячи до краю на 0,5–1,0 см. Ширина мазків повинна бути вужчою від предметного скла. Для кожного нового мазка беруть свіжу краплю крові. Готові мазки крові висушують на повітрі, підсушувати їх над полум'ям чи на сонці не рекомендується. В холодний період року мазки роблять у теплому приміщенні або на стеклах, підігрітих на кришці стерилізатора. Метод фіксації мазків залежить від мети дослідження (див. спеціальну частину Правил). Правильно виготовлені мазки крові повинні бути тонкими, рівномірними і достатньої довжини. Висушені мазки і відбитки надписують гострим предметом або простим олівцем, вказуючи номер чи кличку тварини і дату виготовлення мазка.

Мазки із тканин, гною, органів і різних виділень готують, розмазуючи тонким шаром матеріал на предметному склі стерильною паличкою і ребром іншого предметного скла. Часточки органів щільної консистенції, тверді вузлики, а також тягучий матеріал розміщують між двома предметними стеклами і розтирають. Потім стекла роз'єднують у горизонтальному напрямі і отримують два досить тонких мазки. Препарати-відбитки виготовляють так: гострим скальпелем відрізають шматочок органа, захоплюють пінцетом і вільною поверхнею притискають до предметного скла.

2.10. При взятті пунктату з лімфатичного вузла тварину добре фіксують, на місці пункції вистригають шерсть, шкіру протирають ватним тампоном, змоченим у спирті або розчині йоду. Лівою рукою відтягують лімфатичний вузол і утримують між великим і вказівним пальцями. Потім у глибину вузла вводять стерильну голку, надавають на неї шприц і відсмоктують лімфу. Потім шприц від'єднують, голку витягують, а вміст шприца витискають поршнем на предметне скло. Роблять тонкі мазки і висушують, як зазначено в п. 2.11. Місце пункції дезінфікують розчином йоду.

2.11. Відбір крові для серологічних досліджень.

2.11.1. У коней, великої рогатої худоби, верблюдів, оленів, овець і кіз кров беруть з яремної вени у верхній третині шиї в стерильні пробірки по 5-7 мл. Кров повинна вільно стікати по стінках пробірки. Не допускається потрапляння крові на підлогу, ґрунт. Голки перед взяттям крові стерилізують кип'ятінням. Волоссяний покрив на місці проколу

вистригають, шкіру дезінфікують спиртом або 3%-м розчином карболової кислоти.

У свиней кров беруть із вени вуха або іншим способом (з хвоста, очного синуса, краніальної порожнистої вени). Кінчик хвоста попередньо обмивають водою з милом і дезінфікують спиртом. Після відбору крові кінчик хвоста обробляють розчином йоду, обов'язково перев'язують лігатурою, яку знімають через 10–12 годин.

У птиці кров беруть із вени крила, у лисиць, песців – із стегнової вени.

Пробірки з кров'ю нумерують (проставляють порядковий номер та номер тварини).

2.11.2. Проби крові витримують протягом години при температурі 20–30 °С для зсідання. Потім згусток крові відокремлюють від стінок пробірки металевою спицею (дротиком), яку пропалюють над полум'ям пальника. Кров зберігають при температурі 4–10 °С. Через 18–24 години відстоюну сироватку (2–3 мл) переливають у сухі стерильні пробірки (краще Флоринського) і етикетують так само, як і пробірки з кров'ю. Далі матеріал направляють у лабораторію в свіжому або консервованому вигляді. Пробірки з сироваткою закривають стерильними гумовими корками і ставлять у вертикальному положенні для пересилання (пробірки Флоринського – в одноімених штативах).

2.11.3. Сироватку крові консервують такими методами:

- 1 крапля 5%-го розчину фенолу на 1 мл сироватки при постійному перемішуванні;
- сухою борною кислотою (4 % до об'єму сироватки) до отримання насиченого розчину і утворення на дні пробірки невеликого осаду кристалів;
- одноразового заморожування (для дослідження на вірусні інфекції до мінус 20 °С).

Неконсервована сироватка придатна для дослідження протягом 6 днів з моменту взяття крові, якщо її зберігають при температурі 4–8 °С. Сироватка, консервована борною кислотою, придатна для дослідження протягом 30 днів; заморожена – протягом 3–4 днів після одноразового розморожування. Каламутна, проросла, гемолізована сироватка дослідженню не підлягає.

2.11.4. У норок кров беруть у скляні капіляри. Для цього норку фіксують і зрізають ножицями кіготь або м'якуш одного з пальців задньої кінцівки. До краплі, що виступила, підставляють скляний капіляр, тримаючи його горизонтально. Після заповнення кров'ю капіляр з одного боку закривають пластиліном і ставлять у спеціальний штатив з пронумерованими гніздами. Після відбору проб штатив з капілярами переносять у тепле місце (краще термостат) при 38 °С на 40–50 хвилин для зсідання крові, а потім центрифугують при 1500–3000 об/хв. протягом 5–10 хвилин. Того ж дня ставлять реакцію.

2.13.5. Перед відправленням у лабораторію складають опис проб (два примірники) за наведеною формою.

2.12. Відбір матеріалу для патогістологічного дослідження.

2.12.1. Для патогістологічного дослідження матеріал (органи і тканини, в яких ті чи інші патологічні зміни) беруть із свіжих трупів або забитих тварин. З різних ділянок патологічно змінених органів (тканин) вирізують невеликі шматочки завтовшки 1–2 см. Матеріал повинен вміщувати патологічно змінену тканину та розміщену поряд нормальну.

При вирізуванні шматочка враховують мікроскопічну будову органа і тканини. Так, шматочки з нирки повинні складатися з коркового і мозкового шарів. При вирізуванні проб із органів однакової будови захоплюють і їх капсули.

2.12.2. Відразу ж після відбору матеріал переносять у фіксуючу рідину, об'єм якої в 10–20 разів повинен перебільшувати об'єм взятого матеріалу. Для фіксації найчастіше використовують 10%-й водний нейтральний розчин формаліну, що є в продажу, або 96%-й

етиловий спирт. Спирт застосовують для фіксації шматочків тканини завтовшки не більше 0,5 см. У всіх випадках фіксуючу рідину змінюють через добу. Патологічний матеріал фіксують у скляному посуді. Головний і спинний мозок фіксують у 10%-му нейтральному формаліні, що є в продажу. Формалін нейтралізують сухою крейдою або вуглекислою магнезією у співвідношенні 1:10 – 1:20 від об'єму формаліну. Шматочки мозку можна зберігати у 96%-му етиловому спирті, рідині Карнуа або суміші Буена.

2.12.3. Для гістохімічних досліджень патологічний матеріал фіксують у 96%-му етиловому спирті, рідині Карнуа (спирт абсолютний – 60 мл, хлороформ – 30 мл і льодяна оцтова кислота – 10 мл) або рідині Буена (концентрована пікринова кислота – 15 мл, формалін – 5 мл, льодяна оцтова кислота – 1 мл). На етикетці обов'язково вказують фіксуючий розчин.

2.12.4. При транспортуванні взимку патологічний матеріал, зафіксований формаліном, перекладають у 30–50%-й розчин гліцерину на 1%-му розчині формаліну або у 70%-й етиловий спирт чи в насичений розчин кухонної солі.

2.12.5. На банку з шматочками органів і тканини наклеюють етикетку, на якій вказують номер чи кличку тварини, всередину посуду опускають етикетку із щільного паперу чи картону, на якій простим (не хімічним) олівцем вказують номер тварини. В одну банку можна поміщати декілька проб від різних тварин при умові, якщо кожна з них зав'язують у марлю разом з окремою етикеткою.

2.13. Пакування і способи пересилання патологічного матеріалу.

2.13.1. Трупні дрібних тварин, частини трупів великих тварин та окремі органи в свіжому (не консервованому) вигляді доставляють в лабораторію тільки нарочним. При підозрі на інфекційні захворювання матеріал старанно запаковують у металевий ящик або термос, щоб виключити можливість поширення інфекції при транспортуванні. Перед пакуванням проби загортають у поліетиленову плівку або мішковину, зволожену дезінфікуючим розчином (феноловий креолін, лізол, вапняне молоко).

2.13.2. Проби консервованих органів, тканин можна доставляти у лабораторію нарочним або пересилати поштою. При цьому матеріал поміщають у скляний посуд, що герметично закривається притертим скляним, пластмасовим або гумовим корком. Останній закріплюють дротом, шпагатом і заливають сургучем, парафіном або воском. Потім посуд ставлять у міцний щільний ящик і обкладають ватою.

Кістки обгортають поліетиленовою плівкою або зволоженою в 5%-му розчині карболової кислоти марлею (полотною) і запаковують в ящики.

2.13.3. Якщо виникла підозра на особливо небезпечну інфекцію (сап, сибірка, бруцельоз, туляремія, перипневмонія великої рогатої худоби, чума свиней, ньюкальська хвороба, ящур, сказ), скляний посуд з патологічним матеріалом обов'язково вміщують у металеву коробку. Останню запаюють, пломбують або печатують, а потім запаковують ще в дерев'яний ящик.

2.13.4. На відібраний матеріал складають супровідний лист.

2.13.5. Якщо при розкритті посилки в лабораторії буде встановлена невідповідність супровідному документу або зіпсований патологічний матеріал, про це обов'язково складають акт, копію якого направляють лікарю ветеринарної медицини, який направив проби в лабораторію. В цьому випадку, а також при надходженні матеріалу без супровідного листа дослідження не проводять.

3. Відбір та пересилання патологічного матеріалу для дослідження на деякі вірусні

захворювання.

3.1. Сказ. Для дослідження на сказ у лабораторію направляють свіжі трупи дрібних тварин та голови великих. Для постановки біопроби можна використовувати проби мозку, консервовані 30–50%-м розчином гліцерину. Відібраний для дослідження патологічний матеріал упаковують у герметичну тару і в металевих контейнерах доставляють у лабораторію нарочним.

3.2. Ящура. Для дослідження беруть стінки і вмістиме афт з слизової оболонки язика великої рогатої худоби, з "п'яткачка" свиней, а також зі шкіри вінчика і міжпальцевої щілини великої та дрібною рогатої худоби, свиней, верблюдів та інших тварин. Афти повинні бути свіжі, дозрілі, незкриті. При відсутності афт беруть проби крові у хворих тварин у момент температурної реакції та кров тварин, що перехворіли, від трупів молодняка всіх видів відбирають лімфатичні вузли голови і заглоткового кільця, підшлункову залозу і м'язи серця. Для ретроспективної діагностики в лабораторію відправляють проби стравохідно-глоткового слизу. Для серологічного дослідження відбирають не менше 5 г стінок або вмістимого афт від 2–3 тварин. Загальна маса проб матеріалів для виділення та ідентифікації вірусу ящура повинна бути не менше 10 г. Проби патологічного матеріалу вміщують у флакони з корками, що загвинчуються чи притираються, і заморожують. При неможливості замороження пробу заливають консервуючою рідиною. Стінки і вміст афт консервують рідиною, що складається з нейтрального гліцерину наполовину із забуференим 0,15M розчином хлористого натрію або середовищем для культивування клітин (без сироватки). Інший патологічний матеріал консервують розчинами антибіотиків із широким спектром дії або гліцерино-фосфатним буфером. Флакони з пробами вміщують у термоконтейнер із льодом або холодоносієм і доставляють для дослідження не пізніше 48 годин з часу відбору. Заморожувати і консервувати проби не обов'язково, якщо є можливість доставити їх протягом 6–12 годин з моменту відбору.

3.3. Хвороба Ауескі. В лабораторію направляють труп або голову (головний мозок), заглоткові та бронхіальні лімфовузли, легені, печінку, селезінку, нирки від загиблих або забитих в атональному стані тварин. Для виявлення специфічних антитіл надсилають проби по 2–3 мл сироватки крові хворих і перехворілих тварин.

3.4. Ку-лихоманка. Для дослідження надсилають уражені легені, селезінку, плаценту, консервовані розчином гліцерину, а також кров і виділення тварин. Для серологічного дослідження доставляються проби сироватки крові.

3.5. Віспа. Для лабораторного дослідження готують мазки з вмістимого везикул хворої тварини та мазки-відбитки віспяних уражень шкіри, а також вмістиме везикул, цілі папули та пустули, вирізані разом із субепідермальною тканиною. Для вірусологічного дослідження набирають у капіляри пастерівських піпеток везикулярну рідину, потім піпетки вміщують у стерильні флакони чи пробірки. Цілі папули і пустули, вирізані ножицями на межі з неураженою тканиною, вміщують у флакон з 50%-м розчином гліцерину. Для гістологічного дослідження матеріал фіксують у 10 %-му розчині нейтрального формаліну.

3.6. Інфекційна анемія коней. Для серологічного дослідження в лабораторію надсилають сироватку крові; для гематологічного дослідження кров (10–12 мл), стабілізовану 20%-м розчином лимоннокислого натрію, яку беруть до годівлі та напування тварини. Від трупів і забитих тварин для гістологічного дослідження відбирають шматочки печінки, селезінки, нирок, серця, легень і лімфатичні вузли. Для постановки біопроби від коней, підозрілих у захворюванні, беруть проби сироватки крові або дефібринованої крові.

3.7. Інфекційний енцефаломієліт коней. Для гістологічного дослідження надсилають окремі ділянки головного мозку (амонієві роги, мозочок, довгастий та середній мозок), шматочки печінки, селезінки, нирок, стінки передсердя і шлуночка серця. Матеріал беруть від свіжих трупів і надсилають у скляному посуді.

3.8. Ринопневмонія коней. Від хворих тварин відбирають тампоном проби слизу з носової порожнини, від трупів – шматочки легень, вирізані на межі зміненої та нормальної тканини. Патологічний матеріал вміщують у пеніцилінові флакони з 2–5 мл розчину Хенкса і в термосі з льодом надсилають у лабораторію. Для виявлення специфічних антитіл у крові коней, які перехворіли на ринопневмонію, досліджують парні проби сироваток, взятих на початку захворювання (або в день аборту) і через 2–3 тижні після видужування тварини.

3.9. Грип коней. Вірус виділяють з носових змивів хворих коней у перші 2–3 дні від початку захворювання. Проби відбирають стерильними тампонами, зволженими фізіологічним розчином, якими ретельно протирають носові ходи. Потім тампони кладуть у пробірки, надсилають у лабораторію в термосі з льодом. Якщо на транспортування в лабораторію потрібно більше 4 годин, то проби вміщують у термос з льодом і доставляють у лабораторію. Для виявлення специфічних антитіл беруть парні сироватки крові на 10–14-й день після прояву перших клінічних ознак захворювання і на 21-й день після першого взяття сироватки.

3.10. Чума великої рогатої худоби. Для дослідження надсилають патологічний матеріал, взятий від хворих тварин у період найбільшого прояву у них клінічних ознак хвороби (висока температура, пригнічення, серозно-гнійні виділення з очей та носової порожнини, наявність ерозій на слизовій оболонці носової порожнини, пронос) або від забитих (загиблих) тварин не пізніше 4–6 годин від часу їх загибелі. Від хворих тварин беруть кров (5 мл) для виділення збудника і виявлення антитіл, а також пунктат лімфатичних вузлів для виявлення антигену. Від трупів направляють передлопаткові та мезентеріальні лімфатичні вузли, селезінку, печінку.

3.11. Респіраторно-кишкові інфекції великої рогатої худоби. Для дослідження надсилають патологічний матеріал від хворих тварин, взятий у період найбільшого прояву в них клінічних ознак (температура, пригнічення, запальні процеси у верхніх дихальних шляхах, що супроводжуються серозними чи слизовими виділеннями з носової порожнини, проноси, інколи аборти) або від забитих (загиблих) тварин не пізніше 2 годин від їх загибелі. Від хворих тварин беруть мазки з слизової носової порожнини, а при підозрі на інфекційний ринотрахеїт ще й з слизової оболонки очей, піхви (препуцію), проби крові – для визначення титру антитіл. Тампони з матеріалом вміщують у пеніцилінові флакони з 2–5 мл живильного середовища для культури клітин або розчину Хенкса, що містить по 1000 од/мл пеніциліну і стрептоміцину. Від трупів і забитих тварин беруть шматочки носової перетинки, трахеї, легень, селезінки, нирки, середостінні та брижові лімфатичні вузли, а при ентеритах – відрізки тонкого відділу кишечника. Від абортованих плодів беруть шматочки паренхіматозних органів та навколоплідну рідину. Флакони з патологічним матеріалом вміщують у термос з льодом і доставляють у лабораторію.

3.12. Лейкоз великої рогатої худоби. Для серологічного дослідження надсилають 2–3 мл сироватки крові. Для гематологічного дослідження кров беруть, дотримуючись правил асептики, з яремної вени в пробірки з антикоагулянтом – 10 %-м розчином ЕДТА, з розрахунку 0,02 см розчину на 1 см³ крові. Мазки крові виготовляють із свіжої або стабілізованої крові на знежирених предметних стеклах. Для патогістологічного дослідження

вирізають шматочки (2 x 1,5 см) селезінки, лімфатичних вузлів, печінки, нирок, легень, серця і правого вуха серцевого м'яза, сичуга, тонкого і товстого відділів кишечника, матки та скелетних м'язів.

3.13. Катаральна гарячка великої рогатої худоби, овець і кіз. Для вірусологічного дослідження в лабораторію від трупів чи забитих тварин направляють шматочки селезінки та лімфовузлів у свіжому вигляді або консервованих 30 %-м розчином гліцерину, приготовленому на фосфатно-буферному розчині (рН 7,2–7,4); проби крові хворих тварин у період температурної реакції. Проби крові (по 10 мл) відбирають і стабілізують таким же об'ємом антикоагулянту (розчином Едінгтона: 5 г щавлевокислого калію, 5 г карболової кислоти, 500 г гліцерину та на 500 мл дистильованої води). Для серологічних реакцій від хворих та перехворілих тварин беруть по 2–3 мл сироватки крові. Патологічний матеріал для вірусологічних досліджень відбирають не пізніше 2 годин з моменту падежу тварини в стерильні пробірки чи флакони і доставляють у лабораторію в термосі з льодом. Сироватку крові для серологічних досліджень можна зберігати при мінусовій температурі. Консервування сироваток хімічними реактивами не бажане.

3.14. Контагіозний пустульозний дерматит овець (контагіозна екстима). Для дослідження надсилають везикули, кірочки, струпи, некротизовані ділянки шкіри і слизових оболонок, паренхіматозні органи, консервовані розчином гліцерину, вміст везикул.

3.15. Аденоматоз легень овець. У лабораторію надсилають 2–3 мл сироватки крові хворих тварин. Від трупів і забитих тварин відбирають шматочки ураженої тканини легень, фіксовані в 10 %-му розчині формаліну.

3.16. Скрепі, вісна-маєді. При підозрі на скрепі та вісну беруть головний мозок (цілий) разом з м'якою мозковою оболонкою, при підозрі на маєді – шматочки уражених легень, бронхіальні та середостінні лімфатичні вузли і головний мозок. Матеріал фіксують 10 %-м розчином формаліну. Для дослідження направляють матеріал не менше як від 5 тварин.

3.17. Рикетсійний кератокон'юнктивіт. Для мікроскопічного дослідження надсилають секрети і відбитки з ураженої рогівки ока тварини.

3.18. Чума свиней. Для виділення вірусу класичної чуми свиней беруть проби крові, селезінки, лімфатичних вузлів, грудної кістки від двох-трьох тварин у перші дві години з моменту їх падежу чи забою в атональному стані. Для гістологічного дослідження від трупів або забитих свиней беруть головний мозок. Специфічні антитіла проти вірусу класичної чуми свиней визначають у сироватці крові від перехворілих тварин. Для гематологічного дослідження кров беруть з вухних вен у пробірки з антикоагулянтом – 10 %-м розчином трилону з розрахунку одна крапля на 1 мл крові.

3.19. Африканська чума свиней. Для дослідження використовують дефібриновану кров, 10 %-у суспензію селезінки чи лімфовузлів, отримані стерильно від тварини при виникненні підозри на це захворювання.

3.20. Трансмисивний гастроентерит свиней. В лабораторію направляють шматочки селезінки, легень, печінки, нирок, головного мозку та уражені ділянки тонкого відділу кишечника від забитих в агональному стані або загинблих тварин. Матеріал беруть не пізніше 2 годин з моменту падежу тварини і транспортують у термосі з льодом. Для серологічного дослідження надсилають парні сироватки крові хворих або перехворілих тварин.

3.21. Хвороба Тешена свиней. Для дослідження надсилають шматочки головного (мозочку, довгастого) і спинного мозку від трупів або забитих у стадії паралічу тварин. Для ретроспективної діагностики хвороби досліджують парні сироватки крові хворих і

перехворілих тварин.

3.22. Ентеровірусний гастроентерит свиней. В лабораторію від хворих тварин направляють ректальні змиви, взяті стерильним ватним тампоном, або зскрібки із слизової прямої кишки. Проби вміщують у пробірки з буферним розчином, що містить 1000 О.Д./мл пеніциліну і 1500 мкг/мл стрептоміцину. Від забитих в агональному стані свиней відбирають шматочки уражених ділянок голодної, клубової, ободової та прямої кишок, консервовані 30 %-м розчином гліцерину. Матеріал доставляють у термосі з льодом. Для ретроспективної діагностики надсилають парні (або одноразово відібрані) сироватки крові.

3.23. Везикулярна хвороба свиней і везикулярна екзантема свиней. В лабораторію направляють стінки нерозкритих везикул і не менше 2 мл везикулярної рідини від 2–5 хворих тварин. Везикули беруть із шкіри „п'яткачка”, вінчика і м'якушів копитець, з вим'я. Попередньо ці ділянки шкіри промивають водою з антибіотиками (по 1000 О.Д./мл пеніциліну і стрептоміцину). Стінки везикул зрізують ножицями, вміщують у стерильні пробірки і транспортують у термосі з льодом. Для ретроспективної діагностики направляють проби сироватки крові від 5–10 перехворілих тварин.

3.24. Парвовірусна інфекція свиней. Для виділення вірусу направляють абортвані плоди, а з метою виявлення антитіл відбирають 4–5 мл сироватки крові від свиноматок, які абортували, а також кров від новонароджених поросят, що не ссали молозива.

3.25. Ньюкаслська хвороба. Для виділення вірусу від хворої чи загиблої птиці беруть головний мозок, трахею, легені, селезінку, печінку, нирки. Проби патологічного матеріалу переносять, дотримуючись правил асептики, в скляний посуд, що вміщують у термос з льодом. Матеріал можна консервувати 50 %-м розчином гліцерину на дистильованій воді. Для ретроспективної діагностики проби крові беруть у птиці через 12–14 діб після прояву перших ознак хвороби. Для визначення антитіл у лабораторію надсилають сироватку крові від 25 голів птиці, взятих з різних місць приміщення.

3.26. Грип птиці. В лабораторію направляють трупи птиці, сироватку крові хворої та перехворілої птиці, а також головний мозок і селезінку від хворої чи загиблої птиці, взяті не пізніше 10–12 годин від часу її падежу. Патологічний матеріал вміщують у термос з льодом або в 50 %-й розчин гліцерину, приготовлений на фізіологічному розчині (рН 7,2–7,4).

3.27. Інфекційний бронхіт курей. В лабораторію для виділення вірусу направляють 5–10 клінічно хворих курчат, для ретроспективної діагностики – сироватки крові хворої та перехворілої птиці.

3.28. Інфекційний ларинготрахеїт птиці. Для вірусологічного дослідження від щойно загинувшої чи забитої у початковій стадії хвороби птиці беруть проби слизової оболонки гортані, трахеї, кон'юнктиви, носових ходів (включаючи ексудати) і легень. Матеріал доставляють у термосі з льодом. Для серологічного дослідження на 14-у і 28-у добу від початку захворювання беруть кров не менше як від п'яти голів птиці. Сироватку крові до початку дослідження зберігають без консервантів у замороженому стані при мінус 20 °С і нижче.

Дана інструкція затверджена Головою Державного департаменту ветеринарної медицини Мінсільгоспроду України 15 квітня 1997 р. № 15-14/111

СЛОВНИК ТЕРМІНІВ

Аглотинація – процес склеювання корпускулярного антигена з антитілом за наявності електролітів, який закінчується утворенням видимого неозброєним оком осаду – аглютинату.

Аглотиніни – антитіла, які мають властивість склеювати корпускулярні антигени (бактерії, еритроцити та ін.) і спричинювати їх аглютинацію. Відносяться до імуноглобулінів класу G та M.

Адаптація – процес зміни властивостей окремих клітин або популяцій мікроорганізмів, внаслідок чого вони стають більш пристосовані до нового або зміненого середовища проживання. Механізм адаптації має фенотипову або генотипову природу.

Адсорбція: 1) неспецифічний процес прикріплення віріонів до поверхні клітин та твердих тіл. Численна адсорбція віріонів на поверхні клітин може призвести до токсичного ураження організму. Адсорбція на частинках бентоніту, вугілля, барвників, еритроцитах використовується для концентрації вірусів та у РПГА; 2) специфічне (рецептор-рецепторне) прикріплення віріонів до поверхні сприйнятливих клітин. Перший етап вірусної інфекції.

Ад'юванти – чинники різного походження, які стимулюють діяльність імунної системи. До ад'ювантів відносять неорганічні, органічні та синтетичні речовини

Алергени: 1) імунопрепарати, які використовують для діагностики стану сенсibiliзації та алергійних захворювань; 2) хімічні речовини різного складу та походження антигенної або гаптенної природи, контакт організму з якими може призвести до виникнення сенсibiliзації.

Анафілактичний шок – гостра форма генералізованої алергійної реакції. Виникає після повторного в/в введення антигенів. Якщо негайно не вжити терапевтичних заходів, смерть у більшості випадків настає через кілька хвилин.

Анафілактоген – антиген, що спричинює анафілактичну реакцію.

Антиген–антитіло комплекс – макромолекулярний комплекс, що утворюється внаслідок специфічної взаємодії полівалентних розчинних антигенів із бівалентними антитілами.

Антиген гомологічний – антиген, що зумовлює утворення антитіл і вступає з ними в специфічну реакцію.

Антигени – хімічні речовини, які спричинюють імунну відповідь, що призводить до зміни імунологічної реактивності організму. Складається з антигенної детермінанти, яка зумовлює специфічність імунної відповіді і взаємодіє з антидетермінантою антитіла та стабілізатора, відповідального за індукцію імунної відповіді. Основні властивості антигена – здатність зумовлювати імунну відповідь та взаємодіяти з антитілом або рецепторами лімфоцитів.

Антитіла – сироваткові або секреторні імуноглобуліни, які специфічно взаємодіють з гомологічними антигенами та гаптенами. Основними продуцентами антитіл є плазматичні клітини, що утворюються внаслідок гуморальної імунної відповіді на гомологічний антиген. У людини виділяють 5 класів імуноглобулінів: G, M, A, D, E. Кожний клас має характерні властивості.

Афінитет – поняття, що характеризує міцність з'єднання антигенної детермінанти антигена й активного центру антитіла в реакції антиген–антитіло.

Бактеріофаги (фаги) – віруси бактерій, що специфічно проникають у бактерії, та паразитують у них і призводять до загибелі (лізису) бактеріальної клітини.

Бляшки – 1) багаточарові скупчення уражених вірусом клітин на ХАО курячого ембріона; 2) зони моношару культури клітин, які містять уражені вірусом клітини; 3) вільні від бактерій зони серед суцільного росту бактерій на поверхні поживного середовища, зумовлені літичною дією бактеріофага. Використовують для визначення титру вірусів, а також для індикації та ідентифікації вірусів, бактеріофагів і бактерій.

Бокси – спеціальні ізольовані приміщення, призначені для виконання робіт, що потребують стерильності або безпечного перебування людей.

Бустер-ін'єкція – багаторазове введення антигена з метою стимуляції синтезу антитіл.

Вакцини противірусні – тип імунопрепаратів, які використовують для специфічної профілактики вірусних інфекцій створенням активного імунітету. Вакцини противірусні готують з: 1) інактивованих вірусних або заражених вірусами клітинних суспензій; 2) живих атенуйованих штамів вірусу; 3) протективних молекулярних антигенів або структурних субодиниць віріона; 4) вірусних антигенів, що продукуються бактеріями або дріжджами, в геном яких генноінженерним способом інтегрований ген вірусів, відповідальний за синтез протективних антигенів. Ефективні противірусні вакцини індують розвиток Т-цитотоксичного імунітету, спрямованого проти інфікованої вірусом клітини, та синтез антитіл, які нейтралізують віріон.

Варіант – це вірус, який фенотипічно відрізняється від дикого типу, але разом з тим генотипічна основа цієї відмінності невідома.

Вестерн-блотінг – система мічених *in vitro* або *in vivo* в 6 – 15 % градієнтному поліакриламідному гелі білків, перенесених на нітроцелюлозний фільтр. Приналежність білка встановлюється після інкубації з імунною сироваткою

Віварій – приміщення, експериментально-біологічна лабораторія, призначені для утримання лабораторних тварин і проведення на них експериментів.

Віремія – фаза патогенезу вірусних інфекцій, яка характеризується циркуляцією вірусів у крові. Розрізняють первинну віремію, коли вірус проникає в кров з місця первинного розмноження, та вторинну, джерелом якої є вторинні (центральні) осередки розмноження вірусу.

Віріон – позаклітинна форма (стадія) вірусів, форма спокою. Виконує функцію перенесення генома вірусів з однієї клітини до іншої або з одного організму до другого. Віріони мають форму багатогранника, палички, сфери, овоїда, паралелепіпеда, сперматозоїда, нитки. Розмір їх 20 – 300 нм. Віріони одного роду виражено однорідні за формою та розмірами. Віріони безоболонкових вірусів складаються з нуклеоїду та капсиду, оболонкових вірусів – з нуклеоїду, капсиду та суперкапсиду, на поверхні якого часто є виступи (фібри).

Вірогенія – тривале співіснування вірусів та їх хазяї, за якого геном вірусу інтегрований з геномом клітини-хазяїна

Віроїди – молекули РНК, збудники інфекційних хвороб рослин. Не мають генетичного коду. Їм притаманні спадкова мінливість та адаптація до умов існування.

Віропексис – процес проникнення вірусу у клітину господаря.

Вірулентність – властивість, яка визначає ступінь або міру патогенності окремих штамів мікроорганізмів. Зазнає виразної мінливості. Виділяють високо-, помірно-, слабковірулентні та авірулентні штами.

Віруси-помічники – віруси, геном яких містить інформацію, необхідну для розмноження вірусів-сателітів

Віруси-сателіти – дефектні віруси, що розмножуються за наявності вірусів-помічників.

Вірусна частинка – окрема особина вірусу, як правило, у формі віріона.

Вірусні включення – видимі в простий мікроскоп утворення, які виникають в інфікованих вірусом клітинах. Мають діагностичне значення. Виявляють спеціальними методами забарвлення.

Вірусні інфекції: 1) група інфекційних захворювань рослин і тварин, спричинених вірусами. Основними особливостями вірусних інфекцій є облігатний внутрішньоклітинний паразитизм збудників, їх метаболічна, енергетична та екологічна залежність від хазяїна, облігатний цитотропізм, інші механізми ураження вірусом хазяїна. Їх поділяють на осередкові (місцеві) та генералізовані, гострі й персистуючі. Персистуючі інфекції диференціюють на латентні (безсимптомні), хронічні та повільні; 2) процес взаємодії вірусів та клітин-хазяїв. Виділяють гостру та хронічну продуктивну вірусну інфекцію, за якої утворюється нове покоління вірусів, абортивну літичну інфекцію та інтегральну (лізогенну) інфекцію і вірусні пухлини.

Вірусні хвороби – хвороби, спричинені вірусами у своїх хазяїв. Виділяють вірусні інфекції та вірусні пухлини.

Вірусологія – біологічна наука про морфологію, фізіологію, генетику, екологію та еволюцію вірусів.

Медична вірусологія вивчає віруси – паразити людини, їх роль в етіології й патогенезі інфекційних та пухлинних хвороб, розробляє спеціальні методи діагностики, способи етіотропної терапії та специфічної профілактики.

Включення вірусні – поліморфні розміром 0,5– 10 мкм новоутворення, які з'являються в ядрі або цитоплазмі клітин-хазяїв у процесі продуктивної вірусної інфекції. Являють собою скупчення простих і складних віріонів або продуктів їх розпаду, агрегати капсидного білка.

Генофон вірусу – генетичний склад вірусної популяції.

Генотип вірусу – визначається тільки структурою спадкоємного матеріалу – ДНК чи РНК, тобто послідовністю нуклеотидів у їх молекулах і може змінюватися у результаті мутацій, які відбуваються в геномі.

Гаптен – неповноцінний антиген, який, на відміну від повноцінного, не спричинює утворення антитіл або сенсibiliзації лімфоцитів. До гаптенів належать ліпіди, низькомолекулярні вуглеводи, нуклеїнові кислоти та інші речовини. Взаємодіючи з білком, гаптени стають повноцінними антигенами і є їх детермінантами.

Ексони – кільцеподібні структури із шести білкових субодиниць в ікосаедричних капсидах вірусів.

Гемаглютинація: 1) явище склеювання еритроцитів вірусами, на поверхні яких є гемаглютиніни. Проявляється в утворенні на дні лунки широкого осаду у вигляді «парасольки». Використовують у реакціях гемаглютинації та гальмування гемаглютинації для індикації та ідентифікації вірусів; 2) процес склеювання еритроцитів у видимі неозброєним оком агрегати.

Гемаглютиніни – білкові виступи (фібри) на поверхні віріонів. Виконують функції рецепторів. Склеюють еритроцити різних видів тварин. Мають антигенну та протективну активності. Їх розрізняють за антигенною специфічністю, спектром еритроцитів, які аглютинуються, умовами аглютинації, властивістю елюції.

Гемадсорбція – явище прикріплення еритроцитів до інфікованих вірусами клітин (клітинного моноциту). Використовуються в реакціях гемадсорбції та гальмування гемадсорбції для індикації та ідентифікації вірусів.

Геном вірусів – генетичний апарат вірусів, представлений однією з чотирьох різновидів молекул НК: 1- або 2-нитковою РНК, 1-або 2-нитковою ДНК. Більшість вірусів має один суцільний або фрагментарний геном лінійної або замкнутої форми. Ретровіруси мають два ідентичних за складом геноми. Геном містить 3 – 150 генів. Крім того, в ньому є послідовності, що не несуть генетичної інформації. Гени поділяють на структурні (кодують синтез білків і входять до складу віріона) і функціональні, або регуляторні (змінюють метаболізм клітини-хазяїна і регулюють швидкість репродукції вірусу). Однориткові геноми мають дві полярності: позитивну, коли НК одночасно є матрицею для синтезу нових геномів та іРНК, і негативну, яка виконує лише функцію матриці. Віруси можуть збільшувати щільність генетичної інформації шляхом: 1) подвійного зчитування інформації з молекули іРНК; 2) зсування рамки зчитування; 3) сплайсингу; 4) транскрипції з частин НК, які перекриваються. Геном вірусу може змінюватися шляхом мутацій, рекомбінацій, негенетичних взаємодій

Геноми вірусні – сукупність генетичної інформації, закодованої в РНК або в ДНК вірусів. Організація геномів вірусних варіабельна: одні віруси мають суцільну молекулу НК, інші – кілька окремих молекул, що несуть різну або однакову інформацію, а в деяких геном складається з кількох сегментів молекул НК.

Генотип – сукупність діючих та репресованих генів, які входять до складу хромосомних та позахромосомних факторів спадковості індивідуума.

Гібридизація – об'єднання в одну молекулу одноритчастих НК або їхніх фрагментів, вірусів, які належать до різних видів (варіантів). Виникає у випадках наявності комплементарних послідовностей нуклеотидів. Важливий механізм мінливості вірусів. Використовується в реакціях молекулярної гібридизації для ідентифікації вірусів.

Гібридні віруси – віруси зі змішаним геномом, який утворився внаслідок міжмолекулярної гібридизації.

Дезінтеграція вірусів - розпад віріона на складові, що настає в процесі вірусної інфекції клітини або під дією фізичних факторів, протимікробних речовин.

Депротейнізація – стадія вірусної інфекції клітини, що полягає у звільненні вірусу від капсули та суперкапсиду за допомогою протеаз господаря.

Дефектні віріони – віруси, позбавлені частини генетичного матеріалу. Накопичуються у популяції багатьох вірусів при множинному зараженні клітин.

Дефектні віруси – популяції вірусів, що не мають повної генетичної інформації для самовідтворення. Репродукція їх відбувається у присутності вірусів-помічників.

Денатурація – структурні зміни макромолекул (здебільшого незворотні) внаслідок сильного нагрівання, зміни рН середовища, хімічного оброблення. Порушення природної конфігурації супроводить зменшення розчинності, втратою біологічних властивостей, зниженням або, навпаки, підвищенням імуногенності, зміною структури антигенних детермінант.

Додт-блот гібридизація – метод виявлення вірусу, який полягає в іммобілізації вірусної НК на нітроцелюлозі з наступною гібридизацією її з комплементарною НК у якості зонда.

Дрейф генів – випадкова зміна генотипів (частот алелей), що виникає в невеликій поліморфній популяції при зміні поколінь.

Еволюція вірусів – підлягає загальним закономірностям еволюційного процесу органічної матерії. Особливістю еволюції вірусів є високі темпи, тісний взаємозв'язок та взаємний вплив з еволюцією хазяїнів. Особливо високі темпи еволюції у вірусів з фрагментарним геномом, РНК-вірусів, що утворюють ДНК-копію генома, вірусів з ондонитчастим РНК-овим геномом. У першому випадку вона визначається високою частотою рекомбінацій в разі змішаної інфекції, у другому і третьому – частими помилками за транскрипції генетичної інформації. У сучасний період темпи еволюції вірусів ще більше прискорилися внаслідок посилення тиску антропогенних факторів.

Екотропні віруси – віруси, що розмножуються в клітинах хазяїна близькородинних видів.

Електронна мікроскопія – метод дослідження морфології мікроорганізмів на різних етапах їх розвитку, взаємодії їх з хазяїнами, реакції на різні пошкоджувальні агенти, а також з метою діагностики вірусних інфекцій шляхом виявлення їх у патологічному матеріалі

Ембріони курячі – модель для лабораторного культивування вірусів. Використовують 4– 13-добові ембріони з добре вираженими судинами і рухливою тінню («оком»). Віруси або матеріал, що їх містить, вводять на ХАО, в алантоїсну, амніотичну порожнину, в тіло та судини ембріона. Індикацію проводять за допомогою РГА, загибелі ембріонів, появи бляшок на ХАО, ідентифікацію – серологічними реакціями.

Ендогенні провіруси – віруси, які передаються від материнської клітини дочірній через геном так званим вертикальним шляхом.

Зараження експериментальне – штучне введення лабораторним тваринам досліджуваної культури мікроорганізмів, токсинів, матеріалу, в якому передбачається наявність мікробів або їх токсинів. У мікробіології застосовують для відтворення захворювання або його ознак, для встановлення етіологічного діагнозу, ідентифікації мікроорганізмів.

Зворотна транскриптаза, ревертаза, РНК-залежна ДНК полімераза – фермент, що утворює ДНК-копії у РНК-геномних вірусів. Трапляється в деяких РНК-вірусів, що мають ондонитковий негативний геном. Забезпечує можливість інтеграції РНК-генома вірусів у хромосому ДНК клітин-хазяїнів.

Знезаражування – спосіб звільнення об'єктів зовнішнього середовища від патогенних мікроорганізмів за допомогою методів дезінфекції та стерилізації.

Зоовіруси – віруси-паразити тварин.

Зоонози – інфекційні захворювання, джерелом яких є інфіковані тварини. Розрізняють: 1) строгі зоонози – інфекційні захворювання, які бувають лише серед тварин; 2) зооантропонози – інфекційні захворювання, які передаються від тварин людям.

In vitro – в умовах пробірки.

In vivo – в умовах живого організму.

Ідентифікація вірусів – лабораторний процес визначення систематичного положення невідомого штаму вірусів аж до виду або варіанту.

Ізоляти природні – штами вірусів, виділені з природних хазяїнів.

Ізометричні віруси – віруси, капсид яких побудований за кубоїдальним типом симетрії. Мають форму багатогранників, частіше – ікосаедра.

Імунітет – сукупність захисно-адаптаційних реакцій і пристосувань, спрямованих на збереження сталості антигенного складу внутрішнього середовища організму шляхом розщеплення, нейтралізації, блокування або вилучення паразитів, сторонніх клітин і речовин антигенної природи.

Імунітет противірусний – сукупність захисноадаптаційних пристосувань, спрямованих на захист організму від ушкоджуючої дії вірусів. Загальні закономірності імунітету противірусного аналогічні імунітету проти патогенів іншої природи. Особливості природного противірусного імунітету полягають у великому значенні ареактивності клітин, наявності в секретах противірусних інгібіторів, інших механізмів противірусної дії комплементу і фагоцитів, у меншій захисній ролі нормальної мікрофлори, відсутності її в лізоциму, у руйнуванні інфікованих вірусом клітин натуральними кілерами. Внутрішньоклітинні форми вірусу спричинюють цитотоксичний варіант клітинної імунної відповіді, яка спрямована проти інфікованих вірусом клітин. Позаклітинна форма вірусу індукує гуморальну імунну відповідь. Утворені внаслідок цього антитіла блокують прикріплення віріонів до мембран сприйнятливих клітин і знижують їх токсичну дію

Імуноферментний метод із застосуванням імуносорбенту – метод виявлення антитіл або антигена, за якого фермент використовується як носій. Інтенсивність перетворення субстрату пропорційна вмісту ферменту і концентрації досліджуваного компонента (антитіл або антигена).

Індикація вірусів – лабораторний процес встановлення наявності не ідентифікованих вірусів у досліджуваному матеріалі або в системі культивування вірусів (перевірка наявності збудника в зразках). Здійснюється шляхом електронної мікроскопії, виявлення цитопатичної дії та утворення включень, реакціями гемаглютинації, гемадсорбції, гемолізу, наявності пляшок на ХАО курячого ембріона та культури клітин під агаровим покривом, за ознаками експериментальної інфекції.

Інтегральні інфекції - це інфекції, за яких геном збудника вбудовується в геном сприйнятливих клітин господаря.

Інтеграція – процес включення вірусної НК в хромосому ДНК клітини-хазяїна.

Інтерферони – низькомолекулярні білки хребетних, які мають противірусну активність. Розрізняють три класи інтерферонів: 1) α - інтерферон – лейкоцитарний; 2) β - інтерферон – фібробластний; 3) γ - інтерферон – імунний.

Інфекція (інфекційний процес) – сукупність фізіологічних і патологічних відновно-пристосувальних реакцій, що виникають у сприйнятливому макроорганізмі за певних умов навколишнього середовища в результаті його взаємодії з патогенними або умовно-патогенними бактеріями, вірусами та грибами, що проникли і розмножуються в ньому.

Капсид вірусів – порожнинна білкова структура, в порожнині якої знаходиться вірусний геном (нуклеоїд). Утворений з одного, рідше – двох шарів білкових субодиниць (капсомерів) за спіральним або кубоїдальним типом симетрії, які утримуються під дією міжмолекулярних та ковалентних сил. У полігеномних вірусів кожний геном (фрагмент) знаходиться в своєму капсиді. Капсиди складних вірусів виконують функції стабілізації генома та його захист від зовнішніх ушкоджень, у простих вірусів, крім того, – рецепторну та ферментативну функції.

Класифікація вірусів – віруси виділені в самостійне царство *Vira* разом з вірусоподібними організмами – віроїдами та пріонами. Описано 2430 самостійних вірусів, які поділені на 73 родини та групи. Більшість РНК-геномних вірусів–паразитів людини

належать до родин пікорна-, тога-, флаві-, корона-, параміксо-, ортоміксо-, рабдо-, арена-, ретровірусів. Серед ДНК-геномних вірусів у людини паразитують представники родин парво-, папова-, адено-, іридо-, гепадна-, герпес- та поксвірусів. Родини поділяють на роди, роди – на види, види – на варіанти (типи).

Клон – це вірус, популяція якого походить від одного віріону і представляє собою сукупність генетично однорідних вірусних часток.

Контагіозність – легкість, з якою збудник хвороби передається від зараженого організму сприйнятливому.

Культура тканин: 1) невдалий синонім культури клітин; 2) синонім органної культури; 3) переживаюча культура суспензованих у поживному середовищі шматочків подрібненої тканини, або «експлантатів» тканин, оточених згустком плазми. На периферії шматочків клітини починають рости, що можна використати для культивування вірусів. Тепер застосовується рідко в яких групах виділяють таксони підродин та підродів. Правила номенклатури такі самі, як у біологічній систематиці.

Лізогенія – явище інтеграції геному помірною фага з бактеріальною хромосоною. Такі лізогенні бактерії мають здатність передавати геном фага у спадок, продукувати в певних умовах зрілий фаг, імунні до суперінфекції гомологічним фагом.

Ліофілізація – метод висушування матеріалу із замороженого стану під вакуумом. У мікробіології застосовують для довгострокового зберігання культур мікроорганізмів, живих вакцин, плазми й сироватки крові та препаратів з них.

Локалізація – місце знаходження мікробного вогнища, первинне або вторинне місце знаходження збудника хвороби в тілі хазяїна.

Макрофаги – основний тип клітин системи мононуклеарних фагоцитів. Це великі (10–24 мкм) довгоіснуючі клітини з добре розвинутими лізосомальним та мембранним апаратами. Фіксовані макрофаги локалізуються в дихальних шляхах (альвеолярні), очеревині (перитонеальні), печінці (купферівські), селезінці, та лімфатичних вузлах. Рухливі макрофаги мігрують у сполучно-тканинні прошарки усіх тканин, особливо запалених.

Матрац – плоска скляна посудина ємністю в 1,5 л або більше, яка використовується для накопичення біомаси мікробів.

Мікромметр, мкм – одиниця виміру довжини, що дорівнює 10^{-6} м

Мінливість – властивість, протилежна спадковості. Мінливість вірусів може бути обумовлена мутацією генів, сполученням їх при рекомбінації і різному прояві ознак, що залежать від зовнішніх умов (модифікаційна мінливість).

Мікроскоп електронний – збільшувальний пристрій, який відрізняється від світлового мікроскопа більшою роздільною здатністю (близько 0,001 мкм), використанням замість видимого світла пучка електронів, а замість оптичних лінз – електромагнітних.

Мікроскоп люмінесцентний – складний оптичний пристрій, призначений для дослідження первинно- або вторинно-флюоресціюючих об'єктів, невидимих неозброєним оком. Для освітлення об'єкта використовують ультрафіолетові промені.

Мікроскоп світловий – складний оптичний пристрій, призначений для спостереження за живими й неживими об'єктами та їхніми структурними елементами, невидимими неозброєним оком. Для освітлення об'єкта використовують природне (розсіяне) світло або штучне освітлення.

Мікроскопія – дослідження за живими та неживими об'єктами та їхніми структурними елементами за допомогою складного оптичного пристрою.

Мікроскопія в світловому мікроскопі імерсійна: 1) мікроскоп установлюють у робоче положення; 2) на столик мікроскопа кладуть мікропрепарат; 3) наводять освітлення; 4) за малого збільшення знаходять підходяще для мікроскопії поле зору; 5) піднімають тубус, наносять на обране місце краплю імерсійної олії; 6) поворотом револьвера приводять у робоче положення імерсійний об'єктив; 7) фронтальну лінзу об'єктива під контролем ока опускають у краплю олії і, дивлячись в окуляр, обережно піднімають тубус. За появи зображення переносять руку на мікровинт і установлюють чітке зображення.

Мікроскопія люмінесцентна – дослідження первинно- або вториннофлюоресціюючих об'єктів у спеціальному люмінесцентному мікроскопі або в люмінесцентній приставці до світлового мікроскопа.

Мікроскопія у фазово-контрастному мікроскопі – ґрунтується на перетворенні змін по фазі, що виникають під час проходження світлової хвилі через об'єктиви і вловлюються оком.

Мікрофаги – лейкоцити поліморфно-ядерні (нейтрофіли, базофіли, еозинофіли).

Мутант – організм, у якого внаслідок мутації виникли нові порівняно з батьківською формою ознаки або відрізняється від польового типу за відомими генетичними ознаками.

Нейрамінідаза – фермент, що розриває зв'язок між нейраміною кислотою та іншими моносахаридами, що входять до складу глікопротеїдів, гангліозидів, олігосахаридів. Нейрамінідаза входить до складу суперкапсидів деяких вірусів і виконує функцію руйнування рецепторів сприйнятливих клітин та виходу вірусного потомства із клітини господаря. Нейрамінідаза використовується для ідентифікації вірусів та створення противірусних вакцин.

Нейротропність – властивість вірусів розмножуватися переважно в клітинах нервової системи, зумовлене постійною присутністю на їхній поверхні рецепторів, комплементарних рецепторам вірусів, або появою таких рецепторів під час хвороби. Популяції вірусів високо гетерогенні та мінливі за цією властивістю.

Нейтралізація вірусів – втрата вірусами інфекційної активності внаслідок дії будь-яких факторів, напр., антитіл. Використовується в реакції нейтралізації

Неповні віруси – віруси, віріони яких позбавлені частини генома, що призводить до втрати ними інфекційної активності. Певна частина неповних вірусів є в популяції будь-яких вірусів. Вона більша у вірусів, які мають фрагментарний геном, а також у випадку серійних пасажів та множинної інфекції.

Нозологія – вчення про етіологію, патогенез, патоморфологію, клініку, епідеміологію хвороб, мета якого – за сукупністю патологічних станів виділити конкретні захворювання, які називаються нозологічними формами.

Номенклатура вірусів – перелік вірусів, що підлягають принципам та правилам біологічної систематики.

Нуклеокапсид – структура віріона, яка складається з нуклеоїду та капсиду, який його оточує.

Оболонка вірусів – поверхнева структура, яка складається у простих вірусів із капсиду, а в складних вірусів – із капсиду та суперкапсиду.

Онкогенні віруси – РНК- та ДНК-геномні віруси, які призводять до розвитку злоякісних пухлин у ссавців, птахів та інших хребетних тварин, зокрема людини.

Онкогенність вірусів – властивість вірусів перетворювати нормальну клітину на пухлинну. Характерна для онкогенних та деяких інфекційних вірусів.

Опорутистичні інфекції – інфекції, що викликаються опорутистичними мікроорганізмами, які зазвичай не здатні до можливості розвитку хвороби у тварин зі здоровою імунною системою, але можуть спричинити хворобу у тварин з ослабленою імунною системою, імунодефіцитом.

Паліндромні послідовності – унікальна послідовність нуклеїнових кислот (ДНК, РНК), що містять однакові нуклеотиди, які однаково читаються в обох напрямках (якщо читати їх у напрямку 5-3 на одному ланцюгу та в напрямку 5-3 на другому, комплементарному першому ланцюгу).

Патогенез – механізм виникнення й розвитку хвороби. У патогенезі інфекційного захворювання беруть участь пошкоджуючі та захисно-приспосувальні реакції, які залежать від збудника захворювання, фізіологічного стану та реактивності макроорганізму. Локалізація збудника, його поширення, тривалість виділення з організму, характер імунологічних реакцій дають змогу будувати схеми мікробіологічної діагностики захворювання та його антимікробної терапії.

Патогенність вірусів – видова потенційна здатність вірусів спричинювати інфекційний процес у своїх хазяїнів. Контролюється, як правило, декількома генами, що забезпечують прикріплення віріона до клітини, проникнення його в цитоплазму клітини, блокаду клітинного генома, синтез компонентів вірусу, вихід нової генерації вірусів із клітини, який здебільшого призводить до лізису клітини. Інфікована вірусом клітина може загинути також внаслідок індукції імунної відповіді з утворенням цитотоксичних лімфоцитів та антитіл. Патогенність проявляється також у токсичній дії віріонів

Пепломери, фібри – ліпопротеїдні або глікопротеїдні виступи суперкапсиду вірусів, які виконують рецепторну або іншу функцію.

Пеплос – 1) зовнішня частина суперкапсиду вірусів, яка складається з пепломерів; 2) іноді застосовують як синонім суперкапсиду.

Персистенція вірусів – довготривале вегетування або існування вірусу в організмі природного хазяїна або штучній системі для культивування вірусів. Проявляється в латентній, хронічній або повільній маніфестній інфекції організму. У випадках маніфестної інфекції вірус призводить до хронічної малопродуктивної інфекції сприйнятливих клітин без множинної їхньої загибелі. За латентної інфекції геном вірусу або інтегрує в геном хазяїна, або кілька копій генома у вигляді епісом знаходяться у цитоплазмі клітини.

Повільні інфекції – група персистуючих інфекцій, що характеризується тривалим інкубаційним періодом, повільним прогресивним перебігом, важкими дегенеративними ураженнями переважно нервової системи та високою летальністю.

Позитивний геном, плюс-геном – одностаттєві РНК- або ДНК-геноми вірусів, які виконують функції матриці для синтезу нових геномів та одночасно іРНК

Полімерази вірусні – ферменти, які каталізують процес синтезу НК з рибонуклеозидтрифосфатів або дезоксинуклеозидтрифосфатів на матричній НК. Розрізняють ДНК-залежну ДНК-полімеразу, РНК-залежну РНК-полімеразу, ДНК-залежну РНК-полімеразу та РНК-залежну ДНК-полімеразу, які синтезують відповідно молекули ДНК, РНК, іРНК, ДНК-копію РНК-геномних вірусів. Останній тип полімераз називається зворотною транскриптазою. Полімерази одних вірусів входять до складу віріона, інших – утворюються після проникнення вірусу в клітину під контролем вірусного генома. У вірусів з фрагментарним, поліплоїдним геномом є кілька полімераз.

Поліплоїдія – явище, коли в складі віріону є два ідентичних геноми, два або більше різних геномів, один геном, який містить генетичну інформацію двох вірусів.

Провірус – латентна (прихована) неінфекційна форма існування вірусу або помірного бактеріофага (профага) в клітині.

Прокапсид – структури з капсомерів вірусів, що передують утворенню нуклеокапсиду.

Противірусні інгібітори: 1) мукопротеїди та ліпопротеїди біологічних рідин, які блокують процес прикріплення вірусів до клітинних мембран; 2) хімічні речовини, які гальмують синтез біомолекул, що входять до складу віріона. Для інгібіції ДНК використовують фтордезоксиридин, аміноптерин, арабінозиднуклеозиди тощо; РНК – актиноміцини Д, альфа-аманітин тощо; білка – глутаримідні антибіотики, пуроміцин, лактаміцин тощо; мітозу – колхіцин та колцемід; цитокінезу – цитохалазин тощо.

Профаг – форма існування помірного фага, коли нуклеїнова кислота фага інтегрована з хромосоною бактерій.

Псевдовіруси – вірусоподібні частинки, що складаються з оболонки вірусу та нуклеїнової кислоти господаря.

Репарація – процес відновлення дефектів у геномі, що здійснюється спеціальною системою ферментів.

Віруси не мають власної системи репарації. Репарація генома в них здійснюється механізмами реактивації

Реплікація – процес утворення нових молекул НК, що здійснюється полімеразами. Матрицями для реплікації ДНК є односторонні молекули НК з позитивною полярністю.

Репродукція вірусів – процес утворення нової генерації вірусів. Відбувається у живих клітинах і складається з кількох етапів: 1) прикріплення віріону до рецепторів мембран господаря; 2) проникнення віріона або вірусного геному в клітину-хазяїна; 3) звільнення геному від оболонки; 4) гальмування активності геному господаря; 5) множинна реплікація вірусного геному; 6) синтез вірусних білків; 7) складання віріонів; 8) вихід дочірніх віріонів із клітини-господаря.

Респіраторні віруси – численна різноманітна група вірусів, місцем розмноження яких є дихальні шляхи.

Рецептори вірусні – морфологічні субодиниці віріонів ліпо- або глікопротеїдної природи, які виконують функцію адсорбції віріонів на поверхні сприйнятливої клітини. Взаємодія відбувається за комплементарним типом. Беруть участь у процесах вірусної інфекції клітини, лізису, злиття, аглютинації клітин хазяїнів

Рецептори клітин для вірусів – білки поверхні клітини, на яких відбувається специфічне зв'язування віріонного білка (вірусного рецептора, антирецептора), за яким віруси проникають у клітину. Визначають тканинний тропізм вірусів. У частини клітин рецептори відсутні, у другій частині вони недосяжні для вірусу, що робить їх несприйнятливими до вірусів.

Реплікація ДНК – процес самовідтворення молекул нуклеїнових кислот шляхом копіювання, передавання інформації від ДНК до ДНК, або від РНК до РНК.

Риновіруси – рід родини пікорнавірусів, який відрізняється від інших пікорнавірусів тропізмом до дихальних шляхів. Лабільний за рН 7. Термостабільний за температури 55°C. Культивують на культурах клітин людини (Н-штами) і мавп (М-штами), утворюючи в умовах підвищеної аерації та підвищеної температури вогнищево ЦПД за поліморфноклітинним типом. Виділяють 113 сероварів риновірусів людини і 2 – коней та

великої рогатої худоби. Спричинюють гостру заразну нежить. Знаходять в РІФ, виділенням культури, постановкою РЗК та РН.

РНК-полімераза II – еукаріотичний ензим, що грає центральну роль у процесі транскрипції протеїн-кодуючих генів.

Розмноження вірусів – процес утворення нової генерації вірусів, подібної до вихідної. Відбувається багатоваріантно в живих метаболічно активних клітинах тварин, рослин, бактерій, які є хазіянами цього виду вірусу. Розмноження вірусів у загальних рисах складається з: 1) прикріплення віріона до рецепторів мембран клітин хазіяна; 2) проникнення віріона або вірусного генома в клітину-хазіяна; 3) звільнення генома від оболонки; 4) гальмування активності генома хазіяна; 5) множинна реплікація вірусного генома; 6) синтезу пула структурних білків вірусу; 7) збирання віріонів; 8) виходу дочірніх віріонів з клітини-хазіяна. У разі гострої продуктивної інфекції клітина-хазяїн гине під час виходу віріонів, у разі хронічної може жити і навіть більш менш тривалий час виконувати властиві їй функції (залежно від виду інфекції).

Сегментований геном – геном, що складається з кількох сегментів (молекул) віріонної НК. Кожний сегмент кодує синтез одного, рідше – двох вірусних білків.

Серин – одна з амінокислот, що утворюють білки.

Серологічна діагностика вірусних інфекцій – сукупність серологічних реакцій, які використовують для встановлення наростання титру антитіл до гаданого збудника в сироватці хворих людей у процесі захворювання і, отже, встановлення етіологічного діагнозу. Належить до пізніх методів діагностики.

Серологічні реакції – пробірочні реакції специфічної взаємодії антигенів та антитіл. Використовують для ідентифікації антитіл та антигенів, а також для визначення їх кількості (концентрації) і однорідності. У вірусології застосовують РГГА, РН, РЗК, РІФ, ІФА, РІА, РІП, ІЕМ, реакцію гемадсорбції, зустрічний імуоелектрофорез.

Складання віріонів – високоспецифічний процес взаємодії білкових і нуклеїнових молекул, що призводить до утворення віріона. У простих РНК-геномних вірусів з кубічною або спіральною симетрією складання віріонів полягає у взаємодії вірусного генома з капсидними білками за допомогою реплікативного комплексу. У складних РНК-геномних вірусів нуклеокапсид утворюється так само, як у простих вірусів. Формування суперкапсиду – складний багатоступеневий процес, який відбувається в цитоплазматичній мембрані або в спеціальних мембранних структурах. У складних ДНК-геномних вірусів спочатку утворюються окремо капсид та нуклеоїд, а потім нуклеоїд вноситься в порожній капсид. Подальша добудова віріона відбувається в цитоплазматичній мембрані або ендоплазматичному ретикулумі.

Спадковість – це властивість організмів забезпечувати матеріальну і функціональну наступність між поколіннями, а також обумовлювати специфічний характер індивідуального розвитку.

Суперкапсид – зовнішня оболонка складних вірусів. Розміщується поверх капсиду. Складається з мембранного білка, одного-двох шарів ліпідів і пеплосу. У процесі оброблення ефіром руйнується. Виконує функцію захисту генома, прикріплення до сприйнятливої клітини і проникнення в її цитоплазму. Визначає багато властивостей вірусів (гемаглютинацію, гемадсорбцію, злиття клітин, чутливість до ушкоджувальних факторів тощо).

Таксономія вірусів – за сучасною універсальною системою для таксономії вірусів умовно вибрано три ієрархічні рівні: родина, рід, вид. Внутрішньовидові таксони позначені як підвид, тип, варіант, штам. Основним критерієм для об'єднання вірусів в одну родину є спільність походження. Критерії для виділення родів численніші і в різних родинах часто неоднакові. Необхідність таксона «вид» визнають усі, але у більшості родів такого поділу не зроблено. Головними таксономічними критеріями є тип НК (РНК, ДНК), наявність зовнішньої оболонки (суперкапсиду – є чи немає), форма віріонів (ізометрична, паличкоподібна, кулеподібна, змішана), структура генома (позитивний, негативний, безперервний, фрагментарний, моно-, ди-, мультипартидний). Для підвидових таксонів використовують також антигенну структуру, коло хазяїнів тощо.

Тип (серотип) визначають за нейтралізацією інфекційної активності. Наприклад, вірус інфекційної катаральної гарячки овець має 24 серотипи, а вірус африканської чуми коней – 10 серотипів.

Тип симетрії – спосіб розміщення капсомерів у капсиді. За спірального типу симетрії капсомери розташовуються вздовж лінійно витягнутої молекули НК, за кубоїдального типу симетрії вони утворюють багатогранну структуру типу ікосаедра, октаедра, додекаедра. У обох випадках усередині капсиду утворюється порожнина, в якій розміщується вірусний геном.

Титр вірусу: 1) кількість вірусів в одиниці об'єму (як правило, в 1 мл) суспензії. Підраховують в електронному мікроскопі або методом бляшок на культурі клітин. У першому випадку виявляють усі віріони, у другому – тільки інфекційні; 2) кількість інфекційних одиниць, що містяться в 1 мл вірусної суспензії. Визначають шляхом зараження десятиразовими розведеннями матеріалу тварин, курячих ембріонів, культур клітин. За титр вірусу приймають найбільше розведення, що спричинило локальне або загальне ураження тест-системи. У обох випадках титр вірусу виражають у вигляді десяткового логарифму.

Токсичність вірусів – явище порушення метаболізму або загибелі клітин внаслідок множинної адсорбції віріонів на їхніх мембранах. На відміну від ЦПД, не пов'язана з розмноженням вірусів у клітині і може проявитися щодо будь-яких типів клітин.

Транскрипція – процес перенесення генетичної інформації з генома на іРНК. Здійснюється полімеразами. У плюс РНК-геномних вірусів геномна РНК виконує функції і матриці і іРНК.

Тропізм вірусів – властивість вірусів розмножуватись у якомусь одному (монотропізм) або кількох (пантропізм) типах клітин організму хазяїна. Зумовлена тим, що для першого обов'язкового етапу розмноження вірусів (прикріплення до клітинних мембран) необхідна комплексарність рецепторів вірусу та клітини. Спектр тропізму вірусів іноді розширюється у процесі хвороби.

Фенотип вірусу – не є його постійною властивістю, може змінюватися як у результаті його мутацій, так і під впливом зовнішніх умов репродукції.

Ферменти вірусів – до складу віріонів багатьох, особливо складних вірусів, входять полімерази, що руйнують оболонку клітини-хазяїна та модифікують кінці іРНК. У процесі реалізації вірусного генома у клітині синтезується ряд ферментів з такими самими або іншими функціями. Проте набір ферментів вірусів недостатній для самостійного позаклітинного розмноження. У синтезі біополімерів вірусу велику участь беруть ферменти клітини-хазяїна.

Цитолітична дія вірусів – варіант ЦПД, який полягає у лізисі клітин-хазяїнів. Є наслідком розмноження вірусів або цитолітичною дією ферментів віріона.

Цитопатична дія вірусів, ЦПД – деструктивні зміни окремих клітин та клітинного моношару, що виникають внаслідок продуктивної вірусної інфекції клітин і цитотоксичної дії віріонів. У клітинному моношарі ЦПД проявляється у формі суцільної чи вогнищевої круглої або поліморфноклітинної дегенерації, утворенні багатоядерних клітин або клітинних симпластів, а також у проліферативному розростанні клітин. У уражених вірусом клітинах ЦПД проявляється пікнозом ядра, маргінацією та зернистістю хроматину, появою включень, тілець, кристалів; у цитоплазмі з'являються вакуолі, настає зморщування та дегенерація клітин. ЦПД використовують для індикації та ідентифікації вірусів.

Фактори ініціації трансляції – білки, головною функцією яких є забезпечення початку (ініціації) трансляції, тобто синтезу нового поліпептидного ланцюга.

Фенотипи – це сукупність усіх зовнішніх і внутрішніх ознак і функцій даного вірусу. Фенотипічні властивості вірусу можуть бути встановлені морфологічними і серологічними методами.

Фрагмент Оказакі – відносно короткі фрагменти ДНК, які утворюються на ланцюжку, що відстає, протягом реплікації ДНК.

Штам – це вірус, виділений з природної вірусної популяції від заражених господарів або об'єктів навколишнього середовища. Фактично штами називають різні дикі типи одного вірусу, які адаптовані до лабораторних умов. Наприклад, штам Fixe вірусу сказу.

Завдання для самоконтролю

Тести 1 рівня Знайдіть правильні відповіді.

1. Вірусну частинку в ґрунті або воді можна назвати:

1. віріон
2. капсид
3. набір органоїдів
4. геном

2. Вірусну частинку в міжклітинному просторі можна назвати:

1. віріон
2. капсид
3. комплекс вірус-клітина
4. геном

3. Окрему вірусну частинку можна назвати:

1. вірус
2. клітина
3. віріон
4. набір органоїдів

4. Вірусна частинка всередині клітини-господаря називається:

1. віріон
2. капсид
3. комплекс вірус-клітина
4. геном

5. Зовнішня оболонка складних віріонів – це:

1. матрикс
2. капсид
3. нуклеокапсид
4. суперкапсид

6. Зовнішня оболонка простих віріонів – це:

1. матрикс
2. капсид
3. пеплос
4. суперкапсид

7. Зовнішня оболонка вірусів різних типів побудована з:

1. віріонів
2. нуклеотидів
3. пепломерів

4. капсомерів

8. У складних віріонів не обов'язковими структурами є:

1. серцевина
2. капсид
3. пеплос
4. суперкапсид

9. Капсид віруса побудовано з:

1. віріонів
2. нуклеотидів
3. пепломерів
4. капсомерів

10. У складних віріонів може існувати три оболонки:

1. матрикс
2. капсид
3. суперкапсид
4. пеплос

11. Білкова оболонка простого віріону з серцевиною називається

1. матрикс
2. капсид
3. нуклеокапсид
4. суперкапсид

12. Білкова оболонка простого віріону без серцевини називається

1. матрикс
2. капсид
3. нуклеокапсид
4. суперкапсид

13. Речовини мембрани клітини-хазяїна входять до складу

1. капсиду
2. нуклеокапсиду
3. суперкапсиду
4. серцевини

14. Комплекс нуклеїнової кислоти віріону з внутрішніми білками називається

1. матрикс
2. капсид
3. нуклеокапсид
4. серцевина

15. Виступи ліпопротеїнової оболонки складного віріона мають назву

1. шипи
2. нуклеокапсиди
3. пепломери
4. капсомери

16. Пепломери найчастіше мають таку форму:

1. паличковидну
2. кулясту
3. звивисту
4. трапецієвидну

17. Спільна риса всіх безоболонкових вірусів - це наявність

1. геному
2. капсиду
3. пеплосу
4. суперкапсиду

18. У простих віріонів необов'язковими структурами є:

1. серцевина
2. капсид
3. геном
5. суперкапсид

19. Маса молекул вірусних нуклеїнових кислот вимірюються в

1. мікромтрах
2. міліметрах
3. дальтонах
4. наномтрах

20. Прості віріони хребетних мають такий тип симетрії:

1. складна
2. кубічна
3. спіральна
4. ікосаедрична

21. У віріонів хребетних ніколи не зустрічається така симетрія:

1. складна
2. спіральна
3. циліндрична
4. кубічна

22. Для віріонів, що вражають тварину та людину, найменш характерний такий тип симетрії як

1. складна
2. кубічна

3. спіральна
4. циліндрична

23. Більша частина віріонів хребетних має такий тип симетрії:

1. складна
2. тільки кубічна
3. тільки спіральна
4. спіральна і кубічна

24. Тварин та людину найчастіше вражають віріони із

1. складною
2. кубічною та спіральною
3. спіральною та складною
4. кубічною та складною

25. Дефектні віріони не мають

1. всього геному
2. частини геному
3. суперкапсиду
4. капсиду

26. Дефектні віріони з кубічним капсидом не мають

1. всього геному
2. частини геному
3. суперкапсиду
4. капсомерів

27. Одною з функцій капсиду є захист

1. внутрішніх білків віріону
2. геному віріону
3. матриксу віріону
4. пепломерів віріону

28. Функція геному у віруса в оточуючому середовищі полягає в:

1. передачі інформації
2. захисті віріону
3. прикріпленні до мембрани клітини-хазяїна
4. збереження інформації

29. Функція пепломерів полягає в

1. передачі інформації
2. захисті віріону
3. прикріпленні до мембрани клітини-хазяїна
4. прикріплення до рибосом клітини-хазяїна

30. Функція геному полягає в

1. передачі інформації
2. захисті віріону
3. прикріпленні домембрани клітини-хазяїна
4. захисті серцевини

31. Функція матриксу полягає в

1. передачі інформації
2. формуванні зовнішнього вигляду віріона
3. прикріпленні до мембрани клітини-хазяїна
4. здійсненні ферментативних реакцій при розмноженні віріонів

32. Функція серцевини полягає в

1. передачі інформації
2. захисті генома віріону
3. прикріпленні до мембрани клітини-хазяїна
4. здійсненні ферментативних реакцій при розмноженні віріонів

33. Функція нуклеокапсиду складного віріона полягає в

1. передачі інформації
2. захисті геному віріону
3. прикріпленні до мембрани клітини-хазяїна
4. формуванні внутрішньої структури віріона

34. Спільна функція пепломерів та капсомерів полягає в

1. передачі інформації
2. захисті віріону
3. прикріпленні до мембрани клітини-хазяїна
4. прикріплення до рибосом клітини-хазяїна

35. Спільна функція пепломерів та капсомерів полягає в

1. передачі інформації
2. захисті віріону
3. прикріпленні до мембрани клітини-хазяїна
4. прикріплення до рибосом клітини-хазяїна

36. У складних віріонів, що не мають серцевини, існують такі оболонки:

1. матрикс
2. капсид
3. нуклеокапсид
4. суперкапсид

37. Головною фізіологічною особливістю вірусів є те, що вони

1. сапрофіти
2. облігатні паразити

3. генетичні паразити
4. автотрофи

38. Через малі розміри цілісні віріони можна побачити в:

1. світловій мікроскопії
2. електронному мікроскопі
3. імуноферментному аналізі
4. серологічних реакціях

39. Максимальні розміри мають такі віруси:

1. прості
2. складні із кубічною симетрією
3. складні із складною симетрією
4. складні із спіральною симетрією

41. Функціями ліпідів є:

1. ізоляція внутрішнього шару віріонів від речовин зовнішнього середовища
2. стабілізація структури віріона
3. утримання та взаємодія пепломерів
4. передача спадкової інформації

41. Ліпіди клітини-хазяїна входять до складу

1. матриксу
2. капсиду
3. нуклеокапсиду
4. суперкапсиду

42. Головними речовинами геному у всіх вірусів є

1. ДНК
2. РНК
3. білок
4. або РНК, або ДНК

43. До складу нуклеотидів вірусів входять такі вуглеводи:

1. рибоза
2. манноза
3. лактоза
4. дезоксирибоза

44. В зрілих віріонах білки входять до

1. пепломерів
2. фосфоліпідів
3. гліколіпідів
4. капсиду

45. Вуглеводи пепломерів - це

1. рибоза або дезоксирибоза
2. нейрамінова кислота
3. манноза
4. глюкозамін

46. Фрагментовану нуклеїнову кислоту мають

1. РНК-вмісні прості
2. РНК- вмісні складні
3. ДНК-вмісні прості
4. ДНК- вмісні складні

47. У вірусів, геном яких є окремими молекулами РНК, він називається

1. сегментованим
2. фрагментованим
3. розірваним
4. багато спіральним

48. Фрагментація нуклеїнової кислоти характерна

1. для всіх вірусів
2. для ДНК-вмісних складних
3. для РНК-вмісних
4. для ДНК-вмісних простих

49. Мономером нуклеїнової кислоти є

1. ген
2. нуклеотид
3. триплет
4. амінокислота

50. Нуклеїнові кислоти у вірусів відрізняються за

1. будовою ланцюга
2. відсутністю азотистих основ
3. функціями
4. формою молекул

51. Пепломери віріонів – це

1. моноцукри
2. прості білки
3. гліколіпіди
4. глікопротеїни

52. Прикріплювальні білки вірусів знаходяться в

- 1.матриксі
2. капсиді

3. пеплосі
- 4.серцевині

53. За формою молекул геном вірусів є

1. кільцевим
2. лінійним
3. ікосаедричним
4. сферичним

54. Склад ліпідів віріона залежить від

1. ліпідного складу мембрани клітини-хазяїна
2. амінокислотного складу пепломерів
3. амінокислотного складу білків капсиду
4. структури геному віруса

55. Просторова відповідальність пар азотистих основ в дволанцюгових молекулах ДНК та РНК вірусів називається

1. комплементарність
2. полярність
3. трансмісивність
- 4.реплікативність

56. Однониткові РНК віруси мають

1. позитивний генгом
2. негативний генгом
3. трансмісивність
- 4.полярність

57. За можливістю виділення вірусні білки діляться на :

1. фібрилярні
2. структурні
3. не структурні
- 4.клітинні

58. У віріонах більше всього такої речовини як

1. білок
2. ліпіди
3. вуглеводи
4. ДНК

59. Віруси з фрагментованим геномом називаються:

1. аденоасоційовані
2. диплорнавіруси
3. ретровіруси
4. філовіруси

60. За кількістю ланцюгів нуклеїнових кислот вірусний геном може бути

1. двоспиральним
2. фрагментованим
3. односпиральним
4. багато спиральним

61. Віруси хребетних мають

1. 15 варіантів геномів
2. 8 варіантів геномів
3. 5 варіантів геномів
4. 7 варіантів геномів

62. У ДНК-ових вірусів не зустрічаються такі геноми як

1. одониткові
2. кільцеві
3. фрагментовані
4. двониткові

63. В суперкапсиді віріонів містяться

1. фосфоліпіди
- 2.тестостерон
- 3.холестерин
4. олеїнова кислота

64.Ферментативні реакції здійснюють білки

1. капсиду
2. матриксу
3. нуклеокапсиду
4. суперкапсиду

65. Вуглеводи у вірусах

1. з'єднані з білками пепломерів
2. містяться в нуклеотидах геному
3. містяться в капсиді
4. не містяться

66. В ДНК та РНК вірусі наявні різні

1. моноцукри
2. ліпіди
3. амінокислоти
4. ліпіди

67. Один вид моноцукрів є

1. у простих вірусів

2. у складних вірусів
3. в пепломерах вірусів
4. в капсиді

68. Однотикова ДНК вірусів має різну

1. компліментарність
2. полярність
3. негативність
4. седативність

69. Похідні моноцукрів наявні в

1. пепломерах
2. капсиді
3. матриксі
4. пеплосі

70. Речовини пеплосу – це

1. амінокислоти
2. складні білка
3. прості білка
4. гліколіпіди

71. В складних та простих вірусах наявні органічні речовини

1. 2 типів
2. 3 типів
3. 4 типів
4. 10 типів

72. Зміна структури капсомерів у простого вірусу призводить до

1. утворення складного вірусу
2. змін ядра клітини-хазяїна
3. змін антигенного складу збудника
4. змін лізосоми клітини-хазяїна

73. 80% вірусів хребетних містять такий вуглевод як

1. рибоза
2. дезоксирибоза
3. холестерин
4. гліцин

74. 20% вірусів хребетних містять такий вуглевод як

1. рибоза
2. дезоксирибоза
3. стеаринова кислота
4. аденін

75. Вуглеводами віріонів можуть бути

1. рибоза або дезоксирибоза
2. фруктоза сахароза
3. нейраміновою кислота
4. лимонна кислота

76. В сучасній класифікації у простих вірусів існує

1. 10 родин
2. 11 родин
3. 17 родин
4. 28 родин

77. В сучасній класифікації у складних вірусів існує

1. 6 родин
2. 11 родин
3. 17 родин
4. 28 родин

78. У складних ДНК-вих вірусів нуклеїнова кислота

1. кільцева
2. двониткова
3. лінійна
- 4.фрагментована

79. У складних віріонів із спіральною симетрією

- 1.форма кульки та палички
- 2.мало дефектних віріонів в пат матеріалі
- 3.можливість утворення порожніх капсидів
- 4.наявний суперкапсид

80. Згідно сучасної класифікації всі віруси розподілено в

- 1.10 родин
2. 15 родин
3. 5 родин
4. 28 родин

81.У всіх простих віріонів хребетних

- 1.форма кульки
- 2.багато дефектних віріонів в пат матеріалі
- 3.можливість утворення порожніх капсидів
- 4.наявний пеплос

82. Максимальні розміри віріонів – це

1. 200 нм

2. 400 нм
3. 800-900 нм
4. 300 нм

83. Мінімальні розміри віріонів – це

1. 20 нм
2. 50 нм
3. 90 нм
4. 100 нм

84. До мембрани хазяїна у простих вірусів прикріплюються

1. капсомери
2. білки серцевини
3. глікопротеїни суперкапсиду
4. ферменти

85. До мембрани хазяїна у складних вірусів прикріплюються

1. капсомери
2. інтегральні білки суперкапсиду
3. глікопротеїни суперкапсиду
4. ферменти матриксу

«

86. Всі ДНК-ові прості віруси не мають

1. геному
2. спіральної симетрії
3. матриксу
4. капсиду

87. Згідно сучасної класифікації всі відомі віруси розподілено в

1. 10 родин
2. 15 родин
3. 5 родин
4. 28 родин

88. Серед всіх ДНК-вмісних вірусів капсид є зовнішньою оболонкою у

1. 4 родин
2. 5 родин
3. 2 родин
4. 12 родин

89. У ДНК-вмісних простих вірусів не зустрічається

1. фрагментованої ДНК
2. фрагментованої РНК
3. одновиткової ДНК
4. двовиткової ДНК

90. Спільні риси всіх РНК вірусів з суперкапсидом - це

1. тип нуклеїнової кислоти в геномі
2. кількість вуглеводних молекул у віріоні
3. розмір віріона
4. тип симетрії

91. Всі ДНК-ові віруси із суперкапсидом мають

1. одновиткову ДНК
2. двониткову ДНК
3. кільцеву ДНК
4. фрагментовану ДНК

92. Фрагментація нуклеїнової кислоти характерна для

1. всіх вірусів
2. РНК-вмісних простих
3. ДНК-вмісних простих
4. РНК-вмісних без оболонки

93. Серед родин ДНК-ових вірусів капсид – зовнішня оболонка у

1. 4
2. 5
3. 2
4. 7

94. До структурних ознак, за якими класифікують віруси, належать:

1. будова геному
2. коло хазяїв
3. патогенність
4. наявність суперкапсиду

95. З 10 родин ДНК-вмісних вірусів суперкапсид мають

1. 4
2. 5
3. 2
4. 1

96. Фрагментовані РНК зустрічаються у:

1. простих РНК-их вірусів
2. складних ДНК-их вірусів
3. простих ДНК-их вірусів
4. складних РНК-их вірусів

97. Геном всіх ДНК-вмісних вірусів – це молекула

1. Двохспіральної лінійної нуклеїнової кислоти

2. Односпіральної лінійної нуклеїнової кислоти
3. Двохспіральної лінійної амінокислоти
4. Одно- або двоспіральної, лінійної або кільцевої нуклеїнової кислоти

98. З 18 родин РНК-вмісних вірусів суперкапсид мають

1. 12
2. 5
3. 8
4. 10

99. В основу поділу віріонів на серотипи покладено такі їх властивості :

1. розмір
2. будову геному
3. коло хазяїв
4. антигенні властивості

100. РНК- та ДНК-вмісні віруси, зовнішньою оболонкою яких є капсид, мають

1. спіральний тип симетрії
2. складний тип симетрії
3. кубічний тип симетрії
4. квадратний тип симетрії

101. З 10 родин ДНК-вмісних вірусів пепломери мають

1. 4
2. 5
3. 2
4. 1

102. Позитивний геном мають такі оболонкові віруси

1. РНК-вмісні
2. диплорнавірус
3. герпесвіруси
4. поксвіруси

103. Негативний геном мають такі оболонкові віруси

1. РНК-вмісні
2. ДНК-вмісні
3. диплорнавірус
4. герпесвіруси

104. У простих РНК-вмісних вірусів хребетних не існує

1. капсиду
2. геному
3. суперкапсиду
4. пепломерів

105. Розміри всіх складних вірусів хребетних знаходяться в інтервалі

1. 20 - 100 нм
2. 10 - 30 нм
3. 120 - 300 нм
4. 100 - 400 нм

106. Геном у простих РНК-вмісних вірусів

1. лінійна РНК
2. фрагментована РНК
3. одониткова кільцева РНК
4. двониткова кільцева РНК

107. У простих РНК-вмісних вірусів

1. спіральний тип симетрії та малі розміри
2. складний тип симетрії та суперкапсид
3. кубічний тип симетрії та малі розміри
4. квадратний тип симетрії

108. Розміри більше 90 нм можуть мати такі віруси хребетних

1. РНК-вмісні прості
2. РНК-вмісні складні
3. ДНК-вмісні прості
4. ДНК- вмісні складні

109. У ДНК- вмісних вірусів із суперкапсидом нуклеїнова кислота

1. одониткова кільцева
2. одониткова лінійна
3. двониткова лінійна
4. фрагментована

110. Представники ДНК-вмісних оболонкових вірусів з різних родин подібні

2. типом нуклеїнової кислоти
3. розмірами
4. хворобами, які викликають
5. зовнішньою оболонкою

111. У РНК-вмісних складних вірусів з 3-х типів симетрії іноді зустрічається

1. спіральна
2. кубічна
3. складна
4. сферична

112. ДНК-вмісні прості віруси мають

1. спіральний тип симетрії та малі розміри

2. складний тип симетрії та суперкапсид
3. кубічний тип симетрії та малі розміри
4. матрикс та квадратний тип симетрії

113. Спільні риси у складних РНК-вмісних вірусів різних родин

1. тип нуклеїнової кислоти
2. розміри
3. хвороби, які викликають
4. зовнішня оболонка

114. При транспортуванні вірусомісного матеріалу упаковка складається з:

1. первинної ємкості з поглинаючим матеріалом в пластиковому мішку
2. первинної ємкості в контейнері з охолоджуючим матеріалом
3. первинної ємкості, внутрішньої упаковки, контейнеру з охолоджуючим матеріалом
4. пластикового пакету в термосі

115. При транспортуванні вірусомісного матеріалу його необхідно помістити в умови, які

1. уповільнюють процес інактивації вірусу
2. прискорюють процес інактивації вірусу
3. уповільнюють процеси інактивації вірусу та розвитку супутньої мікрофлори
4. прискорюють розвиток супутньої мікрофлори

116. При відборі вірусомісного патматеріалу в нього можуть потрапити:

1. різноманітні патогенні бактерії
2. сапрофітні гриби
3. різні віруси
4. сапрофітні бактерії та гриби

117. Виявлення сторонньої мікрофлори в патматеріалі проводиться

1. для перевірки ефективності дії антибіотиків
2. для культивування вірусу
3. для вирощування культури клітин
4. для перевірки ефективності центрифугування

118. Інактивації вірусів в патматеріалі не спостерігається при додаванні

1. білка
2. сироватки крові
3. желатини.
4. розчину Хенкса

119. Висів вірусомісного патматеріалу із сторонньою мікрофлорою

1. призведе до інтенсивного розвитку вірусу
2. не дасть можливості виділити вірус
3. призведе до інтенсивного розвитку бактерій, грибів та вірусу

4. призведе до відсутності розвитку будь-якого мікроорганізму

120. Діагноз на вірусне захворювання ставиться на основі аналізу:

1. тільки лабораторного діагнозу
2. клінічних ознак та лабораторної діагностики
3. даних долабораторної та лабораторної діагностики
4. епізоотичної ситуації в господарстві

121. При постановці первинного діагнозу необхідно звертати увагу на:

1. клінічні симптоми, патанатомічні зміни і результати мікроскопічних досліджень
2. клінічні симптоми, патанатомічні зміни і епізоотичну ситуацію
3. клінічні симптоми, епізоотичну ситуацію та дані по культивуванню вірусу
4. результати мікроскопічних та вірусологічних досліджень.

122. Помилка в попередньому діагнозі в випадку вірусної хвороби призводить до:

1. значних економічних збитків і швидкої ліквідації хвороби
2. швидкого знищення вогнища хвороби
3. значних економічних збитків, розповсюдження хвороби та ускладнення ліквідації наслідків.
4. розповсюдження хвороби

123. Первинний діагноз допомагає:

1. точно визначити збудника хвороби
2. вибрати метод лабораторних досліджень для ідентифікації збудника
3. визначити швидкість розповсюдження хвороби
4. ліквідувати хворобу

124. Суть постановки остаточного діагнозу полягає в :

1. виділенні збудника і визначенні його вірулентності
2. виділенні збудника і постановці серологічних реакцій
3. виділенні збудника і ідентифікації його
4. виділенні збудника і розмноженні його

125. Вірусовмісний патологічний матеріал пересилають

1. поштою
2. залізницею без супроводу спеціаліста
3. будь-яким шляхом з відповідними документами в супроводі спеціаліста
4. без відповідних документів в супроводі спеціаліста

126. В супровідному документі на вірусовмісний патматеріал вказують:

1. дату відбору, підпис і прізвище лікаря
2. вид тварини, дату відбору, попередній діагноз
3. назву господарства, вид тварини, дату відбору, підпис і прізвище лікаря, епізоотичні дані, заходи по ліквідації хвороби, попередній діагноз.
4. назву господарства, вид тварини, дату відбору, заходи по ліквідації хвороби.

127. Будь-який вірусомісний патологічний матеріал відбирається в

1. порожній стерильний посуд
2. стерильний посуд з поживним середовищем
3. нестерильний посуд із стабілізатором
4. стерильний посуд з розчином антибіотиків

128. При відборі патматеріалу на скляну пробірку або флакон етикетка:

1. робиться з лейкопластирю
2. робиться з паперу
3. робиться з картону
4. не потрібна

129. При використанні гліцерину для консервації патматеріалу необхідно:

1. вказати це на етикетці
2. переслати мазки-відбитки разом з патматеріалом
3. вказати це в супровідному документі
4. додати додаткову кількість розчину Хенкса в патматеріал

130. Для транспортування змивів з носоглотки, прямої кишки та клоаки птиці використовують:

1. розчин Хенкса
2. дистильовану воду
3. розчин Ерла
4. нестерильний посуд

131. До відібраного патматеріалу додають слідуючі антибіотики:

1. тільки пеніцилін
2. пеніцилін, стрептоміцин, ністатін
3. пеніцилін, стрептоміцин
4. препарати проти різних груп супутніх мікробів

132. Для консервації вірусомісних проб застосовують

1. низьку температуру
2. антисептики
3. низьку температуру і хімічні консерванти
4. іонізуюче випромінювання

133. Консервація вірусомісного патматеріалу гліцеріном може заважати проведенню:

1. вірусологічних досліджень
2. серологічних досліджень
3. біопроби
4. гістологічних досліджень

134. При респіраторних інфекціях максимальна кількість вірусу міститься в:

1. змивах з носоглотки, зіскобах трахеї, шматках легенів
2. змивах з носоглотки, головному мозку
3. калі, шматках легенів
4. крові, зіскобах трахеї, мазках з носа

135. При ентеровірусних інфекціях максимальна кількість вірусу міститься :

1. в крові та слизових оболонках кишечника
3. в селезінці та нирках
4. в легенях та в крові
5. в калі, вмісті шкт, слизових оболонках кишечника

136. При нейротропних інфекціях максимальна кількість вірусу міститься :

1. в крові
2. тільки в шматках головного мозоку
3. тільки в шматках спинного мозоку
4. в шматках головного та спинного мозоку

137. При дермотропних інфекціях максимальна концентрація вірусу буде спостерігатись в:

1. свіжих змивах зі шкіри
2. крові, лімфовузлах
3. носових виділеннях
4. вмісті афт, везикул, пустул

138. Пантропні віруси здатні розмножуватись

1. тільки в крові
2. в тканинах різних типів
3. в епітелії
4. в клітинах імунної системи

139. Для створення ситуації, наближеної до умов в організмі, віруси транспортують в

1. розчині Хенкса
2. розчині Ерла
3. дистильованій воді
4. розчинах неорганічних кислот

140. Для консервації вірусомісних проб застосовують

1. низьку температуру
2. сольові розчини
3. хлороформ
4. іонізуюче випромінювання

141. При відборі вірусомісного патологічного матеріалу в нього можуть потрапити

1. різноманітні бактерії
2. гриби та актиноміцети

3. антитіла
4. дезінфектанти

142. При транспортуванні вірусомісного матеріалу його поміщають в умови, які

1. уповільнюють процес інактивації вірусу
2. прискорюють процес інактивації вірусу
3. призводять до знищення вірусу
4. прискорюють розвиток супутньої мікрофлори

143. До відібраного патматеріалу додають слідуючі антибіотики:

1. тільки пеніцилін
2. тільки ністатин
3. тільки стрептоміцин
4. ефективні препарати проти різних груп супутніх мікробів

144. Для тривалого збереження вірусомісний матеріал зберігають

1. при кімнатній температурі
2. при - 20°C
3. в ліофілізованому стані
4. при 35-37 °C

145. Тропність – це здатність

1. руйнувати клітину-хазяїна
2. приєднуватись до рибосоми
3. зберігати властивості вірусу в оточуючому середовищі
4. приєднуватись до цитоплазматичних мембран клітин в певних тканинах хазяїна

146. Вірусомісний матеріал зберігають при

1. 20 °C
2. 4-5 °C
3. - 20°C
4. 35-37 °C

147. Додавання ефективних антибіотиків до патматеріалу проводиться для

1. знищення вірусу
2. знищення супутньої мікрофлори
3. видалення залишків тканин
4. отримання вірусомісної рідини

148. Великі дози антибіотиків додають до

1. крові
2. фекалій
3. шматків паренхіматозних органів
4. шматків шкіри

149. При відборі патматеріалу головна помилка виникає, якщо не звертати увагу на

1. тропність збудника
2. швидкість відбору
3. вік та породу тварини
4. погодні умови

150. При транспортуванні вірусних проб не застосовують

1. низьку температуру
2. антисептики
3. сольові розчини
4. іонізуюче випромінювання

151. До патматеріалу краще додати:

1. лише антибіотики
2. антибіотики + сольовий розчин
3. сольовий розчин + охолоджувальні елементи
4. охолоджувальні елементи

152. Консервація фекалій зберігає

1. активні віріони
2. неактивні віріони
3. дефектні віріони
4. комплекс вірус-клітина

153. Консервація шматків легень зберігає

1. активні віріони
2. неактивні віріони
3. дефектні віріони
4. комплекс вірус-клітина

154. При відборі носових виділень в нього додають

1. сольовий розчин
2. дистильовану воду
3. розчин антибіотиків
4. соляну кислоту

155. Для постановки остаточного діагнозу у мертвої тварини необхідно

1. відібрати відповідний пат матеріал
2. побачити клінічні ознаки хвороби
3. визначити вірус в лабораторії
4. провести дезінфекцію в господарстві

156. Супутні мікроби в пат матеріалі знищують за допомогою

1. дезінфектантів
2. центрифугування

3. антибіотиків
4. заморожування

157. Речовини пепломерів під час дезінфекції

1. руйнуються повністю
2. руйнуються частково
3. не руйнуються
4. змінюють структуру, але залишаються активними

158. Найуживанішими дезінфектантами у вірусологічній лабораторії є

1. бриліантовий зелений
2. йод
3. перманганат калію
4. хлорамін

159. Для остаточної стерилізації рідких відходів у вірусології використовують:

1. кип'ятіння
2. автоклавування
3. дезінфекцію
4. УФ-опромінення

160. Механізм впливу сірчаної або соляної кислот на віріон полягає в

1. необоротному руйнуванні всіх речовин віріонів
2. тимчасовій зміні структури пепломерів та капсомерів
3. утворенні дефектних віріонів
4. мутаціях у вірусів

161. Використання дезінфектантів призводить до

1. знищення всіх вірусів в патматеріалі
2. знищення частини вірусів в патматеріалі
3. розмноження вірусів
4. мутацій вірусів

162. Найуживаніші методи для обробки посуду у вірусології - це:

1. фламбірування
2. автоклавування та дезінфекція
3. обробка кислотами та стерилізація сухим жаром
4. тиндалізація та УФ-опромінення

163. Недоліки під час стерилізації можуть призвести до

1. прискорення розвитку супутніх мікробів
2. прискорення розвитку вірусу
3. неможливості виділення вірусу
4. мутацій у вірусів

164. Віріони дезактивуються або гинуть, коли хімічні речовини

1. змінюють рН в кислу сторону
2. змінюють рН в лужну сторону
3. є розчинами вуглеводів
4. заморожують віріони

165. Для обробки обладнання вірусологічної лабораторії не використовують:

1. кип'ятіння
2. автоклавування
3. тиндалізацію
4. стерилізацію сухим жаром

166. Сироватку крові звичайно стерилізують

1. автоклавуванням
2. пастеризацією
3. УФ-опроміненням
4. фільтрацією

167. Для обробки боксу перед вірусологічними дослідженнями використовують

1. розчини дезинфектантів
2. кислоти
3. антибіотики
4. УФ-промені

168. Вибір виду дезрозчину при вірусологічних дослідженнях залежить від:

1. наявності дезинфектанту
2. властивостей вірусу в патматеріалі
3. видів вірусологічних досліджень
4. площі боксу

169. Для обробки боксу після вірусологічних досліджень використовують

1. УФ-опромінення 20 хв.
2. антибіотики
3. УФ-опромінення 2 год
4. рентгенівське опромінення

170. Для дезинфекції посуду використовують

1. етиловий спирт
2. хлорамін
3. синтетичні миючі засоби
4. азотну кислоту

171. Тверді відходи лабораторії обробляють

1. дезинфекцією
2. сухим жаром

3. автоклавуванням
4. тиндалізацією.

172. Для дезінфекції трупів тварин використовують

1. етиловий спирт
2. хлорамін
3. лізол
4. луги

173. Руйнація ліпідів призводить до знешкодження

1. простих вірусів
2. складних вірусів
3. капсиду
4. геному

174. Для інактивації малих за розмірами вірусів дезінфектант має бути

1. гарячим
2. холодним
3. розбавленим
4. концентрованим

175. Використання дезінфектантів призводить до такого незворотного варіанту впливу на віруси як руйнація

1. прикріплювальних білків
2. не структурних білків
3. віріонів
4. клітинної стінки

176. Повна руйнація віріону відбувається під дією

1. сірчаної кислоти
2. хлораміну
3. розчину Ерла
4. соляної кислоти

177. Речовини з кислим рН, які знищують віріони в присутності тварин – це

1. лимонна кислота
2. молочна кислота
3. сірчана кислота
4. етиловий спирт

178. В дезрозчини для руйнації оболонки складних вірусів додають

1. синтетичні миючі засоби
2. спирт
3. поверхнево-активні речовини
4. лимонну кислоту

179. Відходи лабораторій остаточно знищують

1. в автоклаві
2. в сушильній шафі
3. на утилізаційному майданчику
4. кип'ятінням

180. Пластикові окуляри знезаражують

1. в спирті
2. в автоклаві
3. у формаліні
4. в хлораміні

181. Ефективна дезінфекція призведе до певних порушень поверхневих структур у

1. 25% вірусів
2. 70-80% вірусів
3. 100% вірусів
4. 10% вірусів

182. Стерилізацію посуду проводять

1. сухим жаром
2. тиндалізацією
3. кип'ятінням
4. обробкою кислотою

183. Дезінфекція в господарстві та лабораторії триває

1. 1-3 години
2. 10-12 годин
3. 6 годин
4. 20-30 хвилин

184. Одноразове пластикове обладнання знезаражують

1. сухим жаром
2. 5% хлораміном
3. кип'ятінням
4. автоклавуванням

185. Працівники ферми можуть заразитись вірусами таким шляхом:

1. трансмісивним
2. контактним
3. аліментарним
5. аерогенним шляхом

186. 12-годинна дезінфекція вірусів різних типів викликає руйнацію

1. всіх віріонів

2. пепломерів
3. антибіотиків
4. капсомерів

187. В лабораторії заразитись вірусами найчастіше можна таким шляхом:

1. трансмісивним
2. аліментарним
3. аерогенним шляхом
4. контактним

188. Фактори, що впливають на віруси в господарстві – це

1. вологість повітря
2. дезінфекція
3. висока температура
4. сонячне опромінення

189. Дезінфектант для знищення вірусів в курячих ембріонах – це

1. лізол
2. формалін
3. луг
4. 10% хлорамін

190. Найкращі засоби дезінфекції для впливу на складні віріони – це

1. органічні розчинники
2. неорганічні солі
3. комплексні розчини
4. сольові розчини

191. Фактори, що впливають на віруси в лабораторії – це

1. висушування
2. дезінфекція
3. висока температура
4. магнітне поле

192. Для поточної планової дезінфекції використовують розчини

1. холодні
2. гарячі
3. розбавлені
4. концентровані

193. Температура 75°C призводить до

1. денатурації білків
2. денатурації речовин геному
3. конденсації білків
4. розщеплення ліпідів

194. Для дезінфекції при появі інфекційної хвороби використовують розчини

1. холодні
2. гарячі
3. розбавлені
4. концентровані

195. Концентровані розчини для використання в лабораторії – це

1. 1-2 % хлорамін
2. 2% лізол
3. 2-4% луг
4. 5% хлорамін

196. Температура 95°C призводить до

1. денатурації білків
2. денатурації речовин геному
3. конденсації білків
4. розщеплення ліпідів

197. При проведенні досліджень в боксі дезінфектанти

1. відсутні
2. одного виду
3. декількох видів
4. десяти видів

198. Скліний посуд після обробок лужними та кислими розчинами повинен пройти стадію

1. дезінфекції
2. промивання
3. висушування
4. прожарювання

199. Після підготовки патологічного матеріалу можна проводити:

1. серологічні реакції
2. гістологічне дослідження
3. мікроскопію мазків-відбитків
4. знищення супутньої мікрофлори

200. Діагностика вірусних та бактеріальних хвороб відрізняється відсутністю:

1. серологічних тестів
2. біохімічних тестів
3. стадії виділення чистої культури
4. розмноження збудника

201. Молекулярними методами, які використовуються для ідентифікації вірусів є:

1. отримання культур клітин
2. гістологічне дослідження
3. серологічні дослідження
4. імуноферментний аналіз

202. Малі розміри віріонів заважають проведення таких методів дослідження як:

1. світлова мікроскопія
2. біопроба
3. імуноферментний аналіз
4. постановка серологічних реакцій

203. Додавання антибіотиків до культур клітин проводиться для

1. знищення вірусу
2. знищення супутньої мікрофлори
3. видалення залишків тканин
4. обробки сироватки крові

204. У вірусологічних дослідженнях біопроба використовується:

1. завжди
2. в певних випадках
3. разом із засівом вірусу в культуру клітин
4. після біохімічних досліджень

205. Діагностика вірусних та бактеріальних хвороб має спільні дослідження

1. молекулярно-біологічні
2. біохімічні тести
3. висів на агарові середовища
4. перевірку чутливості до антибіотиків

206. Метод, в якому вивчають специфічні нуклеотидні послідовності вірусу – це

1. отримання культур клітин
2. полімеразна реакція
3. серологічні дослідження
4. імуноферментний аналіз

207. За наявності посмертного патматеріалу світлову мікроскопію проводять, якщо вірус

1. знаходиться в твердому матеріалі
2. утворює тільця включення
3. знаходиться в крові
4. утворює віріони

208. У вірусологічних дослідженнях експрес-діагностика використовується:

1. при постановці біопробі
2. при пересіві культури клітин

3. при проведенні індикації
4. в ретроспективній діагностиці

209. Вірусологічна лабораторія повинна мати такі приміщення:

1. автоклавну і бокс
2. бокс і передбоксік
3. віварій, прийомну, передбоксік, бокс, автоклавну, мийну
4. віварій, передбоксік, бокс

210. Спецодягом для вірусологічних досліджень є:

2. халат, шапочка
3. халат, шапочка, рукавиці, бахіли, захисні окуляри, маска, спецвзуття
4. халат, маска, шапочка, спецвзуття
5. спецвзуття, окуляри

211. Розмноження вірусів можна проводити

1. в культурі клітин
2. в курячих ембріонах
3. в організмі лабораторних тварин
4. в дезрозчинах

212. Діагноз на вірусне захворювання ставиться на основі аналізу:

1. тільки клінічних ознак
2. тільки лабораторної діагностики
3. даних долабораторної та лабораторної діагностики
4. швидкості поширення хвороби

213. Суть постановки остаточного діагнозу – це

1. гістологічні дослідження
2. постановка серологічних реакцій
3. ізоляція збудника, його ідентифікація
4. мікроскопія збудника

214. Зараження лабораторних тварин під час ідентифікації вірусу проводиться для:

1. постановки біопроби
2. накопичення вірусного матеріалу
3. знищення сторонньої мікрофлори
4. проведення ретроспективної діагностика

215. Для діагностики вірусних хвороб обов'язково застосовують такі методи дослідження:

1. вірусологічні
2. бактеріологічні
3. серологічні
4. біохімічні

216. Найуживанішими експрес-методи у вірусології є:

1. люмінесцентна мікроскопія
2. біопроба
3. імуноферментний аналіз
4. розвиток вірусу в курячих ембріонах

217. Висів вірусного патматеріалу із сторонньою мікрофлорою призведе до

1. інтенсивного розвитку вірусу
2. розвитку бактерій та грибів
3. розвитку мікоплазм
4. розвитку культури клітин

218. Використання експрес-методів дослідження дозволяє:

1. швидко ідентифікувати вірус
2. збільшити час, відведений на постановку діагнозу
3. провести біопробу
4. зменшити економічні збитки при ліквідації хвороби

219. Сироватки крові для ретроспективної діагностики відбирають у

1. вакцинованих тварин
2. мертвих тварин
3. хворих тварин
4. здорових тварин

220. Експрес-методами, в яких працюють з твердим матеріалом, у вірусології є:

1. гістологічні дослідження
2. люмінесцентна мікроскопія
3. імуноферментний аналіз
4. серологічна реакція

221. Розведення матеріалу проводиться:

1. тільки для рідкого патматеріалу
2. тільки для твердого патматеріалу
3. для видалення залишків тканин
4. для всіх видів патматеріалу

222. Серологічна реакція дає сумнівний результат:

1. при постановці із сироватки крові
2. при постановці із культури клітин
3. при незначній концентрації вірусних антигенів в пробі
4. при проведенні світлової мікроскопії

223. При проведенні ретроспективної діагностики виявляють

1. наявність антигенів
2. наявність ЦПД

- 3 наявність тілець-включень
- 4.титр антитіл

224. Після біопроби можна провести

- 1. висів в культуру клітин
- 2. ретроспективну діагностику
- 3. серологічні реакції
- 4. люмінесцентну мікроскопію

225. Методи, які при проведенні діагностики вірусних хвороб дають можливість швидко і без помилок поставити діагноз – це

- 1. полімеразна ланцюгова реакція
- 2. біопроба
- 3. імуоферментний аналіз
- 4. розвиток культури клітин

226. Для постановки остаточного діагнозу необхідно

- 1. відібрати відповідний пат матеріал
- 2. побачити клінічні ознаки хвороби
- 3. ідентифікувати вірус в лабораторії
- 4. провести дезинфекцію в господарстві

227. Під час проведення біопроби можна заражати

- 2. лабораторних тварин
- 3. курячі ембріони
- 4. сільськогосподарських тварин
- 5. культури клітин

228. При діагностиці вірусних хвороб з часом зменшиться кількість таких досліджень

- 1. світлова мікроскопія
- 2. біопроба
- 3. ретроспективна діагностика
- 4. полімеразна реакція

229. Молекулярними методами, в яких вивчають взаємодію антигенів та антитіл є:

- 1. отримання культур клітин
- 2. гістологічне дослідження
- 3. серологічні дослідження
- 4. імуоферментний аналіз

230. Цілісні віріони можна побачити при проведенні таких досліджень як

- 1. світлова мікроскопія
- 2. люмінесцентна мікроскопія
- 3. біопроба
- 4. електронна мікроскопія

231. Постановка серологічних реакцій дозволяє:

1. виявити наявність антигенів
2. виявити ЦПД
3. накопичити вірус
4. вивчити титр антитіл

232. Для обробки підтримуючих середовищ для культур клітин використовують:

1. кип'ятіння
2. автоклавування
3. тиндалізацію
4. стерилізацію сухим жаром

233. Ізоляція вірусу проводиться

1. після отримання вірусної суспензії
2. з необробленого пат матеріалу
3. після сумнівних результатів серологічних реакцій
4. при ретроспективній діагностиці

234. Молекулярними методами дослідження, що потребують мінімальної кількості пат матеріалу є

1. полімеразна реакція
2. біопроба
3. гістологічні дослідження
4. імуноферментний аналіз

Тести 2 рівня. Вставте слова і словосполучення в речення.

1. Дефектні віріони не мають _____ і тому не в змозі спричинити _____
2. Цілісні віріони наявні в навколишньому середовищі, _____ та _____
3. В зараженій клітині геном вірусу у вигляді комплексу _____ відповідає за _____
4. Головна речовина кожного вірусу – це _____, який відповідає за _____
5. Носовий слиз відбирають від таких груп тварин як _____ та _____
6. Шматки органів є _____ патматеріалом, і їх відбирають від _____ тварин
7. Консервацію вірусовмісних зразків проводять і для _____, і для _____ патологічного матеріалу.
11. Пантропні віруси розмножуються в _____, а дермотропні віруси – в _____
12. Нейротропні віруси розмножуються в _____, а у внутрішніх органах розвиваються _____.
13. Основні властивості вірусів – це відсутність _____ та _____ паразитизм.
14. В органах дихання розмножуються _____ віруси, а в шлунково-кишковому тракті – _____
15. Вакцина, складена лише із оболонки простих _____ вірусів, має назву _____
16. Хімічна вакцина містить речовини суперкапсиду. І тому в ній обов'язково є _____ та _____
17. Різні типи вуглеводів можуть входити до вакцин, створених на основі простих та складних віріонів, і такими вуглеводами є _____ чи _____
18. РНК-вмісні геноми мають _____ % відомих вірусів хребетних, і ці геноми можуть бути безперервними або _____
19. ДНК-вмісні геноми мають _____ % відомих вірусів хребетних, і ці геноми у складних вірусів найчастіше _____
20. Нуклеїнові кислота та прості білки входять до складу інактивованих вакцин, в яких містяться _____ віруси.
6. Однакові типи вуглеводів можуть входити до вакцин, створених на основі складних віріонів, і такими вуглеводами є _____ чи _____
21. Більшість вірусів хребетних має геном, що складається із _____, і у всіх родин диплорнавірусів ця молекула не безперервна, а _____
22. Геном складного вірусу кодує білки _____ та протеїновий компонент _____.
23. За формою молекул вірусний геном _____ або _____
24. За кількістю ланцюгів нуклеїнових кислот вірусний геном може бути _____ або _____

25. В ДНК та РНК вірусів наявні різні _____ та _____
26. Просторова відповідальність пар азотистих основ в дволанцюгових молекулах ДНК називається _____, а особлива структура одно ланцюгових ДНК має назву _____
13. Нуклеїнова кислота складного вірусу кодує у збудника _____ та _____
27. Ліпіди клітини-хазяїна входять до складу _____ у _____
28. Віруси з фрагментованим геномом належать до _____ і мають спеціальну назву – _____
29. У вакцинах повинні бути присутні _____ складних вірусів і їх _____ структура повинна бути неушкодженою.
30. Складні віруси розвиваються в культурі клітин після взаємодії їх _____ та _____ еукаріотичної клітини.
31. Загибель клітини-хазяїна спостерігається після виходу з неї _____, і тому вакцини, зроблені на їх основі, потребують ретельного _____
32. Для створення противірусного імунітету використовують такі біопрепарати як _____, і вони стимулюють утворення такого класу антитіл як _____.
33. На першій стадії репродукції вакцинних вірусів в культурі клітин спостерігається їх _____ до _____
34. Вихід складних віріонів із клітин курячих ембріонів при отриманні вакцин відбувається шляхом _____, а простих - _____
35. В репродукції вірусів хребетних під час їх _____ з патологічного матеріалу приймають участь вірусні та клітинні _____.
36. У відповідь на вірусну агресію заражені клітини виробляють такі речовини як _____ та _____
37. В сучасній класифікації існує _____ родин простих віріонів та _____ родин складних.
38. І при природному зараженні, і при _____ речовини вірусів у хазяїна синтезуються в різних частинах клітини, і такий процес називається _____.
39. Прості віруси попадають із клітини-господаря в _____ шляхом _____
40. Структурні білки віріонів існують під час знаходження збудника як в _____, так і _____.
41. Неструктурні білки віріонів існують під час існування збудника в _____ у вигляді _____.
42. На першій стадії репродукції вакцинних вірусів спостерігається їх _____ та _____ до клітини-хазяїна
43. Надругій стадії репродукції спостерігається _____ збудників хвороб та синтез їх _____
44. Для запобігання розвитку супутніх мікробів у флакон із носовим слизом додають _____, а вірус підтримують _____.
45. Віруси в лабораторії зберігають при температурі _____ та _____ °С.
46. Для транспортування змивів з прямої кишки та клоаки птиці використовують _____ та _____.

47. Внаслідок неправильної _____ та _____ в патматеріалі може бути мала кількість активних вірусів.
48. Сольовий розчин _____ дозволяє створити умови подібні _____
49. При транспортуванні вірусовмісного матеріалу упаковка є _____, а патологічний матеріал охолоджується за допомогою _____
50. При транспортуванні вірусного матеріалу умови організму імітує _____, а супутню мікрофлору знищує _____
51. При відборі вірусовмісного патматеріалу в нього можуть потрапити _____ з оточуючого середовища, які є представниками різних _____.
52. Відбір пат матеріалу необхідно проводити _____, враховуючи _____ вірусів.
53. Великі дози антибіотиків можна додати до таких видів пат матеріалу як _____ та _____
54. Антибіотики під час консервації недоцільно використовувати, тому що у багатьох _____ наявна така властивість як _____
55. Висів вірусного патматеріалу із сторонніми мікробами призведе до їх _____ та неможливості _____
56. При відборі шматків органів в скляний флакон додають _____ для _____
57. Найуживанішими засобами консервація патматеріалу є _____ та _____
58. При відборі змивів з носоглотки, використовують _____ з розчин _____
59. Дезінфекція пластикових окулярів після досліджень проводиться в розчині _____ впродовж _____
60. Перед проведення вірусологічних досліджень опромінення боксу проводиться після _____ впродовж _____
61. Дезінфекція трупів тварин після досліджень проводиться в розчині _____, після чого проводять їх _____
62. Використане лабораторне обладнання після проведення вірусологічних досліджень _____ в боксі впродовж _____
63. Для остаточного знищення бактерій, які потрапили на скляний посуд після _____ користуються таким методом стерилізації як _____
64. Дезінфекція марлі та фольги після досліджень проводиться в розчині _____, а потім їх обробляють в автоклаві при _____°C
65. Найефективніший вплив дезінфектанту на віруси полягає в _____ або знищенні _____
66. Під впливом гарячих і _____ дезінфектантів у малих за розмірами віріонів руйнуються _____
67. Недоліки під час стерилізації лабораторного посуду до роботи можуть призвести до розмноження _____, а після роботи – до _____.
68. Перший етап знищення вірусів у залишках патматеріалу проводиться шляхом _____, другий – _____

69. При розтині курячих ембріонів користуються такими дезінфектантами як _____ або _____.
70. Тверді відходи лабораторії – це _____ та _____.
71. Середовища для культур клітин, в залежності від типу, стерилізують або _____, або _____.
72. Пробірки для _____ та додавання до рідини _____ під час вірусологічних досліджень доцільно закривати стерильною фольгою.
73. Після дезінфекції в господарстві гине _____ % вірусів, а в лабораторії – _____ %.
74. Цілісні віріони в _____ патматеріалі можна побачити при проведенні _____.
75. Імуноферментний аналіз за методом ELISA проводять як для виявлення _____, так і для встановлення _____.
76. Під час біопроби можна заражати таких тварин як _____, але цим таким методом користуються все менше і менше через _____.
77. При постановці серологічних реакцій із сироватки крові дослідник працює з _____ і проводить _____.
- 78.** При постановці серологічних реакцій із підготованого патологічного матеріалу, дослідник працює з _____, в якій містяться _____.
79. В імуноферментному аналізі використовують не тільки антигени та антитіла, але й _____ та _____, зв'язані з допоміжними речовинами.
80. Середовища для культур клітин є _____ і повинні бути _____.
81. Курячі ембріони використовують не тільки для проведення _____, але й для виготовлення _____.
82. В культурах клітин можна вирощувати ослаблені віруси та _____ віруси для _____.
83. Під час проведення ретроспективної діагностики можна проводити не тільки _____ реакції, але й _____:
84. При постановці серологічних реакцій із вірусною рідиною дослідник працює з _____ і проводить _____.
85. Вивільнення вірусного геному в тропних клітинах спостерігається як при _____, так і при _____.
13. Барвники використовують при проведенні таких вірусологічних досліджень як _____ та _____.
86. Розвиток моношару відбувається на _____ середовищі, а розмноження вірусу в культурі клітин – на _____.
87. Аналогом безсмертних пухлинних клітин є отримані природним шляхом або за допомогою лабораторних маніпуляцій тваринні клітини _____ або _____ культури.

Тести 3 рівня. Знайдіть 2 відповідності до основного терміну та напишіть текст, який обгрунтовує ваш вибір.

1. **Простий віріон:** ядро, капсид, суперкапсид, геном
2. **Суперкапсид:** пепломери, глікопротеїн, лактоза, лізосома
3. **Дефектний віріон:** кубічний капсид, патологічний матеріал, мітохондрія, бактерія.
4. **Зрілі складні віріони в організмі:** клітина-хазяїн, міжклітинний простір, ядро тропної тканини, цитоплазма.
5. **Електронна мікроскопія:** віріон, світловий мікроскоп, міжклітинний простір, тільця-включення.
6. **Необов'язкові структури вірусів:** геном, капсид, пеплос, серцевина.
7. **Віруси вражають лише нервову систему:** нейротропні, рецептори, електронний мікроскоп, аероб.
8. **Віруси вражають лише епітелій:** дермотропні, клітина-хазяїн, вісцеротропні, нейротропні.
9. **Пантропні віруси:** здорова тканина, генетична нечутливість, прижиттєвий патологічний матеріал, посмертний патологічний матеріал,
10. **Ейтеротропні віруси:** слизова оболонка кишечника, ураження шкіри, фекалії, головний мозок.
11. **Зміна структури капсомерів простого вірусу:** вакцина, нові антигени, суперкапсид, глікопротеїни пепломерів
12. **Обов'язкові структури складних вірусів:** геном, суперкапсид, пеплос, ядро.
13. **Капсид простого вірусу:** захист геному, формування внутрішніх структур, прикріплення до клітини-хазяїна, розмноження
14. **Капсид складного вірусу:** захист геному, формування симетрії віріону, прикріплення до клітини-хазяїна, поділ клітини-хазяїна.
15. **Геном вірусу:** репродукція, консервація, заморожування, інформація про структуру віріону.
16. **Полінуклеотидний ланцюг вірусів:** білок, плазміда, фрагментований геном, лінійний геном.
17. **Фрагментована нуклеїнова кислота:** РНК- простий, РНК-складний, ДНК-простий, ДНК – складний.
18. **Синтез вірусних білків:** пеплос, рибосома, геном вірусу, лізосома
19. **Пепломери:** глікопротеїни, гліколіпіди, матрикс, капсид.
20. **Вуглеводи простих вірусів:** рибоза, дезоксирибоза, глюкоза, сахароза.
21. **Вуглеводи нуклеотидів складних вірусів:** рибоза, дезоксирибоза, глюкоза, сахароза.
22. **Вуглеводи прикріплювальних білків складних вірусів:** рибоза, дезоксирибоза, галактоза, глюкозамін.
23. **Структурні білки простих вірусів:** капсид, капсомери, матрикс, пепломери
24. **Структурні білки складних вірусів:** рибоза, нуклеотид, серцевина, матрикс.
25. **Ферменти вірусів:** рибоза, нуклеотид, серцевина, матрикс.
26. **Неструктурні білки простих вірусів:** віріон, комплекс вірус-клітина, нефункціональні пептиди, пепломери.

27. **Неструктурні білки складних вірусів:** віріон, комплекс вірус-клітина, проміжні білки, матрикс.
28. **Речовини суперкапсиду:** цитоплазматична мембрана, ліпіди, неструктурні білки, нуклеотиди.
29. **Вірусні вакцини:** дефектні віріони, авірулентні віріони, високо вірулентні віріони, інфекційна хвороба.
30. **Вірусні діагностикуми:** дефектні віріони, авірулентні віріони, високо вірулентні віріони, інфекційна хвороба.
31. **Вивільнення вірусного геному в тканинах хазяїна, нешкідливе для тварин:** авірулентні віруси, вакцинація, індикація вірусу, імунодефіцит
32. **Сказ і везикулярний стоматит:** РНК-овий геном, суперкапсид, розмір 30 нм, простий вірус
33. **Ортоміксовіруси:** парагрип, фрагментований геном, розмір 20 нм, грип
34. **Хвороба Тешена і ящур:** ДНК-овий геном, пеплос, аденовіруси, капсомери
35. **Противірусний імунітет:** вільний вірус, антитіла, фрагментини, Т-лімфоцити
36. **Вирощування вакцинних вірусів:** курячий ембріон, дефектний вірус, індикація, мікроскопія
37. **Противірусний імунітет під час розвитку інфекційної хвороби:** інтерферон, цитотоксичні лімфоцити, лізоцим, корисні мікроби.
38. **Філовіруси:** суперкапсид, ДНК-овий геном, розмір 800 нм, розмір 50 нм
39. **Герпес і віспа:** дезоксирибоза, фрагментований геном, розмір 30 нм, пепломери
40. **Папілома- і поліомавіруси:** суперкапсид, диплонавіруси, прості віруси, пухлини
41. **Гепадновірус:** ДНК-овий геном, рибоза, фрагментований геном, розмір 40 нм
42. **Параміксо- і ортоміксовіруси:** суперкапсид, однакова нуклеїнова кислота в геномі, дезоксирибоза, пухлини
43. **Складні РНК-вмісні віруси:** 12 родин, матрикс, аденовіруси, пікорнавіруси
44. **Прості ДНК-вмісні віруси:** 5 родин, прикріплювальні білки, рибоза, суперкапсид
45. **Вихід віріонів:** вибух, брунькування, лізосома, ядро.
46. **Консервація патологічного матеріалу:** розчин Хенкса, 5% хлорамін, заморожування, дистильована вода
47. **Нестерильний посуд:** носовий слиз, кров, фекалії, шматки шкіри.
48. **Первинний діагноз:** консервація, електронна мікроскопія, супровідний документ, культури клітин.
49. **Упаковка патматеріалу:** одношарова, багатошарова, запобігання рознесенню вірусу, температура 30-35°C.
50. **Максимальна кількість сторонніх мікробів:** лімфовузлі, ураження кон'юктиви, фекалії, шматки шкіри.
51. **Мінімальна кількість сторонніх мікробів:** головний мозок, кров, слизова кишечника, фекалії.
52. **Сторонні мікроби влітку:** фізіологічний розчин, заморожування, антибіотики, мезофіли.
53. **Сторонні мікроби влітку:** фізіологічний розчин, заморожування, антибіотики, психрофіли.
54. **Сольові розчини:** фосфатний буфер, фізіологічний розчин, розчин Хенкса, розчин Ерла.
55. **Маркування патологічного матеріалу:** етикетка, бірка, наклейка, тирса.

56. **Відбір пат матеріалу після роздачі кормів на фермі:** гриби, актиноміцети, антитіла, дезінфектанти.
57. **Транспортування вірусомісного матеріалу:** уповільнення інактивації вірусу, прискорення інактивації вірусу, знищення вірусу, знищення супутньої мікрофлори
58. **Остаточний діагноз:** вибір методики лабораторних досліджень, ліквідація хвороби, використання ефективних лікарських засобів, поширення хвороби
59. **Антибіотики:** широкий спектр дії, вузький спектр дії, сторонні мікроби, помірна чутливість.
60. **Заморожування зразка:** віріон, цитоплазма, руйнація клітини, руйнація віріону.
61. **12-годинна дезінфекція вірусного матеріалу:** руйнація віріонів, руйнація пепломерів, антибіотик, автоклав
62. **Обробка підтримуючих середовищ після роботи:** кип'ятіння, автоклавування, стерилізацію сухим жаром, дезінфекція
63. **Остаточне знищення віріонів на скляному та фарфоровому лабораторному посуді:** кип'ятіння в синтетичних миючих засобах, сухий жар, автоклав, сірчана кислота
64. **Знищення заражених вірусом культур у флаконах:** 10% хлорамін, автоклав, сушильна шафа, етиловий спирт
65. **Стерилізація сироватки крові для культур клітин:** автоклавування, дезінфекція, фільтрування, термолабільні речовини
66. **Дезінфекція трупів тварин:** етиловий спирт, лізол, луги, хлорамін.
67. **Опромінення боксу після досліджень:** дезінфекція, 30 хвилин, 2 години, сухий жар.
68. **Знищення супутніх мікробів в ростових середовищах:** фільтрування, антибіотик, сушильна шафа, водяна баня
69. **Сірчана або соляна кислоти:** руйнація прикріплювальних білків, руйнація віріонів, дезінфекція, кип'ятіння.
70. **Отвори у вірусологічному посуді:** фольга, папір, ватно-марлеві корки, гумові корки.
71. **Середовище Ігла:** фільтрація, етиловий спирт, автоклав, сушильна шафа
72. **Остаточна утилізація матеріалів, забруднених вірусами:** утилізаційний майданчик, сірчана кислота, автоклав, сушильна шафа.
73. **Фізичні фактори для дії на віруси в лабораторії:** температура, випромінювання, висушування, електричний струм.
74. **Хімічні фактори для дії на віруси в лабораторії:** речовини для денатурації білків, комплексні розчини, дистильована вода, антибіотики.
75. **Розчини дезінфектантів у вірусологічному боксі:** хлорамін, етиловий спирт, формалін, карболова кислота..
76. **Підтримуюче середовище:** культура клітин, розчин Ерла, хлорне вапно, гістологія
77. **Сироватка крові:** середовище Ігла, нестерильний флакон, фільтрація, молочна кислота
78. **Моношар:** ростове середовище, сироватка крові, патматеріал, суспензійна культура
79. **Зараження лабораторних тварин під час ідентифікації вірусу:** біопроба, накопичення вірусного матеріалу, дезінфекція, ретроспективна діагностика
80. **Ростове середовище:** розчин хлорної кислоти, хлорне вапно, сироватка, напівсинтетичне середовище
81. **Розмноження вірусів:** культура клітин, ізоляція збудника, центрифугування пат матеріалу, дезрозчин

82. **Ізоляція вірусу:** культура клітин, сушильна шафа, ретроспективна діагностика, імуноферментний аналіз
83. **Основа поживного середовища для культур клітин:** розчин Хенкса, розчин Ерла, етиловий спирт, хлорамін
84. **Гістологічні дослідження:** пошкоджені вірусами клітини, експрес-метод, імуноферментний аналіз, ізоляція
85. **Експрес-методи вірусологічних досліджень :** ІФА, біопроба, ізоляція в культурі клітин, електронна мікроскопія.
86. **Імуноферментний аналіз:** субстрат, пероксидаза хрину, ацетилхолін естераза, феноловий червоний.
87. **Розмноження вірусів:** індикація, ізоляція, ідентифікація, курячий ембріон
88. **Пошкоджені вірусами клітини:** гістологія, ІФА, тільця вклучення, ПЛР.
89. **Незаражена вірусом культура клітин:** ростове середовище, матрац, гомогенна система, хлорамін.
90. **Культура клітин в холодильнику:** ростове середовище, мінімальне середовище, моно шар, електронна мікроскопія.

ЛІТЕРАТУРА

1. Ангельські С., Домінічак М., Якубовські З. Клінічна біохімія. Сопот, 1998. 451 с.
2. Анохина Ю. Н. Новые вирусы животных. *Ветеринария*, 1982. № 6. С. 8 – 16.
3. Антоненко С. В., Кравченко О. Н., Петренко Е. В. Метод полимеразной цепной реакции: применение в диагностике инфекционных болезней, проблемы, перспективы *Лабораторная диагностика*. 1999. № 3 (9). С. 21 – 26.
4. Антонова О. С., Корнева Н. А., Белов Ю. В., Курочкин В. Е. Эффективные методы выделения нуклеиновых кислот для проведения анализов в молекулярной биологии. *Научное приборостроение*. 2010. Т 20, № 1. С. 3–9.
5. Анфорова М. В., Головаха В. І., Піддубняк О. В., Тишківський М. Я. Зміни властивостей еритроцитів у собак. *Науковий вісник ЛНУВМ та БТ ім. С. З. Гжицького*. 2016. Т. 18, № 3 (71). С. 3–6.
6. Апатенко В. М. Ветеринарна імунологія та імунопатологія. Київ : Урожай, 1994. 128 с.
7. Апатенко В. М. Вирусные инфекции сельскохозяйственных животных. Харьков : РВВ ХГЗВА, 2003. С. 122–125.
8. Бойко А. А., Муравьев В. К. Иммунодефициты и их преодоление. *Ветеринарная газета*. 1997. № 2 (116). С. 3.
9. Бойко А. Л. Основи екології та біофізики вірусів. Київ.: Фітосоціоцентр, 2003. 164 с.
10. Бойко А. Л. Парадокси вірусології: проблеми і завдання. *Вісник аграрної науки*. 2016. № 10. С. 43–46.
11. Бойко А. Л. Экология вирусов растений. Киев: Вища школа, 1990. 165 с.
12. Бордунова О. Дезінфектанти для ветеринарної медицини на основі поверхнево-активних речовин: перспективні напрямки розробки і використання. *Ветеринарна медицина України*. 1999. № 12. С. 34.
13. Брошков М. М. Динаміка показників клітинного і гуморального імунітету у цуценят залежно від ступеня стресованості організму. *Науковий вісник ЛНУВМ та БТ ім. С. З. Гжицького*. 2014. Т. 16, № 3 (60), ч. 2. С. 41–46.
14. Брошков М. М. Динаміка показників клітинного імунітету у цуценят упродовж неонатального періоду. *Біологія тварин*. 2015. Т. 17, № 1. С. 16–20.
15. Брошков М. М. Показники клітинного імунітету у собак різних порід *Науковий вісник ЛНУВМ та БТ ім. С. З. Гжицького*. 2015. Т. 17, № 1 (61). С. 3–9.
16. Брошков М. М. Трансплацентарна та колостральна передачі специфічних антитіл у собак. *Наукові доповіді НУБіПУ*. 2013. № 3. С. 23–30.
17. Брошков М. М., Смолянінов Б. В. Оцінка впливу імуномодруючих препаратів на імунологічну реактивність організму собак. *Біологія тварин*. 2012. Т. 14, № 1–2. С. 510–512.
18. Вахрушев Я. М., Шкагова Е. Ю. Лабораторные методы диагностики. Ростов-на-Дону : Феникс, 2007. 96 с Верина Е. Вирусный энтерит. *Зооафиша*. 2015. № 2. С. 34–37.
19. Векірчик К. М. Мікробіологія з основами вірусології: підручник. Київ: Либідь, 2001. – 312 с.
20. Вершигора А. Е. Общая иммунология. Киев : Вища школа, 1990. 735 с.
21. Влізло В. В., Слівінська Л. Г., Максимович І. А., Леню М. І., Галяс В. Л. Лабораторна діагностика у ветеринарній медицині : довідник. Львів : Афіша, 2014. 152 с.

22. Волкова О. Я., Афанасьев Б. В., Эмануэль В. Л. Иммуно-гематологические исследования в клинической практике. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2007. № 2. С. 25–32.
23. Галатюк О. Є., Радзиховський М. Л. Організація профілактичних та оздоровчих заходів при інфекційних хворобах тварин. Житомир: 2013. 456 с.
24. Горбань Н. И. Вирусные респираторные болезни животных. Киев : Урожай, 1981. 64 с.
25. Горбатюк О. Б., Цапенко М. В., Павлова М. В., Окунев О. В., Кордюм В. А. Биоаффинный сорбент на основе иммобилизованного белка А *Staphylococcus aureus*: создание и использование. *Biopolym. Cell*. 2012. Vol. 28, №2. P. 141–148.
26. Гудзь С. П., Перетятко Т. Б., Павлова Ю. О. Загальна вірусологія: навч. посіб.: [для студ. вищ. навч. закл.]. Львів. 2010. 264 с.
27. Данилейченко В. В., Федечко Й. М., Корнійчук О. П. Мікробіологія з основами імунології. 2-ге вид. Київ : Медицина, 2009. 392 с.
28. Державна фармакопея України. Перше видання. Доповнення 2 / під ред. О. І. Гризодуба. Харків : РІРЕГ, 2008. 617.
29. Дика О. В. Імунологічні методи досліджень у лабораторіях ветеринарної медицини : метод. рекомендації. Біла Церква, 1997. С. 62–68.
30. Іліна О. В. Індикація збудників та удосконалення вакцинопрофілактики парвовірусного ентериту і чуми собак : автореф. дис. ... канд. вет. наук : 16.00.03. Луганськ, 2011. 21 с.
31. Калініна О. С. Таксономічна характеристика ДНК–геномних вірусів хребетних тварин і людини . *Науковий вісник ЛНУВМ та БТ ім. С. З. Гжицького*. 2016. Т. 18, № 2 (66). С. 83–87. doi:10.15421/nvlvet6618
32. Калініна О. С. Таксономічна характеристика РНК-геномних вірусів хребетних тварин і людини . *Науковий вісник ЛНУВМ та БТ ім. С. З. Гжицького*. 2017. Т. 19, № 78. С. 30–35. doi:10.15421/nvlvet7807
33. Калініна О. С., Панікар І. І., Скибіцький В. Г. Ветеринарна вірусологія : підручник. Київ : Вища освіта, 2004. 432 с.
34. Комплексна оцінка впливу ветеринарних препаратів на морфо функціональний стан імунної системи : методичні рекомендації / І. Я. Коцюмбас та ін. Львів, 2009. 63 с.
35. Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині : довідник / В. В. Влізла та ін. ; за ред. В. В. Влізла. Львів. 2012. 764 с.
36. Люта В. А., Кононов О. В. Мікробіологія з технікою мікробіологічних досліджень, вірусологія та імунологія : підручник. 2-ге вид. Київ : ВСВ «Медицина». 2018. 576 с.
37. Люта В. А., Кононов О. В. Практикум з мікробіології : навч. посібник. 2-ге вид. Київ : ВСВ «Медицина». 2011. 184 с.
38. Лютка Г. І., Радзиховський М. Л., Дишкант О. В. Загальна вірусологія основи ветеринарної та зоонотичної вірусології Ч. 1. / за ред. М. Л. Радзиховського. Вінниця : ТОВ «Друк», 2020. 400 с.
39. Медична мікробіологія, вірусологія та імунологія : підручник / за ред. В. П. Широкобокова. Вінниця : Нова книга, 2011. 952 с.
40. Микробиологические и вирусологические методы исследований в ветеринарной медицины / А. Н. Головки и др. ; под ред. А. Н. Головки. Харьков : НТМТ, 2007. 512 с.

41. Мікробіологія, вірусологія та імунологія в запитаннях та відповідях ; за заг. ред.: В.П. Широкова, С.І. Климчука. - Тернопіль: Укрмедкнига, 2019. - 340 с
42. Мікробіологія, вірусологія, імунологія, інфекційні хвороби. Словник / За ред. Г. К.Палія, В. Г. Палія. Київ: Здоров'я, 2004. 296 с.
43. Панікар І. І., Скибицький В. Г., Калініна О. С. Практикум з ветеринарної вірусології. Суми : Козацький вал, 1997. 236 с.
44. Полімеразна ланцюгова реакція у практиці ветеринарної медицини: наук.-метод. посібник / під ред. Б. Т. Стегнія та А. П. Геріловича. Харків : ННЦ ІЕКВМ, 2006. 110 с.
45. Поліщук В. П., Будзанівська І. Г., Шевченко Т. П. Посібник з практичних занять до курсу «Загальна вірусологія». Київ : Фітосоціоцентр, 2005. 204 с.
46. Пономарев А. П., Мищенко В. А. Электронная микроскопия вирусов животных и некоторых условно-патогенных микроорганизмов. Владимир : Фолиант, 2005. 158 с.
47. Посібник з практичних занять до курсу «Загальна вірусологія». В. П. Поліщук, І. Г. Будзанівська, Т. П. Шевченко та ін. Київ.: Фітосоціоцентр, 2005. 204 с.
48. Практикум з ветеринарної вірусології / В. Г. Скибицький та ін. Київ : Вища школа, 2005. 208 с.
49. Радзиховський М. Л. Герпесвірусні інфекції коней першого та другого типів (удосконалення діагностики та лікування) : дис. ... канд. вет. наук : 16.00.03. Київ, 2009. 162 с.
50. Радзиховський М. Л., Горальський Л. П., Костюк В. К. Особливості культивування вірусів собак родини Parvoviridae та Coronaviridae. Житомир: Рута, 2018. 20 с.
51. Радзиховський М. Л., Дишкант О. В. Патент України на № 137015: Спосіб культивування парвовірусу собак № U201902860; заявл. 22.03.2019; опубл. 25.09.2019, Бюл. № 18.
52. Сергеев В. А. Вирусные вакцины. Киев : Урожай, 1983. 233 с.
53. Скибицький В. Г., Козловська А. В. Лабораторна діагностика вірусних хвороб тварин. Курс лекцій. НУБіП України, Київ. 2010. 301 с.
54. Хмельницький Г. О., Духницький В. Б. Ветеринарна фармакологія Підручник. Київ : 2017. 585 с.
55. Allen G. P. Respiratory Infections by Herpesviruses Types 1 and 4. *International Veterinary Information Service*. 2002. P.67-78.
56. Arjo W. M. Serologic survey for diseases in free-ranging coyotes (*Canis latrans*) from two ecologically distinct areas of Utah. *Journal of Wildlife Diseases*. 2003. Vol. 39(2). P. 449-455.
57. Bhatnagar R., Johnson G. R., Christian R. G. Electron microscopy for rapid identification of animal viruses in hematoxylin-eosin sections. *Canadian Journal Comparative Medicine*. 1976. P. 416-419
58. Bischof R., Rogers D. G. Serologic survey of select infectious diseases in coyotes and raccoons in Nebraska. *Journal Wildl Dis*. 2005. Vol. 41(4). P. 787-791.
59. Chen S., Liu D., Tian J., Kang H., Guo D., Jiang Q., Liu J., Li Z., Hu X., Qu L. Molecular characterization of HLJ-073, a recombinant canine coronavirus strain from China with an ORF3abc deletion. *Archives of Virology*. 2019. Vol. 164(8). P. 2159 – 2164. doi: 10.1007/s00705-019-04296-9.
60. Ghasemzadeh I., Namazi S H. (2015). Review of bacterial and viral zoonotic infections transmitted by dogs. *Journal of Medicine and Life*. 2015. Vol. 8(4).1-5

61. Katagiri S, Oliveira-Sequeira T. Prevalence of dog intestinal parasites and risk perception of zoonotic infection by dog owners in São Paulo State, Brazil. *Zoonoses and Public Health*. 2008; 55(8-10):406-13. Doi: 10.1111/j.1863-2378.2008.01163.x.
62. Lecocq M, Detry B., Guisset A., Pilette C. Fc α RI-Mediated Inhibition of IL-12 Production and Priming by IFN- γ of Human Monocytes and Dendritic Cells. *Journal Immunology*. 2013. Vol.190, №5. P. 2362–2371.
63. Martelli G. P. Grapevine Virology Highlights: 2010–2012. *The International Council for the Study of Virus and Virus-like Diseases of the Grapevine: Proceedings of the 17th Congress of ICVG*. (Davis, California, USA, October 7–4). Davis, 2012. P. 13– 31.
64. Mochizuki M, Hashimoto M, Ishida T. Recent epidemiological status of canine viral enteric infections and Giardia infection in Japan. *Journal of Veterinary Medical Science*. 2001. Vol. 63(5). P. 573 – 578. DOI: 10.1292/jvms.63.573
65. Netherton C. L., Wileman T. Virus factories, double membrane vesicles and viroplasm generated in animal cells. *Current opinion in virology*. 2011. № 1. P 381–387. Doi:10.1016/j.coviro.2011.09.008.
66. Philips T. R. Effects of Vaccines on the Canine Immune System *Canadian Veterinary Journal*. 1989. Vol. 53. P. 154–160.
67. Rima B. K., Duprex W. P. Morbilliviruses and human disease. *Journal. Pathology*. 2006. Vol. 208 (2). P. 199–214.
68. Smyth L. A., Hervouet C., Hayday T., Becker P. D., Ellis R., Lechler R. I., Lombardi G., Klavinskis L.S. Acquisition of MHC: peptide complexes by dendritic cells contributes to the generation of antiviral CD8+ T cell immunity in vivo. *Journal Immunology*. 2012. Vol.189, №5. P.2274–2282.
69. Talan DA, Citron DM, Abrahamian FM, Moran GJ, Goldstein EJ. Bacteriologic analysis of infected dog and cat bites. *New England Journal of Medicine*. 1999. № 340(2). P. 85-92. Doi: 10.1056/NEJM199901143400202.
70. Tryland M. Serologic survey for selected virus infections in polar bears at Svalbard *Journal of Wildlife Diseases*. 2005. Vol. 41(2). P. 310–316.
71. Wensink A.C., Hack C.E., Bovenschen N. Granzymes regulate proinflammatory cytokine responses. *Journal Immunology*. 2015. Vol.194, №2. P. 491–497.

Відповідальний
за випуск Радзиховський М.Л.

Формат 60x84/16. Умовн. друк. арк. 14,5.
Тираж 100 прим. Зам. No 306.

Віддруковано з готового оригінал-макета автора
Видавець та виготівник ПП «Євро-Волинь»
м. Житомир, вул. Крошенська буд. 45, кв. 34
Свідоцтво серія ДК No7208 від 07.12.2020