

О. С. Калініна
І. І. Панікар
В. Г. Скибіцький

ВЕТЕРИНАРНА ВІРУСОЛОГІЯ

Підручник

3-тє видання, перероблене і доповнене

*Рекомендовано Львівським національним університетом
ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького
для студентів спеціальності «Ветеринарна медицина»*

ОЛДІПІЮС

2021

Рецензенти:

Галатюк О. Є., доктор ветеринарних наук, професор, завідувач кафедри мікробіології, фармакології та епізоотології Поліського національного університету;

Бойко П. К., доктор ветеринарних наук, професор кафедри гістології та медичної біології Волинського національного університету імені Лесі Українки;

Куртяк Б. М., доктор ветеринарних наук, професор, завідувач кафедри епізоотології Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького

*Гриф надано Львівським національним університетом
ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького
(наказ № 129 від 24 червня 2021 року)*

Калініна О. С.

К17 Ветеринарна вірусологія : підруч., 3-тє вид., перероб. і доповн. /
О. С. Калініна, І. І. Панікар, В. Г. Скибіцький. – Херсон : ОЛДІ-
ПЛЮС, 2021. – 416 с.

ISBN 978-966-289-596-4

Викладено основи ветеринарної вірусології. Наведено дані про природу і походження вірусів, структурну організацію та хімічний склад, механізм репродукції, генетику й екологію вірусів, патогенез вірусних інфекцій, особливості противірусного імунітету, імунопрофілактику та хіміотерапію вірусних інфекцій. Подано сучасну таксономію й номенклатуру вірусів і таксономічну характеристику родин вірусів тварин і людини. Значну увагу надано лабораторній діагностиці вірусних інфекцій тварин. Описано сучасні методи індикації вірусів у патологічному матеріалі, культивування вірусів у чутливих біологічних об'єктах (лабораторних тваринах, курячих ембріонах, культурах клітин), методики серологічних реакцій для ідентифікації вірусів і специфічних антитіл. Подано схеми лабораторної діагностики актуальних для ветеринарної практики вірусних інфекцій тварин.

Для студентів спеціальності «Ветеринарна медицина». Може бути корисним слухачам системи післядипломного навчання і працівникам діагностичних лабораторій ветеринарної медицини.

УДК 578:636.09(075.8)

© О. С. Калініна, І. І. Панікар, В. Г. Скибіцький, 2021
© ОЛДІ-ПЛЮС, 2021

ISBN 978-966-289-596-4

ЗМІСТ

СПИСОК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ 10

ПЕРЕДМОВА 13

Розділ 1

ВСТУП ДО ВІРУСОЛОГІЇ

1.1. Історія відкриття вірусів 14

1.2. Основні періоди розвитку вірусології 19

1.3. Природа вірусів 22

1.4. Походження вірусів 28

1.5. Роль вірусів в інфекційній патології людини і тварин 30

1.6. Досягнення і завдання сучасної вірусології 35

Контрольні запитання 39

Розділ 2

СТРУКТУРНА ОРГАНІЗАЦІЯ ТА ХІМІЧНИЙ СКЛАД ВІРУСІВ

2.1. Фізична структура вірусів 40

2.2. Хімічний склад вірусів 44

2.2.1. Нуклеїнові кислоти 44

2.2.2. Протеїни 47

2.2.3. Ліпіди 49

2.2.4. Вуглеводи 50

2.2.5. Компоненти клітини-хазяїна 51

2.3. Стійкість вірусів у навколишньому середовищі 51

Контрольні запитання 59

Розділ 3

ТАКСОНОМІЯ ТА НОМЕНКЛАТУРА ВІРУСІВ

3.1. Основи класифікації вірусів 60

**3.2. Основні таксономічні ознаки родин вірусів
тварин і людини** 66

3.2.1. Родина *Poxviridae* (поксвіруси) 70

3.2.2. Родина *Asfarviridae* (асфарвіруси) 72

3.2.3. Родина *Iridoviridae* (іридовіруси) 73

3.2.4. Родина *Herpesviridae* (герпесвіруси) 74

3.2.5. Родина *Alloherpesviridae* (аллогерпесвіруси) 76

3.2.6. Родина *Adenoviridae* (аденовіруси) 77

3.2.7. Родина <i>Papillomaviridae</i> (папіломавіруси)	79
3.2.8. Родина <i>Polyomaviridae</i> (поліомавіруси)	81
3.2.9. Родина <i>Hepadnaviridae</i> (гепаднавіруси)	83
3.2.10. Родина <i>Parvoviridae</i> (парвовіруси)	84
3.2.11. Родина <i>Circoviridae</i> (цирковіруси)	86
3.2.12. Родина <i>Anelloviridae</i> (анелловіруси)	87
3.2.13. Родина <i>Smacoviridae</i> (смаковіруси)	89
3.2.14. Родина <i>Genomoviridae</i> (геномовіруси)	90
3.2.15. Родина <i>Redondoviridae</i> (редондовіруси)	91
3.2.16. Родина <i>Paramyxoviridae</i> (параміксовіруси)	91
3.2.17. Родина <i>Pneumoviridae</i> (пневмовіруси)	93
3.2.18. Родина <i>Rhabdoviridae</i> (рабдовіруси)	94
3.2.19. Родина <i>Filoviridae</i> (філовіруси)	96
3.2.20. Родина <i>Bornaviridae</i> (борнавіруси)	97
3.2.21. Родина <i>Nyamiviridae</i> (н'ямівіруси)	98
3.2.22. Родина <i>Sunviridae</i> (сунвіруси)	99
3.2.23. Родина <i>Orthomyxoviridae</i> (ортоміксовіруси)	100
3.2.24. Родина <i>Amnoonviridae</i> (амноонвіруси)	101
3.2.25. Родина <i>Arenaviridae</i> (аренавіруси)	101
3.2.26. Родина <i>Peribunyaviridae</i> (перібун'явіруси)	103
3.2.27. Родина <i>Hantaviridae</i> (гантавіруси)	104
3.2.28. Родина <i>Nairoviridae</i> (найровіруси)	106
3.2.29. Родина <i>Phenuiviridae</i> (фенуївіруси)	107
3.2.30. Родина <i>Coronaviridae</i> (коронавіруси)	108
3.2.31. Родина <i>Tobnaviridae</i> (тобанвіруси)	110
3.2.32. Родина <i>Arteriviridae</i> (артерівіруси)	111
3.2.33. Родина <i>Togaviridae</i> (тогавіруси)	112
3.2.34. Родина <i>Flaviviridae</i> (флавівіруси)	114
3.2.35. Родина <i>Matonaviridae</i> (матонавіруси)	115
3.2.36. Родина <i>Olifoviridae</i> (оліфовіруси)	116
3.2.37. Родина <i>Picornaviridae</i> (пікорнавіруси)	116
3.2.38. Родина <i>Caliciviridae</i> (каліцівіруси)	119
3.2.39. Родина <i>Astroviridae</i> (астровіруси)	120
3.2.40. Родина <i>Hepeviridae</i> (гепевіруси)	121
3.2.41. Родина <i>Nodaviridae</i> (нодавіруси)	122
3.2.42. Родина <i>Retroviridae</i> (ретровіруси)	123
3.2.43. Родина <i>Reoviridae</i> (реовіруси)	125
3.2.44. Родина <i>Birnaviridae</i> (бірнавіруси)	126
3.2.45. Родина <i>Picobirnaviridae</i> (пікобірнавіруси)	127
3.2.46. Рід <i>Deltavirus</i> (дельтавірус)	128
Контрольні запитання	129

Розділ 4 РЕПРОДУКЦІЯ ВІРУСІВ

4.1. Особливості репродукції вірусів	130
4.2. Адсорбція віріонів на плазмолемі клітини	131
4.3. Проникнення віріонів у клітину	133
4.4. Депротейнізація (роздягання) віріонів	136
4.5. Транскрипція вірусних геномів	137
4.6. Трансляція вірусних мРНК	139
4.7. Реплікація вірусних геномів	141
4.8. Формування віріонів	148
4.9. Вихід віріонів із клітини	150
Контрольні запитання	152

Розділ 5 ГЕНЕТИКА ВІРУСІВ

5.1. Структурна організація вірусного генома	153
5.2. Популяційна структура вірусів	156
5.3. Мінливість вірусів	157
5.3.1. Види мінливості вірусів	157
5.3.2. Мутації	158
5.3.3. Рекомбінації	161
5.3.4. Включення у вірусний геном клітинних генів	162
5.3.5. Потік генів	162
5.4. Генетичні та негенетичні взаємодії вірусів	163
5.5. Загальні принципи генної інженерії	165
Контрольні запитання	167

Розділ 6 ПАТОГЕНЕЗ ВІРУСНИХ ІНФЕКЦІЙ

6.1. Загальні принципи патогенезу вірусних інфекцій	168
6.2. Патогенез вірусних інфекцій на клітинному рівні	169
6.2.1. Класифікація вірусних інфекцій на клітинному рівні	169
6.2.2. Цитопатологія вірусних інфекцій	172
6.3. Патогенез вірусних інфекцій на рівні організму	174
6.3.1. Проникнення вірусів в організм	174
6.3.2. Первинна репродукція вірусів	176
6.3.3. Поширення вірусів в організмі	176
6.3.4. Локалізація вірусів в організмі	178
6.3.5. Пошкодження чутливих клітин	178

6.3.6. Імунна відповідь	179
6.3.7. Класифікація вірусних інфекцій на рівні організму.	179
6.4. Пріонні інфекції	182
6.5. Вірусний онкогенез.	190
Контрольні запитання.	195

Розділ 7
ЕКОЛОГІЯ ВІРУСІВ ТА ЕПІЗООТОЛОГІЯ
ВІРУСНИХ ІНФЕКЦІЙ

7.1. Основні завдання з екології вірусів	196
7.2. Екологічні ніші вірусів	197
7.3. Механізм виникнення і поширення вірусних інфекцій та передавання збудників.	198
7.4. Екологічна роль вірусної персистенції, кровосисних членистоногих і хребетних.	201
7.5. Спільність збудників вірусних інфекцій тварин і людини.	204
7.6. Еволюція вірусів.	207
Контрольні запитання.	209

Розділ 8
ПРОТИВІРУСНИЙ ІМУНІТЕТ

8.1. Особливості противірусного імунітету.	210
8.2. Віруси як антигени.	211
8.3. Клітинні фактори противірусного імунітету.	213
8.4. Гуморальні фактори противірусного імунітету.	217
8.4.1. Антитіла	217
8.4.2. Інгібітори	219
8.4.3. Комплемент.	220
8.4.4. Інтерферони.	221
8.5. Імунопатологія вірусних інфекцій.	224
Контрольні запитання.	230

Розділ 9
ІМУНОПРОФІЛАКТИКА ТА ХІМІОТЕРАПІЯ
ВІРУСНИХ ІНФЕКЦІЙ

9.1. Загальні принципи імунопрофілактики вірусних інфекцій і типи вірусних вакцин.	231
9.2. Цільновіріонні вакцини.	233
9.3. Субодиничні вакцини.	236

9.4. Генноінженерні вакцини.	236
9.5. Синтетичні вакцини.	239
9.6. Хіміотерапія вірусних інфекцій.	239
Контрольні запитання.	244

Розділ 10
ЛАБОРАТОРНА ДІАГНОСТИКА
ВІРУСНИХ ІНФЕКЦІЙ ТВАРИН

10.1. Загальні принципи лабораторної діагностики вірусних інфекцій тварин.	245
10.2. Відбір клінічного і патологоанатомічного вірусомісного матеріалу.	248
10.3. Експрес-діагностика вірусних інфекцій тварин.	253
10.3.1. Вірусоскопія.	253
10.3.2. Електронна та імуноелектронна мікроскопія.	255
10.3.3. Виявлення тілець-включень вірусів.	258
10.3.4. Метод ДНК-зондів.	260
10.3.5. Полімеразна ланцюгова реакція.	262
10.4. Виділення вірусів у чутливих біологічних об'єктах.	264
10.4.1. Виділення вірусів в організмі лабораторних тварин.	264
10.4.1.1. Вимоги до лабораторних тварин.	264
10.4.1.2. Методи експериментального зараження лабораторних тварин.	265
10.4.1.3. Індикація вірусів в організмі лабораторних тварин.	268
10.4.2. Виділення вірусів у курячих ембріонах.	275
10.4.2.1. Вимоги до курячих ембріонів.	275
10.4.2.2. Методи експериментального зараження курячих ембріонів.	276
10.4.2.3. Індикація вірусів у курячих ембріонах.	280
10.4.3. Виділення вірусів у культурах клітин.	286
10.4.3.1. Типи культур клітин і принципи їхнього виготовлення.	286
10.4.3.2. Розчини і живильні середовища для культур клітин.	292
10.4.3.3. Консервування культур клітин.	293
10.4.3.4. Індикація вірусів у культурах клітин.	294
10.5. Титрування вірусів.	300
10.5.1. Титрування вірусів за інфекційною активністю, оцінюваною за статистичним ефектом.	301

10.5.2. Титрування вірусів за інфекційною активністю, оцінюваною за одиничним ефектом.	303
10.5.3. Титрування вірусів за гемаглютинувальною активністю.	304
10.6. Серологічні реакції	311
10.6.1. Загальні принципи серологічних реакцій.	311
10.6.2. Реакція нейтралізації.	313
10.6.3. Реакція гальмування гемаглютинації.	315
10.6.4. Реакція непрямой гемаглютинації.	317
10.6.5. Реакції гальмування і нейтралізації гемадсорбції.	318
10.6.6. Реакція зв'язування комплементу.	320
10.6.7. Реакція дифузійної преципітації.	324
10.6.8. Реакція імуофлуоресценції.	326
10.6.9. Імуоферментний аналіз.	329
10.6.10. Імуохроматографічний аналіз.	333
10.7. Схеми лабораторної діагностики вірусних інфекцій тварин.	335
10.7.1. Поксвірусні інфекції.	335
10.7.2. Герпесвірусні інфекції.	340
10.7.3. Асфарвірусні інфекції.	345
10.7.4. Аденовірусні інфекції.	345
10.7.5. Папіломавірусні інфекції.	349
10.7.6. Парвовірусні інфекції.	349
10.7.7. Цирковірусні інфекції.	352
10.7.8. Анелловірусні інфекції.	352
10.7.9. Параміксовірусні інфекції.	353
10.7.10. Пневмовірусні інфекції.	357
10.7.11. Рабдовірусні інфекції.	357
10.7.12. Ортоміксовірусні інфекції.	358
10.7.13. Перібун'явірусні інфекції.	360
10.7.14. Найровірусні інфекції.	361
10.7.15. Фенуївірусні інфекції.	361
10.7.16. Коронавірусні інфекції.	362
10.7.17. Артерівірусні інфекції.	364
10.7.18. Тогавірусні інфекції.	365
10.7.19. Флавівірусні інфекції.	366
10.7.20. Пікорнавірусні інфекції.	368
10.7.21. Каліцівірусні інфекції.	372
10.7.22. Ретровірусні інфекції.	373

10.7.23. Реовірусні інфекції.	375
10.7.24. Бірнавірусні інфекції.	377
Контрольні запитання.	378

Розділ 11
ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ ДЛЯ КОНТРОЛЮ
ЗНАТЬ СТУДЕНТІВ

11.1. Загальна ветеринарна вірусологія.	379
11.2. Спеціальна ветеринарна вірусологія.	388
11.3. Лабораторна діагностика вірусних інфекцій тварин.	399

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ.	412
--	------------

СПИСОК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

A-72 – перещеплювана культура клітин підшкірної пухлини собаки
АЧС – африканська чума свиней
БУО – бляшкоутворювальна одиниця
в/в – внутрішньовенно
ВД – вірусна діарея
ВІЛ – вірус імунодефіциту людини
в/м – внутрішньом'язово
ВРХ – велика рогата худоба
ВООЗ – Всесвітня організація охорони здоров'я
ВООЗт – Всесвітня організація охорони здоров'я тварин
ВУО – віспоутворювальна одиниця
в/ч – внутрішньочеревно
в/ш – внутрішньошкірно
ГАдО – гемадсорбівна одиниця
ГАО – гемаглютинувальна одиниця
ГЕ – губчастоподібна енцефалопатія
ГЛА – гідролізат лактоальбуміну
ГРВІ – гострі респіраторні вірусні інфекції
ГСТ – гіперчутливість сповільненого типу
Д – дальтон
ЕД₅₀ – 50%-ва ефективна доза
ДРХ – дрібна рогата худоба
ЕМ – електронна мікроскопія
ЗІЕФ – зустрічний імуноелектрофорез
ІД₅₀ – 50%-ва інфекційна доза
ІЕМ – імуноелектронна мікроскопія
і/н – інтраназально
і/т – інтратрахеально
і/ц – інтрацеребрально
ІЛ – інтерлейкін
ІРТ – інфекційний ринотрахеїт
ІФА – імуноферментний аналіз
ІХА – імунохроматографічний аналіз
ІФН – інтерферон
кДа – кілодальтон (10³ дальтон)
КЕ – курячі ембріони
КК – культура клітин

КЧС – класична чума свиней
ЛД₅₀ – 50%-ва летальна доза
МДа – мегадальтон (10⁶ дальтон)
МЕБ – Міжнародне епізоотичне бюро
мкм – мікромметр
МО – міжнародна одиниця
нвХКЯ – новий варіант хвороби Крейтцфельдта – Якоба
нм – наномметр
НСК – нормальна сироватка кроля
ОД – одиниця дії
ПГ-3 – парагрип-3
ПЕГ 4000 – поліетиленгліколь із мол. масою 4000 Д і 6000 Д
ПЕГ 6000 – поліетиленгліколь із мол. масою 4000 Д і 6000 Д
ПЛР – полімеразна ланцюгова реакція
п/ш – підшкірно
РАЛ – реакція аглютинації латексу
РБТЛ – реакція бласттрансформації лімфоцитів
РГА – реакція гемаглютинації
РГАд – реакція гемадсорбції
РГГА – реакція гальмування гемаглютинації
РГГАд – реакція гальмування гемадсорбції
РДП – реакція дифузійної преципітації
РЗК – реакція зв'язування комплементу
РІА – радіоімунний аналіз
РІД – реакція імунодифузії
РІФ – реакція імунофлуоресценції
РН – реакція нейтралізації
РНГА – реакція непрямой гемаглютинації
РНГАд – реакція нейтралізації гемадсорбції
РНІФ – реакція непрямой імунофлуоресценції
РРГ – реакція радіального гемолізу
РРІД – реакція радіальної імунодифузії
РС – респіраторно-синцитіальний
САФ – скрепіасоційовані фібрили
СНЕВ – перещеплювана культура клітин нирки ембріона свині
СНІД – синдром набутого імунодефіциту
ТГЕ – трансмісивні губчастоподібні енцефалопатії
ТЦД₅₀ – 50%-ва тканинна цитопатична доза
УФ – ультрафіолетові
ФБР – фосфатний буферний розчин
ХАО – хоріоантоїсна оболонка

- ЦНС** – центральна нервова система
ЦПД – цитопатогенна дія
ЦТЛ – цитотоксичні Т-лімфоцити
BESP – перещеплювана культура клітин селезінки ембріона корови
ВНК-21 – перещеплювана культура клітин нирки сірійського хом'яка
COS – перещеплювана культура клітин мавпи, стабільно трансформована атенуйованим дефектним поліомавірусом макак-резусів 1
COVID-19 – Coronavirus disease-19
CRFK – перещеплювана культура клітин нирок kota
H – гемаглютинін
HeLa – перещеплювана культура клітин карциноми шийки матки жінки
Hep-2 – перещеплювана культура клітин карциноми гортані людини
Ig – імуноглобулін
KB – перещеплювана культура клітин карциноми ротової порожнини людини
L – перещеплювана культура клітин підшкірної сполучної тканини миші
MBM – перещеплювана культура лімфоїдних клітин kota
MDBK – перещеплювана культура клітин нирки ембріона корови
MDCK – перещеплювана культура клітин нирки собаки
MERS – гострий респіраторний синдром Близького Сходу
MHC – головний комплекс гістосумісності
MS – перещеплювана культура клітин нирки мавпи
N – нейрамінідаза
pH – показник концентрації водневих іонів
PK-15 – перещеплювана культура клітин нирки поросяти
PrP – пріонний протеїн (пріон)
PrPc – клітинна ізоформа пріона
PrPsc – інфекційна ізоформа пріона
SARS – тяжкий гострий респіраторний синдром
Vero – перещеплювана культура клітин нирки африканської зеленої мавпи
Wi-38 – диплоїдна культура клітин легень ембріона людини
SK-6 – перещеплювана культура клітин нирки свині
CV-1 – перещеплювана культура фібробластів нирки мавпи
RK-13 – перещеплювана культура клітин нирки кроля
IB-RS-2 – перещеплювана культура клітин нирки поросяти
FS – перещеплювана культура клітин селезінки кішки

*Світлій пам'яті
 видатного вірусолога, академіка
 Сюріна Василя Миколайовича
 присвячується*

ПЕРЕДМОВА

Навчальна дисципліна «Ветеринарна вірусологія» є важливим елементом у системі підготовки висококваліфікованих фахівців зі спеціальності 211 «Ветеринарна медицина». Вірусні інфекції сільськогосподарських тварин становлять серйозну проблему ветеринарної медицини. Це пов'язано з повсюдним поширенням вірусів, частим виникненням різних їхніх асоціацій, розширенням географії багатьох небезпечних хвороб, у тому числі зоонозів, появою нових нозологічних одиниць, відсутністю ефективних засобів профілактики за багатьох захворювань. У зв'язку з цим оволодіння теоретичними основами ветеринарної вірусології та практичними навичками з лабораторної діагностики й імунопрофілактики вірусних інфекцій тварин є важливим етапом підготовки висококваліфікованого лікаря ветеринарної медицини.

У результаті вивчення навчальної дисципліни «Ветеринарна вірусологія» студенти повинні *знати*: природу вірусів та їхні фундаментальні властивості, сучасну таксономію і номенклатуру вірусів, патогенез вірусних інфекцій, екологію вірусів, механізми противірусного імунітету, засоби імунопрофілактики та методи лабораторної діагностики вірусних хвороб тварин. Студенти повинні *вміти*: правильно відбирати патологічний матеріал від хворих і загиблих тварин для лабораторної діагностики вірусних інфекцій, засвоїти методи його консервування і первинної обробки. Студенти повинні навчитися складати план лабораторного дослідження за підозри конкретної вірусної хвороби, знати методи швидкої індикації збудника безпосередньо в патологічному матеріалі, його ізоляції в чутливих біологічних об'єктах, освоїти методи серологічної ідентифікації вірусу і специфічних антитіл, уміти проаналізувати отримані результати.

Ветеринарна вірусологія готує студентів до вивчення такої основоположної дисципліни, як епізоотологія та інфекційні хвороби тварин.

Розділ 1

ВСТУП ДО ВІРУСОЛОГІЇ

1.1. Історія відкриття вірусів

Вірусологія як нова галузь інфекційної патології виникла наприкінці XIX століття, коли стало зрозуміло, що багато поширених заразних хвороб людини, тварин і рослин спричинюються патогенами, відмінними від бактерій і найпростіших. З часу відкриття вірусів минуло вже майже 130 років. І дотепер не послаблюється увага науковців всього світу до цих унікальних об'єктів органічного світу, які перебувають на межі між живою й неживою матерією і не здатні проявляти будь-які ознаки життя поза клітинами.

Ця невгасима увага до вірусів зумовлена двома основними причинами. Насамперед віруси були й залишаються одними з основних збудників інфекційних захворювань людини і тварин. Досить згадати одну з найдавніших і найстрашніших хвороб в історії людства – *натуральну віспу*, описану за 4 тис. років до н. е. в країнах Близького Сходу. Саме віспа стала першою інфекційною хворобою, проти якої були розроблені ефективні засоби імунoproфілактики, що дало змогу ліквідувати її в цілому світі. *Поліомієліт* 3,5 тис. років тому назад уражав дітей Древнього Єгипту і в середині XX століття становив серйозну загрозу людству. Створення поліовакцини стало справжнім тріумфом вірусологів і радикальним засобом боротьби з цією небезпечною хворобою. Найбільш масова вірусна інфекція людини – *грип*, незважаючи на невтомні зусилля науковців багатьох країн, ще не переможена. Чумою XX століття назвали *СНІД*, а чумою XXI століття – COVID-19; це одні з найнебезпечніших сучасних захворювань людини. Загально визнано існування *онкогенних вірусів*, які спричинюють злоякісні пухлини у тварин і людини. Поширені *вірусні інфекції тварин і рослин* завдають сільському господарству значних економічних збитків та зменшують продовольчі ресурси людства.

Неослабна увага до вірусів не обмежується лише їхньою провідною роллю в інфекційній патології людини, тварин і рослин.

Як найбільш просто організовані форми життя, віруси є незамінними, самою природою створеними моделями, що допомагають вирішувати фундаментальні питання біології.

Вірусологія зародилася в надрах мікробіології. Історія її досить незвичайна. Першу в світі вакцину – проти натуральної віспи – розробив видатний англійський лікар *Е. Дженнер* у 1796 р. із лімфи телят, хворих на коров'ячу віспу. Це було за 96 років до відкриття вірусів. Другу вірусну вакцину – антирабічну (проти сказу) – отримав на кролях знаменитий французький учений, основоположник наукової мікробіології та імунології *Л. Пастер* у 1885 р., за сім років до відкриття вірусів.

Слово «*virus*» латинського походження і буквально означає «отрута». Ще давні євреї стверджували, що отруйні змії та скажені собаки вводять в організм якусь шкідливу речовину, яку вони називали вірусом. Відомий учений епохи Відродження, німецький алхімік і лікар *Парацельс* використовував цей термін у розумінні «насіння, що спричинює хворобу».

Наприкінці XIX століття *Л. Пастер* і видатний німецький мікробіолог *Р. Кох* (який уперше застосував техніку чистих бактеріальних культур) довели, що інфекційні хвороби спричинюються конкретними мікроорганізмами. Проте невдовзі з'ясувалося, що це далеко не так. За допомогою бактеріологічних методів не вдалося виявити збудників таких хвороб, як віспа, кір чи свинка. Відомий український мікробіолог *М. Ф. Гамалія* даремно шукав збудника чуми великої рогатої худоби, а *Л. Пастер* після багаторічних і безрезультатних пошуків збудника сказу заявив у 1889 р.: «Мікроб сказу ще не виділений, але ми повинні визнати його існування». Це було сказано за три роки до відкриття вірусів. *Л. Пастер* припустив, що збудник сказу може мати субмікроскопічні розміри, тобто невидимий у світловому мікроскопі. Однак думка про інфекційний агент цілком іншої, унікальної природи не виникла навіть у такого геніального вченого, як *Л. Пастер*.

Кінець XIX століття приніс науковому світу відкриття вірусів. Це без перебільшення епохальне відкриття належить видатному російському вченому-ботаніку *Д. Й. Івановському* (1864–1920 рр.). У 1887 р., будучи студентом Петербурзького університету, він поїхав на практику в Україну і Бессарабію вивчати невідому мозаїчну хворобу тютюну, описану вперше за рік до того в Нідерландах *А. Маєром*. Хвороба завдавала сільському господарству величезних економічних збитків. Рослини тютюну, уражені мозаїкою, відставали

в рості, їхнє листя вкривалося ясно-зеленими або жовтими плямами, іноді набувало потворної форми. Урожаї тютюну різко знижувалися, якість його погіршувалася.



Д. Й. Івановський (1864–1920)

У результаті досліджень молодий учений встановив, що на тютюнових плантаціях рослини уражені двома хворобами: одна з них – рябуха, що спричинюється грибок, інша – невідомої етіології. Для з'ясування причини хвороби Д. Й. Івановський розтер хвору рослину і краплею соку заразив здорову, яка незабаром захворіла на мозаїку. Це було доказом, що інфекційний агент знаходиться в соку. Проте, розглядаючи у світловому мікроскопі мазки із зараженого соку, дослідник не побачив жодної бактерії. Тоді в нього виникла ідея пропустити сік через фарфоровий дрібнопористий фільтр, оскільки добре знав, що мікроби затримуються на фільтрі, а рідина залишиться стерильною. Фільтратом Д. Й. Івановський заразив здорову рослину. Результат дослідження суперечив основним законам бактеріології того часу: профільтрований сік не став стерильним, він і надалі спричинявав мозаїку в здорових тютюнових рослин через 15 діб після зараження.

Це суперечило ствердженню А. Маєра, що сік зараженої рослини втрачає свою інфекційність після проходження через подвійний фільтрувальний папір. А. Маєр визнавав, що саме якийсь мікроб є збудником хвороби. Він заражав рослини тютюну багатьма відомими видами бактерій, суспензіями з голуб'ячого посліду, гнилих

овочів, старого сиру тощо. Зрозуміло, що в такий спосіб спричинити мозаїчну хворобу не вдалося.

Ще одним ученим, який досліджував тютюнову мозаїку, був авторитетний нідерландський мікробіолог М. Беєрінк. Він повторив і підтвердив результати дослідів Д. Й. Івановського, що збудник здатний проходити через фарфоровий фільтр. Проте, на відміну від Д. Й. Івановського й А. Маєра, М. Беєрінк відкинув думку про бактеріальну етіологію хвороби, а сформулював концепцію *contagium vivum fluidum*, тобто хворобу спричинює заразна жива рідина, яка розчинена в соку хворої рослини. М. Беєрінк не задовольнився результатами дослідів із фільтрацією і провів ще один експеримент, бажаючи переконатися, що бактерії не можуть бути причиною тютюнової мозаїки. Він наніс сік хворої рослини на грубу агарову пластинку і залишив на кілька днів, зважаючи на такі міркування: якщо збудник здатний до дифузії, тоді він проникне в товщу агару, а на поверхні середовища залишаться бактерії та їхні спори. Через кілька днів М. Беєрінк зрізав верхній шар агару, а нижнім – заразив здорові рослини тютюну, в яких через певний час з'явилися симптоми мозаїки. Результат цього експерименту переконав М. Беєрінка, що інфекційна основа хвороби є не корпускулярною (тобто бактерією), а рідкою, розчинною. Цю рідку субстанцію М. Беєрінк назвав вірусом.

Ось якою була реакція трьох дослідників, що вперше зіткнулися з новим явищем.

Пояснення М. Беєрінка не задовольнило Д. Й. Івановського. Щоб з'ясувати, що є збудником тютюнової мозаїки – мікроорганізм, який здатний проходити через фарфоровий фільтр завдяки своїм малим розмірам, чи рідка заразна субстанція, Д. Й. Івановський провів серію послідовних пасажів: профільтрованим соком він заразив одну здорову рослину, від неї – другу, від другої – третю і т. д. Д. Й. Івановський міркував так: якщо збудником тютюнової мозаїки є рідка токсична субстанція, то завдяки послідовному зараженню вона поступово розчиниться аж до повного зникнення і не зможе спричинити хворобу. Однак в усіх заражених рослинах завжди проявлялися ознаки захворювання. Це означало, що збудником є мікроорганізм, який здатний розмножуватися.

Д. Й. Івановський затратив багато часу і зусиль на спроби виростити збудника мозаїчної хвороби тютюну на штучних живильних середовищах. Він перепробував багато субстратів і дійшов висновку, що цей інфекційний агент незвичайний: невидимий у світловому мікроскопі й розмножується лише в живій рослині.

У заражених рослинах Д. Й. Ивановський виявив за допомогою світлового мікроскопа кристалоподібні включення. Проте він тоді не знав, що побачив і зафіксував у точному рисунку саме те, що шукав роками: величезні скупчення віріонів вірусу тютюнової мозаїки, які потім назвали кристалами Ивановського.

Про результати досліджень Д. Й. Ивановський доповів 12 лютого 1892 р. у Російській академії наук та опублікував у праці під назвою «Про дві хвороби тютюну». В ній уперше було описано основні ознаки збудника тютюнової мозаїки, які тривалий час залишалися єдиними критеріями для зарахування інфекційних агентів до вірусів: фільтрівність і нездатність рости на штучних живильних середовищах. Д. Й. Ивановський назвав збудника *фільтрівним вірусом*.

Наукові кола не надали серйозної уваги цьому відкриттю на фоні блискучих успіхів мікробіології того часу. Лише через 6 років, коли в 1898 р. авторитетний німецький мікробіолог *Ф. Леффлер* (учень Р. Коха) разом із *П. Фрошем* відкрили новий фільтрівний збудник – *вірус ящуру*, увагу науковців привернув таємничий світ вірусів. І, нарешті, в 1901 р. американський військовий лікар *В. Рід* виявив перший вірус людини – *збудник жовтої гарячки*. Ці сенсаційні відкриття підтвердили концепцію Д. Й. Ивановського, представлену в 1892 р.

Отже, Д. Й. Ивановський відкрив віруси – нову форму існування органічної матерії, дав критерії та методи їхньої індикації, заклав основи низки наукових напрямків у вірусології, а саме: вивчення природи вірусів, цитопатології вірусних інфекцій, фільтрівних форм мікроорганізмів, хронічного і латентного вірусносійства.

Всесвітньо відомий американський вірусолог і біохімік *В. Стенлі* в 1935 р. виділив вірус тютюнової мозаїки в кристалічному вигляді й отримав за це в 1946 р. Нобелівську премію, високо оцінив дослідження Д. Й. Ивановського і визнав його пріоритет. Він сказав: «Є значні підстави вважати Ивановського батьком нової науки – вірусології, яка представляє в теперішній час поле діяльності великого і важливого значення. Право Ивановського на славу росте з роками. Я вважаю, що його відношення до вірусів треба розглядати в такому аспекті, як ми дивимось на відношення Пастера і Коха до бактерій».

Упродовж 1902–1905 рр. було встановлено вірусну етіологію чуми ВРХ, свиней і м'ясоїдних, віспи овець, кіз і птахів, хвороби Ауескі, інфекційної анемії коней. У 1908 р. данські науковці *В. Еллерман* і *О. Банг* довели вірусну природу *лейкозу курей*. Проте ці дослідження не отримали належної оцінки, оскільки лейкози

тривалий час не зараховували до неопластичних хвороб. У 1911 р. було відкрито перший офіційно визнаний онкогенний *вірус саркоми Рауса*, названий на честь автора. У 1966 р. американський вірусолог *П. Раус* отримав за це відкриття Нобелівську премію. У 1915 р. англійський мікробіолог *Ф. Туорт* уперше спостерігав феномен бактеріофагії в культурі стафілококів, а в 1917 р. канадський мікробіолог *Ф. д'Ерелль* виділив вірус, що уражав бактерії (дизентерійний бактеріофаг).

Отже, за короткий історичний проміжок часу – всього 25 років – було відкрито основні групи вірусів рослин, тварин, бактерій і людини.

1.2. Основні періоди розвитку вірусології

Стрімкий розвиток вірусології нерозривно пов'язаний із впровадженням нових методів і техніки вірусологічних досліджень і насамперед – методів виділення й культивування вірусів у лабораторних умовах. Як у жодній іншій науці, у вірусології простежується швидка і чітка зміна рівнів пізнання дослідного об'єкта – від рівня організму до субмолекулярного.

У **1930–1940 рр.** віруси вивчаються на *рівні організму*. Спочатку єдиною експериментальною моделлю для культивування вірусів були *лабораторні тварини*. З 1940-х рр. у вірусологічну практику запроваджено *курачі ембріони*. Це стало значним кроком уперед у розвитку вірусології та розширило спектр вірусів, які культивуються в лабораторних умовах.

У 1941 р. американський вірусолог *Дж. Герст* відкрив явище гемаглютинації, що сприяло дослідженню взаємодії вірусів із чутливими клітинами на моделі вірусу грипу та еритроцитів.

Значний внесок у розвиток вірусології зробили російські вірусологи *Л. О. Зільбер*, *М. П. Чумаков* та ін. У 1937 р. вони відкрили вірус кліщового енцефаліту, виявили його переносників – іксодових кліщів, розробили методи лабораторної діагностики, профілактики і лікування.

Важливою подією в розвитку вірусології стали дослідження вірусу жовтої гарячки і розробка двох вакцин у 1934–1937 рр. (на білих мишах і курячих ембріонах). За ці дослідження в 1951 р. американський вірусолог *М. Тейлер* отримав Нобелівську премію.

У **1950-ті рр.** віруси вивчаються на **рівні клітини**, коли у вірусологічну практику було запроваджено *метод культури клітин*. Це стало справжньою революцією, почалася золота ера вірусології. Культура клітин є найдосконалішою системою для культивування вірусів. У культурі клітин було виділено та ідентифіковано сотні нових, невідомих до того часу вірусів, які не розмножуються ні в організмі лабораторних тварин, ні в курячих ембріонах. Було встановлено вірусну етіологію багатьох хвороб людини і тварин. На моделі культури клітин досліджено взаємодію вірусів із чутливими клітинами, детально вивчено стадії репродукції вірусів. Метод культури клітин дав можливість створити високоефективні вірусні вакцини.

Широке застосування культури клітин у вірусології стало можливим завдяки важливому відкриттю американських вірусологів *Дж. Ендерса, Т. Веллера і Ф. Робінса* в 1949 р. Вони встановили здатність збудника поліомієліту розмножуватися в культурі клітин нирки африканської зеленої мавпи і спричинювати цитопатичні зміни та обґрунтували виробництво поліомієлітної вакцини. У 1954 р. за це відкриття їм присуджено Нобелівську премію. Першою культуральною вакциною стала вакцина проти поліомієліту, яку розробили американські та російські вірусологи (*Дж. Солк, 1954; А. Себін, М. П. Чумаков, А. О. Смородінцев, 1956*). Після поліовакцини було створено інші культуральні вакцини – проти кору, краснухи, кліщового енцефаліту, сказу, ящуру тощо.

У **1960-ті рр.** дослідження вірусів виходить на **молекулярний рівень**. У вірусології стали широко застосовувати *методи молекулярної біології*, за допомогою яких встановлено будову вірусів і механізм їхньої репродукції. Однак це ще не все. Віруси завдяки простій організації їхнього генома стали незамінною моделлю для молекулярної біології, генетики, генної інженерії, біохімії, імунології. Всі фундаментальні відкриття в біології (розшифрування структури і механізму реплікації ДНК, генетичного коду, механізму синтезу протеїнів) були зроблені завдяки використанню вірусів як експериментальної моделі. Сама вірусологія, широко використовуючи ідеї та методи молекулярної біології, генетики, біохімії та інших наук, почала інтенсивно розвиватися. У 1969 р. Нобелівськими лауреатами стали американські вірусологи *М. Дельбрюк, А. Герші і С. Лурія* за відкриття механізму реплікації та генетичної структури вірусів.

І, нарешті, в **1970-ті рр.** віруси вивчаються на **субмолекулярному рівні**. Стрімкий розвиток молекулярної біології відкриває широкі можливості й перспективи в дослідженні первинної структури

нуклеїнових кислот і протеїнів. З'являються *методи секвенування*, за допомогою яких визначають послідовність нуклеотидів та амінокислот у відповідних макромолекулах. Отримано перші генетичні карти геномів ДНК-вмісних вірусів.

У 1970 р. американські вірусологи *Г. Темін і Д. Балтімор* відкрили в складі РНК-вмісних онкогенних ретровірусів *зворотну транскриптазу (ревертазу)* – ензим, який переписує генетичну інформацію з РНК на ДНК. Це стало одним із найбільших внесків вірусології в сучасну науку. Використання зворотної транскриптази лежить в основі генної інженерії. За допомогою цього ензиму став реальним синтез гена на матриці мРНК, виділеної з полісом. З'явилася можливість отримати ДНК-копію РНК-генома і провести її секвенування. За відкриття зворотної транскриптази Г. Теміну і Д. Балтімору була присуджена в 1975 р. Нобелівська премія.

У 1972 р. виникає новий розділ молекулярної біології – **генна інженерія**. У США *П. Берг* опублікував першу генноінженерну роботу про створення гібридної (рекомбінантної) молекули ДНК: він «зшив» *in vitro* фрагменти геномів двох неспоріднених вірусів: поліомавірусу макак-резусів 1 і бактеріофага λ. Цей химерний геном був уведений в *E. coli*. Оскільки в бактеріальних клітинах з'явилася нова генетична інформація, *E. coli* почала синтезувати чужорідні (вірусні) протеїни. Отже, було отримано реальну можливість виробництва дешевих препаратів протеїнів, які мають значення в медицині (інсулін, інтерферон) і сільському господарстві (корми). Наприклад, в *E. coli* можна ввести на основі рекомбінантної ДНК ген інтерферону або інсуліну, і бактерії почнуть синтезувати ці протеїни. За фундаментальні дослідження в галузі біохімії нуклеїнових кислот, зокрема рекомбінантної ДНК, П. Бергу було присуджено в 1980 р. Нобелівську премію.

За цей період зроблено важливі відкриття у вірусології. У фокусі досліджень – три наймасовіші хвороби людини: *грип, гепатит, рак*. З'ясовано причини пандемій грипу, що періодично повторюються. Ідентифіковано збудники гепатитів А і В. Детально вивчено онкогенні віруси птахів і гризунів, розшифровано структуру їхнього генома та ідентифіковано ген – онкоген, який відповідає за злоякісну трансформацію клітин. Отримано прямі докази інтеграції вірусних нуклеїнових кислот у хромосоми людини і тварин. За дослідження механізму взаємодії онкогенних вірусів із клітинним геномом Нобелівським лауреатом 1975 р. став американський вірусолог *Р. Дульбекко* (поряд із Г. Темініним і Д. Балтімором),

а в 1989 р. – американські вірусологи *Д. Бішоп* і *Г. Вармус* за відкриття клітинного походження онкогенів ретровірусів.

За дослідження нових механізмів походження і поширення інфекційних захворювань Нобелівську премію в 1976 р. отримали два американські науковці. Один із них – лікар *Б. Бламберг* – за відкриття в 1963 р. у крові аборигенів Австралії так званого австралійського антигена (HBs-антигена вірусу гепатиту В). Другий – вірусолог та імунолог *К. Гайдушек* – за дослідження етіології повільної інфекції людини куру, що спостерігалася серед туземців Нової Гвінеї і була пов'язана з ритуальним канібалізмом.

У 1997 р. присуджено Нобелівську премію американському неврологу, біохіміку і вірусологу *С. Прузінеру* за встановлення пріонної етіології трансмісивних губчастоподібних енцефалопатій тварин і людини.

У 1982 р. значною подією у вірусології стало виділення американськими вірусологами на чолі з *Р. Галло* Т-лімфотропного вірусу приматів, який спричинює в людини Т-клітинний лейкоз. У 1983 р. *Л. Монтан'є* і *Ф. Барре-Сінуссі* (Франція) відкрили споріднений вірус імунодефіциту людини, що спричинює ВІЛ-інфекцію (СНІД). У 2008 р. за це відкриття їм присуджено Нобелівську премію. Ще одним Нобелівським лауреатом 2008 р. став німецький вірусолог *Г. цур Гаузен* за встановлення в 1983 р. ролі папіломавірусу людини у виникненні раку шийки матки. У 2020 р. Нобелівську премію отримали *Г. Алтер*, *Ч. Райс* (США) і *М. Гаутон* (Велика Британія) за відкриття в 1989 р. вірусу гепатиту С.

Отже, за короткий проміжок часу вірусологія досягла таких вершин, що зі спеціалізованого розділу мікробіології перетворилася на одну з фундаментальних біологічних наук.

1.3. Природа вірусів

Із часу відкриття вірусів зазнали значних змін уявлення про їхню природу. Д. Й. Івановський та його сучасники підкреслювали *дві основні властивості вірусів*: фільтрівність і нездатність розмножуватися на штучних живильних середовищах. Однак згодом з'ясувалося, що ці ознаки притаманні не лише вірусам. Були відкриті фільтрівні форми і стадії бактерій (наприклад, туберкульозної палички), а потім – і фільтрівні види мікроорганізмів (мікоплазми). Тому термін

«фільтрівний» було відкинуто. Абсолютний внутрішньоклітинний паразитизм вірусів теж виявився не унікальною їхньою особливістю. Внутрішньоклітинними паразитами є хламідії, рикетсії, деякі найпростіші (малярійний плазмодій).

Не раз виникали дискусії, що таке віруси – жива чи нежива матерія, організми чи не організми. Безперечно, вірусам притаманні *основні властивості всіх форм життя*, а саме: здатність розмножуватися, спадковість, мінливість, здатність пристосовуватися до умов навколишнього середовища, займати певні екологічні ніші в біосфері; і, нарешті, на віруси поширюються закони еволюції органічного світу на Землі. Тому в середині 1940-х рр. видатний австралійський вірусолог та імунолог, лауреат Нобелівської премії *Ф. Бернет* сформулював концепцію, згідно з якою віруси є повноцінними організмами. Його монографія так і називалася – «Вірус як організм» (1946 р.).

Спеціалісти з таксономії без особливих суперечок виділили віруси в окреме *царство* *Vira*. Проте наступне дослідження вірусів, могутній стимул якому дало впровадження техніки культури клітин (1950-ті рр.) і методів молекулярної біології (1960-ті рр.), призвело до накопичення багатьох фактів, які не вкладалися в рамки концепції, що віруси є організмами.

Вивчення будови вірусів показало, що для них характерна максимально проста організація. Віруси – це неклітинні форми життя. Неактивною формою існування будь-якого вірусу є *віріон*, який складається з молекули *нуклеїнової кислоти* (ДНК або РНК) і протеїнової оболонки – *капсиду*. Віріони багатьох вірусів мають зовнішню ліпопротеїнову оболонку – *суперкапсид*.

Термін «віріон» запропонував у 1962 р. французький мікробіолог і генетик, лауреат Нобелівської премії *А. Львов* замість «вірусна частка», як раніше називали позаклітинний вірусний індивід. Після введення терміна «віріон» головною ознакою вірусів стали вважати наявність лише однієї нуклеїнової кислоти – ДНК або РНК, тоді як у всіх організмів, навіть найпримітивніших, є ДНК і три види РНК: матрична (інформаційна), рибосомальна і транспортна. Однак досить швидко цей критерій для визначення природи вірусів утратив свою актуальність, коли було детально досліджено взаємодію вірусів із чутливими клітинами.

На відміну від інших організмів, генетичний апарат яких представлений дволанцюговою ДНК, носієм генетичної інформації у вірусів можуть бути як ДНК, так і РНК. Відповідно віруси поділяються на *ДНК-геномні* та *РНК-геномні*, причому близько 80%

вірусів людини і тварин містять РНК. Нуклеїнові кислоти вірусів надзвичайно *різноманітні*: одно- і дволанцюгові, лінійні й кільцеві, фрагментовані та навіть роз'єднані. Водночас генетичний код є універсальним – однаковим для вірусів, бактерій, архей, грибів, найпростіших, рослин, тварин і людини.

Кардинальною відмінністю вірусів від інших організмів, навіть найпримітивніших, є *відсутність у них власних протеїносинтезувальних систем*. Синтез вірусних протеїнів здійснюється на клітинних рибосомах. Тому віруси можуть репродукуватися лише в живих клітинах.

Після проникнення віріона в чутливу клітину розпадаються його оболонки, звільняється вірусна нуклеїнова кислота; генетичний апарат клітини блокується, а всі інші органели функціонують. Далі на основі записаної на молекулі вірусної ДНК або РНК генетичної інформації клітина зі своїх сировинних матеріалів і своїми системами синтезує вірусні компоненти: нові молекули вірусної нуклеїнової кислоти і вірусних протеїнів. Будь-яка *вірусна інфекція є боротьбою двох геномів – вірусного і клітинного* – за програмування синтезу протеїнів на клітинних рибосомах і за використання енергетичних ресурсів мітохондрій. Віруси вводять у клітину лише свою генетичну інформацію, що успішно конкурує з клітинною ДНК, незважаючи на надзвичайно малі розміри вірусних геномів (на 5–6 порядків менші за молекулярною масою від генома клітини). Тому і рівень внутрішньоклітинного паразитизму у вірусів цілком інакший, ніж в інших внутрішньоклітинних паразитів (рикетсій, хламідій чи найпростіших): *віруси є облигатними (абсолютними) внутрішньоклітинними паразитами на генетичному рівні*.

Коли в зараженій клітині накопичиться велика кількість молекул вірусної нуклеїнової кислоти і вірусних протеїнів, вони під дією міжмолекулярних сил об'єднуються, формуючи віріони потомства, які покидають клітину. Отже, спосіб розмноження вірусів докорінно відрізняється від розмноження клітинних організмів (наприклад, бінарний поділ, брунькування чи утворення спор). Віруси не ростуть, не діляться, їхнє розмноження називається *диз'юнктивною (роз'єднаною) репродукцією*. Це означає, що окремі компоненти вірусу синтезуються відносно незалежно один від одного, в різних місцях клітини і в різний час, а потім об'єднуються, формуючи зрілі віріони.

Чи є вірус організмом (індивідом)? Обґрунтовуючи концепцію «вірус як організм», спеціалісти поступово дійшли висновку, що загалом це закономірно, оскільки в повноцінному віріоні

міститься вся генетична інформація, необхідна для відтворення вірусного потомства. Якщо віріон проникає в чутливу клітину, відбувається розпад його оболонок, і в зараженій клітині починає функціонувати вірусний геном. Саме він являє собою внутрішньоклітинну форму вірусу як індивіда.

Проте існують *три групи вірусів*, для яких поняття «індивід» не підходить: 1) із фрагментованим геномом; 2) із роз'єднаним геномом; 3) віруси, що зумовлюють інтеграційну інфекцію.

До *вірусів із фрагментованим геномом* належать ортоміксо-, арена-, ганта-, найро-, перібун'я-, фенуї-, рео-, бірна- і пікобірнавіруси. Їхній геном складається з кількох фрагментів, які знаходяться в одному віріоні. Безперечно, такий віріон є індивідом. Однак якщо в клітину проникли багато віріонів, то розвиток інфекції забезпечує повний комплект фрагментів, незалежно від того, звідки він узятий: з одного чи кількох віріонів. Більше того, серед популяції вірусів із фрагментованим геномом трапляються дефектні віріони, які мають неповні комплекти фрагментів генома. Вони не здатні самостійно репродукуватися. Проте якщо суміш кількох дефектних віріонів, що проникли в клітину, містить сумарно повний генетичний набір, інфекція буде забезпечена.

Ще менше підходить поняття «індивід» до *вірусів із роз'єднаним геномом*, що характерно для вірусів рослин. Геном у них не лише фрагментований, а й роз'єднаний: знаходиться в різних вірусних частках. Тому популяція такого вірусу являє собою суміш 3–4 типів часток (їх не можна назвати віріонами, тобто вірусними особами, індивідами), причому тільки повний їхній набір здатний забезпечити інфекцію.

Поняття «індивід» абсолютно втрачає доречність стосовно *вірусів, які зумовлюють інтеграційну інфекцію* внаслідок фізичного об'єднання геномів вірусу і клітини. Здатність до інтеграції з клітинним геномом виявлена як у ДНК-, так і РНК-вмісних вірусів.

У ДНК-геномних вірусів (*адено-, папілома-, поліома-, герпес- і гепаднавіруси, помірні бактеріофаги*) спостерігається два типи взаємодії з клітинами. В одних випадках розвивається звичайна інфекція, в процесі якої вірус проходить повний цикл репродукції з утворенням дочірнього потомства, що закінчується загибеллю клітин. В інших випадках вірусна ДНК об'єднується з клітинною, реплікується і функціонує як складова частина клітинного генома. Інтегрувати може як повний вірусний геном, так і його фрагмент. Вірусні нуклеотидні послідовності в складі клітинного генома називаються *провірусом*,

або ДНК-провірусом. Отже, вірус «зникає», перетворюється в групу клітинних генів і передається дочірнім клітинам за законом Менделя. Однак оскільки в заражених клітинах з'явилася додаткова генетична інформація, вони набувають нових властивостей. У бактеріальних клітинах можуть виникнути нові ензими або токсини, яких не було до інтеграції фагової ДНК. Наприклад, здатність виробляти токсини збудниками дифтерії, правця і ботулізму зумовлена генами помірних бактеріофагів, які інтегрують свій геном у бактеріальну хромосому. Клітини тваринного організму неопластично трансформуються і набувають здатності до необмеженого поділу внаслідок порушення регуляторних механізмів. Так виникають пухлини. Під впливом різних факторів (обробка клітин УФ-променями, гормонами тощо) вірусна ДНК може «вирізатися» з хромосоми клітини і почати автономне існування, пройшовши звичайний цикл репродукції з утворенням дочірнього потомства.

Для РНК-геномних ретровірусів (*віруси лейкозів і сарком тварин, Т-лімфотропні віруси приматів*) інтеграція їхнього генома з клітинним є обов'язковою стадією репродукції. У складі ретровірусів міститься унікальний ензим – зворотна транскриптаза (ревертаза). Цей ензим здійснює передавання генетичної інформації з вірусної одноланцюгової РНК на дволанцюгову ДНК, яка вбудовується в клітинний геном. Здатність вірусів до інтеграції з клітинним геномом є крайнім ступенем їхнього генетичного паразитизму.

Серед вірусних популяцій виявлено *дефектні види вірусів*, які не можуть самостійно репродукуватися. Типовими їхніми представниками є *віруси-сателіти*, що розмножуються лише в присутності вірусів-помічників. Наприклад, класичний сателіт – *вірус гепатиту дельта*. Він містить кільцеву одноланцюгову РНК, яка асоційована з двома протеїнами й оточена оболонкою, що складається з поверхневого антигену вірусу гепатиту В. Зрозуміло, що репродукція вірусу гепатиту дельта повністю залежить від наявності вірусу гепатиту В. Асоціацію цих обох збудників виявляють за найтяжчих уражень печінки (хронічний активний гепатит і цироз печінки).

Наведені дані свідчать про обмеженість, а точніше, про неправомірність застосування поняття «індивід» щодо вірусів і про неможливість поставити знак «дорівнює» між змістом понять «віріон» та «індивід» у тварин, рослин та інших клітинних організмів.

Окрім класичних вірусів, які представлені віріонами, існують *вірусоподібні структури*: плазмід, віроїди і пріони.

Плазмід (син.: *епісоми, епівіруси*) паразитують у цитоплазмі бактерій. На відміну від вірусів, вони не мають протеїнової оболонки, а складаються лише з молекули кільцевої дволанцюгової ДНК, розміри якої становлять 1–3 % від розміру генома бактерії. Кількість плазмід в одній бактеріальній клітині коливається від однієї до кількох десятків і навіть сотень. Гени плазмід кодують протеїни, які не є їхнім структурним компонентом, а виконують різні функції зазвичай корисні для бактеріальної клітини. Так, R-плазмід кодують синтез ензимів, які руйнують антибіотики, що зумовлює стійкість бактерій до лікарських препаратів. Плазмід реплікуються автономно незалежно від бактеріальної хромосоми, регулюючи власну реплікацію. Вони можуть інтегруватися з клітинним геномом і реплікуватися синхронно з хромосомою. Плазмід зумовлюють нестабільність генетичних ознак у бактерій. Їх виявлено також у дріжджів і плісневих грибів.

Ще більш своєрідними вірусоподібними структурами є *віроїди* – збудники інфекційних хвороб рослин (хризантем, цитрусових, огірків, томатів, картоплі). Як і плазмід, віроїди не мають протеїнової оболонки, складаються лише з молекули кільцевої одноланцюгової РНК, яка не кодує жодних протеїнів. Реплікація віроїдів відбувається за участю ензимів рослинної клітини.

І, нарешті, зовсім незвичайними є *пріони* – збудники трансмісивних губчастоподібних енцефалопатій (ТГЕ) тварин і людини, що характеризуються прогресуючим руйнуванням нервових клітин, унаслідок чого головний мозок набуває губчастої структури. Пріони складаються лише з протеїнів, не мають нуклеїнової кислоти. Звідси походить їхня назва, аналогічна віріону класичних вірусів: від англ. protein infectious particle – протеїнова інфекційна частка. Термін «пріон» запропонував у 1982 р. американський невролог, біохімік і вірусолог *С. Прузінер*, лауреат Нобелівської премії 1997 р. за аргументовані докази пріонної концепції збудників ТГЕ.

Згідно з цією гіпотезою ген пріона знаходиться в ДНК клітин здорових тварин і людини та продукує нормальний пріонний протеїн – абсолютно ідентичний патогенному пріону, з тим самим набором амінокислот, тільки з іншою конфігурацією спіралі. Після проникнення в організм інфекційний пріон не розпізнається імунною системою, досягає нейронів, вступає у взаємодію з нормальним пріонним протеїном, який змінює конфігурацію спіралі й перетворюється в патогенний. Таким чином відбувається ланцюгова реакція, нейрони вакуолізуються і руйнуються, мозкова тканина набуває вигляду губки.

Підсумовуючи дискусію, чи є вірус організмом, можна зробити такий висновок про природу вірусів. Відсутність власних систем синтезу протеїнів, диз'юнктивний спосіб розмноження, інтеграція з клітинним геномом, існування дефектних вірусів (із неповним геномом і вірусів-сателітів), а також вірусоподібних структур (плазмід, віроїдів і пріонів) – усе це мало вкладається в уявлення про віруси як організми.

Так що ж таке віруси? Це **автономні генетичні структури, що здатні функціонувати і репродукуватися лише в чутливих до них клітинах тварин, рослин, грибів, найпростіших, бактерій та архей**. Не будучи організмами, віруси водночас є своєрідною формою життя, зберігають основні ознаки живої матерії, в тому числі таку кардинальну, як здатність до еволюції.

1.4. Походження вірусів

Питання про походження вірусів дотепер є дискусійним. Існує три основні гіпотези щодо походження вірусів.

Згідно з першою гіпотезою (автори: російські вірусологи А. О. Смородінцев, В. М. Жданов, 1953), *віруси є потомками давніх доклітинних форм життя – протобіонтів*, які збереглися до наших днів як примітивні організми і навіть прогресували внаслідок переходу до паразитичного існування. Протобіонти дали початок, з одного боку, клітинам, а з другого – вірусам, які з часом поселилися в клітинах і пристосувалися до існування в них. Очевидно, РНК-геномні віруси є найдавнішими, а ДНК-геномні – утворилися пізніше. Більшість вірусів рослин містять РНК, а рослини, як відомо, з'явилися на Землі раніше, ніж тварини. У подальшому віруси еволюціонували разом зі своїми хазяями або змінювали їх. Цим і пояснюється різноманітність відомих сьогодні вірусів, а також їхня пристосованість до паразитування в організмах певних видів. На всіх етапах еволюції органічного світу був можливий обмін вірусами між різними таксономічними групами організмів, включаючи тварин (хребетних і безхребетних) і рослин. Тому існують групи близьких вірусів, що уражають філогенетично далеких хазяїв. Наприклад, арбовіруси, які належать до восьми родин і є збудниками природно-вогнищевих інфекцій із трансмісивним шляхом передавання, здатні розмножуватися в організмі як хребетних, так і безхребетних

тварин (кровосисних членистоногих). Такі родини вірусів тварин, як *Genomoviridae*, *Rhabdoviridae*, *Phenuiviridae* і *Reoviridae*, містять у своєму складі представників, що уражають рослини.

Згідно з другою гіпотезою (автор: австралійський вірусолог та імунолог Ф. Бернет, 1943), *віруси є потомками бактерій*, які зазнали регресивної еволюції: бактерія —> фільтрівна форма бактерії —> фільтрівний вірус. Розмножуючись у клітинах хазяїна і дістаючи готове живильне середовище, бактерії спрощували свою організацію та втрачали як непотрібні окремі ензимні системи і здатність до самостійного метаболізму. Звільнившись від оболонки, що перешкождала подальшій еволюції, утворений вірус міг вільно приєднувати складові елементи клітини-хазяїна і використовувати її ензими для синтезу власних структурних компонентів. Рикетсії та хламідії, будучи внутрішньоклітинними паразитами, становлять перехідну ланку між бактеріями і вірусами.

Згідно з третьою гіпотезою (автори: американські вірусологи С. Лурія і Дж. Дарнелл, 1967), *віруси походять від компонентів клітини*, зокрема генів або клітинних органел, що набули відносної автономності та стали внутрішньоклітинними паразитами. Ця гіпотеза, яку назвали гіпотезою «блукаючих, або оскаженілих, генів», має найбільше прихильників. Різні віруси могли утворитися від нуклеїнових кислот, епісом, хлоропластів, мітохондрій. Однак вони виникали й еволюціонували разом із клітинними формами життя. Виявившись, з одного боку, автономними генетичними структурами, а з другого – нездатними розмножуватися поза клітинами, віруси впродовж біологічної еволюції пройшли настільки різноманітними шляхами свого розвитку, що й існуючі в наш час різні таксономічні групи вірусів поліфілогенетичного походження, тобто ті, що не мають єдиного спільного предка. Проте універсальність генетичного коду поширюється і на віруси. Це свідчить, що віруси є породженням органічного світу на Землі.

Розуміння природи вірусів як автономних генетичних структур зближує гіпотези їхнього походження і дає можливість зробити два важливі висновки. *По-перше*, вірусам належить істотна роль факторів еволюції органічного світу. Долаючи видові бар'єри, віруси можуть переносити окремі гени або групи генів та інтегруватися з геномом клітини. *По-друге*, є всі підстави визнати не лише продовження еволюції вже існуючих таксономічних груп вірусів, а й припустити можливість виникнення в наш час або принаймні в недалекому історичному минулому нових вірусів. Це мимоволі спадає на думку в разі

дослідження таких вірусних інфекцій, як грип, ВІЛ-інфекція, геморагічна гарячка Ебола, SARS, MERS, COVID-19, а також трансмісивних губчастоподібних енцефалопатій.

Проблема природи, походження та еволюції вірусів, ставши фундаментальною проблемою теоретичної біології, є водночас прикладною проблемою, оскільки з різним її розумінням пов'язаний вибір стратегії й тактики боротьби з вірусними інфекціями людини і тварин.

1.5. Роль вірусів в інфекційній патології людини і тварин

Постійне вдосконалення діагностичної техніки і методів вірусологічних досліджень відкрило надзвичайну різноманітність вірусів, що спричиняють гострі, хронічні, латентні й повільні інфекції людини і тварин.

Нині відомо понад 300 вірусів, патогенних для людини, які об'єднані в 30 родин і 51 рід та можуть спричинити різні епідемічні процеси: від спорадичних захворювань та епідемічних спалахів до епідемій і пандемій.

У загальній структурі інфекційних захворювань людини 60–70% припадає на *грип* і *гострі респіраторні вірусні інфекції*, у виникненні яких беруть участь різні збудники: респіровіруси 1 і 3, орторубулавіруси 2 і 4, ортопневмовірус, рео-, рино-, ентеро-, корона- і мастаденовіруси тощо. Друге місце серед збудників масових інфекцій людини посідають *кишкові віруси*, які спричиняють гастроентерити і гастроентероколіти: насамперед ротавіруси, а також мастадено-, корона-, каліці- та мамастровіруси. До масових інфекцій належать також кір, герпетична інфекція, вірусні гепатити А, В, С і Е, енцефаліти і гарячки арбовірусної етіології.

Винятково гострою є проблема емерджентних і ремерджентних вірусних інфекцій, які можуть створити надзвичайні епідемічні ситуації локального або міжнародного (глобального) характеру. До цих інфекцій належать, зокрема, ВІЛ-інфекція, пандемічний грип А, геморагічні гарячки Ебола і з нирковим синдромом, енцефаліти Гендра і Ніпа, гарячка Західного Нілу, тяжкі гострі респіраторні синдроми SARS і MERS і, нарешті, COVID-19. Пандемія COVID-19, оголошена ВОЗ 11.03.2020 р., охопила 220 країн світу.

Станом на 2.01.2022 р. у світі заразилися 289 млн людей і померли 5,44 млн, що робить пандемію COVID-19 однією з найбільш смертоносних в історії.

За ступенем небезпеки всі віруси, патогенні для людини, поділяються на *чотири групи*.

I група – збудники особливо небезпечних вірусних інфекцій (14 видів): еболавіруси (5 видів), марбургвірус Марбург (родина *Filoviridae*); маммаренавіруси Ласса, Мачупо, Гуанаріто, аргентинський, бразилійський (родина *Arenaviridae*); вірус натуральної віспи, вірус віспи мавп (родина *Poxviridae*); альфагерпесвірус макак 1 (родина *Herpesviridae*).

II група – понад 70 видів, в основному збудники висококонтагіозних епідемічних вірусних хвороб, зокрема: арбовіруси з родин *Togaviridae*, *Flaviviridae*, *Peribunyaviridae*, *Hantaviridae*, *Nairoviridae*, *Phenuiviridae*, *Reoviridae* і *Rhabdoviridae*; маммаренавірус лімфоцитарного хориомеїнігиту (родина *Arenaviridae*); ліссавірус сказу (родина *Rhabdoviridae*); вірус гепатиту В (родина *Hepadnaviridae*); гепацівірус С (збудник гепатиту С) (родина *Flaviviridae*); вірус гепатиту дельта (рід *Deltavirus*); ортогепевірус А (збудник гепатиту Е) (родина *Hepeviridae*); віруси імунодефіциту людини 1, 2, Т-лімфотропні віруси приматів 1, 2, 3 (родина *Retroviridae*); вірус ящуру (родина *Picornaviridae*); коронавірус тяжкого гострого респіраторного синдрому, коронавірус гострого респіраторного синдрому Близького Сходу, коронавірус тяжкого гострого респіраторного синдрому 2 (родина *Coronaviridae*); *пріони* (збудники трансмісивних губчастоподібних енцефалопатій).

III група – 14 видів: віруси грипу А, В, С (родина *Orthomyxoviridae*); ентеровірус С (збудник поліомієліту), гепатовірус А (збудник гепатиту А) (родина *Picornaviridae*); альфагерпесвіруси людини 1, 2, 3, бетагерпесвіруси людини 5, 6А, 6В, 7, гаммагерпесвіруси людини 4, 8 (родина *Herpesviridae*).

IV група – 42 види – збудники вірусних септицемій, менінгітів, пневмоній, ентеритів, зокрема: мастаденовіруси людини А, В, С, D, Е, F, G (родина *Adenoviridae*); ортореовірус свавців, ротавіруси А, В, С (родина *Reoviridae*); коронавіруси людини 229Е, NL63 (родина *Coronaviridae*); вірус Норволк (родина *Caliciviridae*); ентеровіруси А, В, D, риновіруси А, В, С, кардіовірус А (родина *Picornaviridae*); респіровіруси людини 1, 3, орторубулавіруси людини 2, 4, орторубулавірус епідемічного паротиту, морбіллівірус кору, ортоавулавірус птахів 1 (збудник ньюкаслської хвороби) (родина *Paramyxoviridae*);

ортопневмовірус людини (родина *Pneumoviridae*); вірус краснухи (родина *Matonaviridae*); везикуловіруси Індіана, Алагоас, Кокал, Нью-Джерсі (родина *Rhabdoviridae*); віруси віспи корів, псевдовіспи корів, орф, ектромелії, контагіозного моллюска, пухлин мавп Яба, віспи Тана (родина *Poxviridae*).

Роботу з вірусами I і II груп можна проводити лише в спеціалізованих вірусологічних лабораторіях, які мають дозвіл спеціальної режимної комісії з питань біобезпеки і біозахисту. У вірусологічних лабораторіях дозволяється робота з вірусами тільки III і IV груп.

Щодо вірусних захворювань тварин, згідно з інформацією МЕБ, перелік інфекцій, обов'язкових для декларування у ВООЗт у 2020 р., включає 62 вірусні хвороби різних видів тварин (у тому числі риб, моллюсків, ракоподібних і земноводних). До *особливо небезпечних (карантинних) вірусних хвороб тварин* належать 14 нозологічних одиниць: ящур, нодулярний дерматит, везикулярний стоматит, чума ВРХ, чума дрібних жуйних, блутанг, гарячка долини Ріфт, віспа овець і кіз, африканська чума коней, везикулярна хвороба свиней, класична чума свиней, африканська чума свиней, чума (високопатогенний грип) птиці, ньюкаслська хвороба.

У ветеринарній практиці в господарствах промислового типу поширені й завдають значних економічних збитків масові *респіраторно-кишкові інфекції телят*, що виникають на тлі стресових факторів та неоднорідного імунологічного статусу. Захворюваність за пневмоентеритів телят становить 55–94%, смертність – 15–20%. За діарей новонароджених телят захворюваність досягає 95–100%, а відхід – 30–40% і більше. Етіологія цих захворювань комплексна. У виникненні їх беруть участь різні віруси (респіровірус ВРХ 3, ортопневмовірус ВРХ, альфагерпесвірус ВРХ 1, пестівіруси А і В, мастаденовіруси ВРХ А, В і С, атаденовірус ВРХ D, ротавіруси А, В і С, бетакоронавірус 1 та ін.), які спричиняють здебільшого асоційовані інфекції з нашаруванням бактеріальної мікрофлори, що ускладнює діагностику і профілактику.

Значний інтерес становлять дослідження *тератогенних властивостей* вірусів. Вони є однією з причин внутрішньоутробної патології людини. У медичній практиці особливо небезпечним є вірус краснухи, який спричинює аборти, мертвородження, вроджені дефекти (класичний синдром – катаракта, глухота, пороки серця; крім того, ураження ЦНС). Внутрішньоутробну патологію плоду в людини можуть спричинити альфагерпесвіруси людини 1, 2, 3, бетагерпесвірус людини 5, маммаренавірус

лімфоцитарного хориомеїнігиту, ентеровіруси людини А, В, мастаденовіруси людини В, D.

Тератогенна дія вірусів спостерігається також в інфекційній патології тварин. Так, пестівірус С (збудник класичної чуми свиней) та альфагерпесвірус свиней 1 (збудник хвороби Ауескі) спричиняють аборти, муміфікацію плоду, мертвородження, а пестівіруси А і В (збудники вірусної діареї ВРХ), окрім зазначених аномалій, – гіпоплазію мозочка в новонароджених телят, гідроцефалію, деформацію скелетних м'язів. Аборти можуть спричинювати вірус ящуру, альфагерпесвірус ВРХ 1, альфагерпесвірус коней 1. Коронавірус птахів є причиною патологічної форми яєць.

Велику увагу науковці приділяють дослідженню *екології вірусів*, на яку істотно впливають антропогенні фактори (зокрема забруднення довкілля промисловими відходами). Спільність збудників вірусних інфекцій тварин і людини особливо яскраво проявляється серед екологічної групи *арбовірусів*, що передаються через укуси кровосисних членистоногих. Понад 100 арбовірусів є патогенними для людини (наприклад, віруси жовтої гарячки, кліщового енцефаліту, японського енцефаліту, геморагічної гарячки Крим-Конго, венесуельського, східного і західного енцефаломієлітів коней). Винятково важливе значення в резервації арбовірусів у природних вогнищах і транспортуванні їх на значні відстані належать мігрувальним птахам. Від птахів та їхніх ектопаразитів виділено понад 100 арбовірусів.

Птахи відіграють важливу роль у циркуляції *вірусу групи А*, ставши основним його резервуаром у природі. Відомо близько 50 антигенних варіантів вірусу грипу А, якому властива унікальна мінливість поверхневих антигенів Н і N. Завдяки антигенному дрейфу кожні 2–3 роки виникають нові епідемічні штами вірусу грипу А, а пандемічні штами з'являються за рахунок обміну генами між штамами, що уражають ссавців і птахів (антигенний шифт). У зв'язку з міжвидовою міграцією вірусу грипу А в популяції свійських і диких тварин проблема грипу перетворилася з суто медичної на медико-ветеринарну.

Особлива увага вчених спрямована на дослідження *імунопатології вірусних інфекцій*. Зокрема, за багатьох захворювань має місце імунологічна недостатність (імунодефіцит), що пов'язано зі здатністю вірусів розмножуватися в імунокомпетентних клітинах і спричинювати пошкодження лімфоїдної тканини. Сильна імунодепресивна дія характерна для збудників хвороби Марека, інфекційної бурсальної хвороби, інфекційної анемії курчат, вірусної діареї ВРХ.

Серед захворювань людини класичним прикладом різко вираженої імунологічної недостатності організму є ВІЛ-інфекція/СНІД, що вперше зареєстровано в 1981 р. у США. За даними ВООЗ, з початку епідемії у світі заразилися 75,7 млн людей і померли 32,7 млн. Наприкінці 2019 р. у світі налічувалося з ВІЛ-інфекцією 38 млн людей (у тому числі 1,8 млн дітей віком до 14 років), з них 81% знали про свій статус. До червня 2020 р. лікування в рамках антиретровірусної терапії приймали 26 млн людей. Упродовж року в 3–5% ВІЛ-інфікованих пацієнтів розвивається власне СНІД із неминучим летальним наслідком.

Важливою проблемою сучасної епідеміології й епізоотології є *вірусна персистенція*, що характеризується тривалим перебуванням збудника в організмі та проявляється в різних формах – латентній, хронічній і повільній інфекціях. Механізми вірусної персистенції різноманітні: від інтеграції вірусного генома з клітинною ДНК (у ретровірусів) до імунопатологічних реакцій організму (наприклад, за інфекційної анемії коней, африканської чуми свиней, алеутської хвороби норок). Персистенцію вірусів можна трактувати як одну з можливостей уникнути дії захисних факторів організму з метою збереження їх як біологічних видів.

Одним із найбільш яскравих прикладів вірусної персистенції є *повільні інфекції*, що характеризуються тривалим інкубаційним періодом (іноді десятки років), подальшим поступовим прогресувальним розвитком симптомів захворювання і неминуче летальним наслідком. Повільну інфекцію – підгострий склерозивний паненцефаліт – може спричинити морбіллівірус кору через 1,5–18 років після захворювання, проникнувши через гематоенцефалічний бар'єр. Вірус краснухи здатний індукувати прогресувальний паненцефаліт як пізні ускладнення вродженої інфекції за внутрішньоутробного зараження плоду. Сказ може протікати у вигляді повільної інфекції з інкубаційним періодом від 8 міс. до 3 і більше років. До повільних вірусних інфекцій належать ВІЛ-інфекція, імунodefіцит мавп і котів, вісна/меді.

Серйозну увагу фахівців привертає група повільних інфекцій тварин і людини пріонної етіології – *трансмисивні губчастоподібні енцефалопатії*, що характеризуються дистрофічним ураженням ЦНС із відповідним симптомокомплексом і неминуче летальним наслідком. Пріони здатні долати видовий бар'єр, що змушує звертати особливу увагу на фактори ризику зараження людей у разі контакту з хворими тваринами, через продукти харчування або фармацевтичні й косметичні препарати, виготовлені з тваринницької

сировини. Особливу небезпеку становить губчастоподібна енцефалопатія ВРХ, яка має безпосередній зв'язок із виникненням хвороби Крейтцфельдта – Якоба в людей.

В останні десятиліття досягнуто серйозних успіхів у з'ясуванні *вірусної етіології пухлин* і дослідженні механізмів вірусного канцерогенезу. Встановлено, що багато вірусів, як ДНК-, так і РНК-геномних, можуть індукувати онкогенну трансформацію клітин у ссавців і птахів. У природних умовах доброякісні пухлини спричинюють, наприклад, збудники міксоматозу і фіброми кролів, а злоякісні – збудники папіломатозу ВРХ і кролів, лейкозу ВРХ, хвороби Марека, саркоми Рауса і лейкозу птахів. Доведено участь папіломавірусів людини у виникненні раку сечостатевої системи, шкіри і гортані. Папіломавірусну ДНК виявляють у 70% випадків раку шийки матки і в 25% випадків раку зовнішніх статевих органів у жінок. Встановлено зв'язок між альфагерпесвірусом людини 2 з розвитком раку шийки матки в жінок. Альфагерпесвірус людини 4 спричинює такі злоякісні захворювання людини, як лімфома Беркітта, карцинома носоглотки та імунобластоїдна лімфома кісткового мозку. Вірус гепатиту В є основним етіологічним фактором у виникненні гепатоцелюлярної карциноми людини. Встановлено, що серед носіїв вірусу гепатиту В гепатома трапляється в 223 рази частіше. Онкогенні властивості має також вірус гепатиту С.

1.6. Досягнення і завдання сучасної вірусології

У зв'язку з повсюдним поширенням вірусів і надзвичайно широким спектром спричинюваних ними захворювань важливим завданням сучасної вірусології є розробка нових і вдосконалення існуючих методів лабораторної діагностики та засобів імунoproфілактики вірусних інфекцій тварин і людини.

Лабораторна діагностика вірусних хвороб тварин і людини зробила за останні десятиліття великий крок уперед. На зміну загальноприйнятим серологічним реакціям (РН, РГГА, РНГА, РЗК, РДП) впроваджено високочутливі й експресні методи імунферментного, імунохроматографічного та радіоімунного аналізу, молекулярно-генетичні методи.

Заміна в традиційних діагностичних поліклональних антитіл на моноклональні є прогресом на шляху створення діагностичних препаратів нового покоління. Моноклональні антитіла широко застосовують не лише для вдосконалення методів лабораторної

діагностики, а й у технології виготовлення вакцин, для вивчення антигенної структури вірусів, патогенезу та імуногенезу за вірусних інфекцій. За розробку методу отримання моноклональних антитіл Дж. Келеру (Німеччина) і Ц. Мілштейну (Велика Британія) присуджено в 1984 р. Нобелівську премію.

Останнім часом значна увага приділяється розробці діагностиків на основі *імунохроматографічного аналізу* (ІХА). Вони не вимагають спеціального обладнання, можуть використовуватися безпосередньо в умовах господарства чи виробництва і реалізації харчових продуктів, кормів для тварин та ін. ІХА широко застосовують у багатьох країнах світу для експрес-діагностики COVID-19.

Для експрес-діагностики вірусних інфекцій інтенсивно розробляються метод *ДНК-зондів* і *полімеразна ланцюгова реакція* (ПЛР), які ґрунтуються на індикації вірусних геномів безпосередньо в досліджуваному матеріалі. Важливою перевагою цих методів є можливість виявити вірусні нуклеїнові кислоти в тих пробах, в яких вірус уже втратив інфекційні й антигенні властивості. Методи незамінні для індикації вірусів, що не культивуються в лабораторних умовах, а також персистувальних вірусів і провірусів (інтегрованих у клітинний геном вірусних ДНК). ПЛР особливо цінна в разі дослідження зразків харчових продуктів і проб із об'єктів довкілля, які сильно контаміновані різноманітними мікроорганізмами. К. Мюлліс (США), який розробив ПЛР, був удостоєний у 1993 р. Нобелівської премії.

У лабораторній діагностиці вірусних інфекцій тварин і людини важливим є *рестрикційний аналіз* у поєднанні з *методом секвенування*. Вони дають змогу скласти фізичні карти вірусних геномів із точністю до одного нуклеотиду, що гарантує точну типізацію близькоспоріднених вірусів. Рестрикційний аналіз має велику цінність для стандартизації та контролю біопрепаратів.

За останні десятиліття відбувся значний прогрес в імунопрофілактиці вірусних інфекцій тварин і людини. Окрім традиційних живих та інактивованих цільновіронних вакцин, створено *субодиничні вакцини*, що складаються лише з протективних вірусних антигенів. Широкі перспективи для розробки і промислового виробництва вірусних вакцин відкриває генна інженерія. На основі технології рекомбінантної ДНК розроблено різні типи *генноінженерних вакцин*: реасортантні, рекомбінантні (субодиничні, векторні), ДНК- і РНК-вакцини та рослинні (з трансгенних рослин).

Технологія рекомбінантної ДНК відкриває широкі можливості для конструювання *асоційованих* і *змішаних вакцин*. Отримано

рекомбінант вірусу вісповакцини, який містить гени протективних протеїнів вірусів гепатиту В, грипу А та альфагерпесвірусів людини 1 і 2. У плазмідну ДНК можна вбудувати гени протективних протеїнів кількох вірусів і гени цитокінів, що регулюють імунну відповідь. На думку фахівців, технологія рекомбінантної ДНК дасть можливість сконструювати змішані вакцини проти 12 і більше хвороб, у тому числі вірусних, бактеріальних і паразитарних.

Окрім розробки нових методів лабораторної діагностики та засобів імунопрофілактики вірусних інфекцій тварин і людини, важливими напрямками в розвитку вірусології є дослідження: 1) персистенції вірусів; 2) вірусіндукованої трансформації клітин, тератогенної та мутагенної дії вірусів; 3) нозогеографії та екології вірусів; 4) емерджентних та реемерджентних інфекцій (надзвичайних епідемічних ситуацій за участю вірусів); 5) використання вірусів для біологічної боротьби.

Вагомий внесок у становлення і розвиток ветеринарної вірусології зробив видатний російський вірусолог, доктор ветеринарних і біологічних наук, професор, академік ВАСГНІЛ і РАСГН В. М. Сюрін (1915–2004). У 1965 р. у Московській ветеринарній академії імені К. І. Скрябіна він організував єдину в СРСР кафедру ветеринарної вірусології, яку очолював 23 роки. При кафедрі були створені три науково-дослідні лабораторії (ветеринарної вірусології, молекулярної біології та генної інженерії, біотехнології) для розробки й удосконалення методів лабораторної діагностики та засобів імунопрофілактики вірусних хвороб тварин. З ініціативи В. М. Сюріна в 1968 р. на ветеринарних факультетах сільськогосподарських вузів СРСР започатковано нову навчальну дисципліну «Ветеринарна вірусологія», а в обласних (крайових) і республіканських ветеринарних лабораторіях створено відділи з діагностики вірусних хвороб тварин. В. М. Сюрін підготував цілу плеяду науковців – 21 доктора і 63 кандидатів наук; під його керівництвом розроблено 10 вірусних вакцин і 15 діагностичних препаратів.

Вагомий внесок в успішний розвиток ветеринарної вірусології в Україні зробили українські вчені: М. В. Рево, І. Й. Кулеско, В. В. Нікольський, А. І. Собко, В. П. Онуфрієв, І. І. Панікар, В. П. Романенко та багато інших.

Рево М. В. (1889–1962) – доктор медичних і ветеринарних наук, професор, академік УАСГН, займався вивченням зооантропонозних інфекційних хвороб. Зокрема, він досліджував антигенну структуру вірусу ящуру, етіологію та імунологію лімфоцитарного хориомеїнігиту, етіологію та епізоотологію інфекційного енцефаломієліту коней,

розробив методи і засоби діагностики та лікування інфекційного енцефаломієліту коней.

Кулеско І. Й. (1902–1980) – доктор ветеринарних наук, професор, член-кореспондент ВАСГНІЛ. Уперше в СРСР розробив кристалвіолетову вакцину проти класичної чуми свиней, яка в комплексі з ветеринарно-санітарними заходами відіграла вирішальну роль у ліквідації епізоотії цього захворювання.

Нікольський В. В. (1906–1982) – доктор ветеринарних наук, професор, академік УАСГН. Одним із перших започаткував викладання ветеринарної вірусології в Україні, впродовж 23 років очолював кафедру мікробіології та вірусології в Українській сільськогосподарській академії (нині Національний університет біоресурсів і природокористування України). Досліджував природну резистентність та імунологічну реактивність організму тварин, вивчав етіологію та патогенез інфекційного енцефаломієліту й інфекційної анемії коней, трансмісивного гастроентериту свиней. Уперше в Україні розшифрував етіологію масових шлунково-кишкових захворювань новонароджених поросят і телят, встановивши їхню вірусну етіологію, розробив засоби та методи діагностики і профілактики.

Собко А. І. (1931–1997) – доктор ветеринарних наук, професор, член-кореспондент ВАСГНІЛ та УААН, засновник Інституту ветеринарної медицини НААН України, який очолював 20 років. Великий внесок зробив у розробку засобів діагностики і профілактики низки вірусних хвороб тварин, зокрема ящуру, класичної чуми свиней, хвороби Тешена, трансмісивного, ентеровірусного і ротавірусного гастроентеритів свиней. За його наукового керівництва та безпосередньої участі розроблено і впроваджено в практику ветеринарної медицини понад 30 високоефективних діагностичних і лікувально-профілактичних препаратів.

Онуфрієв В. П. (1925–1998) – доктор біологічних наук, професор, член-кореспондент ВАСГНІЛ, РАСГН та УААН, впродовж 18 років був директором Всесоюзного ящурного інституту, 11 років очолював кафедру мікробіології та вірусології Національного аграрного університету (нині НУБіП України). Вивчав афто-, корона- та ротавіруси, досліджував трансфер-фактор активного імунітету. За його наукового керівництва розроблено та впроваджено у ветеринарну практику засоби діагностики та профілактики ящуру, ротавірусної та коронавірусної інфекцій ВРХ.

Панікар І. І. (1933–2007) – доктор ветеринарних наук, професор, лауреат Державної премії України, впродовж 22 років очолював

кафедру вірусології, патанатомії та ветсанекспертизи Сумського національного університету. Визнаний фахівець із діагностики та профілактики інфекційних хвороб птахів. Уперше в Україні та в СРСР отримав вакцинний штаб вірусу гепатиту качок.

Романенко В. П. (1932–2017) – академік НААН, лауреат Державної премії України, впродовж 16 років був директором Інституту сільськогосподарської мікробіології УААН, впродовж 19 років – завідувачем лабораторії генетики та імунології Інституту ветеринарної медицини УААН. Досліджував ентеровіруси свиней. Уперше в СРСР на території Закарпатської області виявив нову хворобу свиней – ензоотичний енцефаломієліт (хворобу Тешена), розробив два набори діагностикумів і вакцину проти цієї хвороби.

Окрім згаданих вище, десятки вітчизняних дослідників зробили значний внесок у становлення ветеринарної вірусології. Їхні імена відомі як в Україні, так і за рубежом. Нині ветеринарна вірусологія в Україні інтенсивно розвивається. Технічний прогрес забезпечив можливість досліджень вірусів на молекулярному і субмолекулярному рівнях, що в поєднанні з класичними методами дає змогу конструювати і впроваджувати у практику ветеринарної медицини ефективні засоби діагностики та імунопрофілактики вірусних інфекцій тварин та мінімізувати небезпеку вірусів – збудників зооантропонозів для людини.

Контрольні запитання

1. Розкажіть про історію відкриття вірусів. **2.** Охарактеризуйте основні періоди розвитку вірусології та становлення її як фундаментальної біологічної науки. **3.** Що таке віруси, які їхні кардинальні відмінності від клітинних форм життя? **4.** Чому віруси стали незамінною моделлю для молекулярної біології, генетики, генної інженерії при вирішенні загальнобіологічних проблем? **5.** Чи є вірус організмом (індивідом)? **6.** Які вірусоподібні структури ви знаєте? **7.** Назвіть основні гіпотези походження вірусів. **8.** Яка роль вірусів у інфекційній патології людини і тварин? **9.** Розкажіть про досягнення і завдання вірусології в діагностиці та профілактиці вірусних інфекцій тварин і людини. **10.** Охарактеризуйте внесок українських учених у становлення ветеринарної вірусології.

Розділ 2

СТРУКТУРНА ОРГАНІЗАЦІЯ ТА ХІМІЧНИЙ СКЛАД ВІРУСІВ

2.1. Фізична структура вірусів

Віруси є облігатними внутрішньоклітинними генетичними паразитами тварин, рослин, грибів, найпростіших, бактерій та архей. Вони здатні репродукуватися тільки в живих клітинах, куди вносять лише свою генетичну інформацію.

Віруси існують у *двох формах*: позаклітинній (віріон) і внутрішньоклітинній (вірусний геном).

Віріон – це неактивна форма існування вірусів. Розміри віріонів коливаються в широких межах: від 15 до 1400 нм (1 нанометр = 10^{-9} м). Найменші віруси (цирко-, парво-, пікорнавіруси) наближаються за величиною до протеїнових молекул, а найбільші (покс-, параміксо-, філовіруси) – близькі за розмірами до найдрібніших бактерій. Поксвіруси (зокрема віруси віспи ссавців і птахів) видимі в світловому мікроскопі.

Формування віріонів підпорядковується точним математичним законам побудови просторових структур (від кристалів до архітектурних споруд), що ґрунтуються на утворенні структур із найменшим рівнем вільної енергії.

Віріон – це метаболічно інертна вірусна частка, в якій *нуклеїнова кислота*, що представляє геном (ДНК або РНК), оточена протеїновою оболонкою – *капсидом* (від лат. capsula – футляр). Капсид складається з найменших функціонально-еквівалентних *структурних одиниць*, до складу яких входить одна або кілька молекул протеїну (в останньому випадку структурна одиниця поділяється на *протеїнові субодиниці*). Група структурних одиниць утворює морфологічну одиницю – *капсомер*, яку можна виявити в електронному мікроскопі.

Нуклеїнова кислота разом із капсидом утворює *нуклеокапсид*. У просто організованих вірусів віріони представлені лише

нуклеокапсидами. У складно організованих вірусів нуклеокапсид оточений зовнішньою ліпопротеїновою оболонкою – *суперкапсидом*.

До складу суперкапсиду входять ліпіди і вуглеводи клітинних мембран, причому глікопротеїни формують на поверхні віріона морфологічні субодиниці – *пепломери*, видимі в електронному мікроскопі. Пепломери виглядають як ості (шипи) завдовжки 7–10 нм різної форми. Так, у пневмовірусів ості мають форму пляшки, а в коронавірусів вони булавоподібні.

Деякі складно організовані віруси, крім суперкапсиду, мають ще одну проміжну оболонку – *протеїнову мембрану*, утворену М-протеїном (матриксний, або мембранний, протеїн), яка оточує нуклеокапсид і формує разом з ним *нуклеоїд*, або *серцевину*. Окремі віруси, незалежно від складності їхньої організації, містять серцевину, представлену нуклеїновою кислотою в комплексі з внутрішніми протеїнами.

Вірусні капсиди мають надзвичайно впорядковану організацію. Існує *два типи будови капсидів* віріонів, які забезпечують утворення структур із мінімумом вільної енергії: спіральний та ікосаедральний (ізометричний, кубічний) типи симетрії (рис. 1).

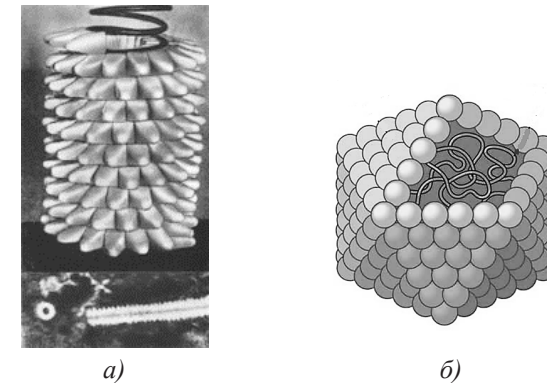


Рис. 1. Структура просто організованих вірусів зі спіральним (а) та ікосаедральним (б) типами симетрії капсидів

(Дяченко С. С. та ін., 1974; <http://virologia.sites.uff.br/wp-content/uploads/sites/236/2017/11/aula-1-introdução.pdf>)

Спіральний тип симетрії характеризується розміщенням капсомерів у вигляді спіралі навколо молекули нуклеїнової кислоти. Протеїнові субодиниці вкладаються в спіраль так, що відносно

поздовжньої осі всі вони (за винятком кінцевих) знаходяться в однаковому положенні. У такому разі капсомери утворюють трубку, всередині якої дуже компактно упакована нуклеїнова кислота. Її довжина значно перевищує розміри віріона. Наприклад, довжина вірусу тютюнової мозаїки становить 300 нм, а його РНК сягає 4000 нм і настільки міцно зв'язана з капсидом, що її не можна звільнити, не пошкодивши капсид. Спіральний тип симетрії забезпечує максимально регулярну взаємодію між протеїновими субодинамиціями капсиду і нуклеїновою кислотою.

Віріони зі спіральним нуклеокапсидом мають паличкоподібну або ниткоподібну форму. Це стосується вірусів рослин. Серед вірусів тварин спіральний тип симетрії властивий складно організованим вірусам з одноланцюговою РНК. Форма віріонів у таких вірусів сферична. Виняток становлять рабдовіруси (наприклад, ліссавірус сказу), що мають кулеподібну форму, а також філовіруси (марбург- та еболавіруси), яким властива ниткоподібна форма.

За **ікосаедрального (ізометричного, кубічного) типу симетрії** капсомери вкладаються у формі геометричної фігури – ікосаедра (20-гранника), утворюючи порожнисту ізометричну структуру, в центрі якої знаходиться нуклеїнова кислота. При цьому не існує регулярної взаємодії між нуклеїновою кислотою та кожною протеїновою субодинамицею. Ікосаедр сформований 20 рівносторонніми трикутниками. Він має 12 вершин, до кожної з яких сходяться кути 5 трикутників, і 30 ребер, де з'єднуються сторони сусідніх трикутників. Такі віріони є симетричними в трьох взаємно перпендикулярних напрямках.

Серед вірусів тварин ікосаедральний тип симетрії властивий майже всім ДНК-геномним вірусам (за винятком поксвірусів) і багатьом РНК-геномним вірусам, незалежно від складності їхньої організації. Реовіруси мають два ікосаедральні капсиди. Ізометричні віріони просто організованих вірусів мають форму ікосаедра або сферичну, а складно організованих – сферичну, а також ікосаедральну (асфар- та ірідовіруси).

Існують віруси зі **складним (комбінованим) типом симетрії**: поксвіруси, ретровіруси, бактеріофаги.

Поксвіруси мають порівняно з іншими вірусами неканонічну будову (рис. 2, стор. 43). Зовнішня оболонка віріона огортає серцевину у вигляді двогнутого диска, по боках якого знаходяться овальні структури – латеральні тільця. Серцевина містить дволанцюгову ДНК, оточену внутрішньою гладкою мембраною та зовнішнім шаром із циліндричних субодинамиць.

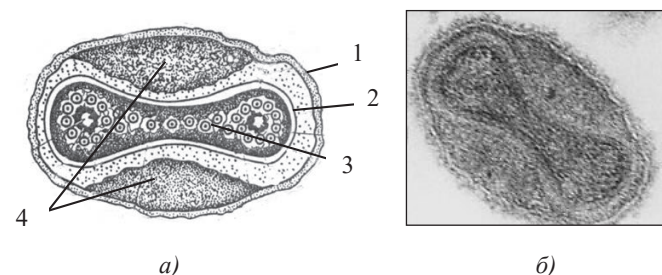


Рис. 2. Структура поксвірусів:

1 – зовнішня оболонка; 2 – серцевина;

3 – дволанцюгова ДНК; 4 – латеральні тільця

(Сюрін В. М., Фоміна Н. В., 1979; <https://en.wikipedia.org/wiki/Smallpox>)

У **ретровірусів** є два типи симетрії: суперкапсидна оболонка вкриває серцевину, яка складається з ікосаедрального капсиду і розміщеного всередині спірального нуклеопротеїнового комплексу, що містить дві молекули одноланцюгової РНК (рис. 3).

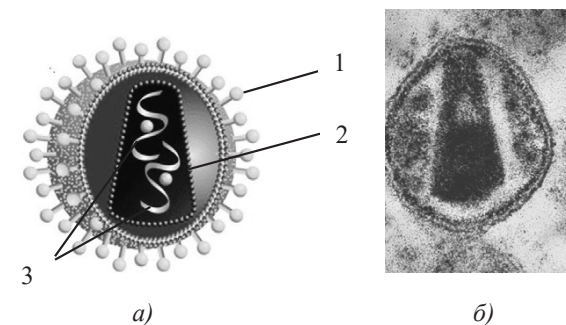


Рис. 3. Структура ретровірусів:

1 – суперкапсид; 2 – ікосаедральний капсид; 3 – спіральний нуклеопротеїновий комплекс з одноланцюговими РНК

(<http://realmindfulness.ru/2012/02/meditaciya-osoznannosti-i-vich-infekciya/>; Львов Д. К. та ін., 2013)

Два типи симетрії спостерігаються також у **бактеріофагів** колі-дизентерійної групи (Т-парних, рис. 4, стор. 44). Так, бактеріофаг Т2 складається з головки і відростка. Головка утворена протеїновими молекулами, які формують ікосаедр, і містить усередині дволанцюгову ДНК. Відросток являє собою порожнистий

стрижень, оточений чохлам, що здатний скорочуватися подібно до м'язів. Чохол складається з протеїнових субодиниць, розміщених за спіральним типом симетрії. Відросток закінчується шестигранною базальною пластинкою із шістьма зубцями, від яких відходять нитки – фібрили, що забезпечують адсорбцію бактеріофага на бактеріальній клітині.

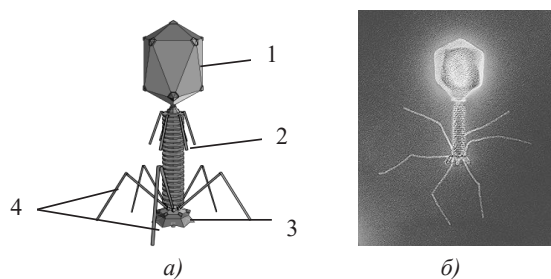


Рис. 4. Структура Т-парних бактеріофагів:

1 – головка; 2 – відросток; 3 – базальна пластинка; 4 – фібрили

(<https://ru.wikipedia.org/wiki/Бактериофаги>,
<https://www.kommersant.ru/doc/1867165>)

2.2. Хімічний склад вірусів

2.2.1. Нуклеїнові кислоти

На відміну від клітинних форм життя, в складі віріонів вірусів знаходиться лише один тип нуклеїнової кислоти – ДНК або РНК. Відповідно всі віруси поділяються на ДНК-вмісні (ДНК-геномні) і РНК-вмісні (РНК-геномні). Саме існування РНК-геномних вірусів свідчить про те, що вірусна РНК, так само як і ДНК, є носієм спадкової інформації, причому більшість вірусів людини і тварин (близько 80%) – РНК-вмісні. Вірусний геном гаплоїдний, за винятком ретровірусів, які мають диплоїдний геном, представлений двома ідентичними молекулами одноланцюгової РНК.

Молекулярна маса вірусних нуклеїнових кислот коливається в широких межах: у ДНК-вмісних вірусів від 1,5 МДа (парвовіруси) до 250 МДа (покс- та ірідовіруси); у РНК-вмісних вірусів – від 2,4 МДа (пікорнавіруси) до 20 МДа (реовіруси). Вірусні геноми становлять від 0,5–3% (параміксовіруси) до 19–32% (парвовіруси) маси віріона.

Вірусні нуклеїнові кислоти характеризуються надзвичайною різноманітністю форм (рис. 5).



Рис. 5. Типи і форми вірусних нуклеїнових кислот:

1 – лінійна; 2 – кільцева;

3 – фрагментована; 4 – фрагментована кільцева

Вірусні ДНК бувають одно- і дволанцюговими, лінійними та кільцевими.

У вірусних *дволанцюгових ДНК*, на відміну від клітинної ДНК, генетична інформація закодована, як правило, на обох нитках. Це свідчить про максимальну економію генетичного матеріалу у вірусів, що є невід'ємною властивістю їх як генетичних паразитів.

Структура ДНК в основному унікальна: більшість нуклеотидних послідовностей трапляється лише один раз. Однак на кінцях молекул бувають повтори, коли в кінцевому фрагменті ДНК дублюється її початкова ділянка. У цих повторах закладена потенційна здатність до утворення *кільцевої форми*, що має важливе значення для вірусів. Кільцева форма забезпечує стійкість нуклеїнової кислоти до нуклеаз – ензимів, які послідовно відщеплюють нуклеотиди з кінців полінуклеотидного ланцюга. Крім того, стадія утворення кільцевої форми є обов'язковою для процесу інтеграції вірусної ДНК із клітинним геномом.

Дволанцюгову лінійну ДНК мають покс-, асфар-, ірідо-, герпес-, аллогерпес- та аденовіруси, кільцеву – папілома-, поліома- і гепаднавіруси.

ДНК багатьох вірусів має деякі специфічні особливості. Так, у покс- та асфарвірусів обидва ланцюги ДНК ковалентно замкнені на кінцях. Кільцева ДНК папілома- і поліомавірусів надспіралізована та за своєю конфігурацією подібна до хромосоми клітини.

У гепаднавірусів плюс-нитка кільцевої ДНК дефектна – на 20–50% коротша за мінус-нитку*.

Одноланцюгова ДНК буває лінійною (парвовіруси) або кільцевою (цирко-, анелло- смако-, геномо- і редондовіруси). Вона має негативну полярність, лише в парвовірусів у частини віріонів (1–50%) виявляють плюс-нитки.

Вірусні РНК, так само як і ДНК, дуже різноманітні. Вони бувають одно- і дволанцюговими, лінійними, фрагментованими та кільцевими.

Для *одноланцюгової РНК* характерна полярність. Віруси, що містять одноланцюгову РНК, поділяються на дві групи: плюс-ниткові (або віруси з позитивним геномом) і мінус-ниткові (або віруси з негативним геномом).

У *плюс-ниткових вірусів* віріонна РНК виконує функцію мРНК, тобто здатна безпосередньо переносити генетичну інформацію на рибосоми. Позитивний геном мають корона-, артері-, тобан-, флаві-, тога-, матона-, оліфо-, пікорна-, каліці-, астро-, гепе- і подавіруси, причому в подавірусів плюс-нитка РНК фрагментована (2 фрагменти). Плюс-нитковими є також ретровіруси, але вони реалізують свою генетичну інформацію через комплементарну ДНК-копію.

У *мінус-ниткових вірусів* віріонна РНК не має властивостей мРНК. У таких вірусів на матриці мінус-нитки РНК синтезується комплементарна їй мРНК за участю вірусного ензиму транскриптази, який входить до складу віріонів. Негативний геном мають параміксо-, пневмо-, рабдо-, філо-, борна-, н'ямі-, сун-, ортоміксо-, амноон-, арена-, ганта-, найро-, перібун'я-, фенуї- та дельтавіруси.

Одноланцюгова РНК є фрагментованою в ортоміксовірусів (складається з 6–8 фрагментів) та амноонвірусів (10 фрагментів). Арена-, ганта-, найро-, перібун'я- і фенуївіруси також містять одноланцюгову фрагментовану РНК (2 фрагменти в аренавірусів і 3 фрагменти в інших), причому кожен фрагмент має кільцеву форму. Одноланцюгова РНК вірусу гепатиту дельта кільцевої форми.

Для *дволанцюгової РНК* характерна фрагментованість. Цей тип нуклеїнової кислоти властивий реовірусам (10–12 фрагментів), бірнавірусам (2 фрагменти) і пікобірнавірусам (2 фрагменти).

Нуклеїнові кислоти зумовлюють інфекційні властивості вірусів.

* *Плюс-нитка* вірусної ДНК або РНК має таку саму послідовність нуклеотидів, що й вірусна мРНК, а *мінус-нитка* – комплементарна мРНК.

2.2.2. Протеїни

Вірусні протеїни, як і клітинні, побудовані з амінокислот і являють собою поліпептидні ланцюги, сформовані у вторинні та третинні структури. Деякі вірусні протеїни, зокрема капсидні, мають ще й четвертинну структуру. Молекулярна маса вірусних поліпептидів коливається в межах від 8 до 275 кДа.

У заражених клітинах вірусний геном кодує синтез *двох груп протеїнів*: 1) структурні, які входять до складу віріонів потомства; 2) неструктурні (ензими), що забезпечують процес репродукції вірусу на різних етапах, але до складу віріонів не входять.

Структурні протеїни становлять 57–90% маси віріона. Їхня кількість коливається в широких межах і залежить від складності організації віріона. Так, вірус тютюнової мозаїки містить усього один протеїн, деякі бактеріофаги – 2–3 протеїни, просто організовані віруси тварин – від 1 (цирковіруси) до 3–4 протеїнів (парвовіруси). Зі збільшенням складності організації віріона кількість структурних протеїнів зростає: у вірусу грипу А їх є 7, в аденовірусів – 10–14, у герпесвірусів – 20–32, в асфарвірусів – понад 50, у поксвірусів – 100.

Структурні протеїни поділяються на *дві основні групи*: капсидні та суперкапсидні.

Капсидні протеїни формують капсид, який оточує вірусну нуклеїнову кислоту. У просто організованих вірусів з ікосаедральною симетрією вони становлять 50–80% маси віріона, а у вірусів зі спіральною симетрією – 90–98%.

Основним принципом будови капсиду є *субодичність*. Це означає, що капсидна оболонка складається з протеїнових субодичниць, які утворені ідентичними поліпептидними ланцюгами. Протеїнові субодичниці (1–6 молекул поліпептидів) формують капсомери, що розміщені за спіральним або ікосаедральним типами симетрії. Завдяки принципу субодичності досягається величезна економія генетичного матеріалу.

Правильно збудовані капсиди віріонів виникають завдяки здатності вірусних протеїнів до самоскладання (впорядкованої агрегації), що забезпечує утворення протеїнової структури з мінімумом вільної енергії. Самоскладання вірусних протеїнів можна порівняти з кристалізацією.

Вірусний капсид виконує важливі функції. Основна його функція – *захисна*, спрямована на захист вірусного генома від несприятливих зовнішніх чинників і насамперед від численних нуклеаз організму. У зв'язку з цим вірусні капсиди мають високу стійкість

до фізико-хімічних факторів, зокрема до протеолітичних ензимів, що виробилося в процесі еволюції. Це досягається завдяки певному укладанню поліпептидних ланцюгів, унаслідок чого пептидні зв'язки стають недоступними для дії ензимів. Разом з тим, капсидні протеїни здатні змінювати свою конформацію та набувати чутливості до клітинних протеаз на ранніх стадіях репродукції. Це призводить до розпаду капсиду і звільнення вірусного генома, що є обов'язковою умовою розвитку вірусної інфекції.

До складу капсиду просто організованих вірусів входять *прикріплювальні протеїни*, які здійснюють *адресну функцію*, що виробилася в процесі еволюції. Ці протеїни взаємодіють зі специфічними рецепторами плазмолемі і забезпечують адсорбцію віріона на клітині. Отже, завдяки прикріплювальним протеїнам вірус розпізнає чутливу клітину, яка здатна забезпечити продукцію повноцінного вірусного потомства. Кожний вірус уражає лише певні біологічні види і типи клітин багатоклітинного організму.

У просто організованих вірусів деякі капсидні протеїни беруть участь у *злитті* капсидної оболонки і плазмолемі, що забезпечує проникнення вірусу в клітину.

Капсид окремих вірусів (незалежно від складності їхньої організації) містить *геномні протеїни*, які ковалентно з'єднані з кінцем вірусної нуклеїнової кислоти. Функції їх нерозривно зв'язані з функціями генома та їхньою регуляцією.

Капсид багатьох складно організованих вірусів містить *ензими*, які беруть участь у репродукції вірусів, зокрема здійснюють транскрипцію та реплікацію вірусного генома.

Капсидні протеїни мають *антигенні властивості*, тобто індукують синтез специфічних антитіл.

Суперкапсидні протеїни знаходяться в зовнішній ліпопротеїновій оболонці складно організованих вірусів, пронизуючи подвійний ліпідний шар. Вони представлені *глікопротеїнами*, в яких вуглеводні ланцюги прикріплені до певних амінокислот поліпептиду. Глікозилювання здійснюють клітинні ензими. Тому один і той самий вірус, який репродукується в різних типах клітин, може мати неоднакові вуглеводні залишки. У більшості вірусів глікопротеїни формують на поверхні віріона ості – *непломери*.

Глікопротеїни виконують дві важливі функції, що забезпечує проникнення вірусу в клітину. Одні з них є *прикріплювальними протеїнами*, які взаємодіють зі специфічними рецепторами плазмолемі і зумовлюють адсорбцію віріона на плазмолемі клітини, тобто

здійснюють адресну функцію. Інші глікопротеїни є *протеїнами злиття*, що забезпечують проникнення вірусу в клітину шляхом злиття суперкапсидної оболонки з плазмолемою. Крім того, глікопротеїни є *основними антигенами*, до яких утворюються вірусонейтралізуювальні антитіла.

У деяких складно організованих вірусів на внутрішній поверхні суперкапсидної оболонки міститься проміжний структурний шар, сформований *матриксним*, або *мембранним, протеїном (М-протеїн)*. Це гідрофобний протеїн, який стабілізує структуру віріона та є медіатором складання віріонів потомства, опосередковуючи взаємодію суперкапсидних і капсидних протеїнів.

Неструктурні вірусні протеїни вивчені значно менше, ніж структурні, у зв'язку з великими труднощами їхнього очищення і диференціації від компонентів клітини-хазяїна. До них належать, зокрема, ензими синтезу вірусних нуклеїнових кислот (ДНК- і РНК-полімерази), регулятори експресії вірусного генома, ензими модифікації вірусних протеїнів (протеїнази і протеїнкінази), інгібітори біосинтезу та індуктори руйнування клітин.

2.2.3. Ліпіди

Ліпіди знаходяться в складі суперкапсидної оболонки складно організованих вірусів. Вони формують подвійний ліпідний шар суперкапсиду, який пронизаний вірусними глікопротеїнами. Вміст ліпідів у різних вірусів коливається в широких межах. Так, у складно організованих РНК-вмісних вірусів ліпіди становлять 15–35% маси віріона. У складно організованих ДНК-вмісних вірусів вміст ліпідів варіює від 4% (вірус вісповакцини) до 22% (альфагерпесвіруси людини 1 і 2). Приблизно 50–60% ліпідів представлено фосфоліпідами, а 20–30% – холестерином.

Вірусні ліпіди, як правило, мають клітинне походження, за винятком поксвірусів. У більшості РНК-вмісних вірусів ліпіди включаються в склад віріонів на пізніх стадіях репродукції, коли віріони потомства формуються і виходять із клітини брунькуванням через плазматичну мембрану. При цьому сформовані нуклеокапсиди або серцевини, проходячи через плазмолему, огортаються нею і набувають таким чином зовнішньої оболонки. Отже, суперкапсидна оболонка більшості РНК-вмісних вірусів утворюється з плазмолемі, з якої клітинні протеїни витіснені вірусними глікопротеїнами. Тому ліпідний склад вірусів близький до вмісту ліпідів клітинної плазматичної мембрани.

Деякі РНК-вмісні віруси (перібун'я-, ганта-, найро-, фенуї-, корона-, артері- та флавівіруси) брунькуються через мембрани ендоплазматичної сітки і комплексу Гольджі, тому в їхньому складі виявляють ліпіди цих мембран.

Зі складно організованих ДНК-вмісних вірусів ліпіди клітинної плазматичної мембрани містять асфар- та іридовіруси, яким властиве брунькування через плазмолему. Для герпесвірусів характерне брунькування через ядерну мембрану, тому в їхньому складі містяться ліпіди ядерної оболонки. Аллогерпесвіруси брунькуються через ядерну мембрану й остаточно – через мембрани комплексу Гольджі. Гепаднавіруси містять ліпіди мембран ендоплазматичної сітки, через які відбувається брунькування віріонів потомства. У поксвірусів ліпіди вірусоспецифічні: синтезуються в цитоплазмі заражених клітин.

У зв'язку з клітинним походженням загальний склад ліпідів та їхніх окремих компонентів у одного і того ж самого вірусу може істотно відрізнятись залежно від клітини-хазяїна, де відбувається його репродукція. І навпаки, якщо різні віруси репродукуються в однакових клітинах, ліпідний склад їх дуже подібний.

Ліпіди мають важливе значення для вірусів. Вони стабілізують структуру віріонів, забезпечують взаємодію глікопротеїнів у складі суперкапсиду, ізолюють внутрішні компоненти віріонів (нуклеокапсида або серцевини) від гідрофільних речовин навколишнього середовища.

2.2.4. Вуглеводи

Вуглеводи знаходяться в складі глікопротеїнів суперкапсиду складно організованих вірусів. Це короткі олігосахариди, що складаються зазвичай із 2–4 залишків, прикріплених до певних амінокислот поліпептиду за допомогою клітинних ензимів. Вміст вуглеводів досягає 10–13% маси віріона. У складі глікопротеїнів виявляють такі цукрові залишки, як фруктоза, сахароза, маноза, галактоза, нейрамінова кислота і глюкозамін. Хімічна специфічність вуглеводного компонента вірусів повністю визначається ензимами клітини-хазяїна.

Вуглеводи відіграють важливу роль у структурі та функції вірусних протеїнів. Вони є каркасом для локальних ділянок глікопротеїнів, забезпечуючи таким чином збереження конформації протеїнових молекул, а також зумовлюють їхній захист від протеолітичних ензимів і мають вплив на антигенні властивості.

2.2.5. Компоненти клітини-хазяїна

Крім клітинних ліпідів і вуглеводів, які є обов'язковою складовою частиною суперкапсидної оболонки вірусів, у структурі віріонів виявляють інші компоненти клітини-хазяїна. Вони можуть включатися до складу віріонів потімства випадково, проте частіше – закономірно, виконуючи певні функції.

У суперкапсидній оболонці вірусів нерідко знаходяться *клітинні протеїни*, які маскують поверхневі вірусні антигени, що призводить до зниження імунної відповіді та перехресних імунологічних реакцій.

Деякі складно організовані віруси містять протеїн цитоскелету *актин* і клітинні ензими (наприклад, *протеїнкінази*). Надспіралізована ДНК папілома- і поліомавірусів асоціюється з клітинними *гістонами*, утворюючи міні-хромосому. У вірусу імунодефіциту людини 1 (ВІЛ-1) клітинний протеїн циклофілін А становить понад 30% усіх вірусних протеїнів. Формування віріонів потімства ВІЛ-1 за відсутності циклофіліну А призводить до появи неінфекційних вірусних часток. До складу ретровірусів входить одна з клітинних *mРНК*, яка специфічна для конкретного виду вірусу і відіграє важливу роль в експресії вірусного генома.

Аренавіруси завжди містять клітинні *рибосоми*, які надають віріонам зернистої (піщаної) структури. Звідси походить назва вірусів: від лат. *arena*, *arenosus* – пісок, піщаний. Рибосоми не відіграють жодної ролі в розмноженні аренавірусів. Вони включаються до складу віріонів на кінцевих стадіях репродукції, очевидно, в результаті їхнього значного скупчення в місцях формування вірусного потомства і плеоморфізму віріонів.

2.3. Стійкість вірусів у навколишньому середовищі

Віруси різних таксономічних груп мають неоднакову резистентність до дії фізико-хімічних факторів довкілля. Якщо говорити в дуже загальних рисах, найменш стійкими є складно організовані віруси (із суперкапсидною оболонкою). Вони чутливі до ефіру, хлороформу, детергентів, кислого рН (наприклад, ортоміксо-, параміксо-, флаві-, корона- і герпесвіруси). Просто організовані віруси з ікосаедральним типом симетрії стійкі до зазначених факторів (наприклад, адено-, парво- і реовіруси).

Згубний вплив на віруси, незалежно від складності їхньої організації, має *висока температура*. Чим вона вища, тим швидше

віруси втрачають інфекційні властивості, і навпаки. Так, *песті-вірус С* (збудник класичної чуми свиней) у сироватці крові хворих тварин за 37 °С інактивується через 18–20 діб, за 56 °С – за 1 год, за кип'ятіння – моментально, а за 2...4 °С не втрачає активності впродовж 4–6 міс. В охолоджених м'ясних продуктах вірус зберігається 2–4 міс., у заморожених – кілька років, у солонині – 10 міс., у копченостях – 3 міс. *Вірус африканської чуми свиней* залишається життєздатним у холодильнику за –30...–60 °С 6–10 років, за 5 °С – 5–7 років, у м'ясі й копченостях – 5–6 міс., за кімнатної температури – 18 міс., за 37 °С – 10–30 діб, за 60 °С – 20–30 хв. *Альфагерпесвірус свиней 1* (збудник хвороби Ауескі) зберігає інфекційну активність за 1...4 °С від 130 діб до 4 років, за 60 °С інактивується упродовж 45–50 хв, за 80 °С – 3 хв. *Вірус ящуру* в молоці інактивується за 65 °С протягом 30 хв, за 70 °С – 15 хв, за 80...100 °С – кілька секунд, а за –40...–70 °С зберігається кілька років.

Проте є віруси, дуже стійкі до дії високих температур. Наприклад, *вірус гепатиту В* у сироватці крові хворих зберігає інфекційну активність за 30...32 °С упродовж 6 міс., за 60 °С – 10 год, за 98 °С – 20 хв, за 100 °С – 10 хв, а за –20 °С – 15 років. Обробка сухим жаром за 160 °С інактивує цей вірус упродовж 1 год. Високою термостійкістю характеризуються *пріони*. Збудники куру і скрепі зберігають інфекційність після 30-хвилинного кип'ятіння. Збудник скрепі не інактивується повністю після автоклавування за 134 °С упродовж 1 год, а збудник губчастої енцефалопатії ВРХ – за 134...138 °С упродовж 18 хв.

Стійкість вірусів до *ультрафіолетового випромінювання, йонізуючої радіації та дезінфікувальних речовин* залежить від багатьох факторів, зокрема щільності упакування нуклеїнової кислоти в капсид, розмірів генома, наявності зовнішньої ліпопротеїнової оболонки. Висока резистентність до *дезінфектантів* властива *вірусу африканської чуми свиней*. Хлоромісні препарати (5%-й розчин хлораміну, натрію й кальцію гіпохлорити, хлорне вапно з 1–2% активного хлору) інактивують збудник за 4 год, а 2%-й розчин їдкого натру – за 24 год. За *класичної чуми свиней* найбільш ефективними дезінфікувальними засобами є розчини їдкого натру (2–3%-й), формальдегіду (2,5%-й) і водна суспензія хлорного вапна (15–20%-ва), які вбивають збудник упродовж 1 год. Резистентним до хімічних речовин є *вірус ящуру*. Широко використовувані у ветеринарній практиці розчини хлорного вапна, фенолу, креоліну, крезолу інактивують його за кілька годин.

Кращі дезінфікувальні засоби за ящуру – розчини формальдегіду (2%-й) та їдкого натру (1–2%-й), які інактивують вірус за 10–30 хв.

У різних *об'єктах довкілля* віруси можуть тривалий час залишатися життєздатними. Наприклад, *альфагерпесвірус свиней 1* у сні, зерні, воді, гною й підстилці зберігається в осінньо-зимовий період 21–60 діб, навесні – 35 діб, улітку – 20 діб, у гниючих трупах – до 4 тижнів, у висохлих трупах гризунів – до 6 міс. За біотермічного знезараження гною вірус інактивується впродовж 8–15 діб. Прямі сонячні промені вбивають вірус упродовж 6 год, розсіяні – за 12–48 год, ультрафіолетові промені – за 1 хв. Висока стійкість властива *вірусу африканської чуми свиней*. В інфікованих свинарниках він зберігається 3 міс., у ґрунті – 4–6 міс., у трупах – 2,5 міс., у калі за 4...8 °С – 5 міс., у сечі – 2 міс., в озерній воді – 6 міс., у холодильнику за –30...–60 °С – 6–10 років. *Пестівірус С* нестійкий у навколишньому середовищі. У трупах і гною він гине через 3–5 діб, у ґрунті – через 1–2 тижні. *Вірус ящуру* високорезистентний до несприятливих факторів довкілля. На шерсті тварин він зберігається 50 діб, на одязі – 100 діб, у приміщеннях – 70 діб. На гірських пасовищах збудник може зберігатися до наступного сезону, в стічних водах у холодну пору виживає до 103 діб, улітку – 21 добу, восени – 49 діб.

Концентрація населення у великих містах, розвиток промисловості та індустріального тваринництва призводять до зростання біологічного забруднення навколишнього середовища. Тим самим створюються умови для виживання й циркуляції вірусів в об'єктах довкілля, що сприяє поширенню вірусних інфекцій серед людей і тварин. У зв'язку з цим важливою є розробка комплексу заходів, спрямованих на обмеження або попередження циркуляції патогенних для людини вірусів у навколишньому середовищі. Розв'язанням цих питань займається *санітарна вірусологія*.

Основне значення в проблемі забруднення об'єктів довкілля мають патогенні для людини кишкові та респіраторні віруси. Поділ вірусів на кишкові й респіраторні є умовним. Він відображає тропізм вірусів, шляхи проникнення їх в організм і виділення в навколишнє середовище.

Кишкові віруси передаються від людини людині переважно фекально-оральним шляхом, накопичуються у високих концентраціях у шлунково-кишковому тракті та виділяються з фекаліями в довкілля. До цієї групи належать: 1) ентеровіруси А, В, С і D та гепатовірус А з родини *Picornaviridae*; 2) ротавіруси А, В і С із родини *Reoviridae*;

3) мастаденовірус людини F із родини *Adenoviridae*; 4) ентеральні штами коронавірусів людини 229E і NL63 з родини *Coronaviridae*; 5) віруси Саппоро і Норволк із родини *Caliciviridae*; 6) мамастровіруси 1, 6, 8 і 9 із родини *Astroviridae*.

Концентрація вірусів у фекаліях може досягати від 10^6 (ентеровіруси) до 10^{11} (ротавіруси) віріонів у 1 г. Забруднення об'єктів довкілля кишковими вірусами (відкриті водойми, підземні джерела водопостачання, питна вода, ґрунт, овочі, фрукти тощо) відбувається переважно через неочищені, недостатньо очищені та незнезаражені господарсько-побутові стічні води. Так, вміст ентеровірусів у них може становити 7000 БУО/л, а іноді й 50 000 БУО/л.

Ентеровіруси завдяки простій організації, жорсткому упаковуванню РНК і протеїну характеризуються високою стійкістю до фізико-хімічних факторів, що зумовлює їхнє тривале виживання в навколишньому середовищі. Строки збереження цих вірусів в об'єктах довкілля значно зростають за зниження температури. Наприклад, *ентеровірус С* (збудник поліомієліту) виживає в річковій і водопровідній воді за 4 °С – 90 діб, за 20 °С – 40 діб, за 37 °С – 10 діб, а в замороженому вигляді (за –20 °С і нижче) – впродовж кількох років. У фекаліях і каналізаційних водах за 0 °С ентеровіруси можуть зберігати інфекційну активність кілька місяців, але інактивуються за 50 °С упродовж 30 хв, за кип'ятіння й автоклавування – через кілька секунд. Проте терморезистентність ентеровірусів підвищується в присутності двовалентних катіонів кальцію й магнію, а також у середовищі з протеїновими і жировими компонентами. Ентеровіруси погано переносять ліофільне висушування, тому цей спосіб консервування непридатний для тривалого зберігання або транспортування вірусовмісних матеріалів. Ентеровірусам характерна стійкість у широкому діапазоні рН – від 2,0 до 11,0. Звичайні дезінфікувальні засоби (фенол, лізол, спирт, поверхнево-активні речовини) малоефективні щодо ентеровірусів. Інактивувальний вплив на них виявляють формальдегід (0,3%-й розчин), вільний залишковий хлор (0,3–0,5 мг/л), ультрафіолетове випромінювання.

Висока стійкість до несприятливих факторів навколишнього середовища властива *гепатовірусу А* (збуднику гепатиту А). Він здатний упродовж кількох тижнів і навіть місяців виживати у воді. Відомі водні спалахи гепатиту А, наприклад, поширення інфекції через сиру колодязну або водопровідну воду. Гепатовірус А термостабільний. Дія температури 60 °С упродовж 10–12 год не призводить до повної його інактивації. Цілковитою втрати інфекційної активності збудника

можна досягти за кип'ятіння впродовж 5 хв, автоклавування (120 °С – 45 хв), дії сухого жару (180 °С – 1 год), ультрафіолетового випромінювання (1,1 Вт – 1 хв), хлоровмісних препаратів (2,0–2,5 мг/л – 15 хв), формаліну (1 : 4000 – 3 доби). Вірус стійкий до ефіру та інших органічних розчинників, рН 3,0. У замороженому стані за –20...–70 °С він залишається життєздатним роками, за 4 °С – кілька місяців.

Резистентними до фізико-хімічних факторів є *ротавіруси А, В і С* – основні збудники гастроентеритів у людей. На різних об'єктах довкілля вони зберігають життєздатність від 10–15 діб до 1 міс., у фекаліях за кімнатної температури – від кількох тижнів до 7 міс. Ротавіруси втрачають свою інфекційну активність під дією рН 2,0 і 12,0, після ультрафіолетового випромінювання впродовж 15 хв, обробки 8%-м формальдегідом – 5 хв, 70%-м етанолом – 30 хв, 2%-м лізолом, 2%-м фенолом і 1%-м H_2O_2 – 1 год.

Стійкими в навколишньому середовищі є *мастаденовіруси людини А, В, С і F*. У воді за 4 °С вони можуть залишатися життєздатними впродовж 2 років і більше. Мастаденовіруси резистентні в межах рН 5,0–9,0, за 56 °С втрачають інфекційну активність упродовж 10–30 хв.

З усіх об'єктів довкілля найважливіше значення в поширенні патогенних для людини вірусів має *вода*, з якої виділені понад 100 видів збудників. Основною причиною забруднення води є фекалії людини, в яких містяться у великих концентраціях кишкові віруси. Висока стійкість кишкових вірусів до фізико-хімічних факторів довкілля зумовлює можливість їхньої тривалої циркуляції у воді, що у свою чергу становить потенційну небезпеку для здоров'я людини. Строки виживання кишкових вірусів у воді коливаються від кількох днів до кількох місяців і навіть років. Це залежить від температури і ступеня забруднення води, наявності супутньої мікрофлори, хімічного складу води, індивідуальної стійкості штамів вірусів.

Важливим фактором поширення кишкових вірусів у навколишньому середовищі є *ґрунт*. У разі використання недостатньо знезаражених господарсько-побутових стічних вод для поливання сільськогосподарських угідь виникає реальна небезпека контамінації ґрунту й овочевих культур кишковими вірусами. Залежно від виду вірусу, характеру ґрунту і кліматичних умов віруси можуть сорбуватися на частках ґрунту або мігрувати на значну глибину, потрапляючи в ґрунтові води. Строки виживання вірусів у ґрунті й осаді стічних вод (так само, як і у воді) залежать від багатьох факторів: тип ґрунту і склад осаду, температура, рН, вологість середовища, ступінь органічного,

мікробного і хімічного забруднення, а також штамові особливості вірусів. Так, *ентеровіруси* зберігають життєздатність у ґрунті за різних умов від 25 до 170 діб. Вживання їх триваліше в супіщаному ґрунті, слаболужному рН середовища й особливо за зниження температури ґрунту. У суглинистому й чорноземному ґрунтах за 18...23 °С і кислих значеннях рН ентеровіруси гинуть швидше. Оптимальними умовами для збереження ентеровірусів у ґрунті є рН 7,5, температура 3...10 °С, вологість 10–11%. Санітарно-вірусологічні дослідження показали, що близько 11% проб ґрунту, який зрошується стічними водами, і понад 70% проб осаду стічних вод містять ентеровіруси.

Респіраторні віруси передаються повітряно-крапельним шляхом і спричинюють у людей захворювання, відомі під назвою «гострі респіраторні вірусні інфекції» (ГРВІ). До них належать грип, парогрип, респіраторно-синцитіальна, аденовірусна, риновірусна, коронавірусна та ентеровірусна респіраторна інфекції. Із респіраторних патогенів слід особливо виділити небезпечні представники родини *Coronaviridae*. Гострий респіраторний дистрес-синдром (легеневу недостатність із ризиком смерті) викликають три коронавіруси – збудники респіраторного синдрому Близького Сходу (MERS-CoV), тяжкого гострого респіраторного синдрому (SARS-CoV) і тяжкого гострого респіраторного синдрому 2 (SARS-CoV-2), останній з яких спричинив пандемію COVID-19 2020 р.

Основним джерелом забруднення **повітря** респіраторними вірусами є хворі люди або латентні вірусоносії. За кашлю, чхання чи розмови віруси потрапляють у повітря з краплями слини, слизу або мокротинням, де утворюється дисперсна частина – *аерозоль*. Розрізняють три фази аерозолі. Перша фаза аерозолі – *краплинна*. Великі краплі аерозолі (50–2000 мкм) швидко осідають на поверхню предметів довкілля, інфікуючи пил, а легші (менше 50 мкм) – певний час перебувають у суспендованому стані. За умов низької вологості й високої температури вони швидко висихають та утворюють другу фазу аерозолі – *фазу висохлих крапель* (або *крапельних ядерців*). Ці висохлі краплі здатні тривалий час залишатися в завислому стані й переноситися повітряними потоками на значні віддалі або осідають на підлогу, поверхню предметів у приміщенні, інфікуючи пил. Третя фаза аерозолі – *пилова*. Якщо приміщення не прибирати, частки пилу з вірусами циркулюють у повітрі та в разі вдихання можуть спричинити зараження людини.

Отже, всі три фази аерозолі становлять потенційну епідеміологічну небезпеку для сприйнятливою людського організму,

незважаючи на невисоку стійкість респіраторних вірусів у довкіллі. Найменшу стійкість у повітрі проявляють ортопневмовірус та респіровіруси людини 1 і 3 (1–2 год). Дещо стійкішими є віруси грипу А і В та найбільш стійкі – ентеровірус В і мастаденовіруси людини А, В і С (4–6 год). У закритих приміщеннях зараження сприйнятливих осіб малостійкими вірусами здійснюється в основному за рахунок крапельної фази аерозолі. Більш стійкі віруси (мастаденовіруси, ентеровірус В) проникають також у вигляді пилової фази аерозолі. Атмосферне повітря може слугувати фактором передавання деяких збудників, наприклад ентеровірусів, у місцях дощування землеробних полів стічними водами або вірусу ящуру в період епізоотії на тваринницьких фермах. Віруси можуть переноситися з потоком повітря на значні віддалі (десятки кілометрів від вогнища інфекції), що залежить від швидкості вітру. Дощова погода, навпаки, обмежує поширення вірусів.

Істотний вплив на вживання вірусів у повітрі мають *температура* і *відносна вологість*. Підвищення температури, як правило, призводить до швидкої інактивації вірусів. Так, за 7 °С віруси грипу А і В, ентеровірус С, віруси вісповакцини і венесуельського енцефаломієліту коней виживають у повітрі понад 23 год, тоді як за 32 °С – 1 год. Вплив відносної вологості на вживання вірусів у повітрі залежить від їхніх біологічних властивостей, зокрема наявності зовнішньої ліпопротеїнової оболонки. Так, віруси грипу А і В, ортопневмовірус людини, респіровіруси людини 1 і 3, віруси вісповакцини і венесуельського енцефаломієліту коней найбільш стійкі за низьких показників відносної вологості (менше 30%) та швидко інактивуються в разі вологості 50–70%. А ентеровіруси В і С та мастаденовіруси людини А, В і С, навпаки, більш стійкі в повітрі за високих показників відносної вологості та скоріше інактивуються в разі їхнього зниження. Середня вологість повітря згубно діє на збудників кору, везикулярного стоматиту, саркоми Рауса, віспи голубів.

Предмети побуту можуть бути фактором передавання збудників респіраторних інфекцій людини внаслідок осідання на різні поверхні всіх трьох фаз аерозолі з повітря, а також кишкових вірусів. Наприклад, на склі та посуді віруси грипу А і В зберігають інфекційність 10 діб, мастаденовіруси людини А, В, С і F та ентеровіруси А, В, С і D – 3–4 тижні. На поверхнях, лінолеумі, тканинах ортопневмовірус та респіровіруси людини 1 і 3 виживають від кількох хвилин до кількох годин, віруси грипу А і В – 1–3 доби, а мастаденовіруси людини А, В, С і F – до тижня.

Значну роль у поширенні вірусних інфекцій відіграють *харчові продукти*. Контамінація їх вірусами може відбуватися ендогенно (за життя тварини) або екзогенно (у процесі заготівлення, під час транспортування, переробки і зберігання). За екзогенної контамінації віруси потрапляють у харчові продукти від хворих людей і тварин, вірусоносіїв або з об'єктів довкілля (вода, ґрунт). Харчові продукти можуть контаминуватися під час приготування їжі (салати, холодні закуски тощо), за вирощування овочів.

Описані епідемічні спалахи кліщового енцефаліту (так звана молочна пропасниця) внаслідок споживання молока інфікованих кіз. У країнах Західної Європи, США, Японії зареєстровано епідемічні спалахи гепатиту А за споживання устриць, що як біологічні фільтри здатні концентрувати в собі різні віруси. Виявлення ентеро-, рео-, адено- і герпесвірусів в устрицях, мідіях і креветках зумовлено забрудненням вірусами водойм. У літній період в організмі устриць строк виживання ентеровірусів становить тиждень, а взимку досягає 2 міс. Експериментально доведено, що устриці здатні концентрувати ентеровірус С навіть за незначного вмісту його у воді й бути фактором передавання цього збудника. Особливу епідемічну небезпеку представляють ті моллюски, які використовуються в їжу в сирому або недостатньо термічно обробленому вигляді.

Завдяки високій стійкості до фізико-хімічних факторів довкілля *ентеровіруси* можуть тривалий час зберігатися в молочних і м'ясних продуктах, на хлібі, овочах, у моллюсках тощо. Наприклад, ентеровіруси В і С зберігають інфекційну активність у молоці впродовж 10–15 діб, стерилізованому молоці – до 1 року, морозиві – 4–5 міс., бринзі – до 3 міс., м'ясному фарші за 2 °С – до 6 міс., на хлібі – від 3–4 до 15 діб. Молоко і молочні продукти відіграють значну роль у поширенні таких вірусних інфекцій, як гепатит А, поліомієліт, кліщовий енцефаліт, ящур. Ентеровірус С витримує тушкування, прожарювання, запікання і пропарювання устриць. Кип'ятіння крабів упродовж 8 хв інактивує ентеровіруси В і С, ротавіруси А, В і С.

Строки виживання ентеровірусів на *овочевих культурах* залежать від виду рослин, умов вегетації та штаму вірусу. У стеблинах рослин віруси зберігають інфекційну активність до 12–13 діб, на поверхні рослин – до 16 діб. Висока вологість і низька температура сприяють тривалішому збереженню вірусів на овочах. Так, за 6...10 °С на поверхні редису, томатів, салатів, огірків ентеровіруси можуть виживати понад 2 міс. Найшвидше інактивуються віруси на листях капусти (3–4 доби), що пояснюється її фітонцидною активністю.

Контрольні запитання

1. Охарактеризуйте фізичну структуру вірусів.
2. Які ви знаєте типи симетрії капсидів вірусів і чим вони зумовлені?
3. Охарактеризуйте нуклеїнові кислоти вірусів, їхні функції та структурні особливості.
4. Дайте характеристику вірусним протеїнам та їхнім функціям.
5. Яку роль відіграють ліпіди і вуглеводи в складі вірусів та їхнє походження?
6. Які компоненти клітини-хазяїна бувають у складі вірусів та їхні функції?
7. Розкажіть про стійкість вірусів до дії фізико-хімічних факторів навколишнього середовища.

Розділ 3

ТАКСОНОМІЯ ТА НОМЕНКЛАТУРА ВІРУСІВ

3.1. Основи класифікації вірусів

Відкриття вірусів ґрунтувалося на вимірі їхньої єдиної фізико-хімічної характеристики – фільтрівності. Це був один з основних критеріїв (поряд з абсолютним внутрішньоклітинним паразитизмом), що відділяв віруси від бактерій. Тому перші спроби класифікації вірусів наприкінці 1940-х рр. ґрунтувалися на схожості патогенних властивостей, органотропності, спільності екологічного статусу. У 1950-х рр. зроблено перші спроби розділити віруси на групи з латинізованими назвами на основі їхніх фізико-хімічних властивостей. У той час було відкрито багато нових вірусів тварин і людини та створено різні класифікаційні схеми, часто взаємовиключні.

Для виправлення ситуації в 1966 р. у Москві на IX Міжнародному мікробіологічному конгресі організували Міжнародний комітет із таксономії вірусів (МКТВ). Він прийняв за основу фізико-хімічні критерії, запропоновані французькими науковцями А. Львовом та ін. у 1962 р., але вирішив створювати класифікацію вірусів поступово в міру накопичення достатньої інформації. У період 1966–1970 рр. сформовано роди вірусів. Наступний період 1971–1975 рр. характеризувався створенням родин і підродин та розробкою більш детальних критеріїв для таксономічних рангів. Починаючи з 1990 р., окремі родини вірусів об'єднано в порядки, а у 2018–2019 рр. для РНК- і ДНК-геномних вірусів створено нові таксони: регіони, царства, типи, підтипи, класи, підпорядки, підроди.

Віруси належать до домену *Viruses*. Сучасна класифікація вірусів є універсальною для вірусів хребетних, безхребетних, рослин, грибів, найпростіших, бактерій та архей. Вона ґрунтується на фундаментальних властивостях вірусів, з яких провідними є ознаки, що характеризують нуклеїнову кислоту, механізм реплікації та структуру віріона.

В основу сучасної класифікації вірусів покладено такі *основні критерії*: 1) тип нуклеїнової кислоти (ДНК або РНК), її структура (кількість ниток, конформація, фрагментованість, полярність); 2) наявність зовнішньої ліпопротеїнової оболонки; 3) тип симетрії капсиду, кількість капсомерів; 4) розміри і структурні особливості віріона; 5) стратегія вірусного генома (механізм реплікації); 6) форми генетичних взаємодій; 7) антигенні властивості; 8) спектр сприйнятливих хазяїв; 9) патогенність, у тому числі цитопатичні зміни в клітинах; 10) механізм передавання; 11) географічне поширення.

На основі перелічених ознак віруси поділяються на такі таксономічні ранги (або категорії), як *регіони, царства, типи, підтипи, класи, порядки, підпорядки, родини, підродини, роди, підроди і види*. Формування родин проводиться за критеріями, викладеними в пунктах 1–5. Поділ на підродини, роди і види ґрунтується на основі решти ознак. Порядки об'єднують родини вірусів зі схожою організацією генома та єдиним механізмом реплікації.

Для впорядкування найменувань як таксономічних рангів, так і окремих видів вірусів, МКТВ виробив певні правила. Номенклатура має бути міжнародною та універсальною для всіх вірусів. Назва регіону закінчується на «*viria*», царства – «*virae*», типу – «*viricota*», підтипу – «*viricotina*», класу – «*viricetes*», порядку – «*virales*», підпорядку – «*virineae*», родини – «*viridae*», підродини – «*virinae*», роду і підроду – «*virus*».

У видових назвах вірусів не було єдиного принципу. Спроби дати їм біномінальні латинізовані назви зустріли великі труднощі, оскільки раніше існуючі найменування міцно вкоренилися. Вірусам присвоювали назви хвороб (віруси поліомієліту, віспи, сказу, ящуру), імена дослідників (віруси саркоми Рауса, фіброми Шоупа, хвороби Марека), географічні найменування (віруси лісу Семліки, Західного Нілу, Ебола, Марбург), буквені скорочення (ЕCHO – enteric cytopathogenic human orphan, REO – respiratory enteric orphan), цифри (SV40 – Simian virus 40). Зараз МКТВ запроваджує біномінальну номенклатуру, тобто найменування вірусів мають складатися з родової та видової назви, як і для всіх інших форм життя.

Нині відомо понад 4400 видів вірусів хребетних, безхребетних, рослин, грибів, найпростіших, бактерій та архей.

Згідно з інформацією МКТВ 2021 р. віруси хребетних (2069 видів) входять до 4 регіонів, 5 царств, 10 типів, 2 підтипів, 19 класів, 26 порядків, 3 підпорядків, 45 родин (з яких 15 – ДНК-геномні та 30 – РНК-геномні), 35 підродин, 382 родів і 47 підродів.

Окремі родини, крім вірусів хребетних, містять віруси безхребетних і рослин, зокрема:

- родини *Poxviridae*, *Iridoviridae*, *Parvoviridae*, *Circoviridae*, *Anelloviridae*, *Smacoviridae*, *Genomoviridae*, *Rhabdoviridae*, *Nyamiviridae*, *Peribunyaviridae*, *Phenuiviridae*, *Nairoviridae*, *Nodaviridae*, *Reoviridae* і *Birnaviridae* – віруси членистоногих;
- родини *Genomoviridae*, *Rhabdoviridae*, *Phenuiviridae* і *Reoviridae* – віруси рослин;
- родина *Nyamiviridae* – віруси соєвих нематод, цестод, сипункулідів і голкошкірих;
- родини *Rhabdoviridae* і *Tobnaviridae* – віруси нематод;
- родина *Reoviridae* – реовірус китайських мохнаторуких крабів;
- родина *Birnaviridae* – віруси двостулкових моллюсків і коловерток.

Родина ДНК-геномних *Anelloviridae* (31 рід, 152 види) не входить до жодного регіону, як і не класифікований РНК-геномний рід *Deltavirus* (1 вид). Родина *Birnaviridae* не класифікована в межах царства *Orthornavirae*. Родина ДНК-геномних *Hepadnaviridae* включена до регіону *Riboviria* на підставі того, що реплікація гепаднавірусів відбувається через стадію РНК за принципом зворотної транскрипції, як і в ретровірусів.

Таксономічні ранги вірусів людини і тварин наведено в табл. 1 (стор. 62–63) і табл. 2 (стор. 63–65), а таксономічні ознаки родин – на рис. 6 і 7 (стор. 66) та в табл. 3 (стор. 67) і табл. 4 (стор. 68–69) (за інформацією МКТВ випуску 10.2020 р., ратифікація 03.2021 р.).

Таблиця 1

Таксономічні ранги ДНК-геномних вірусів тварин і людини

Типи	Класи	Порядки	Родини, кількість підродин, родів і видів
1	2	3	4
Домен <i>Viruses</i>			
Регіон <i>Duplodnaviria</i>			
Царство <i>Heunggongvirae</i>			
<i>Peploviricota</i>	<i>Herviviricetes</i>	<i>Herpesvirales</i>	<i>Herpesviridae</i> 3 підродини, 17 родів, 117 видів
			<i>Alloherpesviridae</i> 4 родини, 13 видів

Таблиця 1 (закінчення)

1	2	3	4
Регіон <i>Varidnaviria</i>			
Царство <i>Bamfordvira</i>			
<i>Nucleocytoviricota</i>	<i>Megaviricetes</i>	<i>Pimascovirales</i>	<i>Iridoviridae</i> 1 підродина, 3 родини, 13 видів
	<i>Pokkesviricetes</i>	<i>Asfuvirales</i>	<i>Asfarviridae</i> 1 рід, 1 вид
		<i>Chitovirales</i>	<i>Poxviridae</i> 1 підродина, 18 родів, 52 види
<i>Preplasmiviricota</i>	<i>Tectiliviricetes</i>	<i>Rowavirales</i>	<i>Adenoviridae</i> 6 родів, 86 видів
Регіон <i>Monodnaviria</i>			
Царство <i>Shotokuvirae</i>			
<i>Cossaviricota</i>	<i>Papovaviricetes</i>	<i>Zurhausenvirales</i>	<i>Papillomaviridae</i> 2 підродини, 53 родини, 133 види
		<i>Sepolyvirales</i>	<i>Polyomaviridae</i> 6 родів, 117 видів
	<i>Quintoviricetes</i>	<i>Piccovirales</i>	<i>Parvoviridae</i> 1 підродина, 10 родів, 84 види
<i>Cressdnaviricota</i>	<i>Arfiviricetes</i>	<i>Cirlivirales</i>	<i>Circoviridae</i> 2 родини, 88 видів
		<i>Cremevirales</i>	<i>Smacoviridae</i> 11 родів, 82 види
		<i>Recrevirales</i>	<i>Redondoviridae</i> 1 рід, 2 види
	<i>Repensiviricetes</i>	<i>Geplafuvirales</i>	<i>Genomoviridae</i> 8 родів, 119 видів

Таблиця 2

Таксономічні ранги РНК-геномних вірусів тварин і людини

Типи, підтипи	Класи	Порядки, підпорядки	Родини, кількість підродин, родів, підродів і видів
1	2	3	4
Домен <i>Viruses</i>			
Регіон <i>Riboviria</i>			
Царство <i>Orthornavirae</i>			
<i>Duplornaviricota</i>	<i>Resentoviricetes</i>	<i>Reovirales</i>	<i>Reoviridae</i> 2 підродини, 6 родів, 55 видів

Таблиця 2 (продовження)

1	2	3	4
<i>Kitrinoviricota</i>	<i>Alsuviricetes</i>	<i>Hepelivirales</i>	<i>Hepeviridae</i> 2 роди, 5 видів
			<i>Matonaviridae</i> 1 рід, 3 види
	<i>Flasuviricetes</i>	<i>Martellivirales</i>	<i>Togaviridae</i> 1 рід, 27 видів
			<i>Flaviviridae</i> 4 роди, 87 видів
<i>Magsaviricetes</i>	<i>Nodamuvirales</i>	<i>Nodaviridae</i> 2 роди, 5 видів	
<i>Negarnaviricota</i> Підтип <i>Haploviricotina</i>	<i>Monjiviricetes</i>	<i>Mononegavirales</i>	<i>Paramyxoviridae</i> 4 підродини, 17 родів, 78 видів
			<i>Pneumoviridae</i> 2 роди, 5 видів
			<i>Rhabdoviridae</i> 2 підродини, 13 родів, 103 види
			<i>Filoviridae</i> 6 родів, 11 видів
			<i>Bornaviridae</i> 3 роди, 11 видів
			<i>Nyamiviridae</i> 1 рід, 4 види
			<i>Sunviridae</i> 1 рід, 1 вид
<i>Negarnaviricota</i> Підтип <i>Polyploviricotina</i>	<i>Ellioviricetes</i>	<i>Bunyavirales</i>	<i>Arenaviridae</i> 4 роди, 54 види
			<i>Peribunyaviridae</i> 2 роди, 78 видів
			<i>Hantaviridae</i> 4 підродини, 7 родів, 53 види
			<i>Nairoviridae</i> 1 рід, 18 видів
	<i>Insthoviricetes</i>	<i>Articulavirales</i>	<i>Phenuiviridae</i> 3 роди, 31 вид
<i>Orthomyxoviridae</i> 7 родів, 9 видів			
			<i>Amnoonviridae</i> 1 рід, 1 вид

Таблиця 2 (закінчення)

1	2	3	4
<i>Pisuviricota</i>	<i>Duplopiviricetes</i>	<i>Durnavirales</i>	<i>Picobirnaviridae</i> 1 рід, 3 види
	<i>Pisoniviricetes</i>	<i>Nidovirales</i> підпорядок <i>Arnidovirineae</i>	<i>Arteriviridae</i> 6 підродин, 13 родів, 11 підродів, 23 види
			<i>Olifoviridae</i> 1 підродина, 1 рід, 1 вид
		підпорядок <i>Cornidovirineae</i>	<i>Coronaviridae</i> 2 підродини, 5 родів, 26 підродів, 46 видів
	<i>Stelpaviricetes</i>	<i>Picornavirales</i>	<i>Tobaniviridae</i> 4 підродини, 6 родів, 10 підродів, 13 видів
			<i>Picornaviridae</i> 68 родів, 158 видів
		<i>Stellavirales</i>	<i>Caliciviridae</i> 11 родів, 13 видів
–	–	–	<i>Astroviridae</i> 2 роди, 22 види
			<i>Birnaviridae</i> 3 роди, 5 видів
Царство <i>Pararnavirae</i>			
<i>Artverviricota</i>	<i>Revtraviricetes</i>	<i>Blubervirales</i>	<i>Hepadnaviridae</i> 5 родів, 18 видів
		<i>Ortervirales</i>	<i>Retroviridae</i> 2 підродини, 11 родів, 68 видів

3.2. Основні таксономічні ознаки родин вірусів тварин і людини

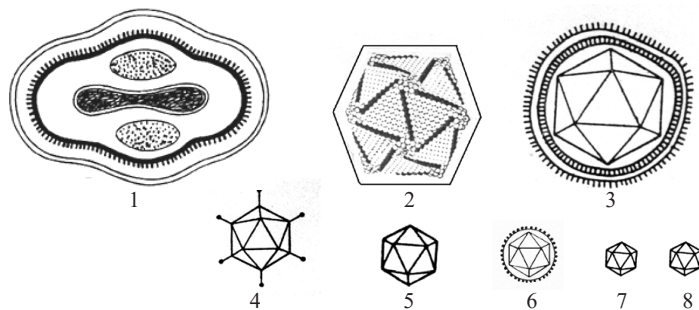


Рис. 6. Структура ДНК-геномних вірусів:

1 – поксвіруси; 2 – асфарвіруси, іридовіруси; 3 – герпесвіруси, аллогерпесвіруси; 4 – аденовіруси; 5 – папіломавіруси, поліомавіруси; 6 – гепаднавіруси; 7 – парвовіруси; 8 – цирковіруси, анелловіруси, смаковіруси, геномовіруси, редондовіруси

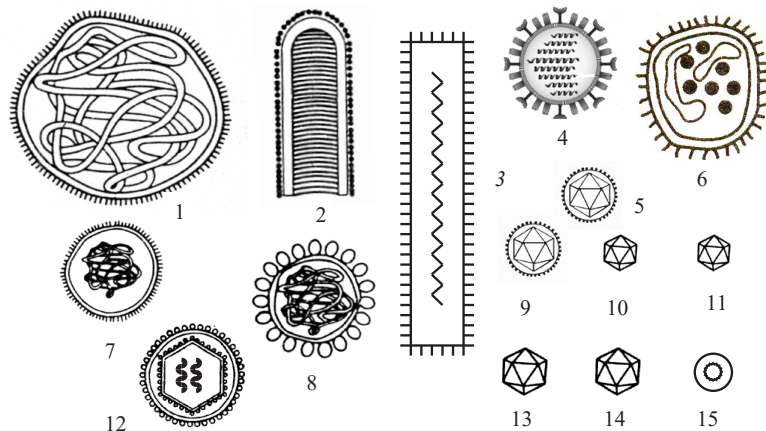


Рис. 7. Структура РНК-геномних вірусів:

1 – параміксовіруси, пневмовіруси, борнавіруси, н'ямівіруси, сунвіруси; 2 – рабдовіруси; 3 – філовіруси; 4 – ортоміксовіруси; 5 – амноонвіруси; 6 – аренавіруси; 7 – перібун'явіруси, гантавіруси, найрвіруси, фенуївіруси; 8 – коронавіруси, тобанвіруси; 9 – артерівіруси, тогавіруси, флавівіруси, матонавіруси, оліфовіруси; 10 – пікорнавіруси, каліцівіруси, астровіруси, гепевіруси; 11 – нодавіруси; 12 – ретровіруси; 13 – реовіруси; 14 – бірнавіруси, пікобірнавіруси; 15 – дельтавірус

Таблиця 3
Основні таксономічні ознаки ДНК-геномних вірусів тварин і людини

Родина	ДНК		Форма віріона	Розміри віріона (нм)	Зовнішня ліпопротеїнова оболонка	Тип симетрії капсиду
	структура	полярність				
<i>Poxviridae</i> (поксвіруси)	2л (л)		Цеглино-подібна, овоїдна	300–450 × 170–260	Є	–
<i>Asfarviridae</i> (асфарвіруси)	2л (л)		Сферична, ікосаедральна	175–215	Є	Ікосаедральний
<i>Iridoviridae</i> (іридовіруси)	2л (л)		Ікосаедральна, сферична	120–200 до 350	Немає, є	Ікосаедральний
<i>Herpesviridae</i> (герпесвіруси)	2л (л)		Сферична	85–300	Є	Ікосаедральний
<i>Alloherpesviridae</i> (аллогерпесвіруси)	2л (л)		Сферична	150–200	Є	Ікосаедральний
<i>Adenoviridae</i> (аденовіруси)	2л (л)		Ікосаедральна	70–90	Немає	Ікосаедральний
<i>Papillomaviridae</i> (папіломавіруси)	2л (к)		Ікосаедральна	55	Немає	Ікосаедральний
<i>Polyomaviridae</i> (поліомавіруси)	2л (к)		Ікосаедральна	40–45	Немає	Ікосаедральний
<i>Hepadnaviridae</i> (гепаднавіруси)	2л (к)		Сферична	42–47	Є	Ікосаедральний
<i>Parvoviridae</i> (парвовіруси)	1л (л)	– i +	Ікосаедральна	18–26	Немає	Ікосаедральний
<i>Circoviridae</i> (цирковіруси)	1л (к)	–	Ікосаедральна	15–25	Немає	Ікосаедральний
<i>Anelloviridae</i> (анелловіруси)	1л (к)	–	Ікосаедральна	30–32	Немає	Ікосаедральний
<i>Smacoviridae</i> (смаковіруси)	1л (к)	–	Ікосаедральна	Н. д.	Немає	Ікосаедральний
<i>Genomoviridae</i> (геномовіруси)	1л (к)	–	Сферична	20	Немає	Ікосаедральний
<i>Redondoviridae</i> (редондовіруси)	1л (к)	–	Ікосаедральна	Н. д.	Немає	Ікосаедральний

Примітка: 1л – одноланцюгова; 2л – дволанцюгова; л – лінійна; к – кільцева; Н. д. – немає даних.

Таблиця 4

Основні таксономічні ознаки РНК-геномних вірусів тварин і людини

Родина	РНК		Форма віріона	Розміри віріона (нм)	Зовнішня ліпопротеїнова оболонка	Тип симетрії капсиду
	структура	полярність				
1	2	3	4	5	6	7
<i>Paramyxoviridae</i> (параміксовіруси)	1л (л)	–	Плеоморфна, сферична	120–350	Є	Спіральний
<i>Pneumoviridae</i> (пневмовіруси)	1л (л)	–	Сферична, ниткоподібна	80–140 250–600 2000 × 70–190	Є	Спіральний
<i>Rhabdoviridae</i> (рабдовіруси)	1л (л)	–	Кулеподібна	130–380 × 60–80	Є	Спіральний
<i>Filoviridae</i> (філовіруси)	1л (л)	–	Плеоморфна, ниткоподібна	790, 970 або 1400 × 80	Є	Спіральний
<i>Bornaviridae</i> (борнавіруси)	1л (л)	–	Сферична	80–100	Є	Спіральний
<i>Nyamiviridae</i> (н'ямівіруси)	1л (л)	–	Сферична	100–130	Є	Спіральний
<i>Sunviridae</i> (сунвіруси)	1л (л)	–	Сферична	Н. д.	Є	Спіральний
<i>Orthomyxoviridae</i> (ортоміксовіруси)	1л (ф)	–	Плеоморфна, сферична	80–120	Є	Спіральний
<i>Amnoonviridae</i> (амноонвіруси)	1л (ф)	–	Сферична	55–100	Є	Ікосаедральний
<i>Arenaviridae</i> (аренавіруси)	1л (фк)	–	Плеоморфна, сферична	50–300	Є	Спіральний
<i>Peribunyaviridae</i> (перібун'явіруси)	1л (фк)	–	Плеоморфна, сферична	80–120	Є	Спіральний
<i>Hantaviridae</i> (гантавіруси)	1л (фк)	–	Сферична	80–120	Є	Спіральний
<i>Nairoviridae</i> (найровіруси)	1л (фк)	–	Сферична	80–120	Є	Спіральний

Таблиця 4 (закінчення)

1	2	3	4	5	6	7
<i>Phenuiviridae</i> (фенуівіруси)	1л (фк)	–	Сферична	80–120	Є	Спіральний
<i>Coronaviridae</i> (коронавіруси)	1л (л)	+	Плеоморфна, сферична	80–220	Є	Спіральний
<i>Tobnaviridae</i> (тобанвіруси)	1л (л)	+	Плеоморфна, сферична	120–140	Є	Спіральний
<i>Arteriviridae</i> (артерівіруси)	1л (л)	+	Сферична	50–74	Є	Ікосаедральний
<i>Togaviridae</i> (тогавіруси)	1л (л)	+	Сферична	65–70	Є	Ікосаедральний
<i>Flaviviridae</i> (флавівіруси)	1л (л)	+	Сферична	40–60	Є	Ікосаедральний
<i>Matonaviridae</i> (матоनावіруси)	1л (л)	+	Сферична	50–70	Є	Ікосаедральний
<i>Olfoviridae</i> (оліфовіруси)	1л (л)	+	Сферична	Н. д.	Є	Ікосаедральний
<i>Picornaviridae</i> (пікорнавіруси)	1л (л)	+	Сферична	20–32	Немає	Ікосаедральний
<i>Caliciviridae</i> (каліцівіруси)	1л (л)	+	Сферична, ікосаедральна	27–40	Немає	Ікосаедральний
<i>Astroviridae</i> (астровіруси)	1л (л)	+	Сферична	28–30	Немає	Ікосаедральний
<i>Hepeviridae</i> (гепевіруси)	1л (л)	+	Сферична	27–34	Немає	Ікосаедральний
<i>Nodaviridae</i> (нодавіруси)	1л (ф)	+	Сферична	25–35	Немає	Ікосаедральний
<i>Retroviridae</i> (ретровіруси)	1л (л)	+	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)	–	Сферична	36–43	Є	–

Примітка: 1л – одноланцюгова; 2л – дволанцюгова; л – лінійна; к – кільцева; ф – фрагментована; Н.д. – немає даних.

3.2.1. Родина *Poxviridae* (поксвіруси)

Родина *Poxviridae* (від англ. rox – пустула, віспина) об'єднує 52 види вірусів хребетних, які входять в одну підродину і 18 родів.

Підродина *Chordopoxvirinae* (18 родів):

1. Рід *Avipoxvirus* (12 видів): віруси віспи птахів, індиків, голубів, перепілок, канарок, горобців, шпаків, папуг, фламінго, пінгвінів, юнко, майн.

2. Рід *Capripoxvirus* (3 види): віруси віспи овець, кіз, нодулярного дерматиту.

3. Рід *Centropoxvirus* (2 види): віруси віспи Йока, мурманських сірих полівок.

4. Рід *Cervidpoxvirus* (1 вид): вірус віспи мулів та оленів.

5. Рід *Crocodylipoxvirus* (1 вид): вірус віспи нільських крокодилів.

6. Рід *Leporipoxvirus* (4 види): вірус міксоми, віруси фіброми кролів, зайців, вивірок.

7. Рід *Macroporopoxvirus* (2 види): віруси віспи гігантських кенгуру, західних сірих кенгуру.

8. Рід *Molluscipoxvirus* (1 вид): вірус контагіозного моллюска.

9. Рід *Mustelpoxvirus* (1 вид): вірус віспи каланів.

10. Рід *Orthopoxvirus* (12 видів): віруси вісповакцини, натуральної віспи, віспи корів, верблюдов, мавп, снотів, скунсів, макак Абатіно, африканських піщанок, полівок, екстремелії, вірус Ахмета.

11. Рід *Oryzopoxvirus* (1 вид): вірус Котія.

12. Рід *Parapoxvirus* (5 видів): віруси орф, псевдовіспи корів, папульозного стоматиту великої рогатої худоби, віруси віспи благородних оленів, сірих тюленів.

13. Рід *Pteropoxvirus* (1 вид): вірус віспи криланів.

14. Рід *Salmonpoxvirus* (1 вид): вірус віспи зябр лососів.

15. Рід *Sciuripoxvirus* (1 вид): вірус віспи вивірок.

16. Рід *Suipoxvirus* (1 вид): вірус віспи свиней.

17. Рід *Vespertilionpoxvirus* (1 вид): вірус віспи кажанів.

18. Рід *Yatapoxvirus* (2 види): віруси пухлин мавп Яба, віспи Тана.

Основні ознаки. Віріони більшості поксвірусів хребетних мають форму цеглини із заокругленими кутами, розміром $(300-450) \times (170-260)$ нм. Виняток становлять представники роду *Parapoxvirus*, віріони яких овоїдної форми, розміром $(220-300) \times (140-170)$ нм.

Структура віріона. На відміну від інших ДНК-вмісних вірусів, поксвірусам не властива ікосаедральна симетрія, будова їх складна (рис. 8, стор. 71). Віріон складається із зовнішньої оболонки

з трубчастими ворсинками, яка має ліпопротеїнову природу і синтезується в цитоплазмі заражених клітин. Зовнішня оболонка оточує серцевину (нуклеоїд) у вигляді двогнутого диска (фігура вісімки). По боках серцевини в місцях угинань розташовані овальні структури – латеральні тільця. Серцевина містить дволанцюгову ДНК завдовжки 130–375 кб, із мол. масою 85–250 МДа, асоційовану з трьома протеїнами. Оболонка серцевини складається з внутрішньої гладкої мембрани і зовнішнього шару з циліндричних субодиноць.

Поксвіруси містять близько 100 структурних протеїнів, у тому числі 15 ензимів, включаючи ДНК-залежну РНК-полімеразу (транскриптазу). *Хімічний склад* (вірусу вісповакцини): ДНК – 3%, протеїни – 90%, ліпіди – 4%, вуглеводи – 3%.

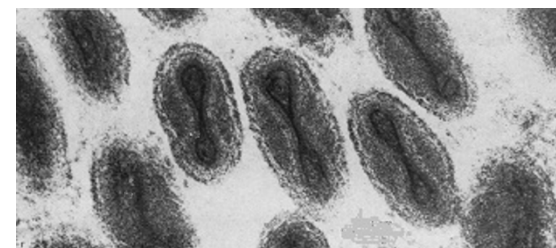


Рис. 8. Вірус контагіозного моллюска

(Биковський А. Ф. та ін., 1983)

Особливості репродукції. Віріони проникають у клітину шляхом злиття зовнішньої оболонки з плазмолемою або рецепторного ендодитозу. У цитоплазмі відбувається транскрипція вірусного генома (за участю вірусної транскриптази), реплікація (за участю синтезованої ДНК-полімерази) і формування віріонів. Зрілі віріони транспортуються до плазмолемі через комплекс Гольджі та виходять із клітини шляхом екзоцитозу або після її лізису. Цикл репродукції триває 6–7 год.

Поксвіруси мають вузький спектр патогенності, за винятком вірусу віспи корів. Патогенними для людини є віруси натуральної віспи, вісповакцини, віспи і псевдовіспи корів, віспи мавп, орф (збудник контагіозної ектими овець і кіз), контагіозного моллюска, пухлин мавп Яба, віспи Тана.

Деякі поксвіруси спричиняють доброякісні пухлини (віруси міксоми, фіброми кролів, контагіозного моллюска). Механізм трансформувальної дії поксвірусів, можливо, зв'язаний із постійним накопиченням у цитоплазмі заражених клітин вірусних компонентів (у тому числі генома) і передача інфікованого стану дочірнім клітинам.

3.2.2. Родина *Asfarviridae* (асфарвіруси)

Назва родини *Asfarviridae* походить від англ. African swine fever and related viruses – африканська чума свиней і споріднені віруси.

Родина *Asfarviridae* представлена одним родом *Asfivirus* з єдиним представником – вірусом африканської чуми свиней.

Основні ознаки. Віріони сферичної форми, діаметром 175–215 нм (рис. 9). *Структура віріона:* 1) зовнішня ліпопротеїнова оболонка; 2) ікосаедральний нуклеокапсид; 3) дволанцюгова ДНК завдовжки 170–190 кб, із мол. масою 100 МДа; 4) понад 50 структурних протеїнів, у тому числі ДНК-залежна РНК-полімераза (транскриптаза).

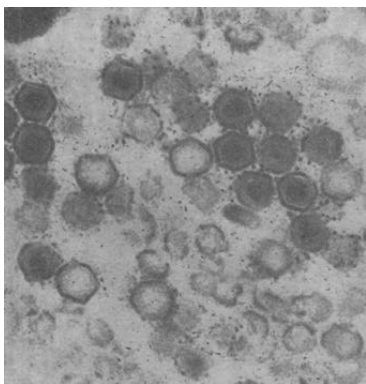


Рис. 9. Вірус африканської чуми свиней

(Феннер Ф. та ін., 1977)

Особливості репродукції. Віріони проникають у клітину шляхом рецепторного ендоситозу. У цитоплазмі відбувається транскрипція вірусного генома (за участю вірусної транскриптази) і реплікація (за участю синтезованої ДНК-полімерази). Складання і вихід віріонів із клітини здійснюється брунькуванням через плазмолему. Цикл репродукції триває 10–12 год.

Вірус АЧС не індукє утворення вірусонейтралізуючих антитіл, що зумовлено особливостями його антигенної структури. Можливо, причиною цього явища є антигенна мімікрія або гетерогенність: блокування протективного вірусного антигену антигенами клітини-хазяїна або гетерогенними антигенами, ідентичними певним тканинним протеїнам хазяїна.

3.2.3. Родина *Iridoviridae* (іридовіруси)

Назва родини *Iridoviridae* походить від дав.-грец. іρίς – райдужний, оскільки осад іридовірусів після центрифугування, а також епітелій інфікованих личинок комах переливаються кольорами веселки.

Родина *Iridoviridae* об'єднує 13 видів вірусів хребетних, які входять в одну підродину і 3 роди.

Підродина *Alphairidovirinae* (3 роди):

1. Рід *Lymphocystivirus* (4 види): віруси лімфоцистозу 1, 2, 3, 4.

2. Рід *Megalocytivirus* (2 види): вірус інфекційного некрозу селезінки і нирок, вірус лускатої хвороби.

3. Рід *Ranavirus* (7 видів): вірус тигрових амбістом, іридовірус водних рептилій, іридовірус сінгапурських групєрів, вірус епізоотичного гематопоетичного некрозу, вірус європейських сомів, ранавірус Санті-Купер, вірус жаб 3, вірус звичайних жаб-повитух, європейський північноатлантичний ранавірус.

Основні ознаки. Віріони ікосаедральної або сферичної форми (залежно від складності організації), діаметром 140–200 нм, але можуть досягати 350 нм (*Lymphocystivirus*) (рис. 10). *Структура віріона:* 1) зовнішня ліпопротеїнова оболонка (буває лише у представників роду *Ranavirus*); 2) ікосаедральний нуклеокапсид; 3) дволанцюгова ДНК завдовжки 102–140 кб, із мол. масою 100–250 МДа; 4) 36 структурних протеїнів, у тому числі ДНК-залежна РНК-полімераза (транскриптаза). *Хімічний склад:* ДНК – 12–16 %, протеїни – 67–83 % ліпіди – 5–17 %, вуглеводів в очищених препаратах не виявлено.

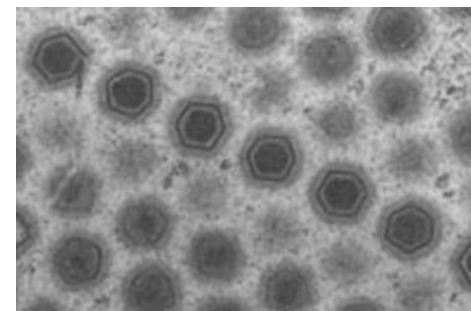


Рис. 10. Вірус лімфоцистозу 1

(Borrego H. J. et al., 2004)

Особливості репродукції. Віріони проникають у клітину шляхом рецепторного ендоситозу. Транскрипція відбувається в ядрі

(за участю клітинної транскриптази), а реплікація – в ядрі та цитоплазмі за участю синтезованої ДНК-полімерази. Складання і вихід віріонів із клітини здійснюється брунькуванням через плазмолему.

Ірідовіруси уражають риб, земноводних і плазунів. Найбільш важливим патогеном є вірус лімфоцистозу 1, який спричинює пухлини на шкірі в понад 90 видів морських і прісноводних риб.

3.2.4. Родина *Herpesviridae* (герпесвіруси)

Назва родини *Herpesviridae* походить від дав.-грец. *έρπηξ* – повзучий, що відображає здатність вірусів спричинювати латентну інфекцію з періодичною активацією та проявом клінічних симптомів.

Родина *Herpesviridae* об'єднує 3 підродини, 17 родів і 117 видів.

I. Підродина *Alphaherpesvirinae* (5 родів):

1. Рід *Itovirus* (2 види): альфагерпесвіруси курячих 1, папуг 1.
2. Рід *Mardivirus* (6 видів): альфагерпесвіруси курячих 2, 3, качиних 1, індичкових 1, голубиних 1, пінгвінових 1.
3. Рід *Scutavirus* (2 види): альфагерпесвіруси морських черепах 5, сухопутних черепах 3.
4. Рід *Simplexvirus* (15 видів): альфагерпесвіруси людини 1, 2, великої рогатої худоби 2, кролів 4, павукоподібних мавп 1, макак 1, 2, 3, церкопитекових мавп 2, білячих мавп 1, павіанів 2, кенгуру 1, 2, шимпанзе 3, криланів 1.
5. Рід *Varicellovirus* (19 видів): альфагерпесвіруси людини 3, великої рогатої худоби 1, 5, кіз 1, коней 1, 3, 4, 8, 9, свиней 1, буйволів 1, оленів 1, 2, 3, собак 1, котів 1, церкопитекових мавп 9, тюленів 1, нарвалів 1.

Некласифікований вірус (1 вид): альфагерпесвірус морських черепах 6.

II. Підродина *Bethaherpesvirinae* (5 родів):

1. Рід *Cytomegalovirus* (11 видів): бетагерпесвіруси людини 5, нічних мавп 1, капуцинових мавп 1, церкопитекових мавп 5, макак 3, 8, шимпанзе 2, 3, 4, саймірі 4, мандрилів 1.
2. Рід *Muromegalovirus* (3 види): бетагерпесвіруси мишей 1, 2, 8.
3. Рід *Proboscivirus* (3 види): бетагерпесвіруси слонів 1, 4, 5.
4. Рід *Quwivirus* (3 види): бетагерпесвіруси мурчаків 1, довгокрилів 1, тупай 1.
5. Рід *Roseolovirus* (6 видів): бетагерпесвіруси людини 6А, 6В, 7, макак 9, свиней 2, мишей 3.

III. Підродина *Gammaherpesvirinae* (7 родів):

1. Рід *Bosavirus* (1 вид): гаммагерпесвірус дельфінів 1.

2. Рід *Lymphocryptovirus* (9 видів): гаммагерпесвіруси людини 4, шимпанзе 1, павіанів 1, макак 4, 10, орангутангів 2, церкопитекових мавп 14, горил 1, мармозетів 3.

3. Рід *Macavirus* (9 видів): гаммагерпесвіруси коров'ячих антилоп 1, 2, конячих антилоп 1, великої рогатої худоби 6, овець 2, кіз 2, свиней 3, 4, 5.

4. Рід *Manticavirus* (2 види): гаммагерпесвіруси коал 1, вомбатів 1.

5. Рід *Patagivirus* (1 вид): гаммагерпесвірус гладконосих кажанів 3.

6. Рід *Percavirus* (6 видів): гаммагерпесвіруси коней 2, 5, куницевих 1, котів 1, тюленів 3, гладконосих кажанів 1.

7. Рід *Rhadinovirus* (12 видів): гаммагерпесвіруси білячих мавп 2, людини 8, павукоподібних мавп 2, 3, макак 5, 8, 11, 12, великої рогатої худоби 4, мишей 4, 7, хом'яків 1.

Некласифіковані віруси (3 види): гаммагерпесвіруси коней 7, тюленів 2, сагуїнів 1.

Некласифікований вірус у родині (1 вид): герпесвірус ігуан 2.

Основні ознаки. Віріони сферичної форми, діаметром 85–300 нм (рис. 11). *Структура віріона:* 1) зовнішня ліпопротеїнова оболонка; 2) тегумент (протеїнова волокниста оболонка); 3) ікосаедральний капсид (162 капсомери); 4) серцевина, що містить дволанцюгову ДНК завдовжки 125–235 кб, із мол. масою 80–150 МДа у комплексі з внутрішніми протеїнами; 5) 20–32 структурні протеїни. *Хімічний склад* (альфагерпесвірусів людини 1, 2): ДНК – 6%, протеїни – 70%, ліпіди – 22%, вуглеводи – 1,5–2%.

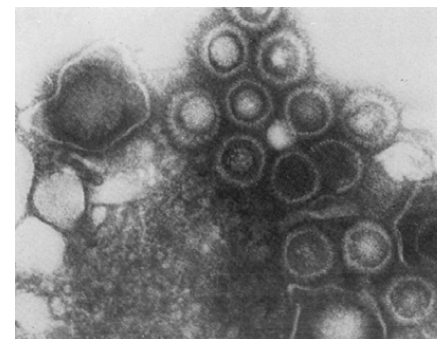


Рис. 11. Альфагерпесвірус свиней 1

(Сюрін В. М. та ін., 1991)

Особливості репродукції. Віріони проникають у клітину шляхом злиття суперкапсидної оболонки з плазмолемою або рецепторного ендоцитозу. В ядрі відбувається транскрипція вірусного генома (за участю клітинної транскриптази) і реплікація (за участю синтезованої ДНК-полімерази). Складання віріонів здійснюється брунькуванням через ядерну мембрану. Віріони виходять із клітини шляхом екзоцитозу, транспортуючись у цитоплазматичних вакуолях, які зливаються з плазмолемою. Можливе проникнення віріонів із клітини в клітину по цистернах ендоплазматичної сітки, які з'єднують ядерну мембрану з плазмолемою. Цикл репродукції триває 12–70 год.

Герпесвіруси уражають широке коло хребетних хазяїв. Для більшості з них властива видова специфічність і тривала персистенція в організмі (хронічна або латентна інфекція). Для людини патогенними є 8 видів. У людей і тварин герпесвіруси спричинюють ураження ЦНС, очей, слизових оболонок, шкіри, лімфоїдні пухлини (альфагерпесвіруси куриних 2, 3, гаммагерпесвірус людини 4), карциному шийки матки (альфагерпесвірус людини 2). У трансформованих клітинах виявляють вірусний генوم в інтегрованому стані.

3.2.5. Родина *Alloherpesviridae* (аллогерпесвіруси)

Назва родини *Alloherpesviridae* походить від дав.-грец. ἄλλος – інший і *Herpesviridae*, тобто родина, відмінна від герпесвірусів.

Родина *Alloherpesviridae* об'єднує 4 роди і 13 видів.

1. Рід *Batrachovirus* (3 види): герпесвіруси жаб 1, 2, 3.
2. Рід *Cyprinivirus* (4 види): герпесвіруси корошових 1, 2, 3, угрів 1.
3. Рід *Ictalurivirus* (3 види): герпесвіруси каналічних сомиків 1, 2, осетрових 2.
4. Рід *Salmonivirus* (3 види): герпесвіруси лососевих 1, 2, 3.

Основні ознаки. Віріони сферичної форми, діаметром 150–200 нм (рис. 12, стор. 77). *Структура віріона:* 1) зовнішня ліпопротеїнова оболонка; 2) тегумент (протеїнова волокниста оболонка); 3) ікосаедральний капсид (162 капсомери); 4) серцевина, що містить дволанцюгову ДНК завдовжки 134–248 кб, у комплексі з внутрішніми протеїнами; 5) 18 структурних протеїнів.

Особливості репродукції. Віріони проникають у клітину шляхом рецепторного ендоцитозу. В ядрі відбувається транскрипція вірусного генома (за участю клітинної транскриптази) та реплікація (за участю синтезованої ДНК-полімерази). Складання віріонів здійснюється брунькуванням через ядерну мембрану

й остаточно – через мембрани комплексу Гольджі. Віріони виходять із клітини шляхом екзоцитозу.

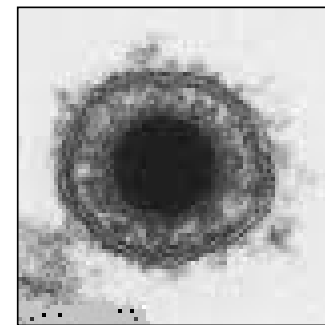


Рис. 12. Герпесвірус корошових 3

(Mettenleiter T. C. et al., 2009)

Аллогерпесвіруси уражають риб і жаб, характеризується видовою специфічністю і завдають значної шкоди рибництву. Герпесвірус жаб 1 спричинює аденокарциному органів сечостатевої системи. У трансформованих клітинах виявляють вірусний генوم в інтегрованому стані.

3.2.6. Родина *Adenoviridae* (аденовіруси)

Назва родини *Adenoviridae* походить від дав.-грец. ἀδήνος – залоза, мигдалики, оскільки аденовіруси вперше були ізольовані в первинних культурах клітин, які готували з мигдаликів та аденоїдів, видалених у дітей.

Родина *Adenoviridae* об'єднує 6 родів і 86 видів.

1. Рід *Atadenovirus* (10 видів): атаденовіруси великої рогатої худоби D, E, овець D, оленів A, опосумів A, качок A, папуг A, змії A, ящірок A, B.

2. Рід *Aviadenovirus* (15 видів): авіаденовіруси птахів A, B, C, D, E, гусей A, качок B, індиків B, C, D, голубів A, B, соколів A, папуг B, C.

3. Рід *Ichtadenovirus* (1 вид): іхтаденовірус осетрових A.

4. Рід *Mastadenovirus* (51 вид): мастаденовіруси людини A, B, C, D, E, F, G, великої рогатої худоби A, B, C, овець A, B, C, оленів A, свиней A, B, C, коней A, B, собак A, білих ведмедів A, мавп A, B, C, D, E, F, G, H, I, широконосих мавп A, скунсів A, кажанів A, B, C, D, E, F, G, H, I, J, вивірок A, мурчаків A, тупай A, мишей A, B, C, дельфінів A, B, морських левів A.

5. Рід *Siadenovirus* (8 видів): сіаденовіруси папуг D, E, індиків A, великих синиць A, хижих птахів A, південнополярних поморників A, пінгвінів A, жаб A.

6. Рід *Testadenovirus* (1 вид): тестаденовірус червоновухих черепах A.

Основні ознаки. Віріони ікосаедральної форми, діаметром 70–90 нм (рис. 13). *Структура віріона:* 1) ікосаедральний капсид (252 капсомери, вершинні капсомери утворюють 12 фібрил); 2) серцевина, яка складається з дволанцюгової ДНК завдовжки 26–48 кб, із мол. масою 20–25 МДа у комплексі з 4 протеїнами; 3) 10–14 структурних протеїнів. *Хімічний склад:* ДНК – 12–14%, протеїни – 86–88%.

Особливості репродукції. Віріони проникають у клітину шляхом рецепторного ендоцитозу. В ядрі відбувається транскрипція вірусного генома (за участю клітинної транскриптази), реплікація (за участю синтезованої ДНК-полімерази) і складання віріонів. Вихід віріонів із клітини здійснюється внаслідок її деструкції. Цикл репродукції триває 14–24 год.

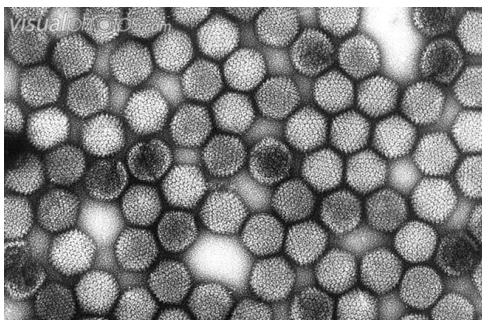


Рис. 13. Мастаденовірус людини С

(Stannard L., 2002)

Більшість аденовірусів уражають один вид хазяїв або невелику групу близькоспоріднених видів. У людей і тварин аденовіруси спричиняють ураження дихальних шляхів, очей, кишечника, ЦНС. Мастаденовіруси людини, мавп і ВРХ проявляють онкогенні властивості *in vitro* та при зараженні сірійських хом'ячків (саркома, лімфосаркома). Трансформація клітин зумовлена інтеграцією вірусного генома з клітинним.

3.2.7. Родина *Papillomaviridae* (папіломавіруси)

Назва родини *Papillomaviridae* походить від лат. *papilla* – міхур, пупула і грец. *όμα* – пухлина у зв'язку зі здатністю вірусів спричинювати злоякісне переродження інфікованих клітин.

Родина *Papillomaviridae* об'єднує 2 підродини, 53 роди і 133 види.

1. Підродина *Firstpapillomavirinae* (52 роди):

1. Рід *Alphapapillomavirus* (14 видів): альфапапіломавіруси 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14.

2. Рід *Betapapillomavirus* (6 видів): бетапапіломавіруси 1, 2, 3, 4, 5, 6.

3. Рід *Chipapillomavirus* (3 види): чіпапіломавіруси 1, 2, 3.

4. Рід *Deltapapillomavirus* (7 видів): дельтапапіломавіруси 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7.

5. Рід *Dyochipapillomavirus* (1 вид): діочіпапіломавірус 1.

6. Рід *Dyodeltapapillomavirus* (1 вид): діодельтапапіломавірус 1.

7. Рід *Dyoepsilonpapillomavirus* (1 вид): діоепсілонпапіломавірус 1.

8. Рід *Dyoetapapillomavirus* (1 вид): діоетапапіломавірус 1.

9. Рід *Dyoiotapapillomavirus* (2 види): діоіотапапіломавіруси 1, 2.

10. Рід *Dyokappapapillomavirus* (5 видів): діокаппапапіломавіруси 1, 2, 3, 4, 5.

11. Рід *Dyolambdapapillomavirus* (1 вид): діолямбдапапіломавірус 1.

12. Рід *Dyomupapillomavirus* (1 вид): діомупапіломавірус 1.

13. Рід *Dyonupapillomavirus* (1 вид): діонупапіломавірус 1.

14. Рід *Dyoomegapapillomavirus* (1 вид): діоомегапапіломавірус 1.

15. Рід *Dyoomikronpapillomavirus* (1 вид): діоомікронпапіломавірус 1.

16. Рід *Dyophipapillomavirus* (1 вид): діофіпапіломавірус 1.

17. Рід *Dyopipapillomavirus* (1 вид): діопіпапіломавірус 1.

18. Рід *Dyopsipapillomavirus* (1 вид): діопсіпапіломавірус 1.

19. Рід *Dyorhopapillomavirus* (1 вид): діоропапіломавірус 1.

20. Рід *Dyosigmatapapillomavirus* (1 вид): діосігмапапіломавірус 1.

21. Рід *Dyotaupapillomavirus* (1 вид): діотаупапіломавірус 1.

22. Рід *Dyothetapapillomavirus* (1 вид): діотетапапіломавірус 1.

23. Рід *Dyousilonpapillomavirus* (1 вид): діоупсілонпапіломавірус 1.

24. Рід *Dyoxipapillomavirus* (2 види): діоксіпапіломавіруси 1, 2.

25. Рід *Dyozetapapillomavirus* (1 вид): діозетапапіломавірус 1.

26. Рід *Epsilonpapillomavirus* (2 види): епсілонпапіломавіруси 1, 2.

27. Рід *Etapapillomavirus* (1 вид): етапапіломавірус 1.

28. Рід *Gammapapillomavirus* (27 видів): гаммапапіломавіруси 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27.

29. Рід *Iotapapillomavirus* (2 види): йотапапіломавіруси 1, 2.
 30. Рід *Kappapapillomavirus* (2 види): каппапапіломавіруси 1, 2.
 31. Рід *Lambdapapillomavirus* (5 видів): лямбдапапіломавіруси 1, 2, 3, 4, 5.
 32. Рід *Murapapillomavirus* (3 види): мупапіломавіруси 1, 2, 3.
 33. Рід *Nupapillomavirus* (1 вид): нупапіломавірус 1.
 34. Рід *Omegapapillomavirus* (1 вид): омегапапіломавірус 1.
 35. Рід *Omikronpapillomavirus* (1 вид): омікропапіломавірус 1.
 36. Рід *Phiapapillomavirus* (1 вид): фіпапіломавірус 1.
 37. Рід *Pipapillomavirus* (2 види): піпапіломавіруси 1, 2.
 38. Рід *Psipapillomavirus* (3 види): псіпапіломавіруси 1, 2, 3.
 39. Рід *Rhopapillomavirus* (2 види): ропапіломавіруси 1, 2.
 40. Рід *Sigmapapillomavirus* (1 вид): сігмапапіломавірус 1.
 41. Рід *Taupapillomavirus* (4 види): таупапіломавіруси 1, 2, 3, 4.
 42. Рід *Thetapapillomavirus* (1 вид): тетапапіломавірус 1.
 43. Рід *Treisdelta papillomavirus* (1 вид): трайсдельтапапіломавірус 1.
 44. Рід *Treisepsilon papillomavirus* (1 вид): трайсепсілонпапіломавірус 1.
 45. Рід *Treisetapapillomavirus* (1 вид): трайсетапапіломавірус 1.
 46. Рід *Treisiotapapillomavirus* (1 вид): трайсіотапапіломавірус 1.
 47. Рід *Treiskappapapillomavirus* (1 вид): трайскаппапапіломавірус 1.
 48. Рід *Treisthetapapillomavirus* (1 вид): трайстететапапіломавірус 1.
 49. Рід *Treiszeta papillomavirus* (1 вид): трайзетапапіломавірус 1.
 50. Рід *Upsilonpapillomavirus* (3 види): упсілопапіломавіруси 1, 2, 3.
 51. Рід *Xipapillomavirus* (5 видів): ксіпапіломавіруси 1, 2, 3, 4, 5.
 52. Рід *Zetapapillomavirus* (1 вид): зетапапіломавірус 1.
 II. Підродина *Secondpapillomavirinae* (1 рід):
 1. Рід *Alefpapillomavirus* (1 вид): алефпапіломавірус 1.

Основні ознаки. Віріони ікосаедральної форми, діаметром 55 нм (рис. 14, стор. 81) *Структура віріона:* 1) ікосаедральний капсид (72 капсомери); 2) дволанцюгова кільцева ДНК завдовжки 6,8–8,4 кб, із мол. масою 5 МДа; 3) 2 структурні протеїни. *Хімічний склад віріона:* ДНК – 12%, протеїни – 88%.

Особливості репродукції. Віріони проникають у клітину шляхом рецепторного ендоцитозу. В ядрі відбувається транскрипція та реплікація вірусного генома (за участю клітинних транскриптази і ДНК-полімерази) та складання віріонів (на стадії клітинної диференціації). Вихід віріонів із клітини здійснюється внаслідок її деструкції.

Папіломавіруси поширені повсюдно й уражають здебільшого один вид хазяїв або невелику групу близькоспоріднених видів.

Папіломавіруси індують у природних хазяїв доброякісні пухлини епітелію, які можуть перероджуватися в злоякісні. Близько 10% злоякісних пухлин людини мають папіломавірусну етіологію, зокрема рак шийки матки і зовнішніх статевих органів. Вірусний геном присутній у трансформованих клітинах в інтегрованому стані.

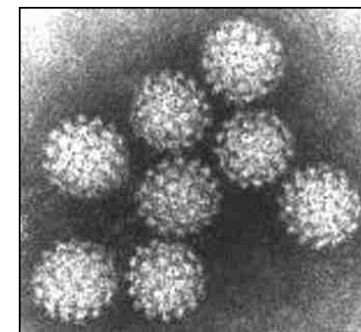


Рис. 14. Альфапапіломавірус 1

(Львов Д. К. и др., 2013)

3.2.8. Родина *Polyomaviridae* (поліомавіруси)

Назва родини *Polyomaviridae* походить від дав.-грец. *πόλις* – численний і *όμα* – пухлина, що відображає часті злоякісні трансформації інфікованих клітин.

Родина *Polyomaviridae* об'єднує 6 родів і 117 видів.

1. Рід *Alphapolyomavirus* (51 вид): поліомавіруси хатніх мишей 1, жовтогорлих мишей 1, сірійських хом'яків 1, сірих пацюків 1, малих мідичь 1, коронованих мідичь 1, малайських тупай 1, звичайних тупай 1, натальських мишей 2, 3, червоночервних вивірок 1, людини 5, 8, 9, 12, 13, 14, блакитних дукерів 1, кабанів 1, єнотів-полоскунів 1, верветок 1, 3, звичайних чорних коат 1, західних горил 1, макак-крабодідів 1, звичайних шимпанзе 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, павіанів бабуїнів 1, танських червоних колобусів 1, західних червоних колобусів 1, суматранських орангутанів 1, борнейських орангутанів 1, целебеських ацеродонів 1, плосколицих листконосів 2, 3, жовтоплечих листконосів 1, африканських несправжніх вампірів 1, очкових листконосів 1, молукських голоспинних криланів 1, малайських криланів 1, пальмових криланів 1, звичайних молосів 1, складчатогубів Мартіенсена 1, 2, звичайних довгокрилів 1, 2.

2. Рід *Betapolyomavirus* (41 вид): поліомавіруси макак-резусів 1, людини 1, 2, 3, 4, звичайних шимпанзе 8, білолобих капуцинів 1,

рудовухих мавп 1, верветок 2, болівійських саймірі 1, білячих саймірі 1, павіанів бабуїнів 2, свійських коней 1, європейських борсуків 1, саванних слонів 1, натальських мишей 1, звичайних нориць 1, рудих нориць 1, хатніх мишей 2, 3, сірих пацюків 2, звичайних вампірів 1, нільських криланів 1, молукських голоспинних криланів 2, 3, целебеських ацеродонів 2, плосколицих листконосів 1, африканських довгокрилів 1, малих бурих нічниць 1, листконосів Деві 1, голоспинних листконосів Парнелла 1, каліфорнійських морських левів 1, тюленів Венделла 1, альпак 1, собак 1, каланів 1, сірих вивірок 1, вивірок Превоста 1, сонь-полчків 1, іберійських зайців 1, левів 1.

3. Рід *Deltapolyomavirus* (7 видів): поліомавіруси людини 6, 7, 10, 11, великих панд 1, вовків 1, звичайних ракунів 1.

4. Рід *Epsilonpolyomavirus* (3 види): поліомавіруси свійських биків 1, безоарових цапів 1, кистевухих свиней 1.

5. Рід *Gammapolyomavirus* (9 видів): поліомавіруси птахів 1, сірих гусей 1, галок 1, сіроспинних флейтових птахів 1, пінгвінів Аделі 1, снігурів 1, канарок 1, амадини Гульда 1, білоголових муній 1.

6. Рід *Zetapolyomavirus* (1 вид): поліомавірус дельфінів-білобочок 1.

Некласифіковані віруси (5 видів): поліомавіруси чорних морських окунів 1, велетенських акулхвостих скатів 1, золотистих спарів 1, смарагдових ноготеній 1, гострокінцевих ноготеній 1.

Основні ознаки. Віріони ікосаедральної форми, діаметром 40–45 нм (рис. 15). *Структура віріона:* 1) ікосаедральний капсид (72 капсомери); 2) дволанцюгова кільцева ДНК завдовжки 5 кб, із мол. масою 3 МДа; 3) 3–4 структурні протеїни. *Хімічний склад:* ДНК – 12%, протеїни – 88%.

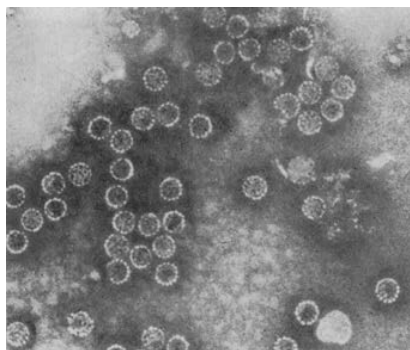


Рис. 15. Поліомавірус макак-резусів 1

(Ніколау Ш. С. та ін., 1965)

Особливості репродукції. Віріони проникають у клітину шляхом рецепторного ендоцитозу. В ядрі відбувається транскрипція та реплікація вірусного генома (за участю клітинних транскриптази і ДНК-полімерази) та складання віріонів (на стадії клітинної диференціації). Вихід віріонів із клітини здійснюється внаслідок її деструкції. Цикл репродукції триває 24 год.

Поліомавіруси поширені повсюдно й уражають вузьке коло хазяїв. Більшість поліомавірусів має онкогенний потенціал щодо гризунів. Трансформація клітин зумовлена інтеграцією вірусного генома з клітинним.

3.2.9. Родина *Hepadnaviridae* (гепаднавіруси)

Назва родини *Hepadnaviridae* походить від дав.-грец. *χῆλαρ* – печінка, ураження якої є провідним клінічним симптомом, і англ. DNA – ДНК, що представляє вірусний геном.

Родина *Hepadnaviridae* об'єднує 5 родів і 18 видів.

1. Рід *Avihepadnavirus* (3 види): віруси гепатиту В качок, чапель, папуг.

2. Рід *Herpetohepadnavirus* (1 вид): вірус гепатиту В тибетських жаб.

3. Рід *Metahepadnavirus* (1 вид): вірус гепатиту В синьозябрових сонячних окунів.

4. Рід *Orthohepadnavirus* (12 видів): вірус гепатиту В, віруси гепатиту В довгопалих нічниць, гімалайських листконосів, листконосів-будівників, підковиків, шерстистих мавп, мавп капуцинів, домашніх котів, китайських землерийок, лісу Тай, віруси гепатиту лісових бабаків, земляних білок.

5. Рід *Parahepadnavirus* (1 вид): вірус гепатиту В білих присосок.

Основні ознаки. Віріони сферичної форми, діаметром 42–47 нм (рис. 16, стор. 84). *Структура віріона:* 1) зовнішня ліпопротеїнова оболонка; 2) ікосаедральний нуклеокапсид (серцевина); 3) дволанцюгова кільцева ДНК (із дефектом плюс-нитки на 20–50%) завдовжки 3,0–3,3 кб, із мол. масою 1,6–2 МДа; 4) 6 структурних протеїнів, у тому числі ДНК-залежна ДНК-полімераза.

Особливості репродукції. Віріони проникають у клітину шляхом рецепторного ендоцитозу. Реплікація (за участю ДНК-полімерази, яка функціонує за принципом зворотної транскрипції) та складання серцевини вірусу відбуваються в ядрі. В цитоплазмі накопичується HBsAg та виходить із клітини шляхом екзоцитозу, що призводить до антигенемії. Складання віріонів відбувається брунькуванням через

мембрани ендоплазматичної сітки, куди включається HBsAg. Віріони виходять із клітини шляхом екзоцитозу.

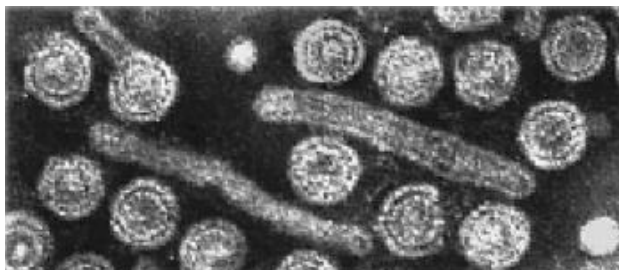


Рис. 16. Вірус гепатиту В

(Stannard L., 2005)

Гепаднавіруси мають вузьке коло хазяїв. Клітинами-мішенями є гепатоцити, і репродукція вірусів зазвичай не супроводжується ЦПД. Інфекція часто перетворюється в хронічну та характеризується високим рівнем продукції віріонів і субвірусних часток, позбавлених геномної ДНК. Гепаднавіруси мають онкогенні властивості, зокрема віруси гепатиту В людини, качок і лісових бабаків спричиняють первинну гепатокарциному в природних хазяїв. Механізм онкогенної дії вірусів пов'язаний з інтеграцією вірусного генома з клітинним.

3.2.10. Родина *Parvoviridae* (парвовіруси)

Назва родини *Parvoviridae* походить від лат. *parvus* – маленький, у зв'язку з тим, що це одні з найменших ДНК-геномних вірусів.

Родина *Parvoviridae* об'єднує 84 види вірусів хребетних, які входять в одну підродину і 10 родів.

Підродина *Parvovirinae* (10 родів):

1. Рід *Amdoparvovirus* (5 видів): амдопарвовіруси м'ясоїдних 1, 2, 3, 4, 5.
2. Рід *Artiparvovirus* (1 вид): артіпарвовірус рукокрилих 1.
3. Рід *Aveparvovirus* (3 види): авепарвовіруси курячих 1, голубиних 1, журавлеподібних 1.
4. Рід *Vocaparvovirus* (28 видів): бокапарвовіруси копитних 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, м'ясоїдних 1, 2, 3, 4, 5, 6, приматів 1, 2, 3, зайцеподібних 1, гризунів 1, 2, рукокрилих 1, 2, 3, 4, 5, ластоногих 1, 2.
5. Рід *Copiparvovirus* (7 видів): копіпарвовіруси копитних 1, 2, 3, 4, 5, 6, ластоногих 1.

6. Рід *Dependoparvovirus* (11 видів): аденоасоційовані депендопарвовіруси А, В, депендопарвовірус м'ясоїдних 1, депендопарвовіруси рукокрилих 1, ластоногих 1, гризунів 1, 2, птахів 1, гусей 1, лускатих 1, 2.

7. Рід *Erythroparvovirus* (7 видів): еритропарвовіруси приматів 1, 2, 3, 4, гризунів 1, копитних 1, ластоногих 1.

8. Рід *Loriparvovirus* (1 вид): лоріпарвовірус приматів 1.

9. Рід *Protoparvovirus* (15 видів): протопарвовіруси копитних 1, 2, м'ясоїдних 1, 2, 3, 4, приматів 1, 2, 3, 4, рукокрилих 1, комахоїдних 1, гризунів 1, 2, 3.

10. Рід *Tetraparvovirus* (6 видів): тетрапарвовіруси приматів 1, копитних 1, 2, 3, 4, рукокрилих 1.

Основні ознаки. Віріони ікосаедральної форми, діаметром 18–26 нм (рис. 17). *Структура віріона:* 1) ікосаедральний капсид (32 капсомери); 2) одноланцюгова ДНК (мінус- або плюс-нитка) завдовжки 4–6 кб, із мол. масою 1,5–2 МДа; 3) 3–4 структурні протеїни. *Хімічний склад:* ДНК – 19–32%, протеїни – 68–81%.

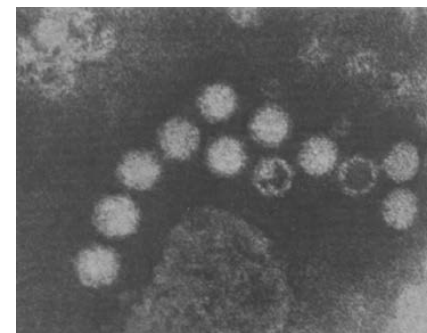


Рис. 17. Протопарвовірус м'ясоїдних 1

(Сюрін В. М. та ін., 1998)

Особливості репродукції. Віріони проникають у клітину шляхом рецепторного ендоцитозу. В ядрі клітини, що знаходиться в S-фазі циклу, відбувається транскрипція та реплікація вірусного генома (за участю клітинних ензимів транскриптази і ДНК-полімерази) і складання віріонів. Вихід віріонів із клітини здійснюється внаслідок її деструкції.

Парвовіруси мають вузький спектр патогенності, за винятком парвовірусів м'ясоїдних і птахів. Парвовіруси спричиняють у природних хазяїв ентерити, гепатити, міокардити, геморагічну енцефалопатію, панлейкопенію та загибель плодів.

3.2.11. Родина *Circoviridae* (цирковіруси)

Назва родини *Circoviridae* походить англ. circular conformation – кільцева конформація, оскільки саме таку форму має вірусна ДНК.

Родина *Circoviridae* об'єднує 88 видів вірусів хребетних, які входять до 2 родів.

1. Рід *Circovirus* (48 видів): цирковіруси свиней 1, 2, 3, 4, собак, норок, цівет, ведмедів, лосів, китів, марен, європейських сомів, барбельсів, качок, гусей, канарок, голубів, круків, шпаків, лебедів, чайок, зябликів, зебрових амадин, пінгвінів, хвороби дзьоба і пір'я, цирковіруси, асоційовані з людиною 1, з шимпанзе 1, з кажанами 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, з гризунами 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, з мишами 1.

2. Рід *Cyclovirus* (40 видів): цикловіруси, асоційовані з людиною 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, з великою рогатою худобою 1, з козами 1, з кіньми 1, з котами 1, з вивірками 1, з шимпанзе 1, з кажанами 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, з капібарами, з гризунами 1, 2, з мишами 1, з курми 1, 2.

Основні ознаки. Віріони ікосаедральної форми, діаметром 15–25 нм (рис. 18). *Структура віріона:* 1) ікосаедральний капсид (32 капсомери); 2) одноланцюгова кільцева ДНК (мінус-нитка) завдовжки 1,7–2,3 кб; 3) 1–3 структурні протеїни.

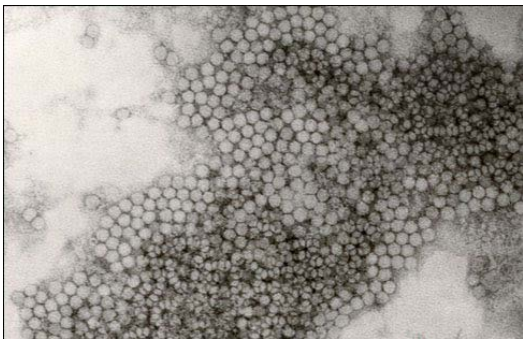


Рис. 18. Цирковірус свиней 1

(Foster D., Watt C., 2008)

Особливості репродукції. Віріони проникають у клітину шляхом рецепторного ендоцитозу. В ядрі клітини, що знаходиться в S-фазі циклу, відбувається транскрипція і реплікація вірусного генома (за участю клітинних ензимів транскриптази і ДНК-полімерази) та складання віріонів. Вихід віріонів із клітини здійснюється внаслідок її деструкції.

Цирковіруси поширені повсюдно й інфікують вузький спектр хазяїв. Клітинами-мішенями є гемопоетичні та лімфоїдні клітини. Цирковірусна інфекція найчастіше протікає в латентній формі і призводить до імуносупресії. Важливе ветеринарне значення має цирковірус свиней 1, який спричинює синдром післявідлучного мульти-системного виснаження поросят.

3.2.12. Родина *Anelloviridae* (анелловіруси)

Назва родини *Anelloviridae* походить від лат. anello – кільце у зв'язку з кільцевою ДНК цих вірусів.

Родина *Anelloviridae* об'єднує 152 види вірусів хребетних, які входять до 31 роду.

1. Рід *Aleptorquevirus* (1 вид): торкутенівірус зайцевих 1.
2. Рід *Alphatorquevirus* (26 видів): торкутенівіруси 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 10, 13, 14, 15, 17, 18, 19, 20, 21, 24, 25, 26, 29, 31, зелених мавп 1, 2, 3, 5.
3. Рід *Betatorquevirus* (38 видів): торкутеномінівіруси 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38.
4. Рід *Chitorquevirus* (1 вид): торкутенівірус індри 1.
5. Рід *Dalettorquevirus* (1 вид): торкутенівірус ведмежих 1.
6. Рід *Deltatorquevirus* (1 вид): торкутенівірус тупай.
7. Рід *Epsilontorquevirus* (1 вид): торкутенівірус тамаринів.
8. Рід *Etatorquevirus* (5 видів): торкутенівіруси котячих 1, 2, 3, 4, віверових 3.
9. Рід *Gammatorquevirus* (15 видів): торкутеномідивіруси 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15.
10. Рід *Gimeltorquevirus* (1 вид): торкутенівірус 30.
11. Рід *Gyrovirus* (10 видів): вірус анемії курчат, гіровіруси фулгла1, галга1, 2, гомса1, 2, 3, 4, гідго1, міферр1.
12. Рід *Hetortorquevirus* (1 вид): торкутенівірус гомінідів 2.
13. Рід *Iotatorquevirus* (1 вид): торкутенівіруси свиней 1a.
14. Рід *Kappatorquevirus* (2 види): торкутенівіруси свиней k2a, k2b.
15. Рід *Lambdatorquevirus* (6 видів): торкутенівірус ластоногих 1, 2, 3, 5, 8, 9.
16. Рід *Mutorquevirus* (1 вид): торкутенівірус конячих 1.
17. Рід *Nutorquevirus* (1 вид): торкутенівіруси ластоногих 4.
18. Рід *Omegatorquevirus* (1 вид): торкутенівірус гомінідів 1.
19. Рід *Omicrontorquevirus* (1 вид): торкутенівірус ведмежих 5.
20. Рід *Pitorquevirus* (6 видів): торкутенівіруси ведмежих 7, 8, 9, 10, 11, 12.

21. Рід *Psitorquevirus* (1 вид): торкутеновірус єнотів-полоскунів 4.
22. Рід *Rhotorquevirus* (2 види): торкутеновіруси гризунів 1, 2.
23. Рід *Sigmatorquevirus* (2 види): торкутеновіруси ластоногих 6, 7.
24. Рід *Tautorquevirus* (1 вид): торкутеновірус котячих 5.
25. Рід *Tettorquevirus* (1 вид): торкутеновірус котячих 6.
26. Рід *Thetatorquevirus* (9 видів): торкутеновіруси псових 1, куніцевих 1, єнотів-полоскунів 5, 6, ведмежих 1, 2, 3, 4, віверових 4.
27. Рід *Upsilontorquevirus* (7 видів): торкутеновіруси ведмежих єнотів-полоскунів 1, 2, 3, 7, 8, 9, віверових 2.
28. Рід *Wawtorquevirus* (5 видів): торкутеновіруси гризунів 2, 3, 4, 5, 6.
29. Рід *Xitorquevirus* (2 види): торкутеновіруси рукокрилих 1, опосумових 1.
30. Рід *Zayintorquevirus* (2 види): торкутеновіруси віверових 1, 5.
31. Рід *Zetatorquevirus* (1 вид): торкутеновірус нічних мавп 1.

Основні ознаки. Віріони ікосаедральної форми, діаметр 30–40 нм (рис. 19). *Структура віріона:* 1) ікосаедральний капсид; 2) одноланцюгова кільцева ДНК (мінус-нитка) завдовжки 2–3,9 кб; 3) 2–4 структурні протеїни.

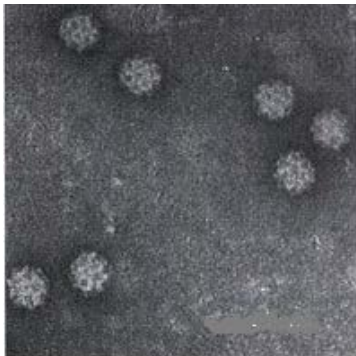


Рис. 19. Вірус анемії курчат

(McNulty M. S., 2002)

Особливості репродукції. Віріони проникають у клітину шляхом рецепторного ендоцитозу. В ядрі клітини, що знаходиться в S-фазі циклу, відбувається транскрипція і реплікація вірусного генома (за участю клітинних ензимів транскриптази і ДНК-полімерази) та складання віріонів. Вихід віріонів із клітини здійснюється внаслідок її деструкції.

Анелловіруси виявлені в різних видів тварин і мають глобальне поширення серед міського і сільського населення (понад 90%). Проте зв'язок між анелловірусною інфекцією та конкретною патологією поки що не з'ясовано, хоча деякі дослідження припускають можливу роль анелловірусів в ураженні печінки або дихальних шляхів, гематологічних порушеннях або навіть виникненні раку. Анелловіруси здатні впливати на імунний статус хазяїна. Важливе ветеринарне значення мають вірус анемії курчат, а також торкутеновіруси свиней, які спричиняють синдром післявідлучного мультисистемного виснаження та синдром дерматиту і нефропатії свиней.

3.2.13. Родина *Smacoviridae* (смаковіруси)

Назва родини *Smacoviridae* походить від англ. слів small – дрібний і circular – циркулярний у зв'язку з малими розмірами і кільцевою структурою вірусної ДНК.

Родина *Smacoviridae* об'єднує 82 види вірусів хребетних, які входять до 11 родів.

1. Рід *Babosmacovirus* (1 вид): бабосмаковірус бабас1.
2. Рід *Bonzesmacovirus* (1 вид): бонзесмаковірус бовас1.
3. Рід *Bostasmacovirus* (1 вид): бостасмаковірус бовас1.
4. Рід *Bovismacovirus* (2 види): бовісмаковіруси бовас1, 2.
5. Рід *Cosmacovirus* (1 вид): космаковірус бовас1.
6. Рід *Drosmacovirus* (3 види): дросмаковіруси бовас1, камас1, 2.
7. Рід *Felismacovirus* (1 вид): фелісмаковірус лінас1.
8. Рід *Huchismacovirus* (5 видів): гачісмаковіруси гумас1, 2, 3, чікас1, 2.
9. Рід *Inpeasmacovirus* (2 види): інпеасмаковіруси гумас1, пеафо1.
10. Рід *Porprismacovirus* (63 види): порпрісмаковіруси алекас1, авіас1, бабас1, бовас1, 2, камас1, 2, 3, 4, капас1, чікас1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, чімас1, 2, флаас1, гоас1, гораас1, говас1, гумас1, 2, 3, 4, лімас1, лео1, лінас2, макас1, 2, 3, 4, 5, 6, малбас1, пеафо1, порці1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, ратаас1, шеас1, 2, 3, тураас1.
11. Рід *Simismacovirus* (2 види): сімісмаковіруси малбас1, 2.

Основні ознаки. Віріони ікосаедральної форми. *Структура віріона:* 1) ікосаедральний капсид; 2) одноланцюгова кільцева ДНК (мінус-нитка) завдовжки 2,3–3,0 кб; 3) 2 структурні протеїни.

Особливості репродукції не досліджені у зв'язку з тим, що смаковіруси не культивуються в лабораторних умовах. Можливо, транскрипція та реплікація вірусного генома відбувається, як і в інших вірусів з одноланцюговою кільцевою ДНК, за участю клітинних

ензимів транскриптази і ДНК-полімерази, а вихід віріонів із клітини здійснюється внаслідок її деструкції.

Смакові віруси виявлені в калі людини і різних видів тварин. Їхня роль в інфекційній патології тварин і людини поки що не встановлена.

3.2.14. Родина *Genomoviridae* (геномовіруси)

Назва родини *Genomoviridae* походить від лат. *gemin* – близнюк і *movement* – ім'я у зв'язку з тим, що в досліджуваних зразках віріони іноді розміщуються попарно.

Родина *Genomoviridae* об'єднує 119 видів вірусів хребетних, які входять до 9 родів.

1. Рід *Gemycircularvirus* (58 видів): геміциркулярвіруси альцес1, 2, блабі1, бовас1, гіапа1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, гемел1, 2, герас1, 2, 3, гідро1, гофа1, 2, 3, еква1, ламас1, лепа2, лепам1, 2, 3, малас1, лінка1, 2, 3, 4, мініо1, монас1, порсі1, 2, птеро1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, ратас1, ребак1, севопо1, 2, 3, 4, 5, шеас1, фурсе1, чікад1, чікас1, 2.

2. Рід *Gemyduguivirus* (3 види): гемідугувіруси гідро1, 2, 3.

3. Рід *Gemygorvirus* (6 видів): гемігорвіруси каніа1, малас1, птеро1, севопо1, старп1, гіро1.

4. Рід *Gemykibivirus* (31 вид): гемікібівіруси бадас1, бларо1, блабі1, бовас1, гумас1, 2, 3, 4, 5, монас1, птеро1, ріна1, 2, севопо1, 2, гіпла1, гідро1, 2, 3, канфарм1, гіапа1, гемел1, 2, 3, 4, 5, ковчі1, аніма1, галга1, 2, 3.

5. Рід *Gemykolovirus* (5 видів): геміколовіруси птеро1, 2, лепам1, гофа1, 2.

6. Рід *Gemykrogvirus* (10 видів): гемікрогвіруси бовас1, карібі1, севопо1, галга1, 2, 3, 4, 5, гіапа1, гумас1,

7. Рід *Gemykroznavirus* (4 види): гемікрознавірус рабас1, гемел1, аніма1, гідро1,

8. Рід *Gemytondovirus* (1 вид): гемітондвірус острі1.

9. Рід *Gemyvongvirus* (1 вид): гемівонгвіруси гумас1.

Основні ознаки. Віріони ікосаедральної форми діаметром 20 нм. *Структура віріона:* 1) ікосаедральний капсид; 2) одноланцюгова кільцева ДНК (мінус-нитка) завдовжки 2,2–2,4 кб; 3) 2 структурні протеїни.

Особливості репродукції. Віріони проникають у клітину шляхом злиття капсидної оболонки з плазмолемою. Транскрипція і реплікація вірусного генома відбувається, ймовірно, за участю клітинних ензимів транскриптази і ДНК-полімерази. Вихід віріонів із клітини здійснюється внаслідок її деструкції.

Геномовіруси мають значне поширення в природі. Вони виявлені в калі людей, ссавців, птахів та об'єктах навколишнього середовища (каналізаційних водах). Геномовіруси не культивуються в лабораторних умовах.

3.2.15. Родина *Redondoviridae* (редондовіруси)

Назва родини *Redondoviridae* походить від іспан. *redondo* – круглий у зв'язку з кільцевою структурою вірусної ДНК.

Родина *Redondoviridae* має 1 рід і 2 види.

Рід *Torbevirus* (2 види): брисавірус, вієтовірус.

Основні ознаки. Віріони ікосаедральної форми. *Структура віріона:* 1) ікосаедральний капсид; 2) одноланцюгова кільцева ДНК (мінус-нитка) завдовжки 3,0–3,1 кб; 3) 3 структурні протеїни.

Особливості репродукції не досліджені. Припускається, що транскрипція і реплікація вірусного генома відбувається, як і в інших вірусів з одноланцюговою кільцевою ДНК, за участю клітинних ензимів транскриптази і ДНК-полімерази, а вихід віріонів із клітини здійснюється внаслідок її деструкції.

Редондовіруси були ідентифіковані за допомогою метагеномного секвенування ДНК під час дослідження зразків із ротової порожнини і дихальних шляхів здорових і хворих людей. Етіологічна роль редондовірусів у виникненні якихось захворювань людини поки що не з'ясована. Можливо, редондовіруси зв'язані з виникненням пародонтиту.

3.2.16. Родина *Paramyxoviridae* (параміксовіруси)

Назва родини *Paramyxoviridae* походить від дав.-грец. *para* – навколо, *поряд* і *μύξα* – слиз. Це пов'язано зі спорідненістю вірусів до мукополісахаридів і глікопротеїнів клітинних мембран (зокрема до клітинних рецепторів, які містять сіалову кислоту).

Родина *Paramyxoviridae* об'єднує 4 підродини, 17 родів і 78 видів.

I. Підродина *Avulavirinae* (3 роди):

1. Рід *Metaavulavirus* (11 видів): метаавулавіруси птахів 2, 5, 6, 7, 8, 10, 11, 14, 15, 20, 22.

2. Рід *Orthoavulavirus* (9 видів): ортоавулавіруси птахів 1, 9, 12, 13, 16, 17, 18, 19, 21.

3. Рід *Paraavulavirus* (2 види): параавулавіруси птахів 3, 4.

II. Підродина *Metaparamyxovirinae* (1 рід):

1. Рід *Synodonvirus* (1 вид): параміксовірус довгокрилих ящероголовів.

III. Підродина *Orthoparamyxovirinae* (8 родів):

1. Рід *Aquarparamyxovirus* (2 види): аквапараміксовіруси лососів, тихоокеанських лососів.

2. Рід *Ferlavivirus* (1 вид): ферлавірус рептилій.

3. Рід *Henipavirus* (5 видів): геніпавіруси Гендра, Ніпа, Кедр, Моджіанг, ганських кажанів.

4. Рід *Jeilongvirus* (7 видів): джейлонгвіруси Білонг, Джун, Тайлам, жорсткошерсних мишей 1, 2, лісних полівок, довгокрилих.

5. Рід *Morbillivirus* (7 видів): морбіллівіруси кору, чуми великої рогатої худоби, дрібних жуйних, собак, тюленів, котів, китоподібних.

6. Рід *Narmovirus* (4 види): нармовіруси Моспан, лісних полівок, Наріва, тупай.

7. Рід *Respirovirus* (7 видів): респіровіруси людини 1, 3, великої рогатої худоби 3, кіз 3, свиней 1, вивірок, мишей.

8. Рід *Salemvirus* (1 вид): салеєвірус Салем.

IV. Підродина *Rubulavirinae* (2 роди):

1. Рід *Orthorubulavirus* (8 видів): орторубулавіруси епідемічного паротиту, людини 2, 4, ссавців 5, 6, мавп, свиней, Мапуера.

2. Рід *Pararubulavirus* (10 видів): парарубулавіруси Мененгле, Созуга, Ачимота 1, 2, Тевіот, Тіоман, Тугоко 1, 2, 3, Герві.

Некласифіковані віруси в родині (3 роди):

1. Рід *Cynoglossusvirus* (1 вид): параміксовірус циноглових.

2. Рід *Hoplichthysvirus* (1 вид): параміксовірус гопліхтів.

3. Рід *Scoliodonvirus* (1 вид): параміксовірус жовтих гостроносих акул.

Основні ознаки. Віріони плеоморфні, найчастіше сферичної форми, а також бувають ниткоподібні, величиною 150–350 нм (рис. 20, стор. 93). *Структура віріона:* 1) зовнішня ліпопротеїнова оболонка; 2) спіральний нуклеокапсид (серцевина); 3) одноланцюгова РНК (мінус-нитка) завдовжки 15–19 кб, із мол. масою 5–8 МДа; 4) 5–7 структурних протеїнів, у тому числі РНК-залежна РНК-полімераза (транскриптаза). *Хімічний склад:* РНК – 0,5–3%, протеїни – 70%, ліпіди – 20–25%, вуглеводи – 6%.

Особливості репродукції. Віріони проникають у клітину шляхом злиття суперкапсидної оболонки з плазмолемою. Транскрипція та реплікація вірусного генома відбувається в цитоплазмі (за участю вірусної транскриптази, що функціонує як і реплікази). Складання і вихід віріонів із клітини здійснюється брунькуванням через плазмолему. Цикл репродукції триває 8 год.



Рис. 20. Респіровірус мишей

(Stannard L. M., 2010)

Параміксовіруси мають значне поширення в природі й уражають ссавців, птахів, рептилій і риб. Багато параміксовірусів є видоспецифічними щодо хазяїна. До найнебезпечніших параміксовірусних інфекцій належать кір, епідемічний паротит, чума ВРХ, чума м'ясоїдних і ньюкаслська хвороба. Інші представники родини спричиняють у тварин і людини респіраторні захворювання і навіть ураження ЦНС (віруси Гендра і Ніпа).

3.2.17. Родина *Pneumoviridae* (пневмовіруси)

Назва родини *Pneumoviridae* походить від от дав.-грец. πνεῦμα – легені, що пов'язано з патогенними властивостями вірусів.

Родина *Pneumoviridae* об'єднує 2 роди і 5 видів.

1. Рід *Metapneumovirus* (2 види): метапневмовіруси людини, птахів.

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

Основні ознаки. Віріони сферичної форми, іноді бувають ниткоподібними, величиною 150–200 нм (рис. 21, стор. 94). *Структура віріона:* 1) зовнішня ліпопротеїнова оболонка; 2) спіральний нуклеокапсид (серцевина); 3) одноланцюгова РНК (мінус-нитка) завдовжки 13–15 кб; 4) 7–10 структурних протеїнів, у тому числі РНК-залежна РНК-полімераза (транскриптаза). *Хімічний склад:* РНК – 0,5–3%, протеїни – 70%, ліпіди – 20–25%, вуглеводи – 6%.

Особливості репродукції. Віріони проникають у клітину шляхом злиття суперкапсидної оболонки з плазмолемою. Транскрипція

та реплікація вірусного генома відбувається в цитоплазмі (за участю вірусної транскриптази, що функціонує як і репліказа). Складання і вихід віріонів із клітини здійснюється брунькуванням через плазмолему. Цикл репродукції триває 8 год.

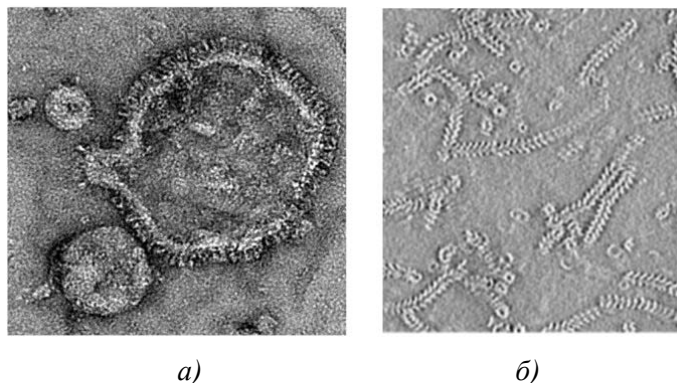


Рис. 21. Ортопневмовірус людини

(Dent K. et al., 2019; Bakker A. B. et al., 2013)

Природними хазяями пневмовірусів є люди, ВРХ, птахи і гризуни. Пневмовіруси спричиняють у людини і тварин респіраторні захворювання. Зокрема, ортопневмовірус людини (збудник РС-інфекції) є одним із найважливіших патогенів у розвитку ГРВІ в дітей.

3.2.18. Родина *Rhabdoviridae* (рабдовіруси)

Назва родини *Rhabdoviridae* походить від дав.-грец. *ραβδος* – палка, стрижень, що пов'язано з формою віріонів рабдовірусів рослин.

Родина *Rhabdoviridae* об'єднує 103 види вірусів хребетних, які входять до 2 підродин і 13 родів.

I. Підродина *Alphabovirinae* (12 родів):

1. Рід *Ephemerovirus* (11 видів): ефемеровіруси гарячки великої рогагої худоби, річки Аделаїде, Берріма, Кімберлі, Кулпінья, Котонкан, Ободгіанг, Ята, Гей, Кент, Пучонг.

2. Рід *Naravirus* (6 видів): гапавіруси Фландрія, Ланджіа, Гард Парк, Марко, Вонгабель, Нгаінган.

3. Рід *Ledantevirus* (17 видів): ледантевіруси Ле Дантек, Барур, Фікіріні, Фукуока, Нішимура, каньйону Керн, Кураліба, Коленте, Кумасі, кажанів гори Елгон, Нкольбіссон, Ойта, Ухань, Йонгджія, Каньявара, Вапріо, Бугендера.

4. *Lissavirus* (17 видів): ліссавіруси сказу, європейських кажанів 1, 2, австралійських кажанів, кажанів Бокело, кажанів Лагос, кажанів Шимоні, західнокавказьких кажанів, кажанів Ганнорува, Ікома, Дувенхаге, Іркут, Мокола, Худжанд, Араван, Ллейда, Тайвань.

5. Рід *Perhabdovirus* (3 види): перабдовіруси окунів, морських форелей, вугрів.

6. Рід *Sprivivirus* (2 види): спривівіруси короїв, мальків шук.

7. Рід *Sripuvirus* (8 видів): сріпувіруси Ньяха, Алмпівар, Чако, Сена Мадурейра, Сріпур, Шарлевіль, Куяба, Хайнань.

8. Рід *Sunrhavirus* (7 видів): сунргавіруси Гарба, Сунгуру, Гаррісон, Кватта Оквейл, Валькабот, Діллард.

9. Рід *Tibrovirus* (7 видів): тібровіруси Тіброгарган, Нижнього Конго, прибережних рівнин, Екпома 1, Екпома 2, прісноводних притоків, Беатріс Хілл.

10. Рід *Tupavirus* (3 види): тупавіруси Дарем, Клемет, тупай.

11. Рід *Vesiculovirus* (17 видів): везикуловіруси Індіана, Алагоас, Кокал, Нью-Джерсі, Караяс, Чандіпура, Ісфаган, Юрона, Мальпаіс Спрінг, Мараба, Морретон, Перінет, Пірі, Юг Богданавац, Раді, кажанів, підковиків.

12. Рід *Zarhavirus* (1 вид): заргавірус Загедан.

II. Підродина *Gammarhabdovirinae* (1 рід):

1. Рід *Novirhabdovirus* (4 види): новірабдовіруси риб, лососевих, гіраме, змієголовів.

Основні ознаки. Віріони мають кулеподібну форму, завдовжки 130–380 нм, діаметром 60–80 нм (рис. 22, стор. 96). *Структура віріона:* 1) зовнішня ліпопротеїнова оболонка; 2) спіральний нуклеокапсид (серцевина); 3) одноланцюгова РНК (мінус-нитка) завдовжки 11–15 кб, із мол. масою 3,5–4,6 МДа; 4) 4–5 структурних протеїнів, у тому числі РНК-залежна РНК-полімераза (транскриптаза). *Хімічний склад:* РНК – 1–2 %, протеїни – 65–75 %, ліпіди – 15–25 %, вуглеводи – 3 %.

Особливості репродукції. Віріони проникають у клітину шляхом злиття суперкапсидної оболонки з плазмолемою. Транскрипція і реплікація вірусного генома відбувається в цитоплазмі (за участю вірусної транскриптази, що функціонує як і репліказа). Складання і вихід віріонів із клітини здійснюється брунькуванням через плазмолему. Цикл репродукції триває 4–6 год.

Рабдовіруси уражають ссавців, птахів, риб. До особливо небезпечних захворювань людини і тварин належить сказ. Резервуаром ліссавірусу сказу є лисиці й інші дикі м'ясоїдні тварини, які завдяки

вірусній персистенції підтримують циркуляцію вірусу в природі. Важливе ветеринарне значення має везикулярний стоматит та ефемерна гарячка ВРХ.



Рис. 22. Везикуловірус Індіана

(Murphy F. A., 1975)

3.2.19. Родина *Filoviridae* (філовіруси)

Назва родини *Filoviridae* походить від лат. *filum* – нитка, що відображає морфологію віріона.

Родина *Filoviridae* об'єднує 6 родів і 11 видів.

1. Рід *Cuevavirus* (1 вид): кувевавірус Лловіу.
2. Рід *Dianlovirus* (1 вид): діанловірус Менгла.
3. Рід *Ebolavirus* (6 видів): еболавіруси Заїр, Судан, Рестон, Бундібуджио, лісу Тай, Бомбалі.
4. Рід *Marburgvirus* (1 вид): марбургвірус Марбург.
5. Рід *Striavirus* (1 вид): стріавірус Сіланг.
6. Рід *Thamnovirus* (1 вид): тамновірус Хуанцзяо.

Основні ознаки. Віріони плеоморфні, найчастіше мають ниткоподібну форму, завдовжки 790 нм (*Marburgvirus*), 970 нм (*Ebolavirus*) і близько 1400 нм (*Cuevavirus*), діаметром 80 нм. Можуть утворювати розгалужені нитки або структури у вигляді букви U, цифри 6 чи кільця, довжина досягає 4000 нм. (рис. 23, стор. 97). *Структура віріона:* 1) зовнішня ліпопротеїнова оболонка; 2) спіральний нуклеокапсид (серцевина); 3) одноланцюгова РНК (мінус-нитка) завдовжки 18–19 кб, із мол. масою 4,2 МДа; 4) 7 структурних протеїнів, у тому числі РНК-залежна РНК-полімераза (транскриптаза).

Особливості репродукції. Віріони проникають у клітину шляхом рецепторного ендоситозу. Транскрипція та реплікація вірусного генома відбувається в цитоплазмі (за участю вірусної транскриптази,

що функціонує як і репліказа). Складання та вихід віріонів із клітини здійснюється брунькуванням через плазмолему.

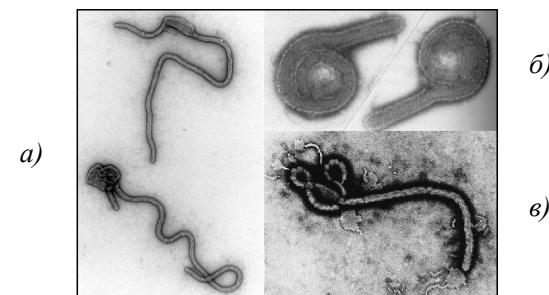


Рис. 23. Еболавірус Заїр

(Murphy F. A., 1976; Філдс Б. та ін., 1989)

Еболавіруси і марбургвірус Марбург є збудниками особливо небезпечних вірусних інфекцій людини, спричиняють тяжкі геморагічні гарячки з високою смертністю. Резервуаром марбургвірусу Марбург є африканські мавпи, а еболавірусів – гризуни. Філовіруси виділені також від кажанів, свиней, риб і жаб.

3.2.20. Родина *Bornaviridae* (борнавіруси)

Назва родини *Bornaviridae* походить від назви німецького міста Борна в Саксонії, де вперше була описана хвороба Борна.

Родина *Bornaviridae* об'єднує 3 роди і 11 видів.

1. Рід *Carbovirus* (2 види): карбовіруси Квінсленда, південного заходу.
2. Рід *Cultervirus* (1 вид): культервірус сазанів.
3. Рід *Orthobornavirus* (8 видів): ортоборнавіруси ссавців 1, 2, горобцеподібних 1, 2, папугоподібних 1, 2, водоплавних птахів 1, аспідових 1.

Основні ознаки. Віріони сферичної форми, діаметром 80–100 нм (рис. 24, стор. 98). *Структура віріона:* 1) зовнішня ліпопротеїнова оболонка; 2) спіральний нуклеокапсид (серцевина); 3) одноланцюгова РНК (мінус-нитка) завдовжки 8,9 кб, із мол. масою 3 МДа; 4) 6 структурних протеїнів, у тому числі РНК-залежна РНК-полімераза (транскриптаза).

Особливості репродукції. Віріони проникають у клітину шляхом рецепторного ендоситозу. Транскрипція та реплікація відбувається в ядрі клітини (за участю вірусної транскриптази,

що функціонує як і репліказа), а складання і вихід віріонів – брунькуванням через плазмолему.

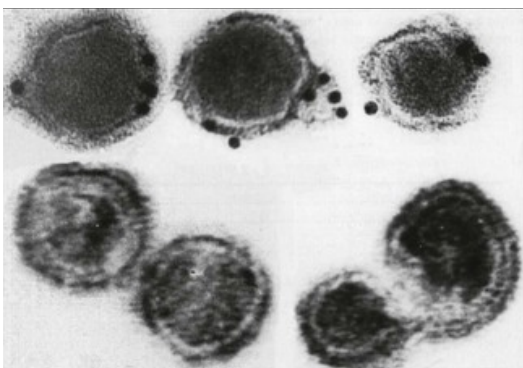


Рис. 24. Борнавірус ссавців 1

(Murphy F. A. et al., 1999)

Борнавірус ссавців 1 спричинює ураження нервової системи в коней, овець, ВРХ, котів, собак, птахів і є патогенним для людини. Серопозитивність серед людей, хворих на шизофренію і маніакально-депресивний психоз, сягає 25%, а в автопсійних зразках мозкової тканини померлих виявляють вірусний антиген і геном.

3.2.21. Родина *Nyamiviridae* (н'ямівіруси)

Назва родини *Nyamiviridae* походить від Nyu Manini Пан (місце ізоляції вірусу Н'яманіні в Південній Африці) і Midway atoll (місце виділення вірусу Мідвей у США).

Родина *Nyamiviridae* об'єднує 4 види вірусів хребетних, які входять до одного роду.

1. Рід *Nyavirus* (4 види): н'ямівіруси Ньяманіні, Мідвей, Сьєрра-Невада, Хасінто.

Основні ознаки. Віріони сферичної форми, діаметром 100–130 нм (рис. 25, стор. 99). *Структура віріона:* 1) зовнішня ліпопротеїнова оболонка; 2) спіральний нуклеокапсид (серцевина); 3) одноланцюгова РНК (мінус-нитка) завдовжки 11,6 кб; 4) 6 структурних протеїнів, у тому числі РНК-залежна РНК-полімераза (транскриптаза).

Особливості репродукції. Віріони проникають у клітину шляхом рецепторного ендцитозу. Транскрипція та реплікація відбувається в ядрі клітини (за участю вірусної транскриптази,

що функціонує як і репліказа), а складання і вихід віріонів – брунькуванням через плазмолему.



Рис. 25. Н'ямівірус Мідвей

(Mihindukulasuriya K. A. et al., 2009)

Н'ямівіруси виділені від морських птахів та аргасових кліщів, які є природними хазяями.

3.2.22. Родина *Sunviridae* (сунвіруси)

Назва родини *Sunviridae* походить від англ. Sunshine Coast – місця виділення вірусу на Сонячному узбережжі Квінсленда, Австралія.

Родина *Sunviridae* представлена лише родом *Sunshinevirus* з єдиним представником – сунчіневірусом рептилій 1.

Основні ознаки. Віріони сферичної форми. *Структура віріона:* 1) зовнішня ліпопротеїнова оболонка; 2) спіральний нуклеокапсид (серцевина); 3) одноланцюгова РНК (мінус-нитка) завдовжки 17,2 кб; 4) 6 структурних протеїнів, у тому числі РНК-залежна РНК-полімераза (транскриптаза).

Особливості репродукції. Віріони проникають у клітину шляхом злиття суперкапсидної оболонки з плазмолемою. Транскрипція та реплікація вірусного генома відбувається в цитоплазмі (за участю вірусної транскриптази, що функціонує як і репліказа). Складання і вихід віріонів із клітини здійснюється брунькуванням через плазмолему.

Природними хазяями вірусу є змії. Сунчіневірус рептилій 1 спричинює неврологічні та респіраторні симптоми хвороби в австралійських пітонів.

3.2.23. Родина *Orthomyxoviridae* (ортоміксовіруси)

Назва родини *Orthomyxoviridae* походить від дав.-грец. *ορθός* – правильний, *μύξα* – слиз. Це пов'язано зі спорідненістю вірусів до мукополісахаридів і глікопротеїнів клітинних мембран (зокрема до клітинних рецепторів, які містять сіалову кислоту).

Родина *Orthomyxoviridae* об'єднує 7 родів і 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): ісавірус лососів.
6. Рід *Quarantavirus* (2 види): кваранджавіруси Кваранфіл, атола Джонстон.

7. Рід *Thogotovirus* (2 види): тогатовіруси Тогото, Дорі.

Основні ознаки. Віріони плеоморфні, найчастіше сферичної форми, діаметром 80–120 нм (рис. 26). Бувають також ниткоподібні віріони завдовжки до 4 мкм. *Структура віріона:* 1) зовнішня ліпопротеїнова оболонка; 2) спіральний нуклеокапсид (серцевина); 3) одноланцюгова фрагментована РНК (6–8 фрагментів, мінус-нитка) завдовжки 10,0–14,6 кб, із мол. масою 5 МДа; 4) 7–8 структурних протеїнів, у тому числі РНК-залежна РНК-полімераза (транскриптаза). *Хімічний склад:* РНК – 1–2%, протеїни – 70%, ліпіди – 18–37%, вуглеводи – 5%.

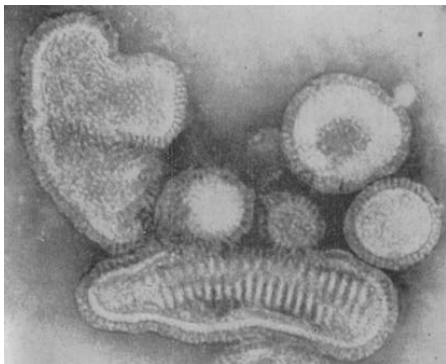


Рис. 26. Вірус грипу А

(Бредлі С. та ін., 1977)

Особливості репродукції. Віріони проникають у клітину шляхом рецепторного ендцитозу. В ядрі відбувається транскрипція

і реплікація вірусного генома (за участю вірусної транскриптази і синтезованих полімеразних протеїнів) та формування нуклеокапсиду. Складання і вихід віріонів із клітини здійснюється брунькуванням через плазмолему. Цикл репродукції триває 6–8 год.

Вірус грипу А повсюдно поширений у природі серед птахів, людей, свиней, коней та інших видів ссавців. Він характеризується високою варіабельністю поверхневих антигенів – Н (18 підтипів) і N (11 підтипів), поєднання яких зумовлює близько 50 антигенних варіантів вірусу. Основна маса їх циркулює серед птахів, особливо качок. Антигенна мінливість вірусу грипу А відбувається за рахунок мутацій під впливом колективного імунітету та рекомбінацій між штамами вірусу, що циркулюють серед людей і тварин. У людини вірус грипу А спричинює не тільки сезонні епідемії, а й глобальні пандемії. Пташині штами вірусу грипу А патогенні для людини і різних видів тварин (свині, коні, коти, тигри, собаки та ін.).

3.2.24. Родина *Amnoonviridae* (амноонвіруси)

Назва родини *Amnoonviridae* походить від євр. *אמנון* – амнон (тилапія).

Родина *Amnoonviridae* представлена одним родом *Tilapinevirus* з єдиним представником – тилапіневірусом тилапій.

Основні ознаки. Віріони сферичної форми, діаметром 55–100 нм. *Структура віріона:* 1) зовнішня ліпопротеїнова оболонка; 2) ікосаедральний капсид; 3) одноланцюгова фрагментована РНК (10 фрагментів, мінус-нитка) завдовжки 10,3 кб; 4) 10 структурних протеїнів, у тому числі РНК-залежна РНК-полімераза (транскриптаза).

Особливості репродукції. Віріони проникають у клітину шляхом рецепторного ендцитозу. В ядрі відбувається транскрипція і реплікація вірусного генома (за участю вірусної транскриптази і синтезованих полімеразних протеїнів) та формування нуклеокапсиду. Складання і вихід віріонів із клітини здійснюється брунькуванням через плазмолему.

Тилапіневірус тилапій був виділений у 2009 р. в Ізраїлі та Екваторі під час масової захворюваності й загибелі риб. Хвороба завдає великих економічних збитків рибництву і шкоди екологічним системам.

3.2.25. Родина *Arenaviridae* (аренавіруси)

Назва родини *Arenaviridae* походить від лат. *arena* – пісок, оскільки на електронограмах клітинні рибосоми, які входять до складу віріонів, мають вигляд великих гранул, що надає віріонам піщаної структури.

Родина *Arenaviridae* об'єднує 4 роди і 54 види.

1. Рід *Antennavirus* (3 види): антеннавіруси лососів, смугастий, волохатий.

2. Рід *Hartmanivirus* (6 видів): гартманвіруси Гаартман, Геймат, Муйккунен, Цюріх, шкільного будинку, Серпатвет.

3. Рід *Mammarenavirus* (40 видів): маммаренавіруси лімфоцитарного хориоменінгіту, аргентинський, парагвайський, бразилійський, Альпагуайо, Каньйону Ведмедя, Чапаре, Купіксі, Флексал, Гайро, Гуанаріто, Іппі, Ласса, Латіно, річки Лоей, Лухо, Луна, Ланк, Мачупо, Маріентал, Меріне Волк, Мобала, Мопейя, Окаханджа, Оліверос, Калі, Пірітал, Планалто, Солвезі, Такарібе, Таміамі, Вайтватер Арройо, Веньчжоу, Рюкю, Серра-ду-Навіу, Алкса, Шеврі, Сурі, Ксапурі, Кітале.

4. Рід *Reptarenavirus* (5 видів): рептаренавіруси золотий, звичайний, Каліфорнія, Гіссен, Роттердам.

Основні ознаки. Віріони плеоморфні, найчастіше сферичної форми, діаметром 50–300 нм (рис. 27). *Структура віріона:* 1) зовнішня ліпопротеїнова оболонка; 2) спіральний нуклеокапсид; 3) одноланцюгова фрагментована кільцева РНК (2 фрагменти, мінус-нитка) завдовжки 11 кб із мол. масою 3,2–4,8 МДа; 4) 4–6 структурних протеїнів, у тому числі РНК-залежна РНК-полімераза (транскриптаза); 5) клітинні рибосоми. *Хімічний склад:* вміст РНК і протеїнів не з'ясовано, ліпіди – 20%, вуглеводи – 8%.

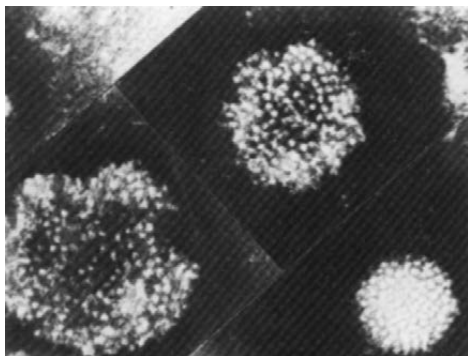


Рис. 27. Маммаренавірус лімфоцитарного хориоменінгіту

(Сюрін В. М. та ін., 1998)

Особливості репродукції. Віріони проникають у клітину шляхом рецепторного ендоцитозу. Транскрипція і реплікація вірусного

генома відбувається в цитоплазмі (за участю вірусної транскриптази і синтезованої реплікази), а складання та вихід віріонів із клітини – брунькуванням через плазмолему. Цикл репродукції триває 8 год.

Аренавіруси є збудниками природно-вогнищевих інфекцій та екологічно зв'язані з гризунами. Для людини патогенними є 9 аренавірусів. Маммаренавіруси Ласса, Мачупо, Гуанаріто, аргентинський і бразилійський спричинюють південно-американські геморагічні лихоманки з високою летальністю і належать до групи особливо небезпечних вірусних інфекцій.

3.2.26. Родина *Peribunyaviridae* (перібун'явіруси)

Назва родини *Peribunyaviridae* походить від грец. *περί* – навколо і назви міста Бун'ямвера (Уганда), де вперше був виявлений типовий вид ортобуньявірус Буньямвера.

Родина *Peribunyaviridae* об'єднує 78 видів вірусів хребетних, які входять до 2 родів.

1. Рід *Orthobunyavirus* (73 види): ортобун'явіруси Буньямвера, Акара, Айно, Акабане, Аньємбі, Апеу, Анофелес А, В, Бакеу, Батама, Батаї, Беневідес, Бертіога, Бушбуш, Бвамба, Буттонвіллов, долини Кеш, водоспаду Портейра, каліфорнійського енцефаліту, Капім, Карапару, форту Шерман, Гамбоа, Гуаяра, Гуама, Гуароа, Леша, Інгвавума, каньйону Джеймстаун, Ятобаль, Кенг Кой, Кейстон, Кунгол, Карапару, Катю, Ла Кросс, Макауа, Магуарі, Мадрид, Мейн Дрейн, Манзанілла, Марітуба, Мінатілан, Мермет, Мелао, Ньяндо, Орібока, Оропуш, Патуа, Пеатон, Сабо, Санго, Сан-Анджело, Седлес, Серра-ду-Навіу, Сімбу, Шмалленберг, Шуні, зайця-біляка, Тете, Трініті, Тагіна, Такаюма, Татагіне, Тенсо, Тете, Тімірі, Тімботеуа, Турлок, Утінга, Вьєомія, Зегла, Тривітаттус.

2. Рід *Pacuvirus* (5 видів): пакувіруси Пакуї, Каїміто, Чілібре, Ріо Прето да Єва, Тапірапе.

Основні ознаки. Віріони плеоморфні, найчастіше сферичної форми, діаметром 80–120 нм (рис. 28, стор. 104). *Структура віріона:* 1) зовнішня ліпопротеїнова оболонка; 2) спіральний нуклеокапсид; 3) одноланцюгова фрагментована кільцева РНК (3 фрагменти, мінус-нитка) завдовжки 11,2–12,5 кб, із мол. масою 4,5–7 МД; 4) 4 структурні протеїни, в тому числі РНК-залежна РНК-полімераза (транскриптаза). *Хімічний склад:* РНК 1–2%, протеїни – 58–70%, ліпіди – 20–30%, вуглеводи – 7%.

Особливості репродукції. Віріони проникають у клітину шляхом рецепторного ендоцитозу. Транскрипція та реплікація вірусного

генома відбувається в цитоплазмі (за участю вірусної транскриптази і синтезованої реплікази), формування віріонів – брунькуванням через мембрани комплексу Гольджі. Віріони звільняються з клітини шляхом екзоцитозу, транспортуючись у цитоплазматичних вакуолях, які зливаються з плазмолемою.

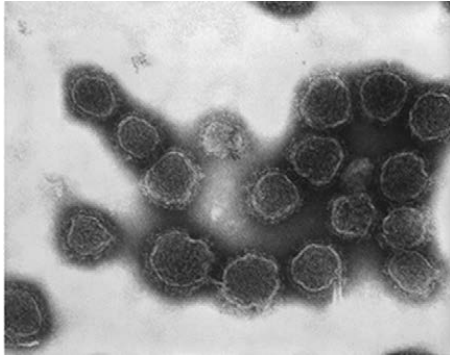


Рис. 28. Ортобун'явірус каліфорнійського енцефаліту

(Murphy F., Palmer E., 2019)

Перібун'явіруси – це типові арбовіруси, що передаються через укуси кровосисних членистоногих (переважно комарів). Резервуаром збудників інфекції є гризуни, птахи і жуйні тварини. Зараження людини відбувається через кров інфікованого членистоного-переносника. Інфекції можуть призвести до різних клінічних проявів у людини і тварин – від субклінічного до летального (залежно від виду вірусу).

3.2.27. Родина *Hantaviridae* (гантавіруси)

Назва родини походить від назви річки Гантаан у південній Кореї, в околицях якої був ізольований однойменний прототипний вірус.

Родина *Hantaviridae* об'єднує 4 підродини, 7 родів і 53 види.

I. Підродина *Actantavirinae* (1 рід):

1. Рід *Actinovirus* (4 види): актиновіруси нетопирових, триакантодових, вудилових, окуневих.

II. Підродина *Agantavirinae* (1 рід):

1. Рід *Agnathovirus* (1 вид): агнатовірус міксинових.

III. Підродина *Mammantavirinae* (4 роди):

1. Рід *Loanvirus* (2 види): лоанвіруси Лунцюань, Брно.

2. Рід *Mobatvirus* (5 видів): мобатвіруси Нова, Лайбінь, Кезон, Ксуан Сон, Лена.

3. Рід *Orthohantavirus* (38 видів): ортогантавіруси Гантаан, Андес, Асама, Асіккала, Баю, каналу Блек Крік, Боу, Брюгге, Кано Дельгадіто, Као Банг, Чокльо, Дабішен, Добрава-Белград, каньйону Ель Моро, Фугун, Фусун, Чеджу, Кенкеме, Хабаровськ, Чорної Лагуни, Лаксі, Мапораль, Монтано, Неоклі, Оксбоу, Проспект Хілл, Пуумала, Рокпорт, Сівіс, Сангассу, Сеул, Сін Номбре, Таїланд, Тиграї, Тула, Якеші, Робіна, Татенале.

4. Рід *Thottimvirus* (2 види): тоттімвіруси Тоттопалаям, Імджін.

IV. Підродина *Repantavirinae* (1 рід):

1. Рід *Reptillovirus* (1 вид): рептиловірус геконів.

Основні ознаки. Віріони сферичної форми, діаметром 80–120 нм (рис. 29). *Структура віріона:* 1) зовнішня ліпопротеїнова оболонка; 2) спіральний нуклеокапсид; 3) одноланцюгова фрагментована кільцева РНК (3 фрагменти, мінус-нитка) завдовжки 11,7–12,2 кб, із мол. масою 4,5–7 МДа; 4) 4 структурні протеїни, у тому числі РНК-залежна РНК-полімераза (транскриптаза).

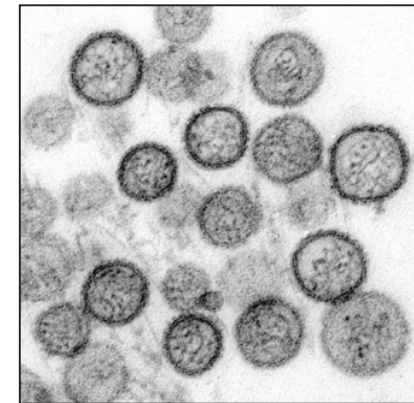


Рис. 29. Ортогантавірус Сін Номбре

(Goldsmith C., 2020)

Особливості репродукції. Віріони проникають у клітину шляхом рецепторного ендоцитозу. Транскрипція та реплікація вірусного генома відбувається в цитоплазмі (за участю вірусної транскриптази і синтезованої реплікази), формування віріонів – брунькуванням через мембрани комплексу Гольджі. Віріони звільняються з клітини шляхом екзоцитозу, транспортуючись у цитоплазматичних вакуолях, які зливаються з плазмолемою.

Гантавіруси належать до екологічної групи робовірусів, які поширюються через гризунів і спричинюють у людей геморагічну гарячку з нирковим синдромом і гантавірусну пневмонію.

3.2.28. Родина *Nairoviridae* (найровіруси)

Назва родини *Nairoviridae* походить від назви міста Найробі (Кенія), де вперше був виділений вірус хвороби овець Найробі.

Родина *Nairoviridae* об'єднує 18 видів вірусів хребетних, які входять до одного роду.

1. Рід *Orthonairovirus* (18 видів): ортонайровіруси Дугбе, Бурана, Бандіа, Ерве, Тамди, геморагічної гарячки Крим-Конго, Дера Газі Хан, Касокеро, Кетера, хвороби овець Найробі, Кальюб, Тіафора, Іссик-Куль, Леопардс Гілл, Туніс, Йог, Сахалін, Хьюз.

Основні ознаки. Віріони сферичної форми, діаметром 80–120 нм (рис. 30). *Структура віріона:* 1) зовнішня ліпопротеїнова оболонка; 2) спіральний нуклеокапсид; 3) одноланцюгова фрагментована кільцева РНК (3 фрагменти, мінус-нитка) завдовжки 18,4–19 кб, із мол. масою 4,8–8 МДа; 4) 4 структурні протеїни, у тому числі РНК-залежна РНК-полімераза (транскриптаза).

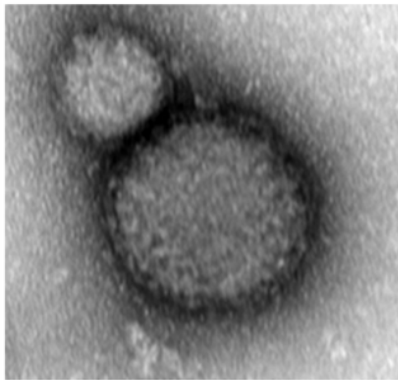


Рис. 30. Ортонайровірус геморагічної гарячки Крим-Конго

(Poljšak-Prijatelj M., Kolenc M., 2019)

Особливості репродукції. Віріони проникають у клітину шляхом рецепторного ендоцитозу. Транскрипція та реплікація вірусного генома відбувається в цитоплазмі (за участю вірусної транскриптази і синтезованої реплікази), формування віріонів – брунькуванням через мембрани комплексу Гольджі. Віріони звільняються з клітини

шляхом екзоцитозу, транспортуючись у цитоплазматичних вакуолях, які зливаються з плазмолемою.

Найровіруси належать до арбовірусів, що передаються через укуси кровосисних членистоногих (переважно кліщів). Спектр хребетних-хазяїв в основному визначається екологією їхніх переносників і включає ссавців, птахів і кажанів. Природним резервуаром найровірусів є кліщі або свійські тварини і мишоподібні гризуни. Найбільше ветеринарне значення має вірус хвороби овець Найробі, а медичне – вірус геморагічної гарячки Крим-Конго.

3.2.29. Родина *Phenuiviridae* (фенуївіруси)

Назва родини *Phenuiviridae* походить від поєднання назв двох родів *Phlebovirus* і *Tenuivirus*.

Родина *Phenuiviridae* об'єднує 31 вид вірусів хребетних, які входять до 3 родів.

1. Рід *Bandavirus* (5 видів): бандавіруси Дабі, Бганджа, Гартленд, Кісмайо, Раздан.

2. Рід *Phlebovirus* (22 види): флебовіруси гарячки долини Ріфт, Аленкер, Анганга, Арумвот, Буджару, Кандіру, Какао, Чагрес, Ечарате, Габек, Горділ, Ікоараці, Ітайтуба, Мальдонадо, Неаполь, Пенчурт, Пунта Торо, Ріо Гранде, Саланга, сицилійський, Тоскана, Урукурі.

3. Рід *Uukuvirus* (4 види): уукувіруси Укуніемі, американського собаки, Мурре, Таченг.

Основні ознаки. Віріони сферичної форми, діаметром 80–120 нм (рис. 31, стор. 108). *Структура віріона:* 1) зовнішня ліпопротеїнова оболонка; 2) спіральний нуклеокапсид; 3) одноланцюгова фрагментована кільцева РНК (3 фрагменти, мінус-нитка) завдовжки 11,3–12,4 кб, із мол. масою 4,5–7 МДа; 4) 4 структурні протеїни, у тому числі РНК-залежна РНК-полімераза (транскриптаза).

Особливості репродукції. Віріони проникають у клітину шляхом рецепторного ендоцитозу. Транскрипція та реплікація вірусного генома відбувається в цитоплазмі (за участю вірусної транскриптази і синтезованої реплікази), формування віріонів – брунькуванням через мембрани комплексу Гольджі. Віріони звільняються з клітини шляхом екзоцитозу, транспортуючись у цитоплазматичних вакуолях, які зливаються з плазмолемою.

Фенуївіруси належать до арбовірусів, що передаються через укуси кровосисних членистоногих (комарів, москітів, іксодових кліщів). У людини флебовіруси спричинюють різноманітні

симптоми – від короткочасної гарячки до енцефаліту і геморагічної гарячки зі смертельним наслідком.

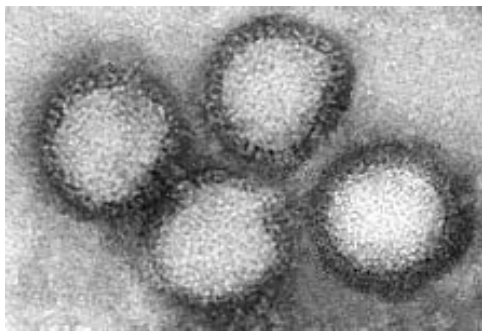


Рис. 31. Флебовірус гарячки долини Ріфт

(Stannard L., 2010)

3.2.30. Родина *Coronaviridae* (коронавіруси)

Назва родини походить від лат. *corona* у зв'язку з характерною морфологією віріонів, які на негативно контрастованих електроннограмах мають виражене зубчасте обрамлення (бахрому) завдяки пепломерам суперкапсидної оболонки. Згідно з іншою інтерпретацією, віріони немовби оточені сонячною короною, і навіть є порівняння з терновим вінцем (*corona spinarum*).

Родина *Coronaviridae* об'єднує 2 підродини, 5 родів, 26 підродів* і 46 видів.

I. Підродина *Letovirinae* (1 рід):

1. Рід *Alphaletovirus* (1 підрід, 1 вид): летовірус вузькоротих квакш 1.

II. Підродина *Orthocoronavirinae* (4 роди):

1. Рід *Alphacoronavirus* (14 підродів, 19 видів): альфакоронавірус 1, коронавіруси людини 229E, NL63, норок 1, кажанів HKU10, CDPHE15, довгокрилих кажанів 1, HKU8, підковоносів HKU2, домових гладконосів 512, звичайних бурозубок T14, гігантських білозубок X74, пацюків Лученг Рн, альфакоронавіруси великих підковоносів NuB-2013, азійських рибоїдних нічниць Sax-2011, китайських вечірниць SC-2013, середземноморських нетопирів 3398, NL63-подібний штабм коронавірусу кажанів BtKYNL63-9b, вірус епідемічної діареї свиней.

2. Рід *Betacoronavirus* (5 підродів, 14 видів): коронавіруси мишей, людини HKU1, важкого гострого респіраторного синдрому,

* Підродини не вказані.

респіраторного синдрому Близького Сходу, справжніх їжаків 1, нетопирів HKU5, китайських пацюків HKU24, лісних полівок 2JL14, кишочкокрилих кажанів HKU4, нічних криланів HKU9, GCCDC1, пальмових криланів C704, бетакоронавіруси 1, листоносів Пратта Чжецзян2013.

3. Рід *Deltacoronavirus* (3 підродини, 7 видів): коронавіруси бюльбюлів HKU11, муній HKU13, HKU15, очеретянок HKU21, нічних чапель HKU19, білоочкових HKU16, свищів HKU20.

4. Рід *Gammacoronavirus* (3 підродини, 5 видів): коронавіруси птахів, птахів 9203, гусей CB17, качок 2714, білуг SW1.

Основні ознаки. Віріони плеоморфні, частіше сферичної форми, діаметром 80–220 нм (рис. 32). *Структура віріона:* 1) зовнішня ліпопротеїнова оболонка; 2) спіральний нуклеокапсид (серцевина); 3) одноланцюгова РНК (плюс-нитка) завдовжки 25–31 кб, із мол. масою 5,5–8,1 МДа; 4) 4–5 структурних протеїнів.

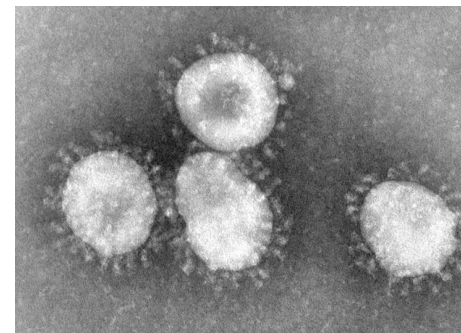


Рис. 32. Коронавірус людини 229E

(Murphy F. A., 1975)

Особливості репродукції. Віріони проникають у клітину шляхом рецепторного ендоцитозу. Транскрипція та реплікація вірусного генома (за участю синтезованої реплікази) відбувається в цитоплазмі, а формування віріонів – брунькуванням через мембрани ендоплазматичної сітки і комплексу Гольджі. Віріони звільнюються з клітини шляхом екзоцитозу, транспортуючись у цитоплазматичних вакуолях, які зливаються з плазмолемою. Цикл репродукції триває 12 год.

Коронавіруси характеризуються видоспецифічністю та спричинюють у ссавців і птахів респіраторні інфекції, ентерити, полісерозити, міокардити, нефрити та імунопатологію (у котів). Збудники SARS, MERS і COVID-19 зумовлюють у людей тяжкі гострі респіраторні синдроми.

3.2.31. Родина *Tobaniviridae* (тобанвіруси)

Родина *Tobaniviridae* об'єднує 13 видів вірусів хребетних, які входять у 4 підродини, 6 родів і 10 підродів*.

I. Підродина *Piscanivirinae* (2 роди):

1. Рід *Bafinivirus* (2 підродини, 2 види): вірус білих лящів, нідовірус товстоголових гольянів 1.

2. Рід *Oncotshavirus* (1 підрід, 1 вид): нідовірус чавич 1.

II. Підродина *Remotovirinae* (1 рід):

Рід *Bostovirus* (1 підрід, 1 вид): нідовірус великої рогатої худоби 1.

III. Підродина *Serpentovirinae* (3 роди):

1. Рід *Infratovirus* (1 підрід, 1 вид): тобанвірус вужових.

2. Рід *Lycovirus* (1 підрід, 1 вид): тобанвірус вовкозубів.

3. Рід *Pregotovirus* (3 підродини, 4 види): нідовіруси королівських пітонів 1, короткохвостих сцинків 1, беріснавірус 1, тобанвірус ромбічних австралійських пітонів 1.

IV. Підродина *Torovirinae* (1 рід):

1. Рід *Torovirus* (1 підрід, 3 види): торовіруси великої рогатої худоби, свиней, коней.

Основні ознаки. Віріони плеоморфні, частіше сферичної форми, діаметром 120–140 нм (рис. 33). *Структура віріона:* 1) зовнішня ліпопротеїнова оболонка; 2) спіральний нуклеокапсид (серцевина); 3) одноланцюгова РНК (плюс-нитка) завдовжки 20–32 кб; 4) 4 структурні протеїни.

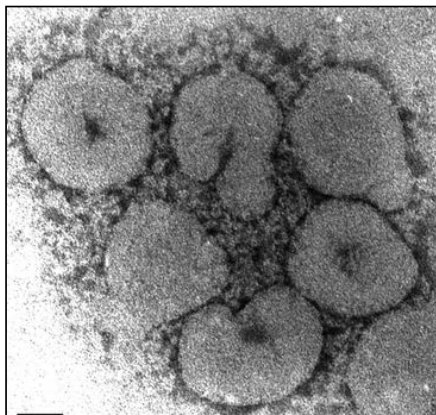


Рис. 33. Торовірус коней

(Snijder E. J., Horzinek M. C. (1993))

* Підродини не вказані.

Особливості репродукції. Віріони проникають у клітину шляхом рецепторного ендоцитозу. Транскрипція та реплікація вірусного генома (за участю синтезованої реплікази) відбувається в цитоплазмі, а формування віріонів – брунькуванням через мембрани ендоплазматичної сітки і комплексу Гольджі. Віріони звільнюються з клітини шляхом екзоцитозу, транспортуючись у цитоплазматичних вакуолях, які зливаються з плазмолемою.

Тобанвіруси уражають ссавців, риб і змій. Зокрема, торовіруси спричиняють у природних хазяїв (ВРХ, свиней, коней) гастроентерити.

3.2.32. Родина *Arteriviridae* (артерівіруси)

Назва родини *Arteriviridae* походить від колишньої назви прототипного вірусу артеріїту коней (нині – альфаартерівірус коней).

Родина *Arteriviridae* об'єднує 6 підродин, 13 родів, 11 підродів* і 23 види.

I. Підродина *Crocarterivirinae* (1 рід):

1. Рід *Muarterivirus* (1 вид): муартерівірус афрігант.

II. Підродина *Equarterivirinae* (1 рід):

1. Рід *Alphaarterivirus* (1 вид): альфаартерівірус коней.

III. Підродина *Heroarterivirinae* (1 рід):

1. Рід *Lambdaarterivirus* (1 вид): лямбдаартерівірус афріпорав.

IV. Підродина *Simarterivirinae* (6 родів):

1. Рід *Deltaarterivirus* (1 підрід, 1 вид): дельтаартерівірус гемфев.

2. Рід *Epsilonarterivirus* (1 підрід, 3 види): епсилонартерівіруси гемцеп, сафрівер, замалб.

3. Рід *Etaarterivirus* (1 вид): атаартерівірус угарко 1.

4. Рід *Iotaarterivirus* (3 підродини, 3 види): йотаартерівіруси кібрег 1, дебразмо, педжа.

5. Рід *Thetaarterivirus* (2 підродини, 2 види): тетаартерівіруси мікелба 1, кафуба.

6. Рід *Zetaarterivirus* (1 вид): зетаартерівірус угарко 1.

V. Підродина *Variarterivirinae* (3 роди):

1. Рід *Betaarterivirus* (4 підродини, 6 видів): бетаартерівіруси свиней 1, 2, чінрав 1, нінрав, шеоїн, тіміклар.

2. Рід *Gammaarterivirus* (1 вид): гаммаартерівірус лакде.

3. Рід *Nuarterivirus* (1 вид): нуартерівірус гуемел.

VI. Підродина *Zealarterivirinae* (1 рід):

1. Рід *Kappaarterivirus* (1 вид): капсаартерівірус вобум.

* Підродини не вказані.

Основні ознаки. Віріони сферичної форми, діаметром 50–74 нм (рис. 34). *Структура віріона:* 1) зовнішня ліпопротеїнова оболонка; 2) ікосаедральний нуклеокапсид; 3) одноланцюгова РНК (плюс-нитка) завдовжки 12,7–15,7 кб, із мол. масою 4,1 МДа; 4) 7 структурних протеїнів.

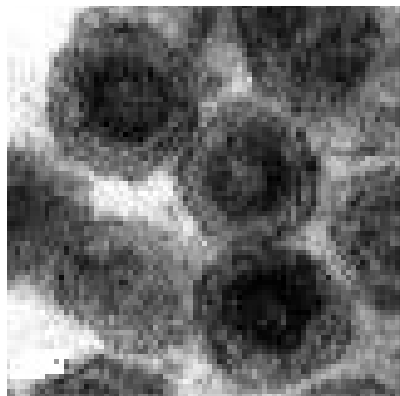


Рис. 34. Бетаартерівірус свиней 1

(Львов Д. К. та ін., 2013)

Особливості репродукції. Віріони проникають у клітину шляхом рецепторного ендоцитозу. Транскрипція та реплікація вірусного генома відбувається в цитоплазмі (за участю синтезованої реплікази), а формування віріонів – брунькуванням через мембрани ендоплазматичної сітки і комплексу Гольджі. Віріони звільняються з клітини шляхом екзоцитозу, транспортуючись у цитоплазматичних вакуолях, які зливаються з плазмолемою. Цикл репродукції триває 24 год.

Артерівіруси мають вузький спектр патогенності, уражають коней, свиней, мавп, гризунів і спричиняють у своїх хазяїв респіраторну та внутрішньоутробну інфекції (аборти, мертвонародженість), поліомієліт, геморагічну гарячку. Для ветеринарної практики актуальними є вірусний артеріт коней і респіраторно-репродуктивний синдром свиней.

3.2.33. Родина *Togaviridae* (тогавіруси)

Назва родини *Togaviridae* походить від лат. *toga* – плащ, що підкреслює наявність у структурі віріона суперкапсидної оболонки.

Родина *Togaviridae* об'єднує 27 видів вірусів хребетних, які входять до одного роду.

1. Рід *Alphavirus* (27 видів): віруси Сіндбіс, лісу Барма, Бебару, Кабассу, Чікункунья, східного енцефаломієліту коней, західного енцефаломієліту коней, венесуельського енцефаломієліту коней, Еверглейдс, Форт Морган, Гета, Гайлендс-Джи, Мадаріага, Майяро, Міддельбург, Моссо дас Педрас, Мукамбо, О'Ньонг-ньонг, Піксуна, Ріо Негро, річки Росс, лісу Семліки, південних морських слонів, Тонате, Уна, Ватароа, хвороби підшлункової залози лососів.

Основні ознаки. Віріони сферичної форми, діаметром 65–70 нм (рис. 35). *Структура віріона:* 1) зовнішня ліпопротеїнова оболонка; 2) ікосаедральний нуклеокапсид; 3) одноланцюгова РНК (плюс-нитка) завдовжки 9,7–11,8 кб, із мол. масою 3–4 МДа; 4) 3–4 структурні протеїни. *Хімічний склад:* РНК – 3–8%, протеїни – 57–66%, ліпіди – 17–31%, вуглеводи – 6–9%.

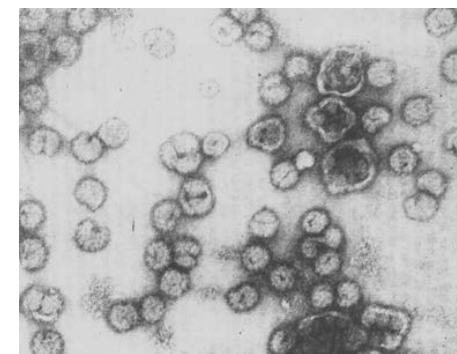


Рис. 35. Вірус венесуельського енцефаломієліту коней

(Львов Д. К. та ін., 1989)

Особливості репродукції. Віріони проникають у клітину шляхом рецепторного ендоцитозу. Транскрипція та реплікація вірусного генома відбувається в цитоплазмі (за участю синтезованої реплікази), а складання і вихід віріонів – брунькуванням через плазмолему. Цикл репродукції триває 5–8 год.

Тогавіруси – типові арбовіруси, що передаються кровосисними членистоногими (здебільшого комарами). Їхнім резервуаром у природі є птахи і гризуни, в деяких випадках – примати. Патогенними для людини є 14 тогавірусів. Найбільше медичне значення мають венесуельський, східний і західний енцефаломієліти коней, гарячки Чікункунья, О'Ньонг-ньонг, Сіндбіс і річки Росс.

3.2.34. Родина *Flaviviridae* (флавівіруси)

Назва родини *Flaviviridae* походить від лат. *flavus* – жовтий у зв'язку з назвою хвороби людини – жовта гарячка, збудник якої належить до цієї родини.

Родина *Flaviviridae* об'єднує 87 видів вірусів хребетних, які входять до 4 родів.

1. Рід *Flavivirus* (51 види): віруси жовтої гарячки, омської геморагічної гарячки, кліщового енцефаліту, японського енцефаліту, енцефаліту долини Муррей, енцефаліту Сент Луїс, менінгоенцефаліту індіків Ізраїля, Апої, Ароа, Багаза, Банзі, Бубуї, кажанів Букаласа, Каціпакорре, острова Кері, Ковбоне Рідж, кажанів Дакар, Денге, Едж Гілл, кажанів Ентеббе, Гаджетс Гуллі, Ільєус, Югра, Ютіапа, Кадам, Кокобра, Коутанго, хвороби лісу Кьясанур, Лангат, хвороби Люпінга, Меабан, Модок, лейко енцефаліту нічних Монтана, Нтая, кажанів Пномпень, Повассан, Ріо Браво, Ройял Фарм, Сабоя, Сал Вієя, Сан Перліта, рифу Саумарез, Сепік, Тембусу, Тюленьчий, Уганда S, Усуту, Вессельсброн, Західного Нілу, Йокосе, Зіка.

2. Рід *Hepacivirus* (14 видів): гепацівіруси А, В, С, D, Е, F, G, H, I, J, K, L, M, N.

3. Рід *Pegivirus* (11 видів): пегівіруси А, В, С, D, Е, F, G, H, I, J, K.

4. Рід *Pestivirus* (11 видів): пестівіруси А, В, С, D, Е, F, G, H, I, J, K.

Основні ознаки. Віріони сферичної форми, діаметром 40–60 нм (рис. 36). *Структура віріона:* 1) зовнішня ліпопротеїнова оболонка; 2) ікосаедральний нуклеокапсид; 3) одноланцюгова РНК (плюс-нитка) завдовжки 9,6–12,3 кб, із мол. масою 4,2 МДа; 4) 3–4 структурні протеїни. *Хімічний склад:* РНК – 8%, протеїни – 66%, ліпіди – 17%, вуглеводи – 9%.



Рис. 36. Пестівірус С
(Сюрін В. М. та ін., 1998)

Особливості репродукції. Віріони проникають у клітину шляхом рецепторного ендцитозу. Транскрипція та реплікація вірусного генома відбувається в цитоплазмі (за участю синтезованої реплікази), а складання віріонів – брунькуванням через мембрани ендоплазматичної сітки. Віріони звільняються з клітини шляхом екзоцитозу, транспортуючись у цитоплазматичних вакуолях. Цикл репродукції триває 24–30 год.

Представники роду *Flavivirus* належать до арбовірусів, що передаються комарами і кліщами. Багато флавівірусів екологічно зв'язані з птахами і здатні у зв'язку з цим до трансконтинентальної інтродукції. Патогенними для людини є 33 види, які спричинюють епідемічні спалахи енцефалітів і геморагічні гарячки. Гепацівірус С спричинює рак печінки. Для ветеринарної практики актуальними є класична чума свиней і вірусна діарея ВРХ.

3.2.35. Родина *Matonaviridae* (матонавіруси)

Родина *Matonaviridae* названа на честь німецького лікаря Дж. де Матона, який у 1814 р. уперше відрізняв краснуху від кору.

Родина *Matonaviridae* має 1 рід і 3 види.

1. Рід *Rubivirus* (3 види): рубіруси краснухи, рутеттенсе, стреленсе.

Основні ознаки. Віріони сферичної форми, діаметром 60–70 нм (рис. 37). *Структура віріона:* 1) зовнішня ліпопротеїнова оболонка; 2) ікосаедральний нуклеокапсид; 3) одноланцюгова РНК (плюс-нитка) завдовжки 9,7 кб; 4) 3 структурні протеїни.

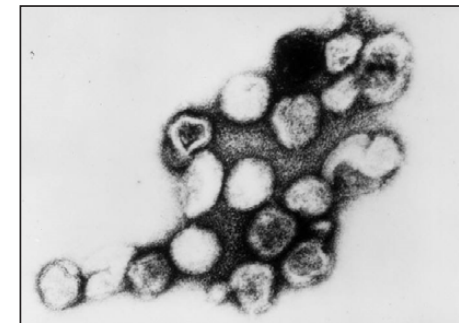


Рис. 37. Вірус краснухи
(Palmer E., 1981)

Особливості репродукції. Віріони проникають у клітину шляхом рецепторного ендцитозу. Транскрипція та реплікація вірусного

генома відбувається в цитоплазмі (за участю синтезованої реплікази), а складання віріонів – брунькуванням через мембрани комплексу Гольджі. Віріони звільняються з клітини шляхом екзоцитозу, транспортуючись у цитоплазматичних вакуолях. Цикл репродукції триває 30–48 год.

Вірус краснухи, крім гострого захворювання, може спричинити внутрішньоутробну патологію плоду: вроджену краснуху (катаракта, глухота, вади серця) і прогресуючий краснушний паненцефаліт.

3.2.36. Родина *Olifoviridae* (оліфовіруси)

Родина *Olifoviridae* представлена єдиним видом – нідовірусом змії олігодонів 1, який входить до роду *Kukrinivirus*, підродини *Gofosavirinae*.

Основні ознаки. Віріони сферичної форми. *Структура віріона:* 1) зовнішня ліпопротеїнова оболонка; 2) ікосаедральний нуклеокапсид; 3) одноланцюгова РНК (плюс-нитка); 4) 3 структурні протеїни.

Особливості репродукції не досліджені. Гіпотетично можна припустити, що, подібно до інших РНК-вмісних плюс-ниткових вірусів, транскрипція та реплікація вірусного генома відбувається в цитоплазмі (за участю синтезованої реплікази), а складання і вихід віріонів – брунькуванням через плазмолему.

Нідовірус змії олігодонів 1 спричинює в пітонів та удавів тяжке респіраторне захворювання, іноді зі смертельним наслідком.

3.2.37. Родина *Picornaviridae* (пікорнавіруси)

Назва родини *Picornaviridae* походить від лат. *picus* – маленький, англ. *RNA* – РНК, у зв'язку з малими розмірами вірусного генома і самих віріонів.

Родина *Picornaviridae* об'єднує 68 родів і 158 видів.

1. Рід *Aalivirus* (1 вид): аалівірус А.
2. Рід *Ailurivirus* (1 вид): айлуравірус А.
3. Рід *Ampivirus* (1 вид): амівірус А.
4. Рід *Anativirus* (2 види): анатівіруси А, В.
5. Рід *Aphthovirus* (4 види): віруси ящуру, риніту великої рогатої худоби А, В, риніту коней А.
6. Рід *Aquamavirus* (1 вид): аквамавірус А.
7. Рід *Avihepatovirus* (1 вид): авігепатовірус А.
8. Рід *Avisivirus* (3 види): авісівіруси А, В, С.
9. Рід *Boosepivirus* (3 види): боосепівіруси А, В, С.

10. Рід *Bopivirus* (1 вид): бопівірус А.
11. Рід *Caecivirus* (1 вид): цецилівірус А.
12. Рід *Cardiovirus* (6 видів): кардіовіруси А, В, С, D, E, F.
13. Рід *Cosavirus* (5 видів): косавіруси А, В, D, E, F.
14. Рід *Crahelivirus* (1 вид): крагелівірус А.
15. Рід *Crohivirus* (2 види): крогівіруси А, В.
16. Рід *Danipivirus* (1 вид): данівірус А.
17. Рід *Dicipivirus* (2 види): кадівіруси А, В.
18. Рід *Diresapivirus* (2 види): діресапівірус А, В.
19. Рід *Enterovirus* (15 видів): ентеровіруси А, В, С, D, E, F, G, H, I, J, K, L, риновіруси А, В, С.
20. Рід *Erbovirus* (1 вид): ербовірус А.
21. Рід *Felipivirus* (1 вид): феліпівірус А.
22. Рід *Fipivirus* (6 видів): фіпівіруси А, В, С, D, E, F.
23. Рід *Gallivirus* (1 вид): галлівірус А.
24. Рід *Gruhelivirus* (1 вид): гругелівірус А.
25. Рід *Grusopivirus* (2 види): грусопівіруси А, В, С.
26. Рід *Harkavirus* (1 вид): гаркавірус А.
27. Рід *Hemipivirus* (1 вид): геміпівірус А.
28. Рід *Hepatovirus* (9 видів): гепатовіруси А, В, С, D, E, F, G, H, I.
29. Рід *Hunnivirus* (1 вид): гуннівірус А.
30. Рід *Kobuvirus* (6 видів): айчівіруси А, В, С, D, E, F.
31. Рід *Kunsagivirus* (3 види): кунсагівіруси А, В, С.
32. Рід *Limnipivirus* (4 види): лімніпівіруси А, В, С, D.
33. Рід *Livupivirus* (1 вид): лівупівірус А.
34. Рід *Ludopivirus* (1 вид): лудопівірус А.
35. Рід *Malagasivirus* (2 види): малагасівіруси А, В.
36. Рід *Marsupivirus* (1 вид): марсупівірус А.
37. Рід *Megrivirus* (5 видів): мегрівіруси А, В, С, D, E.
38. Рід *Mischivirus* (5 видів): мішівіруси А, В, С, D, E.
39. Рід *Mosavirus* (2 види): мосавіруси А, В.
40. Рід *Mupivirus* (1 вид): мупівірус А.
41. Рід *Myrropivirus* (1 вид): мирропівірус А.
42. Рід *Orivirus* (1 вид): орівірус А.
43. Рід *Oscivirus* (1 вид): осцівірус А.
44. Рід *Parabovirus* (3 види): парабовіруси А, В, С.
45. Рід *Parechovirus* (6 видів): пареховіруси А, В, С, D, E, F.
46. Рід *Pasivirus* (1 вид): пасівірус А.
47. Рід *Passerivirus* (2 види): пассерівіруси А, В.
48. Рід *Pemapivirus* (2 види): пемапівірус А, В.

49. Рід *Poecivirus* (1 вид): поєцівірус А.
50. Рід *Potamipivirus* (2 види): потаміпівіруси А, В.
51. Рід *Pygospicivirus* (1 вид): пігоспєпівірус А.
52. Рід *Rabovirus* (4 види): рабовіруси А, В, С, D.
53. Рід *Rafivirus* (3 види): рафівіруси А, В, С.
54. Рід *Rajidapivirus* (1 вид): раджідапівірус А.
55. Рід *Rohelivirus* (1 вид): рогелівірус А.
56. Рід *Rosavirus* (3 види): росавіруси А, В, С.
57. Рід *Sakobuvirus* (1 вид): сакобувірус А.
58. Рід *Salivirus* (1 вид): салівірус А.
59. Рід *Sapelovirus* (2 види): сапеловіруси А, В.
60. Рід *Senecavirus* (1 вид): сенєкавірус А.
61. Рід *Shanbavirus* (1 вид): шанбавірус А.
62. Рід *Sicinivirus* (1 вид): сіцінівірус А.
63. Рід *Symapivirus* (1 вид): сімапівірус А.
64. Рід *Teschovirus* (2 види): тєшовіруси А, В.
65. Рід *Torchivirus* (1 вид): торчівірус А.
66. Рід *Tottorivirus* (1 вид): тоттовірус А.
67. Рід *Tremovirus* (2 види): трємовіруси А, В.
68. Рід *Tropivirus* (1 вид): тропівіруси А, В.

Основні ознаки. Віріони сферичної форми, діаметром 22–30 нм (рис. 38). *Структура віріона:* 1) ікосаєдральний капсид (60 структурних одиниць); 2) одноланцюгова РНК (плюс-нитка) із мол. масою 2,4–2,7 МДа; 3) 4 структурні протеїни. *Хімічний склад:* РНК – 30 %, протеїни – 70 %.

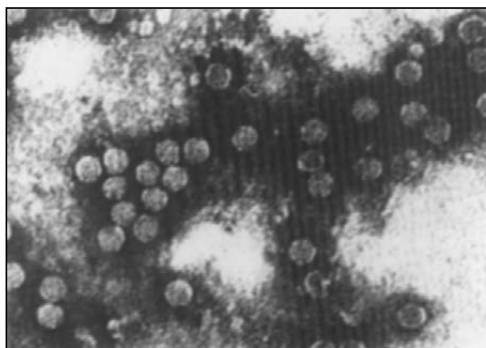


Рис. 38. Ентеровірус G
(Сюрін В. М. та ін., 1998)

Особливості репродукції. Віріони проникають у клітину шляхом рецепторного ендоцитозу. У цитоплазмі відбувається транскрипція і реплікація вірусного генома (за участю синтезованої реплікази) та складання віріонів. Вихід віріонів із клітини здійснюється внаслідок її деструкції. Цикл репродукції триває 5–10 год.

Пікорнавіруси здебільшого мають вузький спектр хазяїв. Вони уражають травний тракт, дихальні шляхи, нервову і м'язову системи, будучи етіологічними агентами широкого спектра захворювань – від ГРВЗ і кон'юнктивітів до менінгітів, енцефалітів та міокардитів. Найбільше медичне значення мають ентеровірус С (збудник поліомієліту), гепатовірус А (збудник гепатиту А) та ентеровіруси, які спричинюють ураження ЦНС, гастроентерит, міокардіопатію, пневмонію. Для ветеринарної практики актуальними є вірус ящуру і тєшовіруси А і В (збудники хвороби Тєшена).

3.2.38. Родина *Caliciviridae* (каліцівіруси)

Назва родини *Caliciviridae* від лат. calix – чаша, кубок, у зв'язку із чашеподібними заглибинами на сферичній поверхні капсиду.

Родина *Caliciviridae* об'єднує 11 родів і 13 видів.

1. Рід *Bavovirus* (1 вид): вірус Баварія.
2. Рід *Lagovirus* (2 види): віруси геморагічної хвороби кролів, синдрому європейських зайців-русаків.
3. Рід *Minovirus* (1 вид): міновірус А.
4. Рід *Nacovirus* (1 вид): наковірус А.
5. Рід *Nebovirus* (1 вид): вірус Ньюбері 1.
6. Рід *Norovirus* (1 вид): вірус Норволк.
7. Рід *Recovirus* (1 вид): рековірус А.
8. Рід *Salovirus* (1 вид): вірус Норланд.
9. Рід *Sapovirus* (1 вид): вірус Саппоро.
10. Рід *Valovirus* (1 вид): вірус Сен-Валерієн.
11. Рід *Vesivirus* (2 види): вірус везикулярної екзантеми свиней, каліцівірус котів.

Основні ознаки. Віріони сферичної або ікосаєдральної форми, діаметром 27–40 нм (рис. 39, стор. 120). *Структура віріона:* 1) ікосаєдральний капсид (32 капсомери); 2) одноланцюгова РНК (плюс-нитка) завдовжки 7,4–8,3 кб, із мол. масою 2,6–2,8 МДа; 3) 3 структурні протеїни. *Хімічний склад:* РНК – 18 %, протеїни – 82 %.

Особливості репродукції. Віріони проникають у клітину шляхом рецепторного ендоцитозу. У цитоплазмі відбувається транскрипція та реплікація вірусного генома (за участю синтезованої реплікази)

і складання віріонів. Вихід віріонів із клітини здійснюється внаслідок її деструкції. Цикл репродукції триває 6–8 год.

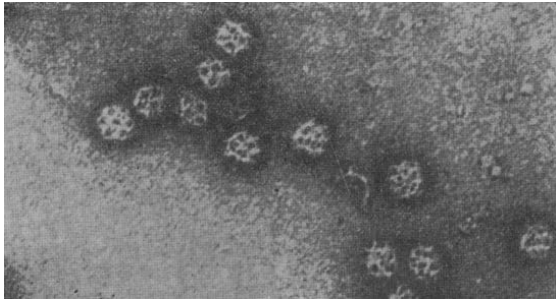


Рис. 39. Вірус везикулярної екзантеми свиней
(Філдс Б. та ін., 1989)

Каліцівіруси уражають різні види тварин і здебільшого мають вузький спектр патогенності. Віруси Саппоро і Норволк є патогенними для людини, спричинюючи гастроентерит. Для ветеринарної практики актуальними є віруси геморагічної хвороби кролів, везикулярної екзантеми свиней і каліцівірус котів.

3.2.39. Родина *Astroviridae* (астровіруси)

Родина *Astroviridae* походить від грец. ἄστρον – зірка, яку нагадують віріони на електронограмах.

Родина *Astroviridae* об'єднує 2 роди і 22 види.

1. Рід *Avastrovirus* (3 види): авастровіруси 1, 2, 3.

2. Рід *Mamastrovirus* (19 видів): мамастровіруси 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19.

Основні ознаки. Віріони сферичної форми, діаметром 28–30 нм, за культивування в культурі клітин – до 41 нм (рис. 40, стор. 121). *Структура віріона:* 1) ікосаедральний капсид (60 структурних одиниць, 32 капсомери); 2) одноланцюгова РНК (плюс-нитка) завдовжки 6,4–7,7 кб; 3) 3 структурні протеїни.

Особливості репродукції. Віріони проникають у клітину шляхом рецепторного ендцитозу. В цитоплазмі відбувається транскрипція і реплікація вірусного генома (за участю синтезованої реплікази) та складання віріонів. Вихід віріонів із клітини здійснюється внаслідок її деструкції.

Астровіруси має обмежений спектр патогенності та спричинюють гастроентерити у природних хазяїв. У птахів астровіруси здатні уражати не тільки кишечник, а й інші внутрішні органи, зокрема

розвивається тяжкий гепатит із високою смертністю. Авастровіруси можуть стати причиною масової загибелі ембріонів у курей і качок.

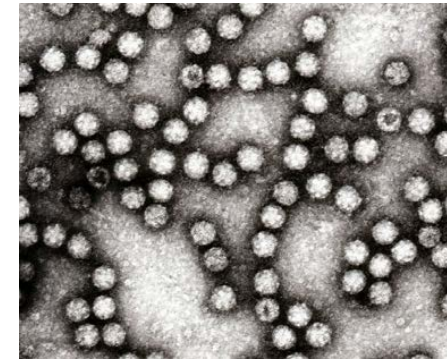


Рис. 40. Мамастровірус 1
(Colm G., 2008)

3.2.40. Родина *Hepeviridae* (гепевіруси)

Назва родини *Hepeviridae* походить від назви хвороби – гепатит Е, що спричинює ортогепевірус А.

Родина *Hepeviridae* об'єднує 2 роди і 5 видів.

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

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

Основні ознаки. Віріони сферичної форми, діаметром 27–34 нм (рис. 41). *Структура віріона:* 1) ікосаедральний капсид (60 структурних одиниць, 32 капсомери); 2) одноланцюгова РНК (плюс-нитка) завдовжки 7,2 кб; 3) 2 структурні протеїни.



Рис. 41. Ортогепевірус А
(Широкобоков В. П. та ін., 2011)

Особливості репродукції. Віріони проникають у клітину шляхом рецепторного ендоцитозу. В цитоплазмі відбувається транскрипція і реплікація вірусного генома (за участю синтезованої реплікази) та складання віріонів. Вихід віріонів із клітини здійснюється внаслідок її деструкції.

Природний резервуар гепевірусів знаходиться в дикій природі. Ортогепевірус А (збудник гепатиту Е) широко циркулює в популяціях свійських і диких свиней. Специфічні антитіла виявлені у багатьох видів сільськогосподарських тварин, птахів і гризунів. Гепатит Е в людини зазвичай перебігає безсимптомно, епідемічні спалахи виникають у країнах із тропічним і субтропічним кліматом. Серйозну небезпеку ортогепевірус А становить для вагітних жінок, в яких інфекція має дуже тяжкий перебіг із летальністю до 20%. Вірус може долати плацентарний бар'єр і спричинити загибель плоду й неонатальні захворювання.

3.2.41. Родина *Nodaviridae* (нодавіруси)

Назва родини *Nodaviridae* походить від назви вірусу Нодамура, який уперше ізольований від комарів в околицях японського села Нодаші.

Родина *Nodaviridae* об'єднує 5 видів вірусів хребетних, які входять до 2 родів.

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

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

Основні ознаки. Віріони сферичної форми, діаметром 25–35 нм (рис. 42, стор. 123). *Структура віріона:* 1) ікосаедральний капсид (60 структурних одиниць); 2) одноланцюгова фрагментована РНК (плюс-нитка, 2 фрагменти) завдовжки 4,5 кб, із мол. масою 1,58 МДа; 3) 3 структурні протеїни.

Особливості репродукції. В цитоплазмі відбувається транскрипція і реплікація вірусного генома (за участю синтезованої реплікази) та складання віріонів. Вихід віріонів із клітини здійснюється внаслідок її деструкції.

Нодавіруси спричинюють некроз нервової тканини в морських риб із високою смертністю і завдають збитки рибництву. Вірус Нодамура здатний до репродукції в клітинах ссавців і членистоногих.

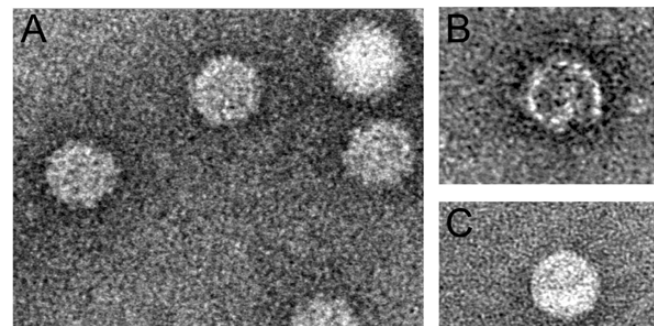


Рис. 42. Вірус некрозу нервової тканини плямистих груперів

(Chen N.-C. et al., 2015)

3.2.42. Родина *Retroviridae* (ретровіруси)

Назва родини *Retroviridae* походить від лат. retro – назад, що пов'язано з активністю зворотної транскриптази вірусу і передачі генетичної інформації від РНК до ДНК.

Родина *Retroviridae* об'єднує 2 підродини, 11 родів і 68 видів.

1. 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, Фуджінами, UR2, Y73.

2. Рід *Betaretrovirus* (5 видів): віруси пухлини молочних залоз мишей, мавп Мейсон – Пфайзера, лангурів, ретровіруси овець Джаагсіекте, саймірі.

3. Рід *Deltaretrovirus* (4 види): Т-лімфотропні віруси приматів 1, 2, 3, вірус лейкозу великої рогатої худоби.

4. Рід *Epsilonretrovirus* (3 види): віруси шкірної саркоми судаків, епідермальної гіперплазії судаків 1, 2.

5. Рід *Gammaretrovirus* (18 видів): віруси лейкемії котів, мишей, мавп гібонів, саркоми шерстистих мавп, саркоми котів Гарднер – Арнштайн, Харді – Цукерман, Снайдер – Тейлен, саркоми мишей Харві, Фінкель – Біскіс – Джанкінс, Кірстен, Молоні, ретикулоендотеліозу, некрозу селезінки качок, онковіруси типу-С свиней, типу-С мурчаків, синцитіальний вірус курчат, ретровіруси коал, гадюк.

6. Рід *Lentivirus* (10 видів): віруси імунодефіциту людини 1, 2, мавп, великої рогатої худоби, котів, віруси інфекційної анемії коней, віснії/меді, артрити-енцефаліту кіз, хвороби Джембрана, лентівірус пум.

II. Підродина *Spumaretrovirinae* (5 родів):

1. Рід *Bovisputavirus* (1 вид): пінистий вірус великої рогатої худоби.

2. Рід *Equisputavirus* (1 вид): пінистий вірус коней.

3. Рід *Felisputavirus* (1 вид): пінистий вірус котів.

4. Рід *Prosimiisputavirus* (1 вид): пінистий вірус великих коричневих галаго просіміанців.

5. Рід *Simiisputavirus* (15 видів): мавпячі пінисті віруси східних шимпанзе, центральних шимпанзе, західних шимпанзе, борнейських орангутангів, гриветів, генонів, японських макак, макаки резус, мавп-павуків, макак-крабоїдів, білячих мавп, тайванських макак, західних низинних горил, мармозеток, жовтобрюхих капуцинів.

Основні ознаки. Віріони сферичної форми, діаметром 80–100 нм (рис. 43). *Структура віріона:* 1) зовнішня ліпопротеїнова оболонка; 2) серцевина, яка включає ікосаедральний капсид і спіральний нуклеопротеїновий комплекс; 3) дві молекули одноланцюгової РНК (плюснитки) завдовжки 7–13 кб, із мол. масою 6 МДа; 4) 8–10 структурних протеїнів, у тому числі РНК-залежна ДНК-полімераза (зворотна транскриптаза, або ревертаза) та інтеграза; 5) клітинна тРНК. *Хімічний склад:* РНК – 2%, протеїни – 60%, ліпіди – 35%, вуглеводи – 3%.



Рис. 43. Вірус лейкемії мишей

(Биковський А. Ф. та ін., 1983)

Особливості репродукції. Віріони проникають у клітину шляхом рецепторного ендоцитозу. В ядрі відбувається транскрипція і реплікація вірусного генома (за участю ревертази) з утворенням ДНК-провірусу, який інтегрує з клітинним геномом (за участю інтегрази)

і транскрибується клітинною транскриптазою. Складання і вихід віріонів із клітини здійснюється брунькуванням через плазмолему. Цикл репродукції триває 24–48 год.

Ретровіруси уражають широке коло хребетних хазяїв, є видоспецифічними. Більшість із них проявляє виражений тропізм до клітин лімфоретикулярної та гемопоетичної системи. У патології людини мають значення збудники ВІЛ-інфекції та Т-клітинного лейкозу.

3.2.43. Родина *Reoviridae* (реовіруси)

Назва родини *Reoviridae* походить від англ. respiratory, enteric, orphan (сирота), що вказує на джерело виділення вірусів і певну невідомість щодо спричинюваних ними захворювань.

Родина *Reoviridae* об'єднує 55 видів вірусів хребетних, які входять до 2 підродин і 6 родів.

I. Підродина *Sedoreovirinae* (3 роди):

1. Рід *Orbivirus* (22 види): віруси блутанга, африканської чуми коней, перуанської чуми коней, енцефалозу коней, епізоотичної геморагічної хвороби, Чангвінола, Ченуда, ущелини Чобар, Корріпарта, Евбенандже, Великого Острова, Ієрі, Лебомбо, Орунго, Пальям, річки Санкт Круа, Уматілла, Вад Медані, Валлал, Варрего, Вонгорр, орбівірус Юньнань.

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

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* (5 видів): колтівіруси колорадської кліщової гарячки, Еяч, Кундаль, лісу Тай, Тарумідзу.

3. Рід *Orthoreovirus* (9 видів): ортореовіруси ссавців, бабуїнів, Бухти Нельсона, птахів, риб, Брума, черепах, рептилій, новий ортореовірус птахів.

Основні ознаки. Віріони сферичної форми, діаметром 60–80 нм (рис. 44, стор. 126). *Структура віріона:* 1) два ікосаедральні капсиди; 2) дволанцюгова фрагментована РНК (10–12 фрагментів) завдовжки 15–27 кб, із мол. масою 12–20 МДа, яка разом із внутрішнім капсидом утворює серцевину; 3) 6–10 структурних протеїнів, у тому числі РНК-залежна РНК-полімераза (транскриптаза). *Хімічний склад:* РНК – 15–20%, протеїни – 80–85%.

Особливості репродукції. Віріони проникають у клітину шляхом рецепторного ендоцитозу. У цитоплазмі відбувається транскрипція та реплікація вірусного генома (за участю вірусної транскриптази,

що функціонує як і репліказа) і складання віріонів. Вихід віріонів із клітини здійснюється внаслідок її деструкції. Цикл репродукції триває 8–10 год.

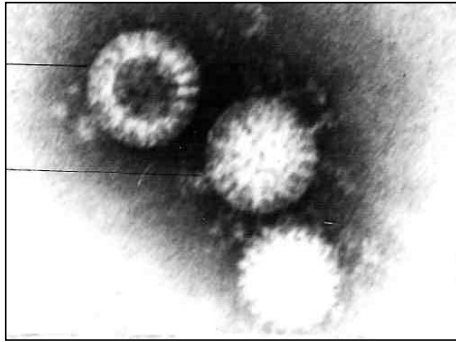


Рис. 44. Ротавірус В
(Скибіцький В. Г., 1984)

У тварин і людини орторевіруси спричинюють респіраторні та кишкові захворювання, ротавіруси – гастроентерити. Орбівіруси та колтвіруси є збудниками арбовірусних інфекцій тварин і людини, що передаються через укуси кровосисних членистоногих (переважно кліщів).

3.2.44. Родина *Birnaviridae* (бірнавіруси)

Назва родини *Birnaviridae* походить від лат. *bi* – два та англ. *RNA* – РНК у зв'язку з тим, що вірусний геном являє собою дволанцюгову РНК, поділену на два фрагменти.

Родина *Birnaviridae* об'єднує 5 видів вірусів хребетних, які входять до 3 родів.

1. Рід *Aquabirnavirus* (2 види): віруси інфекційного некрозу підшлункової залози, асцити жовтохвостів.

2. Рід *Avibirnavirus* (1 вид): вірус інфекційної бурсальної хвороби.

3. Рід *Blosnavirus* (2 види): вірус плямистих змієголовів, бірнавірус білих морських окунів.

Основні ознаки. Віріони ікосаедральної форми, діаметром 60–70 нм (рис. 45, стор. 127). *Структура віріона:* 1) ікосаедральний капсид; 2) дволанцюгова фрагментована РНК (2 фрагменти) завдовжки 5,9–6,9 кб, із мол. масою 4,8 МДа; 3) 4 структурні протеїни, у тому числі РНК-залежна РНК-полімераза (транскриптаза). *Хімічний склад:* РНК – 10%, протеїни – 90%.

Особливості репродукції. Віріони проникають у клітину шляхом рецепторного ендоцитозу. У цитоплазмі відбувається транскрипція та реплікація вірусного генома (за участю вірусної транскриптази і синтезованої реплікази) і складання віріонів, а вихід із клітини – внаслідок її деструкції. Цикл репродукції триває 6–8 год.

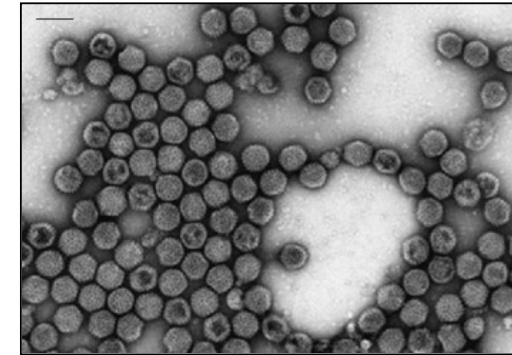


Рис. 45. Вірус інфекційної бурсальної хвороби
(Lepault J., 2012)

Бірнавіруси уражають птахів, річкових і морських риб, моллюсків, коловерток, комах. Серед бірнавірусів найбільше ветеринарне значення має вірус інфекційної бурсальної хвороби, який уражає фабрицієву сумку й інші лімфоїдні органи в курей, зумовлюючи імунодепресію та високу смертність курчат 3–10-тижневого віку.

3.2.45. Родина *Picobirnaviridae* (пікобірнавіруси)

Назва родини *Picobirnaviridae* походить від лат. *pico* – маленький і *bi* – подвійний, що відображає невеликі розміри генома, утримуючи його два сегмента дцРНК

Родина *Picobirnaviridae* має 1 рід і 3 види.

1. Рід *Picobirnavirus* (3 види): пікобірнавіруси людини, коней, Бейгай.

Основні ознаки. Віріони сферичної форми, діаметром 33–37 нм (рис. 46, стор. 128). *Структура віріона:* 1) ікосаедральний капсид; 2) дволанцюгова фрагментована РНК (2 фрагменти) завдовжки 3,9–4,5 кб; 3) 2–3 структурні протеїни, в тому числі РНК-залежна РНК-полімераза (транскриптаза).

Особливості репродукції не досліджені. Гіпотетично можна припустити, що подібно до бірнавірусів, у цитоплазмі відбувається

транскрипція і реплікація вірусного генома (за участю вірусної транскриптази і синтезованої реплікази) та складання віріонів, а вихід із клітини – внаслідок її деструкції.

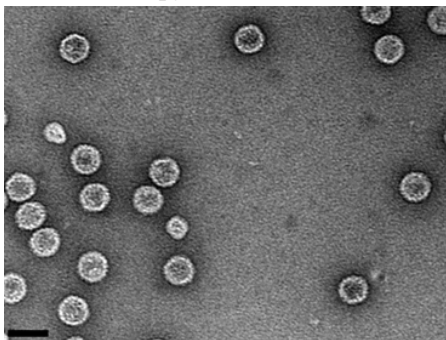


Рис. 46. Пікобірнаввірус людини

(Collier A. M. et al., 2016)

Пікобірнаввіруси поширені серед людей, ссавців, птахів і рептилій. В основному вони були виявлені у калі та неочищених стічних водах. Пікобірнаввіруси можуть спричинити діарею у людей з ослабленим імунітетом.

3.2.46. Рід *Deltavirus* (дельтавірус)

Рід *Deltavirus* представлений одним видом – вірусом гепатиту дельта.

Назва роду і вірусу походить від назви «дельта-антиген», який був виявлений в РІФ в ядрах гепатоцитів у хворих на хронічний гепатит В.

Основні ознаки. Віріони сферичної форми, діаметром 36–43 нм (рис. 47, стор. 129). *Структура віріона:* 1) зовнішня оболонка; 2) внутрішній нуклеокапсид; 3) одностороння кільцева РНК (мінус-нитка) завдовжки 1,7 кб із мол. масою 500 кДа; 4) 2 структурні протеїни.

Особливості репродукції. Вірус гепатиту дельта є сателітом. Він репродукується тільки в присутності вірусу гепатиту В: із HBs-антигену формується оболонка віріона. Адсорбція і проникнення вірусу відбуваються завдяки HBs-антигену шляхом злиття оболонки віріона з плазмолемою. В ядрі гепатоцитів здійснюється транскрипція та реплікація вірусного генома (за участю клітинної транскриптази).

Вірус гепатиту дельта безпосередньо спричинює руйнування гепатоцитів на відміну від вірусу гепатиту В, де лізис клітин є наслідком імунопатологічних реакцій організму.

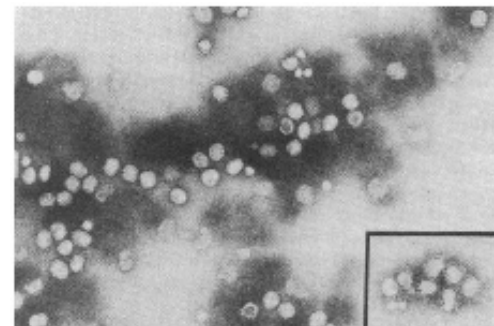


Рис. 47. Вірус гепатиту дельта

(Rizzetto M., 1980)

Контрольні запитання

1. На яких принципах базувалися ранні класифікації вірусів? **2.** Коли запропоновано проєкт універсальної класифікації вірусів та які критерії сучасної класифікації вірусів? **3.** Назвіть таксономічні ранги ДНК- і РНК-геномних вірусів. **4.** Охарактеризуйте номенклатуру вірусів. **5.** Дайте таксономічну характеристику родин ДНК-геномних вірусів тварин і людини. **6.** Дайте таксономічну характеристику родин РНК-геномних вірусів тварин і людини.

Розділ 4

РЕПРОДУКЦІЯ ВІРУСІВ

4.1. Особливості репродукції вірусів

Віруси є автономними генетичними структурами, що не мають власних систем синтезу протеїнів. Тому вони здатні розмножуватися тільки в чутливих клітинах різних організмів (від бактерій до людини), куди вносять лише свою генетичну інформацію. Вірусам властивий унікальний спосіб розмноження – *диз'юнктивна репродукція*. Це означає, що в зараженій клітині синтез вірусних структурних компонентів роз'єднаний у часі та просторі, відбувається відносно незалежно один від одного, а віріони потомства формуються за принципом самоскладання.

Усі процеси репродукції вірусів відбуваються в клітині за рахунок її сировинних та енергетичних ресурсів і протеїносинтезувального апарату. Вірусні нуклеїнові кислоти синтезуються з нуклеотидів клітини. Синтез вірусних протеїнів здійснюється на рибосомах із використанням клітинних амінокислот і тРНК. Джерелом енергії для біосинтетичних процесів за репродукції вірусів слугує аденозинтрифосфорна кислота (АТФ), що виробляється в мітохондріях клітини.

Синтез нуклеїнових кислот вірусів здійснюють ензими – *полімерази*. Залежно від типу нуклеїнової кислоти, що синтезується, розрізняють *ДНК-полімеразу* (ДНК-залежну ДНК-полімеразу) та *РНК-полімеразу*, яка має кілька *різновидів*: 1) ДНК-залежна РНК-полімераза (транскриптаза) – синтезує мРНК на матриці ДНК; 2) РНК-залежна РНК-полімераза (транскриптаза) – синтезує мРНК на матриці РНК; 3) РНК-залежна РНК-полімераза (репліказа) – здійснює реплікацію РНК у плюс-ниткових вірусів.

У РНК-вмісних мінус-ниткових вірусів із лінійною РНК функцію реплікази виконує віріонна транскриптаза. У РНК-вмісних мінус-ниткових вірусів із фрагментованим геномом реплікацію здійснюють синтезовані полімеразні протеїни. У РНК-вмісних вірусів із дволанцюговою фрагментованою РНК реплікація відбувається за участю новосинтезованої транскриптази, що функціонує як репліказа.

Унікальний ензим містять ретровіруси – *зворотну транскриптазу (ревертазу)*, що має різні ферментативні властивості та синтезує ДНК на матриці РНК.

У деяких випадках синтез вірусних нуклеїнових кислот відбувається за участю клітинних полімераз. Проте частіше цей процес забезпечують вірусоспецифічні полімерази. Вони поділяються на *віріонні*, які знаходяться в складі віріонів і разом з ними проникають у клітину, і *вірусіндуковані*, що синтезуються на рибосомах зараженої клітини згідно з генетичною інформацією вірусу. Полімерази характеризуються високою специфічністю.

Процес репродукції вірусів складається з двох етапів.

Перший етап включає такі *стадії*: 1) адсорбція віріонів на плазмолемі клітини; 2) проникнення віріонів у клітину; 3) депротейнізація (роздягання) віріонів. Початкові стадії репродукції спрямовані на те, щоб вірус проник у відповідні структури клітини і його нуклеїнова кислота звільнилася від суперкапсидної та капсидної оболонки.

Як тільки ця мета досягнута, починається *другий етап* репродукції, під час якого відбувається експресія вірусного генома, синтез вірусних компонентів і відтворення інфекційного потомства. На цьому етапі виділяють *дві фази*:

1) *екліпс-фаза* – це інтервал між зникненням батьківських віріонів унаслідок дезінтеграції та появою вірусного потомства;

2) *фаза дозрівання* – період, що супроводжується формуванням і накопиченням віріонів потомства в клітині або поза нею.

Другий етап включає такі *стадії*: 1) транскрипція вірусного генома; 2) трансляція вірусних мРНК; 3) реплікація вірусного генома; 4) формування віріонів; 5) вихід віріонів із клітини.

Віріони потомства, що нараховуються десятками тисяч, опинившись у екстрацелюлярному середовищі, заражають сусідні клітини, і в кожній із них цикл репродукції повторюється від початку до кінця.

4.2. Адсорбція віріонів на плазмолемі клітини

Репродукція вірусів починається з процесу *адсорбції* – прикріплення віріонів до плазмолемі клітини (рис. 48, стор. 132). Перший контакт вірусу з клітиною виникає в результаті випадкового зіткнення за типом броунівського руху, причому ранні етапи адсорбції мають неспецифічний характер. В основі їх лежить *електростатична взаємодія* між певними угрупованнями на поверхні вірусу і клітини,

а саме: позитивно зарядженими амініними групами вірусного протеїну і негативно зарядженими кислими фосфатними, сульфатними й карбоксильними групами клітинної плазмолемі. Проте тільки *високоспецифічна взаємодія* між вірусними прикріплювальними протеїнами і рецепторами плазмолемі забезпечує адсорбцію вірусу.

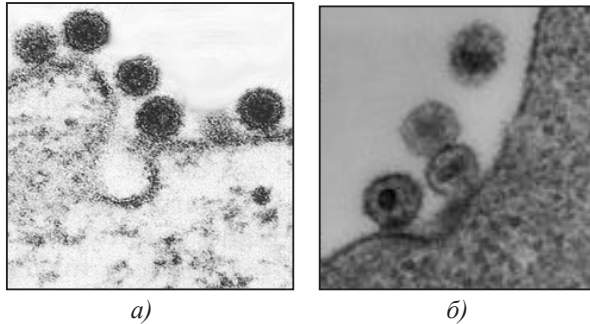


Рис. 48. Адсорбція на плазмолемі клітин вірусів гепатиту С (а) та імунodefіциту людини 1 (б)
(Широкобоков В. П. та ін., 2011)

Прикріплювальні протеїни, які впізнають специфічні клітинні рецептори, знаходяться в капсидній чи суперкапсидній оболонці вірусу (залежно від складності його організації). Вони можуть входити до складу унікальних органел, таких як фібрили в аденовірусів або Т-парних бактеріофагів. У багатьох складно організованих вірусів прикріплювальні протеїни (глікопротеїни) формують виступи – пепломери.

Клітинні рецептори, з якими зв'язуються віруси, представлені глікопротеїнами. Їхня кількість на одну клітину коливається зазвичай у межах від 10^4 до 10^5 , а іноді досягає і 500 тис. Наявність специфічних рецепторів зумовлює *чутливість клітин* до вірусів. Клітинні рецептори висококонсервативні, й заміна амінокислот у них може призвести до втрати інфекційності або зміни тропізму вірусу (наприклад, людські штами вірусу грипу А стають патогенними для птахів і навпаки). Клітинні рецептори слугують не лише для прикріплення вірусу, а й для подальшого його внутрішньоклітинного транспортування в певні ділянки цитоплазми та ядра, де відбувається його дезінтеграція.

Процес адсорбції складається з двох послідовних **стадій**: *зворотної та незворотної*. Спочатку виникає поодинокий зв'язок між

віріоном і рецептором. Проте таке прикріплення неміцне, і віріон може легко відірватися від клітинної поверхні. Для настання незворотної адсорбції мають з'явитися *множинні зв'язки* між віріоном і численними молекулами рецепторів. Їхня кількість у ділянках адсорбції може досягати 3000. Таке мультвалентне прикріплення виникає внаслідок вільного переміщення молекул рецепторів у подвійному ліпідному шарі плазмолемі. *Збільшення текучості ліпідів* – одна з найбільш ранніх подій під час взаємодії вірусу з клітиною. Крім того, адсорбція вірусу супроводжується також іншими структурними і функціональними змінами плазмолемі, такими як агрегація внутрішньомембранних часток і збільшення її проникливості.

Тривалість адсорбції залежить від кількісного співвідношення вірусу і клітин, рН, температури, концентрації іонів позаклітинного середовища. Наприклад, вірус ящуру адсорбується в культурі клітин нирки свині за 2...4 °С і 37 °С. Однак за низької температури адсорбція є зворотною, тоді як за 37 °С через 80–90 хв настає незворотна адсорбція.

Кількість адсорбованого вірусу та інфікованих клітин залежить в основному від множинності зараження і тривалості адсорбції. До однієї клітини може приєднатися від 20 до 15 тисяч віріонів. Більшість адсорбованих віріонів елююється, і вони можуть втратити здатність до повторної адсорбції на інших клітинах. Решта віріонів проникає в клітину і дезінтегрується. Незначна кількість адсорбованих віріонів залишається інтактною.

4.3. Проникнення віріонів у клітину

Адсорбовані віріони проникають у клітину *двома шляхами*: 1) рецепторний ендцитоз; 2) злиття оболонки віріона з плазмолемою (рис. 49, стор. 134). Обидва механізми проникнення вірусів у клітини не є альтернативними, а доповнюють один одного.

Рецепторний ендцитоз – добре налагоджений механізм, який забезпечує швидке проникнення в клітину необхідних для її життєдіяльності речовин. Цей процес відбувається на спеціалізованих ділянках плазмолемі, де розміщені *спеціальні ямки* зі специфічними рецепторами, вистелені з боку цитоплазми високомолекулярним протеїном – *клатрином*. У місцях адсорбції плазмолема швидко вгинається і виникає *ендоцитарна вакуоля*, яка зливається з іншими внутрішньоклітинними вакуолями, утворюючи *рецептосому* – велику

короткоіснуючу вакуоль, що містить віріон (рис. 50). Потім рецептосома зливається з клітинними мембранами (в тому числі з ядерною), звільняючи віріон (точніше його внутрішній компонент, як побачимо далі) у відповідних ділянках клітини.

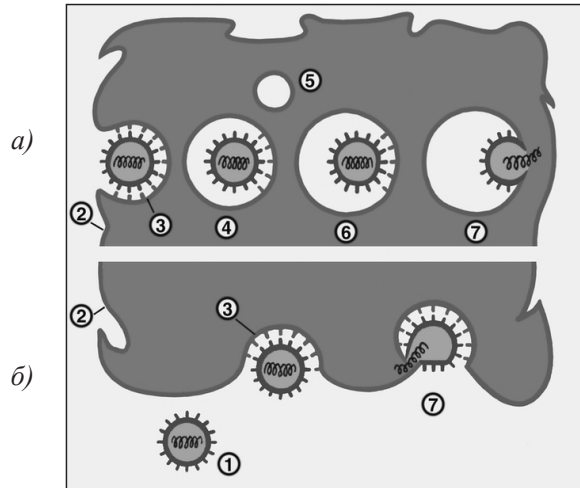


Рис. 49. Проникнення вірусу в клітину шляхом рецепторного ендцитозу (а) і злиття оболонки віріона з плазмолемою (б):

- 1 – віріон; 2 – плазмолема; 3 – ямка з рецепторами;
- 4 – цитоплазматична вакуоля з віріоном; 5 – вакуоля;
- 6 – рецептосома; 7 – вихід внутрішнього компонента віріона в цитоплазму

(https://pjkjnfdbf.ucoz.ru/index/quot_virusy_ehto_samozvanye_diktatory_quot/0-61)

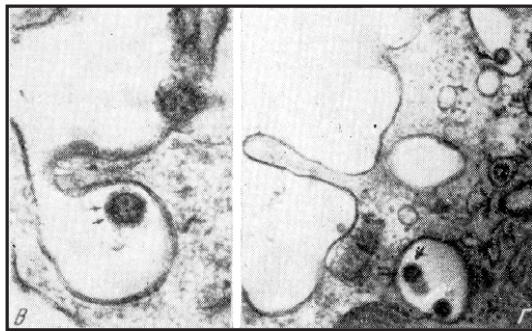


Рис. 50. Проникнення вірусу грипу А в клітину шляхом рецепторного ендцитозу

(Жданов В. М., Гайдамович С. Я., 1966)

Отже, рецепторний ендцитоз забезпечує проникнення і внутрішньоклітинне транспортування віріонів. Саме цим шляхом потрапляє в чутливі клітини більшість вірусів, незалежно від складності їхньої організації.

Інший механізм проникнення вірусів у клітини – *злиття оболонки віріона з плазматичною мембраною* (рис. 51). У результаті суперкапсидна чи капсидна оболонка вірусу інтегрує з плазмолемою, а внутрішній компонент віріона (серцевина, нуклеокапсид або нуклеїнова кислота – сама чи в комплексі з геномними протеїнами) проникає в цитоплазму. У складно організованих вірусів цей процес зумовлений *взаємодією протеїнів злиття з ліпідами плазмолемі*. У просто організованих вірусів цю функцію виконують деякі капсидні протеїни. Процес злиття вірусної оболонки з плазмолемою потребує низьких значень рН (5,0–5,75), що пов'язано з конформаційними змінами вірусних протеїнів злиття.

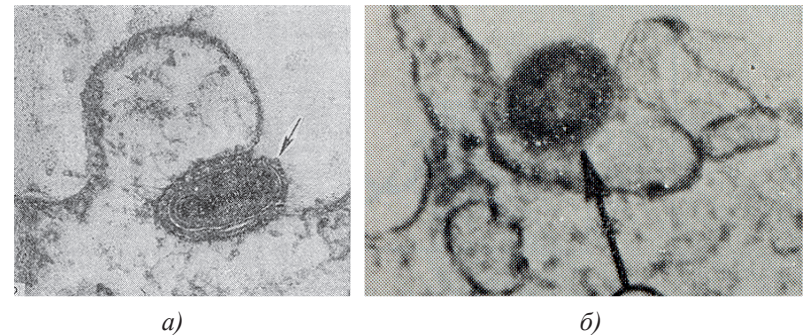


Рис. 51. Проникнення вірусу вісповакцини (а) та ортоавулавірусу птахів 1 (б) у клітини шляхом злиття оболонки віріона з плазмолемою

(Жданов В. М., Гайдамович С. Я., 1966; Сюрін В. М. та ін., 1998)

Швидкість проникнення вірусу залежить не лише від рН, а й від температури. Так, проникнення вірусу ящуру в клітину триває 30 с за 37 °С, 6 хв за 20 °С, а за 15 °С майже повністю припиняється.

4.4. Депротейнізація (роздягання) віріонів

Для того, щоб спричинити інфекційний процес, віріони повинні позбутися своїх оболонок (суперкапсидної та капсидної), які перешкоджають експресії вірусного генома. Цей процес називається **депротейнізацією**, або **роздяганням**. У результаті звільняється **внутрішній компонент віріона** (рис. 52): серцевина, нуклеокапсид, нуклеїнова кислота в комплексі з геномними протеїнами або сама нуклеїнова кислота залежно від структурної організації вірусу. Саме ці структури ініціюють наступну стадію репродукції вірусу – **транскрипцію**. Для експресії вірусного генома зовсім не обов'язкове повне звільнення його від протеїнів. Усе залежить від структурної організації вірусу.

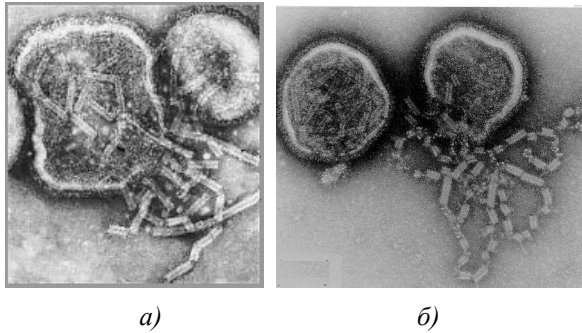


Рис. 52. Депротейнізація респіровірусу людини 1
(Stannard L. M., 2005)

Депротейнізація нерозривно пов'язана з проникненням і внутрішньоклітинним транспортуванням вірусів. Вона відбувається в **різних ділянках клітини**: рецептосомах, лізосомах, комплексі Гольджі, навколоядерному просторі, порах ядерної мембрани, ядрі. Депротейнізація різних вірусів має свою специфіку. У вірусів, які потрапляють у клітину шляхом злиття оболонки віріона з плазмолемою, проникнення і депротейнізація – єдиний нероздільний процес. У рецептосомах відбувається злиття оболонки віріона зі стінками вакуолі, внаслідок чого вірус роздягається і його внутрішній компонент опиняється в цитоплазмі. У разі злиття рецептосоми з ядерною оболонкою вірусна ДНК опиняється в ядрі, а вірусні протеїни залишаються в цитоплазмі.

Депротейнізація є багатоетапним процесом, який відбувається поступово в результаті послідовних реакцій. У ньому беруть

участь **клітинні протеази**. Наявність у клітинах відповідних ензимів, здатних забезпечити роздягання вірусу, є важливим фактором (поряд зі специфічними рецепторами), що зумовлює їхню чутливість до вірусу. У депротейнізації деяких вірусів (зокрема поксвірусів) беруть участь не лише клітинні ензими, а й **вірусоспецифічні протеїни**, що синтезуються на ранніх стадіях репродукції.

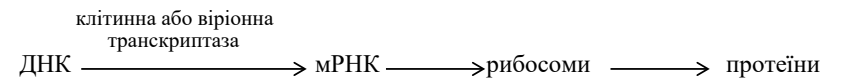
У разі порушення внутрішньоклітинного транспортування до місць депротейнізації віріони потрапляють у лізосоми і руйнуються їхніми гідролітичними ензимами, які є одним із захисних факторів клітини від вірусів. Однак, наприклад, реовіруси успішно використовують саме ці ензими для депротейнізації. Депротейнізація реовірусів у лізосомах починається через 20–30 хв після проникнення і завершується впродовж 2–3 год. Швидкість цього процесу залежить від температури: за 37 °С депротейнізація відбувається втричі швидше, ніж за 20 °С, а за 4 °С практично припиняється.

Отже, початковий етап взаємодії вірусу з клітиною завершується його дезінтеграцією та звільненням вірусного генома.

4.5. Транскрипція вірусних геномів

Стратегія вірусного генома спрямована на те, щоб ефективно реалізувати свою генетичну інформацію і переключити сировинні й енергетичні ресурси клітини та її протеїносинтезувальний апарат на синтез вірусоспецифічних молекул. Ключовим моментом у репродукції вірусів є використання для синтезу власних протеїнів клітинних рибосом, яким вірус повинен передати свою генетичну інформацію через посередника – мРНК. Цей процес переписування генетичної інформації з вірусного генома на мРНК називається **транскрипцією**.

У **ДНК-вмісних вірусів**, незалежно від структури ДНК, передавання генетичної інформації відбувається за такою самою схемою, як і в клітині:



Більшість ДНК-вмісних вірусів реплікується в ядрі, тому вони успішно використовують для синтезу мРНК клітинну транскриптазу. Реплікація покс- та асфарвірусів відбувається в цитоплазмі, де немає клітинної транскриптази. Тому ці віруси мають власні ензими для синтезу мРНК, які входять до складу віріонів.

У **РНК-вмісних вірусів із позитивним геномом**, в яких віріонна РНК виконує функцію мРНК, передавання генетичної інформації здійснюється просто:

РНК \longrightarrow рибосоми \longrightarrow протеїни

Так реалізують свою генетичну інформацію корона-, артері-, тобан-, тога-, флаві-, матона-, оліфо-, пікорна-, каліці-, астро-, гепеї- і нодавїруси. У них фактично немає транскрипції як самостійної стадії репродукції.

Інша річ у РНК-вмісних вірусів, геном яких не може виконувати функцію мРНК. До них належать дві групи вірусів: з **одноланцюговою мінус-нитковою РНК** (параміксо-, пневмо-, рабдо-, філо-, борна-, н'ямі-, сун-, ортоміксо-, амноон-, арена-, ганта-, найро-, перібун'я- і фенуївіруси) і з **дволанцюговою РНК** (рео-, бірна- і пікобірнавїруси). Передавання генетичної інформації в цих вірусів відбувається за такою схемою:

РНК $\xrightarrow{\text{транскриптаза}}$ мРНК \longrightarrow рибосоми \longrightarrow протеїни

У клітині немає ензимів, які можуть здійснити транскрипцію вірусного РНК-генома. Цей вірусоспецифічний ензим *РНК-залежна РНК-полімераза* (або *транскриптаза*) знаходиться в складі віріонів і разом з ними проникає в клітину.

Серед РНК-вмісних вірусів є **родина ретровірусів**, які мають унікальний шлях передавання генетичної інформації – з РНК на ДНК:

РНК $\xrightarrow[\text{(ревертаза)}]{\text{зворотна транскриптаза}}$ ДНК $\xrightarrow{\text{інтеграза}}$ клітинний геном \longrightarrow
 клітинна транскриптаза \longrightarrow мРНК \longrightarrow рибосоми \longrightarrow протеїни

У складі ретровірусів є особливий ензим – *зворотна транскриптаза* (або *ревертаза*), що переписує генетичну інформацію з одноланцюгової РНК на дволанцюгову ДНК. Цей процес називається *зворотною транскрипцією*. Після утворення кільцевої форми вірусоспецифічна ДНК інтегрує з клітинним геномом (за участю вірусного ензиму *інтегрази*) і, будучи його складовою частиною, переписується на мРНК за участю клітинної транскриптази. Оскільки мРНК ретровірусів ідентична віріонній РНК, ретровіруси належать до плюс-ниткових вірусів.

Коли було розкрито механізми реалізації генетичної інформації у вірусів, утратив актуальність такий головний у свій час критерій для визначення природи вірусів, як наявність у них лише однієї

нуклеїнової кислоти. Як бачимо, всі ДНК-геномні віруси індукують у зараженій клітині синтез вірусоспецифічних мРНК. Такий самий процес відбувається у РНК-вмісних вірусів із негативним геномом і дволанцюговою РНК. У РНК-вмісних плюс-ниткових вірусів віріонна РНК виконує функцію іРНК. Ретровіруси синтезують на матриці геномної РНК комплементарну ДНК. Отже, ці факти не дають змоги використовувати критерій «наявність лише однієї нуклеїнової кислоти» для визначення кардинальної відмінності вірусів від клітинних форм життя.

Транскрипція вірусного генома жорстко контролюється впродовж інфекційного циклу як вірусоспецифічними, так і клітинними механізмами. Новосинтезовані вірусні мРНК транспортуються до рибосом, де передається генетична інформація та здійснюється синтез вірусних протеїнів.

4.6. Трансляція вірусних мРНК

Трансляція – це переведення генетичної інформації з мРНК на послідовність амінокислот у поліпептидному ланцюгу протеїну.

Стратегія вірусного генома спрямована на те, щоб переключити протеїносинтезувальний апарат клітини на продукцію вірусних протеїнів. Це здійснюють вірусоспецифічні ініціювальні фактори (особливі протеїни), які блокують зв'язування клітинних мРНК із рибосомами та стимулюють трансляцію вірусних мРНК.

Геном вірусів тварин кодує синтез від 1 до 100 і більше протеїнів (структурних і неструктурних). Стратегія вірусного генома щодо реалізації генетичної інформації розрахована на *два основні механізми синтезу вірусних протеїнів*.

У ДНК-вмісних і більшості РНК-вмісних вірусів (за винятком плюс-ниткових) на батьківській матриці синтезуються внаслідок вибіркової транскрипції одного гена короткі моноцистронні* мРНК, кожна з яких несе інформацію про один протеїн. Вони транслюються на рибосомах з утворенням зрілих вірусних протеїнів (рис. 53, стор. 140).

У РНК-вмісних плюс-ниткових вірусів віріонна РНК здатна функціонувати як мРНК. Вона транслюється на рибосомах з утворенням гігантського поліпептиду-попередника (поліпротеїну), який потім

* Цистрон – синонім гена.

послідовно нарізується на зрілі функціонально активні протеїни (рис. 54).

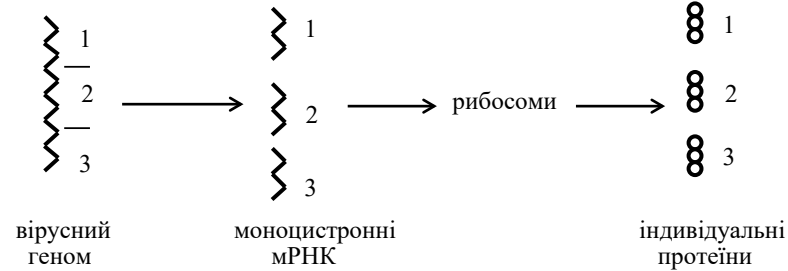


Рис. 53. Схема синтезу протеїнів ДНК-вмісних та РНК-вмісних вірусів із негативним геномом і дволанцюговою РНК
(цифрами 1, 2, 3 умовно позначені окремі гени та продукти їхньої експресії)

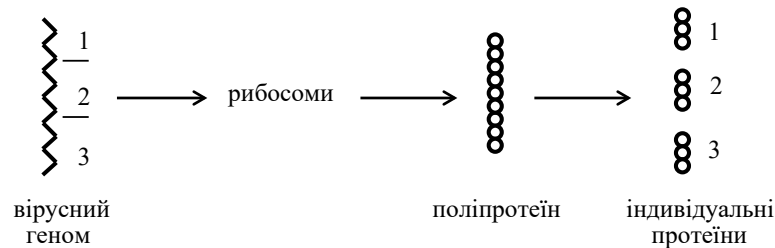


Рис. 54. Схема синтезу протеїнів РНК-вмісних вірусів із позитивним геномом
(цифрами 1, 2, 3 умовно позначені окремі гени та продукти їхньої експресії)

За аналогічною схемою синтезуються протеїни *ретровірусів* після транскрипції ДНК-провірусу, інтегрованого з клітинним геномом (рис. 55, стор. 141).

Оскільки довжина вірусних мРНК коливається в широких межах залежно від способу трансляції, розміри *вірусоспецифічних полісом* теж різні: від 3–4 до кількох десятків рибосом на одній нитці іРНК. Великі полісоми формуються в процесі репродукції РНК-вмісних плюс-ниткових вірусів, в яких індивідуальні протеїни утворюються після нарізання поліпротеїну, наприклад, агрегати з 20–60 рибосом у пікорнавірусів.

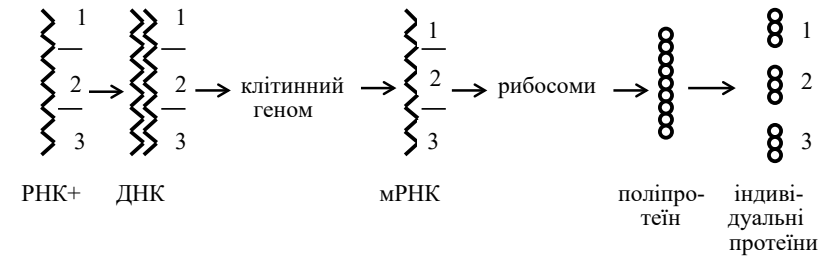


Рис. 55. Схема синтезу протеїнів ретровірусів
(цифрами 1, 2, 3 умовно позначені окремі гени та продукти їхньої експресії)

Послідовність і кількість синтезованих протеїнів регулюється на рівні транскрипції, а в деяких випадках – і на рівні ініціації трансляції.

Вірусні протеїни зазнають численних *посттрансляційних модифікацій*, які потрібні для експресії їхньої біологічної активності. Це – глікозилювання, сульфування, ацилювання, метилювання, фосфорилювання і протеолітичне нарізання. Зокрема, фосфорилювання геномних протеїнів відіграє регулювальну роль у транскрипції й трансляції вірусних мРНК, впізнаванні їх рибосомами, а також специфічному впізнаванні синтезованих протеїнів і нуклеїнових кислот на стадії складання віріонів потомства.

Багато вірусних протеїнів (насамперед глікопротеїни) набувають функціональної активності лише після того, як відбудеться їхнє нарізання в специфічних точках. Це потрібно для формування функціонально активних протеїнів прикріплення і злиття, які забезпечують адсорбцію та проникнення вірусу в клітину. Протеолітичне нарізання відбувається зазвичай за участю клітинних протеаз, а в деяких випадках – і вірусоспецифічних.

4.7. Реплікація вірусних геномів

Реплікацією називається синтез нуклеїнових кислот – точних копій генома. Реплікацію вірусного генома здійснюють ензими, що характеризуються високою специфічністю: *ДНК-полімераза* (ДНК-залежна ДНК-полімераза) і *репліказа* (РНК-залежна РНК-полімераза). Джерела їх різні. Такі ДНК-вмісні віруси, як папілома-, поліома-,

парво-, цирко-, анелло- і геномовіруси та, ймовірно, смако- і редондовіруси використовують клітинну ДНК-полімеразу. Гепаднавіруси мають свою власну ДНК-полімеразу, що входить до складу віріонів. ДНК-полімераза покс-, асфар-, ірідо-, герпес-, аллогерпес- та аденовірусів і репліказа РНК-вмісних плюс-ниткових вірусів синтезуються на початкових етапах експресії вірусного генома. У вірусів із родин, що входять до порядку *Mononegavirales* (параміксо-, пневмо-, рабдо-, філо-, борна-, н'ямі- та сунвіруси), функцію реплікази виконує віріонна транскриптаза, яка переключається на реплікацію вірусного генома, коли синтез вірусних протеїнів досягає максимального рівня. У РНК-вмісних мінус-ниткових вірусів із фрагментованим геномом (ортоміксо-, амноон-, арена-, перібун'я-, ганта-, найро- і фенуївіруси) реплікацію здійснюють синтезовані полімеразні протеїни. У РНК-вмісних вірусів із дволанцюговою фрагментованою РНК (рео-, бірна- і пікобірнавіруси) реплікація відбувається за участю новосинтезованої транскриптази, що функціонує як репліказа. У реплікації

ретровірусів беруть участь віріонні ензими *зворотна транскриптаза (ревертаза), інтеграза*, а також клітинна транскриптаза.

Реплікація дволанцюгових ДНК.

Механізм реплікації вірусних дволанцюгових ДНК подібний до реплікації клітинного генома (рис. 56). Для ініціації цього процесу потрібний попередній синтез на матриці ДНК коротких ділянок РНК – *затравок*, або *праймерів*, які потім швидко видаляються з нарощуваної нитки ДНК. Реплікація відбувається на розплетених ділянках ДНК і йде одночасно на обох нитках, на кожній з яких із нуклеотидів клітини будується друга комплементарна нитка (А–Т, Г–Ц). У результаті утворюються дві нові спіралі ДНК, які складаються з батьківського і новосинтезованого ланцюга.

Реплікацію покс-, асфар-, ірідо-, герпес-, аллогерпес- та аденовірусів здійснює вірусспецифічний ензим ДНК-полімераза, що синтезується в зараженій клітині. Схема реплікації ДНК цих вірусів представлена на рис. 57 (стор. 143).

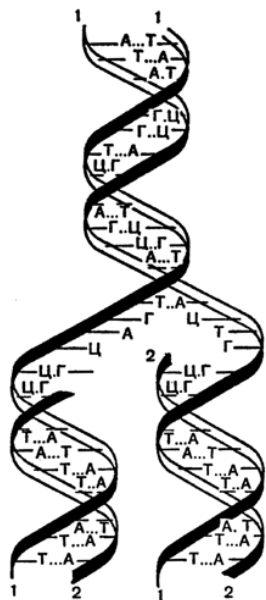


Рис. 56. Схема реплікації ДНК клітини

(Букрінська А. Г., 1986)

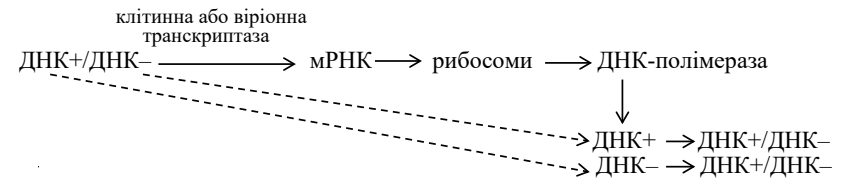


Рис. 57. Схема реплікації ДНК-вмісних вірусів із дволанцюговою лінійною ДНК

Для транскрипції генома ірідо-, герпес-, аллогерпес- та аденовіруси використовують клітинну транскриптазу, а покс- та асфарвіруси мають власну транскриптазу. На одній із ниток ДНК під впливом транскриптази синтезується мРНК*, яка транслюється на рибосомах з утворенням вірусспецифічної ДНК-полімерази. Далі за участю цього ензиму на кожній із ниток батьківської ДНК будується друга комплементарна нитка. У результаті виникають дві нові молекули дволанцюгової ДНК. Процес реплікації триває до того часу, доки в клітині не накопичиться достатня кількість молекул ДНК, потрібна для численного вірусного потомства.

Дволанцюгова ДНК *поліома-* і *папіломавірусів* – кільцева надспіралізована. Реплікація її відбувається за участю клітинної ДНК-полімерази. Для ініціації цього процесу в поліомавірусів обов'язково потрібний синтез вірусспецифічного неструктурного протеїну – Т-антигену, який з'являється в зараженій клітині внаслідок ранньої транскрипції під впливом клітинної транскриптази (рис. 58). Реплікація поліома- і папіломавірусів відбувається на розкручених ділянках ДНК, проходить одночасно на обох нитках з утворенням дволанцюгових дочірніх молекул (рис. 59, стор. 144).

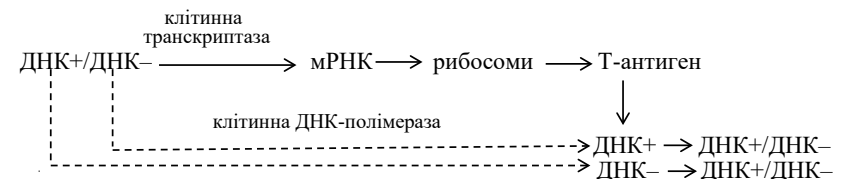


Рис. 58. Схема реплікації поліомавірусів

* мРНК у вірусів із дволанцюговою ДНК позначається як плюс- і мінус-нитки, оскільки вони синтезуються на обох нитках ДНК.

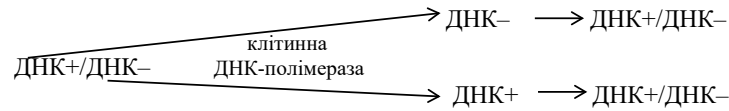


Рис. 59. Схема реплікації папіломавірусів

Унікальний механізм реплікації властивий *гепаднавірусам* (рис. 60). Дволанцюгова кільцева ДНК гепаднавірусів має дефект плюс-нитки (на 20–50%), яку добудовує віріонна ДНК-полімераза. Потім під впливом клітинної транскриптази на матриці вірусної ДНК синтезується комплементарна РНК двох типів: мРНК, що кодує вірусні протеїни, і плюс-нитка РНК, яка слугує матрицею для синтезу мінус-нитки ДНК. мРНК транслюється на рибосомах з утворенням *ДНК-полімерази*, що має властивості зворотної транскриптази. За участю цього ензиму відбувається *зворотна транскрипція*, аналогічна механізму реплікації ретровірусів. На матриці плюс-нитки РНК синтезується комплементарна мінус-нитка ДНК, і виникає *гібридна дволанцюгова молекула* – РНК/ДНК, причому в процесі синтезу ДНК поступово розщеплюється нитка РНК під дією рибонуклеази Н. Далі на матриці мінус-нитки ДНК під впливом новосинтезованої ДНК-полімерази синтезується плюс-нитка ДНК, і в результаті утворюється дволанцюгова ДНК.

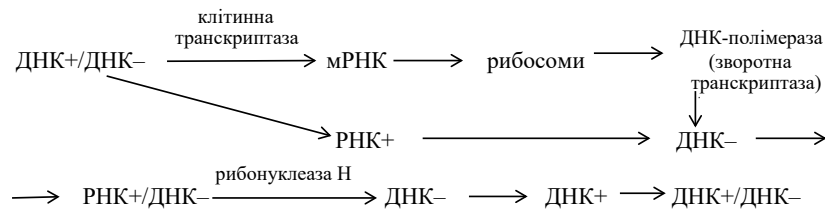


Рис. 60. Схема реплікації гепаднавірусів

Реплікація одноланцюгових ДНК. Реплікація одноланцюгових ДНК парво-, цирко-, анелло- і геномовірусів та, ймовірно, смако- і редондовірусів відбувається за участю *клітинної ДНК-полімерази* і дуже залежить від клітинних функцій. Для цього процесу необхідно, щоб заражена клітина знаходилася в S-фазі, коли відбувається реплікація її ДНК. Названі віруси мають мінус-ниткову ДНК, яка слугує матрицею для синтезу комплементарної плюс-нитки ДНК. У результаті виникає проміжна реплікативна форма – дволанцюгова ДНК. Далі на матриці новосинтезованої плюс-нитки ДНК утворюється багато копій мінус-ниток (рис. 61, стор. 145).

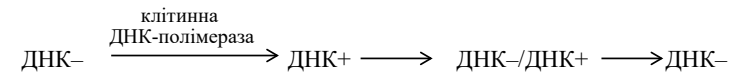


Рис. 61. Схема реплікації ДНК-вмісних вірусів з одноланцюговою ДНК

Частина віріонів парвовірусів (1–50%) може містити ДНК із позитивною полярністю. Реплікація плюс-ниток ДНК відбувається аналогічно з утворенням проміжної реплікативної форми.

Реплікація одноланцюгових РНК. Віруси, що містять одноланцюгову РНК, поділяються на плюс-ниткові (з позитивним геномом) і мінус-ниткові (з негативним геномом).

У вірусів із позитивним геномом (корона-, артері-, тобан-, тога-, флаві-, матона-, оліфо-, пікорна-, каліці-, астро-, гепе- і нодавїруси) віріонна РНК виконує дві функції: мРНК і матриці для реплікації. Після проникнення і депротейнізації вірусу плюс-ниткова РНК переносить генетичну інформацію на рибосоми, де відбувається синтез вірусних протеїнів, у тому числі *реплікази*. За участю цього ензиму на матриці віріонної плюс-нитки РНК синтезується комплементарна мінус-нитка. У результаті утворюється проміжна реплікативна форма – дволанцюгова РНК. Далі під впливом реплікази на матриці новосинтезованої мінус-нитки РНК синтезуються плюс-нитки (рис. 62).

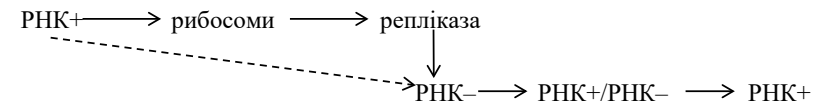


Рис. 62. Схема реплікації РНК-вмісних плюс-ниткових вірусів

Реплікація одноланцюгової фрагментованої РНК нодавїрусів відбувається одночасно на двох фрагментах.

У вірусів із негативним геномом віріонна РНК функціонує як матриця і для транскрипції, і для реплікації. Проте за транскрипції читаються певні ділянки генома, а за реплікації – весь геном. У вірусів з одноланцюговою лінійною мінус-нитковою РНК (параміксо-, пневмо-, рабдо-, філо-, борна-, н'ямі- та сунвіруси), спочатку під впливом вірусного ензиму *транскриптази* на матриці віріонної мінус-нитки РНК синтезуються комплементарні плюс-нитки – моноцистронні мРНК, які транслюються на рибосомах з утворенням вірусних протеїнів. Коли їхня кількість досягає максимального рівня,

транскриптаза переключється на реплікацію вірусного генома. За участю цього ензиму на матриці віріонної мінус-нитки РНК синтезується плюс-нитка, яка в свою чергу слугує матрицею для синтезу мінус-ниток РНК (рис. 63).

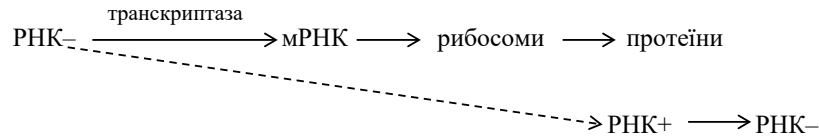


Рис. 63. Схема реплікації РНК-вмісних мінус-ниткових вірусів із лінійною РНК

Реплікація одноланцюгової фрагментованої РНК відбувається за участю синтезованих *полімеразних протеїнів*, йде одночасно на всіх фрагментах: 6–8 фрагментів в ортоміксовірусів, 10 фрагментів в амноовірусів, 3 фрагменти в ганта-, найро-, перібун'я- і фенуї-вірусів і 2 фрагменти в аренавірусів (рис. 64).

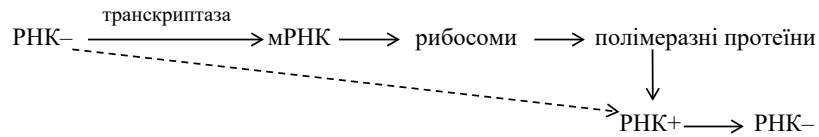


Рис. 64. Схема реплікації РНК-вмісних мінус-ниткових вірусів із фрагментованим геномом

Реплікація дволанцюгових РНК. На матриці дволанцюгової РНК під впливом віріонного ензиму *транскриптази* транскрибується лише мінус-нитка. У результаті синтезуються комплементарні плюс-нитки РНК, які виконують дві функції. Частина з них функціонує як мРНК, транслюючись на рибосомах з утворенням вірусних протеїнів, у тому числі транскриптази. Друга частина плюс-ниток РНК слугує матрицею для синтезу комплементарних мінус-ниток за участю новосинтезованої транскриптази (що функціонує як репліказа), внаслідок чого виникають молекули дволанцюгової РНК (рис. 65).

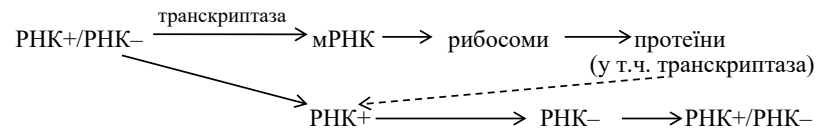


Рис. 65. Схема реплікації РНК-вмісних вірусів із дволанцюговою РНК

Вірусна дволанцюгова РНК є фрагментованою (10–12 фрагментів у реовірусів, 2 фрагменти в бірна- і пікобірнавірусів), тому транскрипція та реплікація відбуваються одночасно на всіх фрагментах.

Реплікація ретровірусів. Ретровіруси – єдині віруси, геном яких диплоїдний: представлений двома ідентичними молекулами одноланцюгової плюс-ниткової РНК. У складі ретровірусів міститься унікальний ензим – *зворотна транскриптаза*, або *ревертаза*, що має три ензимні властивості. Цей ензим функціонує як РНК-залежна ДНК-полімераза, ДНК-залежна ДНК-полімераза і рибонуклеаза Н. Ретровіруси мають також ензим *інтегразу*.

Обов'язковою стадією репродукції ретровірусів є інтеграція їхнього генома з клітинним. Для цього потрібно перетворити вірусний РНК-геном у комплементарну ДНК-копію, що відбувається за участю ревертази. Заправкою для транскрипції слугує клітинна тРНК, яка знаходиться в складі віріона і специфічна для конкретного вірусу. Під впливом ревертази на матриці плюс-нитки РНК синтезується комплементарна їй мінус-нитка ДНК. У результаті виникає *гібридна дволанцюгова молекула* – РНК/ДНК, причому в процесі синтезу ДНК рибонуклеаза Н гідролізує РНК у гібридній молекулі. Далі на матриці мінус-нитки ДНК, що залишилася після розщеплення РНК, ревертаза синтезує комплементарну плюс-нитку ДНК. У результаті утворюється дволанцюгова ДНК, яка повністю переписала генетичну інформацію з вірусного РНК-генома. Ця ДНК-копія називається *провірусом* (син.: *провірусна ДНК*, *ДНК-провірус*). Після замикання в кільце провірус інтегрує з клітинним геномом за участю інтегрази. Якщо відбувається експресія, інтегрований ДНК-провірус слугує матрицею для транскрипції під впливом клітинної транскриптази, причому генетична інформація переписується з мінус-нитки ДНК. У результаті синтезуються плюс-нитки РНК, які включаються до складу віріонів потомства (рис. 66).

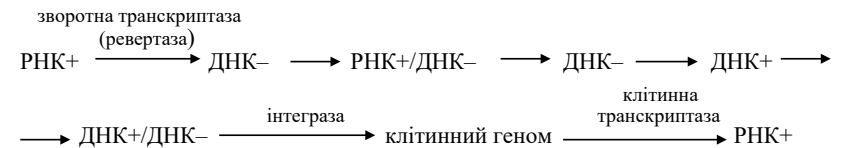


Рис. 66. Схема реплікації ретровірусів

4.8. Формування віріонів

У заражених клітинах синтез вірусних компонентів роз'єднаний і відбувається в різних структурах ядра й цитоплазми. Наприклад, у герпесвірусів молекули ДНК синтезуються в ядрі, протеїни – в цитоплазмі на рибосомах, а складання віріонів відбувається на ядерній мембрані. За такого диз'юнктивного способу репродукції формування віріонів потомства можливе лише в тому разі, якщо синтезовані вірусні компоненти мають властивість впізнавати один одного серед різноманітності клітинних протеїнів і нуклеїнових кислот та самовільно з'єднуватися.

Отже, в основі формування віріонів потомства лежить *процес самоскладання*, який полягає у високоспецифічній взаємодії молекул вірусних протеїнів і нуклеїнової кислоти. Специфічне протеїново-нуклеїнове і протеїн-протеїнове впізнавання відбувається за рахунок виникнення гідрофобних, сольових і водневих зв'язків, а також стеричної комплементарності. *Яким чином вірусні протеїни впізнають нуклеїнову кислоту?* У некодувальній частині вірусного генома міститься невелика ділянка з унікальними послідовностями нуклеотидів. Саме з впізнавання цієї ділянки капсидними протеїнами починається процес складання віріона. Об'єднання вірусних протеїнів із нуклеїною кислотою відбувається спонтанно як чисто фізико-хімічна реакція агрегації, що потребує участі додаткових факторів (рН, іонної сили, осмосу тощо).

Загальні принципи формування віріонів

1. У просто організованих вірусів спочатку формуються *провіріони*, що внаслідок посттрансляційних модифікацій протеїнів перетворюються у віріони, причому складання ДНК-вмісних вірусів відбувається в ядрі, а РНК-вмісних – у цитоплазмі заражених клітин. У складно організованих вірусів спочатку формуються *нуклеокапсиди* або *серцевини*, з якими взаємодіють суперкапсидні протеїни (рис. 67, стор. 149).

2. Формування вірусів із суперкапсидною оболонкою (за винятком покс- і гепаднавірусів) відбувається на *клітинних мембранах*: ядерній, якщо вірус реплікується в ядрі, або плазматичній, ендоплазматичної сітки чи комплексу Гольджі, якщо вірус реплікується в цитоплазмі. До цих мембран транспортуються незалежно один від одного всі компоненти віріона. Суперкапсидна оболонка вірусів формується з фрагментів клітинних мембран (модифікованих за рахунок

включення вірусних глікопротеїнів) на стадії виходу віріонів потомства з клітини шляхом брунькування.

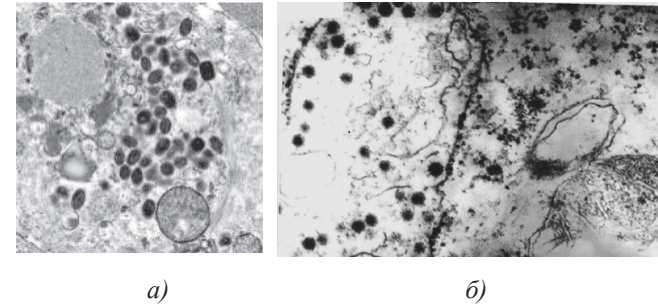


Рис. 67. Формування віріонів вірусу вісповакцини (а) і ротавірусу В (б)

(Murphy F. A., 2020; Скибіцький В. Г., Собко Ю. А., 1993)

3. Деякі складно організовані віруси (зокрема РНК-вмісні мінус-ниткові параміксо-, рабдо-, борна- та ортоміксовіруси) мають *матриксний*, або *мембранний*, протеїн (*М-протеїн*). Він є медіатором складання віріонів: виконує посередницьку функцію між суперкапсидною оболонкою та нуклеокапсидом, утворюючи разом з ним серцевину. М-протеїн мають також РНК-вмісні плюс-ниткові корона- і ретровіруси.

4. Формування нуклеокапсидів, серцевин, провіріонів і віріонів відбувається в спеціальних структурах, що називаються *вірусні «фабрики»*, *тільця-включення*. Ці структури локалізуються в ядрі або цитоплазмі інфікованих клітин і є продуктами кооперативних процесів клітини та вірусу. Зазвичай це місця синтезу вірусних компонентів і формування віріонів потомства. У вірусних «фабриках» виявляють різні клітинні структури – рибосоми (полісоми), мембрани, мікротрубочки, осміофільні волокна та ін.

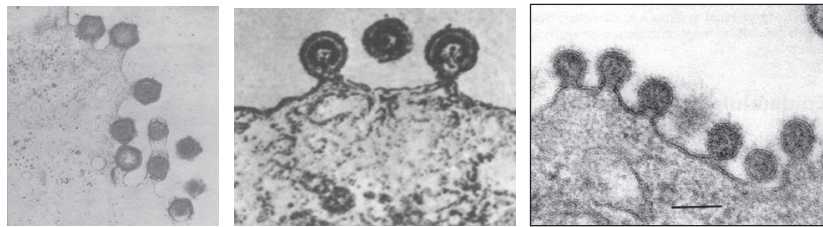
5. Складно організовані віруси (іноді просто організовані) для побудови своїх віріонів використовують *матеріал клітини-хазяїна*, наприклад, ліпіди, вуглеводи, протеїнкази, гістони, актин, тРНК (у ретровірусів), рибосоми (в аренавірусів). Клітинні елементи виконують певні функції в складі віріона, хоч у деяких випадках вони є результатом випадкової контамінації.

4.9. Вихід віріонів із клітини

Завершальною стадією репродукції вірусів, що тісно пов'язана з формуванням зрілих вірусних часток, є вихід віріонів потомства з клітини. Це здійснюється двома шляхами: вибухом і брунькуванням. У деяких вірусів брунькування поєднується з екзоцитозом.

Вибухоподібний механізм звільнення віріонів пов'язаний із деструкцією (лізісом) зараженої клітини, внаслідок чого вірусне потомство опиняється в позаклітинному просторі. Такий спосіб виходу властивий просто організованим вірусам, які дозрівають та набувають інфекційної активності всередині клітини. Пригнічення метаболізму макромолекул (зниження синтезу клітинних нуклеїнових кислот і протеїнів) та наступна деструкція зараженої клітини здійснюється неструктурними протеїнами цих вірусів.

Вихід із клітини **брунькуванням** через плазматичну мембрану властивий більшості складно організованих вірусів. При цьому сформовані нуклеокапсиди (або серцевини) зв'язуються із суперкапсидними протеїнами, включеними в плазмолему. Це призводить до випинання ділянок плазмолем та утворення «бруньки», що поступово відокремлюється від клітини з формуванням зрілого віріона. Такий механізм поєднує формування зрілих віріонів з одночасним звільненням їх із клітини (рис. 68). Це найефективніший спосіб виходу, оскільки не залежить від деструкції зараженої клітини. При цьому клітина може тривалий час зберігати життєздатність і продукувати вірусне потомство, доки не відбудеться повне виснаження її ресурсів.



а)

б)

в)

Рис. 68. Вихід віріонів із клітини брунькуванням через плазмолему:

а – вірус африканської чуми свиней;

б – вірус лейкозу мишей; в – вірус грипу А

(Феннер Ф. та ін., 1977;

<https://medread.ru/patogeneticheskaya-mikrobiologiya-3/34/>)

Деяким РНК-геномним вірусам властиве брунькування через мембрани ендоплазматичної сітки і комплексу Гольджі всередину цитоплазматичних вакуолей. Такі віруси (перібун'я-, ганта-, найро-, фенуї-, корона-, артері- та флавівіруси) звільнюються із зараженої клітини **шляхом екзоцитозу**: вакуолі зливаються з плазмолемою, а віріони потомства опиняються в позаклітинному просторі. За допомогою екзоцитозу виходять із клітини ДНК-вмісні герпесвіруси, які брунькуються через ядерну мембрану і транспортуються до поверхні клітини в мембранних везикулах. Аллогерпесвіруси брунькуються через ядерну мембрану й остаточно – через мембрани комплексу Гольджі та виходять із клітини шляхом екзоцитозу. Гепаднавіруси брунькуються через мембрани ендоплазматичної сітки та виходять із клітини шляхом екзоцитозу. Звільнення з клітини механізмом екзоцитозу властиве також поксвірусам, які транспортуються в чохлах, сформованих із мембран комплексу Гольджі.

Деякі віруси здатні виходити з клітини та уражати сусідні, обминаючи позаклітинний простір, що дає змогу їм уникати нетривальної дії специфічних антитіл. Наприклад, герпесвіруси можуть проникати з однієї клітини в іншу по цистернах ендоплазматичної сітки, які з'єднують ядерну мембрану з плазмолемою.

Тривалість циклу репродукції вірусів – від моменту адсорбції до виходу з клітини – різна. Так, у пікорнавірусів цей процес триває 5–10 год, в ортоміксовірусів – 6–8 год, у реовірусів – 8–10 год, в аденовірусів – 14–24 год, у герпесвірусів – від 12 год до 70 год і більше. **Швидкість** репродукції вірусів колосальна. Наприклад, кількість інфекційного потомства одного віріона вірусу грипу через 8 год досягає 10^3 , а до кінця першої доби – 10^{27} . **Урожай вірусу**, тобто загальна кількість віріонів на одну заражену клітину, коливається в широких межах. Зокрема, в пікорнавірусів цей показник становить 25 тис. – 100 тис., в аденовірусів – 10 тис. – 1 млн.

Контрольні запитання

1. Які особливості репродукції вірусів?
 2. Назвіть етапи і стадії репродукції вірусів.
 3. Охарактеризуйте механізм адсорбції вірусу на плазмолемі клітини.
 4. Якими шляхами відбувається проникнення вірусу всередину клітини?
 5. У чому полягає депротейнізація вірусу?
 6. Як здійснюється реалізація генетичної інформації у ДНК- і РНК-вмісних вірусів?
 7. Назвіть основні механізми синтезу вірусних протеїнів.
 8. У чому полягають посттрансляційні модифікації вірусних протеїнів?
 9. Як здійснюється реплікація вірусних нуклеїнових кислот?
 10. Які ензими беруть участь у транскрипції та реплікації вірусних геномів?
 11. Як відбувається формування віріонів потомства?
 12. Як здійснюється вихід віріонів потомства з клітини?
-

Розділ 5

ГЕНЕТИКА ВІРУСІВ

5.1. Структурна організація вірусного генома

Вірусам, як і клітинним формам життя, притаманні *спадковість* та *мінливість*. Дослідженням саме цих властивостей займається **генетика вірусів**. Зміст і специфіка цього наукового розділу визначається біологічними особливостями вірусів, з яких найважливішими є відносна простота організації, надзвичайна різноманітність генетичного матеріалу і популяційна структура.

Вірус, який репродукується в організмі хазяїна або *in vitro*, в біологічному розумінні є не механічним скупченням віріонів, а певною спілкою з ознаками і властивостями популяції. У вірусів *популяційний рівень* знаходиться вище рівня організації індивідуальної вірусної частки. Тому центральним об'єктом генетичного дослідження вірусів здебільшого є не окремий віріон і його геном, а величезна за чисельністю вірусна популяція та генетичні явища, що відбуваються в ній. Еволюція, гомеостаз, регуляція чисельності й інші важливі процеси, що відбуваються у вірусних популяціях, здійснюються на основі біологічних і генетичних законів. Ці закони вивчає спеціальний розділ генетики вірусів – **популяційна генетика**.

Генетичний апарат вірусів, на відміну від клітинного генома, надзвичайно різноманітний. Він представлений як **ДНК**, так і **РНК**, які бувають *одно- і дволанцюговими, лінійними, фрагментованими і кільцевими, плюс-нитковими і мінус-нитковими* (див. підпункт 2.2.1, стор. 44). Геном вірусів тварин **гаплоїдний**. Виняток становлять **ретровіруси**, які мають **диплоїдний геном**, представлений двома ідентичними молекулами одноланцюгової плюс-ниткової РНК, що з'єднані між собою водневими зв'язками.

У спадковому апараті вірусів, як і в клітинних організмів, використовується **триплетний генетичний код**. Це означає, що три нуклеотиди в одноланцюгових молекулах або три пари нуклеотидів у дволанцюгових молекулах нуклеїнової кислоти утворюють **триплет (кодон)** і кодують одну амінокислоту. А 1500 нуклеотидів

чи їхніх пар кодуєть вірусний поліпептид середньої величини, який складається з 500 амінокислот і має молекулярну масу 50 кДа.

Кодувальна здатність вірусного генома визначається його молекулярною масою, яка коливається в межах 1,5–250 МДа для ДНК і 2,4–20 МДа для РНК.

Найдосконалішим генетичним матеріалом у вірусів є *дволанцюгова ДНК*. Подвійний запис генетичного коду забезпечує глибокий консерватизм спадковості та створює передумови для збереження основних видових властивостей. Окрім того, ланцюги ДНК характеризуються високою міцністю й утворюють відносно великі молекули, які вміщують більше генетичної інформації порівняно з РНК.

Максимальні розміри молекули РНК обмежені відносно низькою фізичною та хімічною стабільністю, а також механізмом взаємодії з рибосомами. Збільшення ємності генома РНК-вмісних вірусів еволюційно йшло не за рахунок зростання розмірів молекули РНК, а завдяки структурним змінам. Результатом цього процесу є *фрагментована будова* і відносно більша кодувальна здатність генома ортоміксо-, арена-, ганта-, найро-, перібун'я-, фенуї-, амноон-, рео-, бірна- і пікобірнавірусів. Перевага фрагментованого генома полягає в тому, що в кількох фрагментах РНК, кожен з яких не досягає критичного розміру, міститься такий об'єм спадкової інформації, збереження якої не може забезпечити ціла молекула РНК. Окрім того, наявність фрагментів створює передумови для здійснення рекомбінацій, в основі яких лежить обмін великими блоками спадкового матеріалу. Цей унікальний механізм слугує для РНК-вмісних вірусів із фрагментованим геномом могутнім джерелом спадкової мінливості.

Ген у вірусів – це одиниця структурної та функціональної спадковості, яка являє собою ділянку ДНК або РНК, що кодує, як правило, один протеїн. Продуктами генів є структурні й неструктурні вірусні протеїни, в тому числі ензими, які входять до складу віріона або утворюються в зараженій клітині та беруть участь в інфекційному циклі.

Сукупність усіх генів вірусу називається *геномом*. Незважаючи на те, що вірусний геном за молекулярною масою в 10^5 – 10^6 разів менший від клітинної ДНК, він успішно конкурує та примушує клітину функціонувати за генетичною програмою вірусу.

Кількість генів у ДНК-вмісних вірусів коливається від 3 до 160, а у РНК-вмісних – від 5 до 15. У вірусів із фрагментованим геномом кожний фрагмент являє собою один ген.

У багатьох вірусів існують спеціальні механізми, які дають змогу отримати розгорнуту генетичну інформацію за максимальної економії спадкового матеріалу. Такі механізми виробилися в процесі еволюції вірусів як генетичних паразитів. У вірусів порушується класичний принцип «один ген – одна молекула РНК – один протеїн», і один вірусний ген може кодувати два протеїни. Наприклад, геном вірусу грипу А представлений одноланцюговою мінус-нитковою фрагментованою РНК, яка містить 8 генів, із них 7-й і 8-й гени кодуєть по два протеїни.

Механізми збільшення генетичної інформації у вірусів різноманітні. Це, зокрема, зрушення рамки трансляції на 1–2 нуклеотиди, внаслідок чого утворюються нові триплети, з'являється новий генетичний код і синтезуються протеїни з унікальними амінокислотними послідовностями.

У генах закодована інформація про всі властивості вірусів, які називаються *генетичними ознаками*. Вони поділяються на групові, видові, внутрішньовидові та внутрішньоштамові.

Основними є *групові й видові ознаки*, до яких належать: 1) тип нуклеїнової кислоти (ДНК або РНК), її структура; 2) розміри і структура віріона; 3) тип симетрії капсиду, кількість капсомерів; 4) антигенна специфічність; 5) стійкість до органічних розчинників і детергентів; 6) наявність нейрамінідази та антигенів клітини-хазяїна; 7) гемаглютинувальні властивості; 8) патогенність для тварин певного виду, курячих ембріонів, цитопатичний ефект у відповідній культурі клітин.

Сукупність генетичних ознак (або генетичної інформації) вірусу називається *генотипом*. Він визначається структурою спадкового матеріалу – ДНК або РНК, тобто послідовністю нуклеотидів у молекулі нуклеїнової кислоти. Генотип є постійною властивістю вірусу, проте він може змінюватися внаслідок мутацій, що відбуваються в геномі.

Сукупність генетичних ознак вірусу, які проявляються в конкретних умовах навколишнього середовища, називається *фенотипом*. Фенотип не є постійною властивістю вірусу, він може змінюватися як у процесі репродукції вірусу, так і внаслідок мутацій. Наприклад, *патогенність* – це генетична ознака вірусу, а фенотиповим її проявом є *вірулентність* – ступінь патогенності. Ця ознака значно варіює в різних біологічних системах, що залежить від особливостей штаму вірусу і методу його підтримання в лабораторних умовах. Так, вірус жовтої гарячки пантропний і високовірулентний для людини й мавп,

але за серійних пасажів у ЦНС білих мишей стає нейротропним і непатогенним для природних хазяїв.

5.2. Популяційна структура вірусів

Центральним об'єктом генетичного дослідження вірусів є *вірусна популяція*. Це вірус певного виду, що репродукується в природній або експериментальній чутливій біологічній системі, проходить у ній значну кількість генерацій, упродовж яких між окремими віріонами відбуваються генетичні й негенетичні взаємодії.

Вірусні популяції є важливою ланкою в структурі виду і виконують роль основних одиниць еволюції. У природних умовах вони утворюються в організмі заражених хазяїв. Властивостями популяції, хоч і меншою мірою, характеризується вірус, який розмножується в культурі клітин. Це створює можливість експериментального дослідження внутрішньопопуляційних явищ.

Популяційна структура вірусів і специфіка генетичних процесів, що відбуваються у вірусних популяціях, визначаються низкою факторів. Найважливішими з них є такі: 1) висока чисельність вірусних популяцій; 2) швидка зміна поколінь; 3) гаплоїдність і диз'юнктивний спосіб розмноження; 4) мала ємність генома і відсутність генів, які повторюються; 5) безперервність у часі епідемічного й епізоотичного процесів.

Вірусні популяції характеризуються високою генетичною неоднорідністю. Треба розрізняти такі поняття, як *штам*, *серотип*, *варіант*, *мутант*, *клон*. Усі ці терміни загалом означають вірус, який генотипово відрізняється від батьківського дикого типу (природного ізоляту), що представляє природну вірусну популяцію.

Штам – це вірус, виділений із природної вірусної популяції від заражених хазяїв або об'єктів навколишнього середовища. Фактично штамми називають різні дикі типи одного виду вірусу, які адаптовані до лабораторних умов, наприклад, штами ліссавірусу сказу virus fixe, CVS, ERA, SAD, HEP, LEP.

Серотип – це вірус того самого виду, що відрізняється за нейтралізацією інфекційної активності. Наприклад, вірус блутанга має 27 серотипів, вірус африканської чуми коней – 9, вірус ящуру – 7. Серотипи вірусів визначають у РН.

Варіант – це вірус, який відрізняється від дикого типу за фенотиповими ознаками, але разом з тим генотипова основа цієї відмінності невідома. Наприклад, варіанти вірусу з нейтралізації імунними сироватками.

Мутант відрізняється від дикого типу за відомими генетичними ознаками.

Клон – це вірус, популяція якого походить від одного віріона і є сукупністю генетично однорідних вірусних часток.

Природні вірусні популяції можуть добре адаптуватися до зовнішніх умов і за постійності середовища залишатися стабільними впродовж тривалого часу. Проте в разі зміни факторів довкілля передумовою існування вірусної популяції є не збереження її в незмінному вигляді, а перебудова спадкової структури, що забезпечує пристосування до нового середовища. Ця перебудова може здійснюватися лише за наявності в популяції запасу генетичної мінливості генотипово різних варіантів.

Генетичний склад вірусної популяції називається *генофондом*. Інакше кажучи, *генофонд вірусної популяції* – це сукупність усіх генів, які є у віріонах, що складають конкретну популяцію. Генофонд, так само як і вірусний геном, пристосований для виконання певних життєвих функцій. Спадкова інформація, що міститься в геномі, забезпечує відтворення вірусу, а генотипова різноманітність генофонду дає змогу вірусам пристосовуватися і виживати в мінливих умовах навколишнього середовища.

5.3. Мінливість вірусів

5.3.1. Види мінливості вірусів

Віруси змінюють свої властивості як у природних, так і в експериментальних умовах, причому мінливість у них виражена значно інтенсивніше, ніж в інших організмів. Це пов'язано з надзвичайно коротким життєвим циклом вірусів порівняно з їхніми хребетними хазяями і колосальною чисельністю вірусних популяцій.

Розрізняють *фенотипову* (модифікаційну, неспадкову) і *генотипову* (спадкову) мінливість вірусів.

Модифікації – це фенотипові зміни у вірусів, які зумовлені клітиною-хазяїном і не передаються за спадковістю. Модифікації не торкаються вірусного генома, а полягають у тому, що клітина впливає

на характер вірусних компонентів, які синтезуються в ній. Наприклад, *склад протеїнів*, закодованих у вірусному геномі, може модифікуватися клітиною-хазяїном за рахунок особливих мутагенних форм тРНК (сРНК), в яких порушена відповідність між антикодоном* і здатністю захоплювати специфічну амінокислоту. *Вміст вуглеводів* у складі віріонів визначається клітинними ензимами, що здійснюють глікозилування вірусних протеїнів. Модифікації можуть бути зумовлені включенням до складу віріонів потомства *компонентів клітини-хазяїна*, наприклад, ліпідів на кінцевій стадії репродукції вірусу, коли формується суперкапсидна оболонка. Зовнішня ліпопротеїнова оболонка вірусу може містити клітинні протеїни, що змінює антигенні властивості збудника. У разі перебігу клітини-хазяїна змінюється і вміст клітинних компонентів у складі віріонів потомства.

Модифікації лежать в основі адаптації вірусу до нового хазяїна і подолання залежного від нього обмеження. Модифіковані віруси набувають здатності ефективніше заражати клітини, аналогічні тим, в яких вони модифікувалися. Отже, клітина-хазяїн може істотно впливати на фенотип вірусу.

В основі спадкової мінливості вірусів лежать такі *процеси*: 1) мутації; 2) рекомбінації; 3) включення у вірусний геном клітинних генів; 4) потік генів. Саме з цих джерел створюється і поповнюється генофонд вірусних популяцій.

5.3.2. Мутації

Мутації – це спадкові зміни у вірусів, які полягають у порушенні генетичного коду. *Молекулярні механізми* мутацій різноманітні. Можливі заміни, випадіння (делеції), вставки і перестановки нуклеотидів або їхніх пар в одно- і дволанцюгових молекулах нуклеїнової кислоти. Ці порушення можуть обмежуватися окремими нуклеотидами або охоплювати значні ділянки вірусного генома.

Розрізняють *спонтанні* та *індуковані* мутації. Спонтанні мутації виникають у природі під дією на генетичний матеріал вірусів різних природних мутагенних факторів, а індуковані – з'являються в експерименті. Конкретні причини спонтанних мутацій найчастіше залишаються нез'ясованими.

Деякі віруси дають значну частину мутантів під час пасажування в біологічних об'єктах за відсутності будь-яких відомих мутагенів.

* *Антикодон* – триплет (тринуклеотид), ділянка в тРНК, яка в процесі трансляції взаємодіє з кодоном мРНК і забезпечує включення відповідного амінокислотного залишку в поліпептидний ланцюг.

Ці спонтанні мутації накопичуються в геномах вірусів і призводять до фенотипової мінливості, яка є об'єктом селективного тиску в ході еволюції вірусу. Частота спонтанного мутагенезу особливо висока у РНК-геномах і становить 10^{-3} – 10^{-4} на кожний включений нуклеотид, тоді як у ДНК-вмісних вірусів – 10^{-8} – 10^{-11} . Це зумовлено відносно низькою точністю реплікації РНК, що пов'язано, очевидно, з відсутністю в репліказ коригувальної активності, яка властива ДНК-полімеразам.

В основі класифікації мутацій лежать два різні підходи: 1) за зміною генотипу; 2) за зміною фенотипу.

За *зміною генотипу* мутації поділяються на *генні* (крапкові), що локалізуються в індивідуальних генах, і *делеційні*, які займають значні ділянки вірусного генома.

До генних мутантів належать *температурочутливі мутанти* (*ts-мутанти*, від англ. temperature sensitive), які втратили здатність розмножуватися за підвищеної температури (38...41 °С), але репродукуються за звичайних умов культивування (36...37 °С). Існують *холодові мутанти* вірусу грипу А, які не розмножуються за 37 °С, а лише за 32...34 °С, що дає змогу використовувати їх як живі вакцини. Є *термостабільні мутанти*, які здатні репродукуватися за 41 °С і характеризуються високою вірулентністю.

У природних умовах крапковими мутаціями генів Н і N зумовлений *антигенний дрейф* вірусу грипу А, який полягає в поступовій зміні поверхневих антигенів, що призводить до появи епідемічних штамів збудника.

Делеційні мутанти представлені *дефектними інтерферувальними частками* (ДІ-частками). Вони утворюються у вірусних популяціях спонтанно за високої множинності зараження. Втрата ДІ-частками значних ділянок генома (іноді до 90% і більше) призводить до летального ефекту, що виражається в нездатності їх до репродукції. Відтворення ДІ-часток здійснюється за допомогою функцій, які кодується геномом інфекційного вірусу. ДІ-частки інтерферують з інфекційним вірусом і гальмують його розмноження, використовуючи продукти його генів, зокрема полімеразу. ДІ-частки можуть контамінувати вірусні препарати і здійснювати негативний вплив на біологічну активність вірусу.

У разі класифікації мутацій за *зміною фенотипу* вказують на генетичну ознаку, фенотиповий прояв якої змінюється внаслідок мутації, або на порушену функцію вірусу. За зміною фенотипу основними є мутації за такими *ознаками*: 1) морфологія бляшок у культурі

клітин; 2) термочутливість циклу репродукції; 3) стійкість до прогрівання; 4) стійкість до інгібіторів репродукції; 5) спектр патогенності.

Більшість мутантів, які виділені в процесі дослідження вірусів тварин, отримано з популяції дикого типу внаслідок обробки *мутагенами*. За механізмом дії вони поділяються на *дві основні групи*: 1) мутагени, які впливають на нуклеїнову кислоту в складі віріона (азотиста кислота, гідроксиламін, алкілувальні сполуки); 2) мутагени, які взаємодіють із нуклеїновою кислотою в процесі її реплікації (аналогі основ, інтеркалувальні речовини, УФ-промені).

Не всі мутації, що виникли під дією мутагену, однаково стабільні. Більшості індукованих мутацій властива здатність повернення до дикого типу – *реверсії*. Можливі *справжні реверсії*, коли зворотна мутація відбувається в місці первинного пошкодження, і *псевдо-реверсії*, коли зворотна мутація відбувається в іншій ділянці дефектного гена або в іншому гені.

Кожна мутація має характерну частоту реверсій. Наприклад, мутанти, отримані під впливом УФ-променів, дають близько 20% реверсій, а за дії профлавіну всі мутанти генетично стабільні, що залежить від ступеня пошкодження генетичного апарату вірусу. УФ-промені зумовлюють переважно заміну азотистих основ у молекулі вірусної нуклеїнової кислоти, а профлавін – їхні делеції або вставки.

Під час отримання мутантів із заданими властивостями, наприклад, вакцинних вірусних штамів, треба враховувати можливу їхню реверсію до дикого типу. В цьому разі доцільно використовувати мутагени, які зумовлюють глибокі зміни генетичного коду (делеції або вставки азотистих основ), оскільки такі мутанти мають стабільні спадкові властивості.

Мутації можуть мати різні *наслідки*. В одних випадках вони призводять до *зміни фенотипу* в нормальних умовах. Наприклад, змінюється розмір бляшок у культурі клітин, нейровірулентність для певного виду тварин, чутливість до хіміотерапевтичних препаратів. Мутації є *летальними*, якщо внаслідок них порушується синтез або функція життєво важливого вірусного протеїну, наприклад, вірусної полімерази. Іноді мутації є *умовно летальними* (ts-мутації), оскільки вірусний протеїн зберігає свої функції в оптимальних для нього умовах і втрачає цю здатність у нерозв'язних умовах.

Отже, внаслідок мутацій окремі віріони набувають нових властивостей. Мutowані гени постійно включаються в генофонд вірусної популяції та збільшують її генетичну неоднорідність. Подальша

доля вірусів-мутантів залежить від природного добору, який зберігає популяцію, найбільш пристосовану до конкретних умов існування.

5.3.3. Рекомбінації

Рекомбінації – це обмін генетичним матеріалом, що відбувається між батьківськими вірусами в процесі змішаної інфекції. Можливий обмін як повними генами (*міжгенна рекомбінація*), так і ділянками одного і того самого гена (*внутрішньогенна рекомбінація*). Утворений вірус-рекомбінант має властивості, успадковані від різних батьків.

Рекомбінації описані в багатьох родин ДНК-вмісних вірусів (зокрема покс-, герпес-, адено- і поліомавіруси), а також у РНК-вмісних вірусів із фрагментованим геномом і деяких із лінійною РНК (зокрема ретровіруси). В основі рекомбінацій лежать *три основні механізми*, що залежать від структури вірусного генома.

У ДНК-вмісних вірусів рекомбінація включає розрив і возз'єднання ковалентного зв'язку в нуклеїновій кислоті з утворенням дочірніх віріонів небатьківського типу (*внутрішньомолекулярна рекомбінація*). У цьому процесі беруть участь ензими клітини-хазіяїна і, можливо, вірусіндуковані ензими. Для ДНК-вмісних вірусів (за винятком поліомавірусів) характерна висока частота рекомбінацій – від 14 до 38%.

Унікальний механізм рекомбінації властивий РНК-вмісним вірусам із фрагментованим геномом (ортоміксо-, амноон-, арена-, ганта-, найро-, перібун'я-, фенуї- та реовіруси). Він полягає в обміні фрагментами генома між партнерами, в цьому разі ковалентні зв'язки в нуклеїновій кислоті не розриваються. Такий механізм рекомбінації називається *пересортуванням генів* (*реасортацією*). Наслідком цього є обмін великими блоками спадкового матеріалу, що спричинює значну зміну властивостей вірусу. Наприклад, вірус грипу А може отримати в результаті рекомбінації нові підтипи Н і N, що зумовлює антигенний шифт і призводить до виникнення пандемічних штамів. Частота рекомбінацій для РНК-вмісних вірусів із фрагментованим геномом становить від 18 до 50%.

Механізм рекомбінації у РНК-вмісних ретровірусів полягає в обміні не генетичним матеріалом, а спадковою інформацією (*механізм вибіркового копіювання зі зміною матриці*). Геном ретровірусів диплоїдний, утворений двома ідентичними плюс-нитками РНК і підлягає зворотній транскрипції. У ході цього процесу ревертаза може «перескакувати» з однієї нитки РНК на іншу, утворюючи гібридну матрицю ДНК. Якщо обидві молекули РНК ідентичні,

це не призводить до наслідків. Однак за наявності вірусів-мутантів, які несуть різні молекули РНК, можлива поява рекомбінантів з іншими геномами. Подібний механізм опосередковує генетичну нестабільність у вірусі імунodefіциту людини. Для ретровірусів характерна висока частота рекомбінацій – 10–50%.

Отже, рекомбінації призводять до утворення у вірусній популяції нових генотипів за рахунок перерозподілу вже існуючих генів.

5.3.4. Включення у вірусний геном клітинних генів

Це слугує джерелом спадкової мінливості в онкогенних РНК-вмісних ретровірусів, які на певній стадії репродукції вбудовують ДНК-копію генома в генетичний апарат клітини. У цьому разі в провірусну ДНК можуть включитися клітинні гени шляхом рекомбінації. Подальша транскрипція інтегрованого ДНК-провірусу призводить до появи у вірусному геномі клітинних генів, які підпадають під контроль вірусних регуляторних механізмів. Ці гени не потрібні для репродукції ретровірусів, але продукти їхньої експресії спричинюють трансформацію клітин, зумовлюючи таким чином онкогенні властивості вірусів. Тому ці гени називаються *трансформувальними генами (онкогенами)*, а їхні клітинні аналоги – *протоонкогенами*, які присутні в геномі кожної нормальної клітини і беруть участь у регуляції клітинного поділу й диференціації. У складі ретровірусів виявлено до 35 онкогенів клітинного походження.

5.3.5. Потік генів

Потік генів – це природні процеси зміщення вірусних популяцій, які призводять до порушення ізоляції та спричинюють одно- або двосторонній обмін генами. Внаслідок цього відбувається збільшення запасів спадкової мінливості конкретної вірусної популяції за рахунок надходження генів з іншого генофонду.

Стан ізоляції вірусної популяції, що створюється в організмі хазяїна і може тривати в разі наступного передавання збудника, порушується за *двох обставин*: 1) повторне зараження організму; 2) змішування вірусу, який виділяється від різних хазяїв, у навколишньому середовищі та зараження нових індивідів. Ці явища постійно відбуваються під час циркуляції вірусів у епізоотичних (епідемічних) вогнищах інфекції та відіграють істотну роль у мінливості збудників.

5.4. Генетичні та негенетичні взаємодії вірусів

У природних та експериментальних умовах клітини можуть заражатися не одним віріоном, а багатьма віріонами одного штаму вірусу, генетично різними штамами і навіть неспорідненими вірусами. У процесі такої змішаної інфекції виникають різні форми взаємодій між вірусними геномами або продуктами генів. Між вірусними геномами можуть спостерігатися такі форми *генетичних взаємодій*, як рекомбінація, генетична реактивація, гетерозиготність. На рівні генних продуктів виникають *негенетичні взаємодії*: комплементация, фенотипове змішування, інтерференція. Негенетичні взаємодії часто призводять до фенотипового маскування вірусного генотипу.

Рекомбінація – це обмін генетичним матеріалом між батьківськими вірусами, внаслідок чого утворюється потомство з властивостями, успадкованими від обох батьків (див. підпункт 5.3.3, стор. 161).

Генетична реактивація є окремим випадком рекомбінації, коли один або обидва партнери неінфекційні внаслідок пошкодження генома, але за змішаної інфекції дають повноцінне потомство з ознаками обох батьків. Це потомство є рекомбінантами, в яких інактивувальні пошкодження генома неінфекційного батьківського вірусу еліміновані. Розрізняють множинну і перехресну реактивації.

Множинна реактивація виникає між неінфекційними партнерами, коли клітина заражається кількома віріонами з пошкодженими геномами. Якщо інактивувальні пошкодження локалізовані в різних ділянках вірусного генома, відбувається рекомбінація, внаслідок чого відновлюється повний генетичний набір, необхідний для утворення повноцінного потомства. Зазвичай множинна реактивація відбувається між вірусами, інактивованими УФ-променями. Ефективність множинної реактивації залежить від багатьох факторів: ступеня пошкодження вірусного генома, множинності зараження, автоінтерференції.

Перехресна реактивація (крос-реактивація) виникає між інфекційним та інактивованим вірусами. За змішаної інфекції відбувається рекомбінація непошкоджених ділянок генома інактивованого вірусу з геномом повноцінного вірусу, внаслідок чого з'являються штами з властивостями обох батьків.

Гетерозиготність полягає в тому, що за змішаної інфекції різними штамами вірусу утворюються віріони потомства, які містять у своєму складі два батьківські геноми (*повні гетерозиготи*) або

принаймні один повний геном і частину іншого (*неповні гетерозиготи*). Це явище зумовлено неправильним упакуванням геномів під час формування віріонів складно організованих вірусів. Наприклад, потомство ортоавулавірусу птахів 1 (збудника ньюкаслської хвороби) може містити понад 10% повних гетерозигот. Вони нестабільні й за наступної реплікації розділяються на батьківські форми, на одну з батьківських форм і певний рекомбінант або на два рекомбінанти. Гетерозиготність не властива просто організованим вірусам, в яких структурні обмеження під час упакування роблять малоімовірним потрапляння двох геномів у один капсид.

Комплементация (негенетична реактивація) – це взаємодія генних продуктів двох вірусів, що стимулює їхнє розмноження, але не змінює генотипи. У цьому разі один вірус постачає іншому компоненти, яких бракує для здійснення повного циклу репродукції, зазвичай структурні або неструктурні протеїни.

Комплементация буває дво- та односторонньою. *Двостороння комплементация* виникає між дефектними вірусами, кожен з яких не здатний до самостійної репродукції. Обидва партнери забезпечують один одного потрібними генними продуктами. За *односторонньої комплементации* повноцінний вірус-помічник стимулює репродукцію залежного від нього дефектного вірусу-сателіта, надаючи йому потрібні протеїни. Наприклад, вірус гепатиту В є помічником для дефектного РНК-вмісного вірусу гепатиту дельта, надаючи йому свій поверхневий HBs-антиген для формування оболонки.

Комплементация поширена серед вірусів і тісно пов'язана з їхньою дефектністю, оскільки у вірусних популяціях завжди присутні ДІ-частки, які втратили частину генетичного матеріалу.

Фенотипове змішування – це явище, коли геном одного вірусу упаковується в капсид або суперкапсид, що складається повністю чи частково зі структурних протеїнів іншого вірусу. У цьому разі об'єднуються тільки вірусні протеїни, генетичної взаємодії між нуклеїновими кислотами не відбувається.

Фенотипове змішування досить поширене серед просто організованих вірусів, у яких спостерігається *транскapsидація* під час вбудування дочірнього генома в гетерологічний капсид. Це виявлено, зокрема, у вірусі ящуру та ентеровірусі Е.

У деяких складно організованих вірусів може утворитися *псевдотип*, якщо нуклеокапсид одного вірусу оточує суперкапсидна оболонка іншого. Наприклад, везикуловіруси Індіана, Алагоас, Кокал і Нью-Джерсі (збудники везикулярного стоматиту) утворюють

псевдотипи з пташиними штамми вірусу грипу А, альфагерпесвірусами людини 1 і 2, онкогенними ретровірусами птахів і мишей.

Фенотипове змішування є тимчасовим феноменом: у наступному поколінні віріони відтворюють ознаки того вірусу, чий нуклеїнову кислоту вони містять.

Інтерференція полягає в здатності одного вірусу пригнічувати репродукцію іншого. Залежно від спорідненості між вірусами-партнерами розрізняють *гомологічну інтерференцію*, яка проявляється тільки стосовно гомологічного або близькоспорідненого вірусу, і *гетерологічну інтерференцію*, що виникає між вірусами різних таксономічних груп. Інтерференція між вірусами може виявлятися на різних стадіях репродукції внаслідок конкуренції за синтезовані вірусоспецифічні макромолекули, а також за рахунок утворення особливого протеїну – інтерферону, який виробляється клітинами у відповідь на вірусну інфекцію та має виражену противірусну активність.

Однією з форм гомологічної інтерференції є *автоінтерференція*, що виникає в процесі серійного пасажування вірусу за високої множинності зараження. У цих умовах сумарний урожай віріонів залишається відносно постійним, проте вміст інфекційного вірусу знижується. Отже, спостерігається інтерференція щодо зростання інфекційної частини вірусної популяції, яка містить велику кількість ДІ-часток. Ці делеційні мутанти інтерферують із розмноженням інфекційного вірусу, ефективно конкуруючи, наприклад, за полімеру, що призводить до утворення всезростаючої частини ДІ-часток.

5.5. Загальні принципи генної інженерії

До цього часу мова йшла про генетичні процеси, які відбуваються за взаємодії біологічно та еволюційно близьких вірусів. Проте можливі генетичні взаємодії й неспоріднених вірусів, що є предметом дослідження *генної інженерії*. Цей новий напрямок у генетиці та біотехнології виник завдяки успішному розвитку молекулярної біології. У 1972 р. у Національній академії наук США було представлено першу генноінженерну роботу П. Берга про створення *in vitro* химерної ДНК, яка не мала аналогів у природі: гібриду поліомавірусу макак-резусів 1 і бактеріофагу λ. Цей химерний геном був уведений у формі плазмиди в *E. coli* та експресований з утворенням вірусоспецифічних протеїнів.

На відміну від класичної та молекулярної генетики, генна інженерія має своїм *об'єктом дослідження* не клітини, не віруси, а гени або їхні групи, оперуючи з ними не як із біологічними об'єктами, а як із молекулами або фракціями молекул. Генна інженерія *вивчає* закономірності конструювання *in vitro* нових генетичних структур – рекомбінантних (гібридних) ДНК та клонування їх у реципієнтній клітині. *Мета* генної інженерії – пересадження генів у гетерогенні системи, їхня експресія для отримання біологічно активних протеїнів (гормонів, ензимів, антигенів тощо). *Головним завданням* генної інженерії є вибір таких клітинних систем, які б забезпечили економічно вигідну технологію виробництва біологічно активних речовин. *Основним об'єктом* під час вибору клітинних систем, де вводяться гени і здійснюється їхня експресія, є прокаріоти (бактерії, насамперед *E. coli*) та найпростіші еукаріоти (дріжджі). У деяких випадках доцільно використовувати вищі еукаріотичні системи (клітини птахів і ссавців).

Основним інструментом генноінженерних робіт є певні ензими і насамперед *рестриктази (рестрикційні ендонуклеази)*, які отримують із бактеріальних клітин. Рестриктази поширені серед прокаріотів і беруть участь у генетичних процесах. Вони захищають бактеріальні клітини від чужорідної ДНК, розщеплюючи ДНК бактеріофагів. Відомо понад 500 рестриктаз, які характеризуються високою специфічністю. Під час генноінженерних маніпуляцій за допомогою різних рестриктаз вдається отримати потрібні фрагменти геномів або окремі гени.

Чужорідний генетичний матеріал можна ввести в клітину за допомогою *вектора*. Це молекула ДНК, яка здатна до автономної реплікації в реципієнтній клітині та забезпечує експресію вбудованих у неї чужорідних генів. Векторами можуть слугувати *плазмиди, бактеріофаги, косміди* (гібриди плазмід і бактеріофагу λ). Зручними векторами для еукаріотичних клітин є деякі *віруси тварин*: із ДНК-вмісних – віруси вісповакцини, поліома-, папілома-, адено- та герпесвіруси; з РНК-вмісних – ретровіруси.

Створенням рекомбінантної ДНК із подальшим її клонуванням в реципієнтних клітинах завершується лише перший етап генноінженерних робіт. *Головна мета* – досягти експресії потрібного гена в прокаріотичних чи еукаріотичних клітинах і на основі сучасних методів молекулярної біології розробити технологію отримання протеїнового продукту в умовах промислового виробництва.

Генна інженерія відкриває широкі можливості й перспективи для створення сучасних *вірусних вакцин*. На основі технології

рекомбінантної ДНК розроблено шість типів *генноінженерних вакцин*: реасортантні, рекомбінантні (субодиничні, векторні), ДНК- і РНК-вакцини, рослинні (з трансгенних рослин).

Генноінженерні методи використовують також під час розробки сучасних *діагностикумів*. Так, для експрес-діагностики вірусних інфекцій із метою виявлення в патологічному матеріалі хворих і загинув тварин вірусних геномів застосовують *метод ДНК-зондів*, які конструюють на основі плазмідного вектора.

Принципово новим діагностичним методом є *рестрикційний аналіз* у поєднанні з *методом секвенування*. Вони дають змогу скласти фізичні карти вірусних геномів із точністю до одного нуклеотиду, що гарантує точну типізацію близькоспорідних вірусів. Рестрикційний аналіз має велику цінність для стандартизації та контролю біопрепаратів.

Генна інженерія стала ядром сучасної біотехнології, і вклад її у виробництво з кожним роком зростає.

Контрольні запитання

1. Охарактеризуйте структурну організацію вірусного генома.
 2. Що таке генетичні ознаки, генотип і фенотип вірусів?
 3. Охарактеризуйте вірусну популяцію, її генотип та генетичну неоднорідність.
 4. Які процеси лежать в основі спадкової мінливості вірусів?
 5. Що таке модифікації вірусів?
 6. Охарактеризуйте мутації у вірусів, їхній механізм і наслідки.
 7. Назвіть генетичні та негенетичні взаємодії вірусів.
 8. Які завдання вирішує генна інженерія?
-

Розділ 6

ПАТОГЕНЕЗ ВІРУСНИХ ІНФЕКЦІЙ

6.1. Загальні принципи патогенезу вірусних інфекцій

Вірусна інфекція – це сукупність процесів, що виникають за взаємодії вірусу з організмом хазяїна. Найяскравішою формою вірусної інфекції є *вірусна хвороба*. Динаміка реакцій взаємодії вірусу з організмом хазяїна називається *інфекційним процесом*.

Патогенез вірусних інфекцій – це сукупність процесів, які спричинюють захворювання в разі взаємодії вірусу з організмом хазяїна і визначають закономірність його розвитку.

У дуже загальних рисах патогенез вірусних інфекцій можна охарактеризувати так. Для того, щоб спричинити захворювання, вірус повинен проникнути в організм хазяїна та досягнути чутливих тканин і клітин, де відбувається його репродукція. Внаслідок розмноження вірусу пошкоджуються численні клітини організму, що лежить в основі клінічного прояву захворювання. Крім того, необхідно, щоб вірус уникнув захисних реакцій організму, хоча в деяких випадках імунна відповідь хазяїна сприяє розвитку хвороби.

Патогенез вірусних інфекцій визначають такі *фактори*: 1) тропізм вірусу; 2) швидкість репродукції вірусу і кількість інфекційних віріонів у потомстві; 3) реакція клітин на вірусну інфекцію; 4) реакція організму на зміни клітин і тканин, спричинені вірусною інфекцією.

У патогенезі вірусних інфекцій розрізняють такі *стадії*: 1) проникнення вірусів у організм; 2) первинна репродукція вірусів; 3) поширення вірусів в організмі; 4) локалізація вірусів в організмі; 5) деструкція чутливих клітин; 6) імунна відповідь організму; 7) персистенція вірусів в організмі.

Не всі віруси проходять зазначені стадії щоразу, коли заражають організм. Патогенез вірусних інфекцій багато в чому залежить від специфіки збудника і хазяїна, взаємовідносини яких на рівні організму проявляються по-різному.

У зв'язку з тим, що віруси є облігатними внутрішньоклітинними генетичними паразитами, в основі їхньої взаємодії з організмом

завжди лежить інфекційний процес на рівні клітини. Тому в патогенезі вірусних інфекцій спочатку потрібно розглянути клітинну патологію, спричинену вірусами.

6.2. Патогенез вірусних інфекцій на клітинному рівні

6.2.1. Класифікація вірусних інфекцій на клітинному рівні

Який смисл вкладається в поняття «вірусна інфекція клітин»? Позаклітинний віріон біологічно інертний. Ця інертність зберігається доти, поки віріон не проникне в клітину і вірусний геном не почне функціонувати як автономна генетична структура. Лише з цього моменту проявляється своєрідність взаємовідносин вірусу і клітини. Отже, **вірусна інфекція клітин** – це сукупність процесів, які виникають за взаємодії клітин із вірусним геномом.

Зараження вірусом чутливих клітин не означає, що неминуче буде відбуватися його репродукція з формуванням інфекційного потомства. Розрізняють *два основні типи* вірусної інфекції клітин: *автономна* та *інтеграційна*.

Автономна інфекція характеризується реплікацією вірусного генома незалежно від клітинної ДНК. Поняття автономії відносне, обмежується лише відсутністю фізичного зв'язку між вірусним і клітинним геномами, хоч їхня взаємодія постійно відбувається впродовж інфекційного циклу. Цей тип інфекції характерний для всіх вірусів тварин, за винятком ретровірусів.

Інтеграційна інфекція виникає внаслідок фізичного об'єднання вірусного генома (або його фрагмента) з клітинним. У цьому разі вірусний геном реплікується і функціонує як складова частина клітинного генома. Інтегрований у клітинну ДНК вірусний геном (або субгеномний фрагмент) називається **провірусом** (син.: *ДНК-провірус, провірусна ДНК*). На цьому цикл репродукції вірусу може припинитися. Заражена клітина не продукує вірусне потомство, зберігає нормальні функції та під час поділу передає дочірнім клітинам нуклеотидні послідовності вірусу. Інтеграційна інфекція може призвести до неопластичної трансформації клітин. Трансформовані клітини набувають здатності до необмеженого поділу через порушення регуляторних механізмів, унаслідок чого виникають пухлини. Здатність вірусу стимулювати розмноження заражених клітин називається **цитопроліферативним (трансформувальним) ефектом**.

Інтеграційна інфекція можлива для деяких представників п'яти родин ДНК-вмісних вірусів тварин – *Adenoviridae*, *Papillomaviridae*, *Polyomaviridae*, *Herpesviridae* і *Hepadnaviridae* – та є обов'язковою для однієї родини РНК-вмісних вірусів – *Retroviridae*. У ретровірусів інтегрує з клітинним геномом дволанцюгова ДНК, яка синтезується на матриці віріонної одноланцюгової РНК за участю вірусного ензиму *зворотної транскриптази (ревертази)*. Ця ДНК-копія РНК-генома ретровірусів називається провірусом, який може бути як інтегрованим, так і неінтегрованим. Інтеграція відбувається за участю вірусного ензиму інтегрази. Якщо інтеграція відбувалася в геном гермінальних клітин, з яких формуються яйцеклітини і сперматозоїди, тоді вірус (точніше провірус) стає ендогенним, тобто буде передаватися нащадкам за спадковістю.

Кількість провірусів на геном клітини варіює в широких межах: 1–20 у поліомавірусів, 2–300 в аденовірусів, 4–10 у ретровірусів.

Який механізм інтеграції вірусного генома з клітинним? Згідно з моделлю А. Кемпбелла (1962), для цього процесу потрібна кільцева форма вірусної двониткової ДНК, яка виникає завдяки пов-

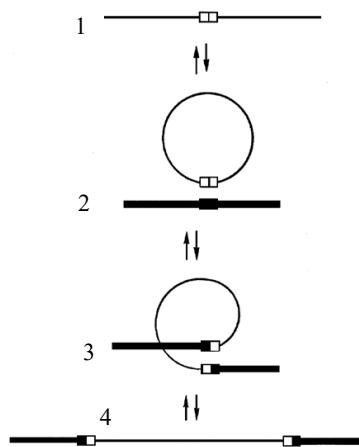


Рис. 69. Інтеграція вірусного генома з клітинним:

1 – вірусна ДНК;
2 – геном клітини; 3 – процес інтеграції; 4 – клітинний геном із ДНК-провірусом
(Кемпбелл А., 1962)

торам нуклеотидних послідовностей на кінцях лінійної молекули. Вона прикріплюється до клітинної ДНК, у місці контакту обидві молекули розрізуються, а кінці зшиваються, внаслідок чого вірусна ДНК стає частиною клітинного генома (рис. 69).

Основні типи вірусної інфекції клітин – автономна та інтеграційна – поділяються на такі форми: 1) продуктивна та абортівна (залежно від утворення інфекційного потомства); 2) гостра і хронічна (залежно від динаміки взаємодії вірусів і клітин); 3) літична і нелітична (залежно від наслідку інфекційного процесу для клітин).

Продуктивна інфекція характеризується повним циклом репродукції вірусу і завершується формуванням інфекційного потомства.

Дослідження саме цієї форми інфекції дає змогу відповісти на одне з головних питань вірусології: як у заражених клітинах відбувається утворення віріонів та які фундаментальні закономірності лежать в основі цього процесу?

Абортівна інфекція не завершується формуванням інфекційних віріонів або вони утворюються в значно меншій кількості, ніж за продуктивної інфекції. Вивчення механізмів абортівної інфекції становить великий інтерес для розуміння деталей репродукції вірусів, природи клітинної резистентності до вірусів, дефектності вірусів, хронічної вірусної інфекції клітин та вірусного канцерогенезу.

Абортівна інфекція може виникнути за трьох обставин: 1) зараження чутливих клітин дефектним вірусом (сателітом або ДІ-частками); 2) зараження чутливих клітин інфекційним вірусом у несприятливих умовах (фізіологічна резистентність клітин під час мітозу, підвищення температури, зміна рН у вогнищі запалення); 3) зараження нечутливих клітин інфекційним вірусом (відсутність у клітині специфічних рецепторів та відповідних протеаз, потрібних для адсорбції, проникнення і депротейнізації вірусу).

Абортівна інфекція може перетворитися в продуктивну за допомогою вірусу-помічника (явище комплементации) або в разі усунення несприятливих умов.

Гостра інфекція характеризується утворенням у заражених клітинах вірусного потомства, після чого інфекційний процес припиняється і клітини або гинуть, або виживають і не містять вірусних компонентів.

За **хронічної інфекції** заражені клітини продукують віріони або вірусні компоненти тривалий час аж до своєї природної загибелі (не від цієї вірусної інфекції), й дочірні клітини зберігають інфекційний стан. Частіше хронічної форми набуває абортівна інфекція, оскільки вірусний генетичний матеріал зазвичай не входить до складу віріонів потомства, а накопичується в клітинах і передається в дочірні клітини.

Причиною хронічної інфекції можуть бути ДІ-частки, які, потрапляючи в чутливу клітину разом з інфекційними віріонами, конкурують із ними за фактори репродукції та перешкоджають утворенню інфекційного потомства. Внаслідок цього клітини не гинуть, а зберігають інфекційний стан.

Літична (цитолітична) інфекція завершується загибеллю (лізісом) клітин. **Нелітична (нецитолітична) інфекція** безпосередньо не призводить до лізису клітин, які можуть функціонувати певний час, продукуючи вірусне потомство.

6.2.2. Цитопатологія вірусних інфекцій

Деструкція клітин, що виникає за літичної інфекції, називається **цитопатичним ефектом (ЦПЕ)**, або **цитопатогенною дією вірусу (ЦПД)**. Зазвичай ці терміни застосовують для позначення морфологічних змін в інфікованих клітинах, хоча вірусна інфекція клітин супроводжується не лише пошкодженням клітинної структури. У зараженій клітині відбувається зміна метаболізму, що зумовлено синтезом вірусоспецифічних макромолекул, активацією або гальмуванням ензимних систем клітини, пошкодженням її хромосомного апарату та органел.

Вірус, який спричинює цитопатичний ефект, називається **цитопатогенним**. Ця властивість характерна для більшості вірусів людини і тварин та лежить в основі патогенезу вірусних інфекцій, а також широко використовується в лабораторній діагностиці для індикації збудників у культурі клітин.

Цитопатичні зміни інфікованих вірусом клітин представлені різними ушкодженнями. До **неспецифічних** уражень належать мутне набухання клітини внаслідок порушення проникливості плазмолем, пошкодження хромосомного апарату, пікноз ядер, вакуолізація цитоплазми. **Специфічними** цитопатичними змінами заражених клітин є утворення вірусних тілець-включень і симпластів. Специфічні й неспецифічні процеси, що відбуваються в інфікованій клітині, можуть призвести до її деструкції та загибелі.

Причини ЦПД і подальшої загибелі клітин різноманітні: 1) блокування клітинного генома на ранніх стадіях інфекції та пошкодження його в процесі інфекції; 2) порушення метаболізму клітинних макромолекул; 3) інтенсивне виснаження протеїнових та енергетичних ресурсів клітин внаслідок переключення їхніх систем на синтез вірусоспецифічних макромолекул; 4) накопичення великої кількості вірусних структурних протеїнів, які мають цитотоксичну дію; 5) пошкодження лізосом і звільнення гідролітичних ензимів, які спричинюють автоліз клітин; 6) порушення структури плазмолем і лізис клітин внаслідок інтенсивного виходу віріонів потомства. Усі ці причини пошкодження клітин проявляються і поєднуються певним чином за різних вірусних інфекцій.

Деякі складно організовані віруси зумовлюють характерну ЦПД, яка полягає в злитті заражених клітин між собою (або інфікованих із нормальними) та утворенні багатоядерних клітин – **симпластів** (син.: *синцитії*, *полікаріоцити*). Вони можуть містити до 100 і навіть 1000 ядер. В основі формування симпластів лежить той самий

механізм, який забезпечує проникнення вірусу в клітину шляхом інтеграції суперкапсидної оболонки віріона з плазмолемою, а саме: з ліпідами плазмолем сусідніх клітин взаємодіють вірусні протеїни злиття. Симпластоутворення характерне, зокрема, для таких родин вірусів, як *Herpesviridae*, *Paramyxoviridae*, *Pneumoviridae* і *Retroviridae*.

Розрізняють **два типи** злиття клітин (рис. 70): 1) зовні (ранній полікаріоцитоз); 2) зсередини (пізній полікаріоцитоз).

Злиття зовні спостерігається на ранніх стадіях інфекції (в перші 3 год) за високої множинності зараження (близько 1000 віріонів на клітину). Ранній полікаріоцитоз обумовлений протеїнами адсорбованого на клітинах вірусу і не потребує експресії вірусного генома й синтезу вірусних компонентів, причому інактивація інфекційної активності вірусу УФ-променями, ультразвуком або прогріванням не впливає на симпластоутворення.

Злиття зсередини виникає на пізніх стадіях інфекційного процесу – через кілька годин чи діб після інфікування помірними або малими дозами вірусу. Пізній полікаріоцитоз збігається з інтенсивною фазою репродукції вірусу й зумовлений синтезованими вірусними глікопротеїнами, що модифікують плазмолему клітини.

У заражених клітинах часто виявляють вірусні **тільця-включення**. Вони локалізуються в ядрі або цитоплазмі інфікованих клітин, розрізняються за морфологією й тинкторіальними властивостями (базофільні та ацидофільні). **Природа** тілець-включень різноманітна, що залежить від виду вірусу. Це можуть бути скупчення віріонів потомства (аденовірусна інфекція ВРХ), накопичення вірусних протеїнів (грип) або змінений клітинний матеріал (герпетична інфекція людини). За більшості інфекцій тільця-включення являють собою **вірусні «фабрики»** – місця, де відбувається синтез компонентів вірусу і складання віріонів потомства. У вірусних «фабриках» виявляють клітинні структури (рибосоми, мембрани тощо). Тільця-включення є специфічною морфологічною ознакою вірусної інфекції та мають певне діагностичне значення.

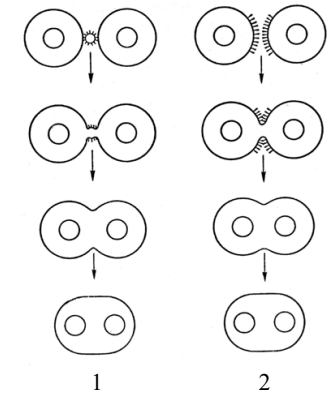


Рис. 70. Утворення симпластів:

1 – злиття зовні;
2 – злиття зсередини
(Букрінська А. Г., 1986)

Підбиваючи підсумок взаємодії вірусів із чутливими клітинами, можна дійти висновку, що результатом цієї взаємодії є: 1) загибель клітин; 2) трансформація клітин, що характеризується здатністю до необмеженого поділу; 3) формування хронічної інфекції – своєрідної рівноваги між вірусом і клітинами без прояву ЦПД, що призводить до персистенції збудника в організмі хазяїна.

6.3. Патогенез вірусних інфекцій на рівні організму

6.3.1. Проникнення вірусів в організм

Патогенез вірусних інфекцій починається з проникнення збудника в організм хазяїна. Шляхи проникнення вірусів в організм різноманітні, що визначається локалізацією чутливих клітин і механізмом передавання збудника від одного хазяїна до іншого. *Основні вхідні ворота інфекції* для більшості вірусів – слизові оболонки респіраторного і шлунково-кишкового трактів.

Аерогенний (повітряно-крапельний) шлях. Вірус може потрапити в організм у складі крапель або з частинками пилу, причому чим вони дрібніші, тим глибше проникають віруси, досягаючи альвеол. Аерогенний шлях проникнення властивий вірусам *двох груп*:

1) респіраторні віруси, що репродукуються в епітелії слизових оболонок дихальних шляхів, зумовлюючи місцеву (рідше генералізовану) інфекцію (наприклад, віруси грипу А, В, С і D, респіровірус ВРХ 3, ортопневмовірус ВРХ);

2) віруси, для яких дихальні шляхи є лише вхідними воротами інфекції; такі віруси спричинюють генералізований процес, нерідко з вторинним ураженням дихальних шляхів (наприклад, віруси натуральної віспи, віспи овець, кіз і свиней, краснухи, морбіллівірус кору, ортоавулавірус птахів 1).

Аліментарний (фекально-оральний) шлях проникнення характерний для вірусів *двох груп*:

1) кишкові віруси, що уражають епітеліальні клітини слизової оболонки кишечника і спричинюють гастроентерити (наприклад рота-, корона-, каліці- та астровіруси);

2) віруси, які не спричинюють вогнищового ураження слизової оболонки кишечника, а призводять до генералізованого процесу (наприклад, гепатовірус А, ентеровіруси С і G, тешовіруси А і В).

Контактний шлях зараження відбувається: 1) за безпосереднього контакту хворої тварини зі здоровою через шкіру, видимі слизові

оболонки (в тому числі статевих органів); 2) за непрямого контакту через фактори навколишнього середовища (зокрема парентерально).

Зараження *через шкірний покрив* відбувається в разі порушення його цілісності, навіть за мікроскопічних ушкоджень. Так можуть проникати в організм віруси віспи корів, вісповакцини, контагіозного моллюска, папіломавіруси, альфагерпесвіруси людини 1 і 2. У разі укусів передаються ліссавірус сказу і альфагерпесвірус макак 1. *Через кон'юнктиву* проникають мастаденовіруси людини і ВРХ.

Статевим шляхом в організм потрапляють віруси, які містяться в спермі або вагінальному слизу. У людини за статевих контактів можуть передаватися папіломавіруси, спричинюючи кондиломи та злоякісні пухлини геніталій, а також альфагерпесвіруси 1 і 2, що зумовлює місцеве ураження генітальних органів. Статевим шляхом передаються віруси імунодефіциту людини 1 і 2, гепатиту В, контагіозного моллюска, пестівіруси А і В, альфагерпесвірус ВРХ 1, альфагерпесвірус коней 1.

Деякі віруси можуть потрапити в організм *парентеральним шляхом*: через контаміновані інструменти або препарати крові (імунні сироватки, неспецифічні гаммаглобуліни, сироватки реконвалесцентів). Такий шлях зараження можливий для вірусів гепатиту В, імунодефіциту людини 1 і 2, лейкозу ВРХ. Парентеральний шлях проникнення вірусів у організм включає також зараження внаслідок трансплантації органів і гормонотерапії (в медичній практиці цей шлях називають *ятрогенним*). Так, виникнення в людей хвороби Крейтцфельда – Якоба пріонової етіології може бути пов'язане із застосуванням інфікованих трансплантатів рогівки або твердої мозкової оболонки, нейрохірургічних інструментів і соматотропного гормону, отриманого з гіпофізу померлих. Зареєстровані одиничні унікальні випадки зараження людей ліссавірусом сказу внаслідок пересадження рогівки ока від інфікованих донорів.

Існує велика екологічна група арбовірусів, які передаються через укуси кровосисних членистоногих (комарів, кліщів, москітів, мокреців). Цей шлях зараження називається **трансмісивним**. Таким способом проникають віруси кліщового енцефаліту, жовтої гарячки, блутанга, інфекційної анемії коней.

Вертикальний механізм – це передавання вірусу від батьків потомству, що здійснюється чотирма шляхами.

Внутрішньоутробне зараження плоду спричинюють віруси краснухи, імунодефіциту людини 1 і 2, лейкозу ВРХ, альфагерпесвіруси людини 3 і 5, маммаренавірус лімфоцитарного хориоменінгіту,

пестівіруси А і В, альфагерпесвірус ВРХ 1, альфагерпесвірус коней 1. У птахів трансваріально передаються віруси лейкозу птиці і саркоми Рауса, грипу А, ортоавулавірус птахів 1, коронавірус птахів, альфагерпесвіруси курячих 1, 2 і 3, авігепатовірус А.

Генетичне передавання трапляється за інтеграційних інфекцій, коли вірусний геном вбудовується в геном гермінальних клітин, з яких формуються яйцеклітини і сперматозоїди (віруси лейкозів і сарком тварин). *Перинатальне зараження* виникає в разі проходження плоду через інфіковані родові шляхи (можливе за цитомегалії, ВІЛ-інфекції, вірусної діареї ВРХ). *Лактогенне зараження* – з молоком матері передаються віруси імунодефіциту людини 1 і 2, лейкозу ВРХ, альфагерпесвірусу свиней 1.

6.3.2. Первинна репродукція вірусів

Багато вірусів, перед тим як поширитися в організмі, розмножуються в місці проникнення (біля вхідних воріт інфекції). Наприклад, первинна репродукція *ліссавірусу сказу* відбувається в м'язових клітинах у місці укусу, де його виявляють до 2 міс. *Ентеровірус С*, який спричинює поліомієліт, проникає через травний канал і, перед тим як досягнути ЦНС, розмножується в лімфоїдних фолікулах слизової оболонки рота, глотки і тонкого кишечника. Первинна репродукція *альфагерпесвірусу свиней 1* відбувається в місці проникнення – слизовій оболонці рота, верхніх дихальних шляхів або шкірі, а вже потім збудник різними шляхами поширюється по всьому організму.

Віруси, що спричинюють вогнищеві інфекції, інтенсивно розмножуються біля вхідних воріт інфекції, де і виникає клінічний прояв захворювання, наприклад, за грипу тварин і людини, парагрипу-3 ВРХ, ротавірусної та коронавірусної інфекції ВРХ, трансмісивного гастроентериту свиней.

6.3.3. Поширення вірусів в організмі

З місця проникнення віруси поширюються в організмі *трьома шляхами*: гематогенним, лімфогенним і нейрогенним.

Гематогенний шлях є основним у поширенні вірусів у організмі. *Вірусемія* є звичайним симптомом за більшості вірусних інфекцій. Вона розвивається під час інкубаційного періоду і зберігається впродовж перших днів хвороби. За деяких вірусних інфекцій вірусемія є *постійною*, наприклад, за лейкозу ВРХ, інфекційної анемії коней та африканської чуми свиней.

За більшості інфекцій вірус не пасивно переноситься плазмою крові, а розвивається *динамічний процес*, який охоплює макрофаги, лейкоцити, еритроцити, тромбоцити та ендотеліальні клітини. Вірусемія підтримується шляхом постійного поступлення вірусу в кров'яне русло або в разі порушення механізмів елімінації. Багато вірусів фагоцитуються макрофагами, які розносять їх по організму і захищають від імунних факторів. Транспортування фагоцитованого вірусу в лімфатичні вузли може лише сприяти інфекції, якщо збудник розмножується в лімфоїдній тканині, поступаючи звідти в кров.

Окрім макрофагів, віруси можуть зв'язуватися з іншими клітинними елементами крові. Так, віруси грипу А, В, С і D та респіровірус ВРХ 3 адсорбуються на еритроцитах; морбілілвірус кору, вірус кліщового енцефаліту, ентеровірус С, альфагерпесвіруси людини 1 і 2, альфагерпесвіруси птахів 2 і 3 – на лейкоцитах. Деякі віруси здатні репродукуватися в лейкоцитах (пестівіруси А, В і С), лімфоцитах (вірус лейкозу ВРХ) та еритроцитах (вірус інфекційної анемії коней). Віруси віспи ссавців і птахів розмножуються в клітинах судинного ендотелію, звідки безпосередньо потрапляють у кров.

Лімфогенний шлях. З місця первинної репродукції віруси можуть поширюватися по лімфатичних судинах. Ураження лімфатичних вузлів спостерігається за кору, краснухи, інфікування мигдалин та аденоїдів – за аденовірусної інфекції людини. У м'ясоїдних інфекційний гепатит, парвовірусна інфекція та чума супроводжуються ураженням мигдалин і лімфатичних вузлів, які можуть бути вторинним вогнищем інфекції.

Нейрогенний шлях. Деяким вірусам (зокрема збудникам сказу, вітряної віспи-оперізувального лишая, хвороби Ауескі) властиве поширення в організмі з місця проникнення вздовж периферійних нервів. Наприклад, *ліссавірус сказу* поширюється від місця укусу по аксоплазмі периферійних нейронів, зв'язуючись із ацетилхоліновими рецепторами нервово-м'язових синапсів. Швидкість дисемінації збудника по нервових стовбурах становить близько 3 мм/год. Досягнувши ЦНС, вірус інтенсивно репродукується там і по відцентрових нервах потрапляє в слинні залози та рогівку ока. За сказу виявляють тотальне ураження нервової системи. Можлива генералізація інфекційного процесу з локалізацією вірусу у внутрішніх органах і крові.

6.3.4. Локалізація вірусів в організмі

Після проникнення в організм і дисемінації з кров'ю, лімфою або нейрогенним шляхом віруси досягають відповідних тканин, де відбувається їхня основна репродукція. Здатність вірусів розмножуватися в певних типах клітин організму називається *тропізмом*. За цією властивістю віруси поділяються на *шість основних груп*:

1) *нейротропні* – уражають нервові клітини (ліссавірус сказу, тешовіруси А і В, віруси східного, західного і венесуельського енцефаломієлітів коней);

2) *дерматропні (епітеліотропні)* – уражають клітини шкіри і слизових оболонок (віруси віспи, ящуру, везикуловіруси Індіана, Алагоас, Кокал і Нью-Джерсі);

3) *пневмотропні* – уражають клітини слизових оболонок верхніх дихальних шляхів і легень (віруси грипу А, В, С і D, респіровірус ВРХ 3, ортопневмовірус ВРХ);

4) *ентеротропні* – уражають клітини слизової оболонки шлунково-кишкового тракту (ротавіруси А, В і С, бетакоронавірус 1);

5) *політропні* – уражають багато типів клітин (альфагерпесвірус ВРХ 1, пестівіруси А і В, мастаденовіруси ВРХ А, В і С, атаденовірус ВРХ D);

6) *пантропні* – уражають усі типи клітин (віруси чуми ВРХ, африканської чуми свиней, африканської чуми коней, пестівірус С, альфагерпесвірус свиней 1, морбіллівірус собак, ортоавулавірус птахів 1, пташині штами вірусу грипу А).

Поняття тропізму є в певній мірі умовним. Так, альфагерпесвірус людини 3, який спричинює вітряну віспу та оперізувальний лишай, відомий як дерматропний. Проте він уражає не лише шкіру, а й периферійну нервову систему.

В основі тропізму вірусів лежить чутливість до них певних клітин (а отже, тканин та органів), що у свою чергу зумовлено наявністю в клітинах специфічних рецепторів і відповідних протеолітичних ензимів.

6.3.5. Пошкодження чутливих клітин

Основним проявом вірулентності вірусів є *деструкція чутливих клітин* у тканинах-мішенях і виникнення внаслідок пошкодження тканин фізіологічних змін в організмі. Конкретні причини, що призводять до цитопатичного ефекту і загибелі клітин, розглянуто в підпункті 6.2.2 (стор. 172). Іноді ураженню тканин сприяє імунна відповідь хазяїна, як це не парадоксально звучить. Наприклад,

за інфекційної анемії коней, африканської чуми свиней та алеутської хвороби норок імунні комплекси вірус-антитіло-комплемент відкладаються в різних тканинах, спричинюючи тяжкі патологічні зміни.

Із зростанням числа зруйнованих вірусами клітин порушується функціонування відповідних органів, що призводить до клінічного прояву захворювання. Проміжок часу з моменту проникнення вірусів у організм до появи перших клінічних симптомів хвороби називається *інкубаційним періодом*. Тривалість його залежить від швидкості поширення збудника в організмі й досягнення чутливих клітин.

Залежно від вірулентності вірусів та імунологічної реактивності організму перебіг інфекційного процесу відбувається в різних *формах*: вогнищева, генералізована, гостра, інпаратна, латентна, хронічна і повільна інфекції (див. підпункт 6.3.7, стор. 179).

6.3.6. Імунна відповідь

Під час вірусної інфекції активізуються клітинна та гуморальна ланки імунної системи (це питання детально висвітлено в розд. 8 «Противірусний імунітет»). Імунні реакції організму проявляються на різних стадіях патогенезу на *трьох лініях захисту*:

1) біля входних воріт інфекції (перший бар'єр – інгібітори та секреторні антитіла класу IgA, які нейтралізують вірус у місці проникнення);

2) на шляху просування вірусу до чутливих клітин (інгібітори, гуморальні антитіла класів IgG та IgM, комплемент);

3) усередині заражених клітин (індукція антивірусного стану в клітинах під дією інтерферону; деструкція заражених клітин під дією антитіл, цитотоксичних Т-лімфоцитів, макрофагів).

Якщо в організмі встигають активізуватися клітинні й гуморальні фактори імунітету, перш ніж будуть уражені життєво важливі органи і розвинуться необоротні зміни, починається видужування. У процесі реконвалесценції організм поступово звільняється від збудника. Проте після видужання вірус може тривалий час зберігатися в організмі, що призводить до формування вірусної персистенції.

6.3.7. Класифікація вірусних інфекцій на рівні організму

В основу класифікації вірусних інфекцій покладено *чотири фактори*: 1) генералізація інфекції; 2) тривалість інфекції; 3) прояв клінічних ознак захворювання; 4) виділення вірусів у навколишнє середовище. Залежно від цих чинників усі вірусні інфекції поділяються на *дві групи*: вогнищеві та генералізовані.

За **вогнищевої інфекції** патогенна дія вірусу проявляється біля вхідних воріт у зв'язку з його локальною репродукцією. Вогнищева інфекція має короткий інкубаційний період, рідко супроводжується вірусемією, імунітет після захворювання нетривалий, і головну роль у ньому відіграють секреторні антитіла класу IgA. Прикладом вогнищевих інфекцій є грип людини і тварин, парагрип-3 ВРХ, ротавірусна і коронавірусна інфекції ВРХ, трансмісивний гастроентерит свиней.

За **генералізованої інфекції** вірус після короточасного розмноження в місці проникнення поширюється в організмі, досягаючи чутливих клітин і тканин, де відбувається його основна репродукція. Генералізованій інфекції властивий тривалий інкубаційний період, вірусемія, формування досить напруженого імунітету, провідна роль у якому належить гуморальним антитілам класу IgG. Генералізованими інфекціями є, наприклад, віспа, кір, поліомієліт, сказ, хвороба Ауескі, ньюкаслська хвороба.

Вогнищева та генералізована інфекції характеризуються двома типами взаємодії вірусу з організмом:

1) **короточасне** перебування збудника в організмі, що проявляється у двох формах інфекційного процесу: *гостра* та *інапарантна* інфекції;

2) **тривале** перебування збудника в організмі – *вірусна персистенція*, що проявляється у трьох формах інфекційного процесу: *латентна*, *хронічна* і *повільна* інфекції.

Гостра інфекція характеризується розвитком клінічних ознак захворювання, триває відносно короточасно, перебігає з виділенням вірусу в навколишнє середовище і закінчується загибеллю або видужанням. У процесі реконвалесценції вірус елімінується з організму завдяки імунним механізмам, і формується імунітет різного ступеня напруженості.

Інапарантна інфекція – це безсимптомна інфекція, що супроводжується нетривалим перебуванням вірусу в організмі та виділенням його в навколишнє середовище. Після звільнення організму від збудника доказом його перебування слугує поява або підвищення титрів специфічних антитіл у сироватці крові.

Для правильного розуміння поняття «*персистенція вірусу*» слід уточнити, що таке тривале і нетривале перебування збудника в організмі. Нетривале перебування – це термін, що не перевищує часу знаходження вірусу в організмі за гострої інфекції, включаючи такі періоди, як інкубаційний і неускладненого клінічного прояву хвороби. Тому будь-яке збереження вірусу в організмі хазяїна після

цього терміну вважається вже як тривале перебування, тобто власне персистенція. Усі *форми вірусної персистенції* – латентна, хронічна та повільна інфекції – характеризуються тривалим вірусоносійством, яке розрізняється за механізмом, проявом і наслідками.

Латентна інфекція – це безсимптомна персистенція вірусу, за якої зазвичай порушується повний цикл його репродукції й у клітинах хазяїна збудник персистує в дефектному стані або у вигляді субвірусних структур (у тому числі ДНК-провірусу). Виділити вірус у цьому разі досить складно. Іноді персистенцію вірусу встановлюють лише імунологічними або молекулярно-біологічними методами. За латентної інфекції може відбуватися репродукція зрілого вірусу і виділення його в навколишнє середовище.

У людей латентні інфекції здатні спричинити альфагерпесвіруси 1, 2 і 3, ентеровірус С, морбіллівірус кору, віруси краснухи, кліщового енцефаліту, імунодефіциту, онкогенні ретровіруси.

У ветеринарній практиці латентні інфекції можуть спричинити збудники парагрипу-3 ВРХ, інфекційного ринотрахеїту ВРХ, вірусної діареї ВРХ, класичної та африканської чуми свиней, хвороби Ауескі, ньюкаслської хвороби, алеутської хвороби норок. Сказ може протікати у вигляді латентної інфекції у лисиць, кажанів, псців та інших диких тварин, що підтримує циркуляцію вірусу в природі.

Під впливом яких-небудь зовнішніх факторів може відбутися активізація персистувального вірусу в організмі, його інтенсивна репродукція, що часто призводить до розвитку гострої інфекції, а також хронічної або повільної інфекції. Хрестоматійним прикладом слугує поширена герпетична інфекція людини з її довготривалою, практично довічною персистенцією збудника в гангліях трійчастого нерву.

Хронічна інфекція – це персистенція вірусу, що характеризується тривалим розвитком патологічного процесу з появою одного або кількох симптомів хвороби, чергуванням періодів ремісії і рецидивів, коли вірус виділяється в навколишнє середовище. Хронічну інфекцію можуть спричинити збудники парагрипу-3 ВРХ, вірусної діареї ВРХ, інфекційного ринотрахеїту ВРХ, аденовірусної інфекції ВРХ, класичної та африканської чуми свиней, чуми м'ясоїдних. У людини в хронічну форму може перейти гепатит В (у 6–15% випадків), що є однією з причин первинного раку печінки.

Повільна інфекція – це персистенція вірусу, що характеризується тривалим інкубаційним періодом (багато місяців і навіть років), подальшим поступовим, прогресувальним розвитком клінічних ознак хвороби та неминуче летальним наслідком. Для повільної інфекції

властивим є поява патологічних змін зазвичай в одному органі або тканинній системі.

Збудниками повільних інфекцій можуть бути віруси, які спричинюють інші форми інфекційного процесу, наприклад, морбіллівірус кору, вірус краснухи, ліссавірус сказу. Так, морбіллівірус кору персистує в лімфоїдній тканині та, проникнувши через гематоенцефалічний бар'єр, зумовлює через 1,5–18 років після захворювання підгострий склерозивний паненцефаліт, що завжди закінчується летально. Вірус краснухи в разі внутрішньоутробного зараження плоду спричинює повільну інфекцію, що характеризується тяжкими аномаліями розвитку, зокрема класичним синдромом – катаракта, глухота, вади серця – та ураженням ЦНС. Сказ може протікати у вигляді повільної інфекції з тривалим інкубаційним періодом – від 8 міс. до 3 років і навіть до 19 років.

Повільні інфекції спричинюють представники родини *Retroviridae*, роду *Lentivirus* (від лат. *lentis* – повільний): віруси імунодефіциту людини 1 і 2, імунодефіциту мавп, імунодефіциту котів, віснї/меді, артрити енцефаліту кіз. Яскравою ілюстрацією повільних інфекцій є трансмісивні губчастоподібні енцефалопатії тварин і людини, які спричинюються пріонами (див. підпункт 6.4).

Які **основні механізми вірусної персистенції**? Важлива роль у цьому належить передусім *ДІ-часткам* та *інтеграції геномів* вірусу і клітини. Крім того, вірусну персистенцію можуть спричинити *ts-мутанти*. Вірусна персистенція може виникнути за рахунок різних *імунопатологічних реакцій організму*. Наприклад, за інфекційної анемії коней, африканської чуми свиней та особливо алеутської хвороби норок накопичуються високі титри антитіл, які не здатні нейтралізувати вірус. Причиною вірусної персистенції можуть бути імунодефіцитний стан (вроджений чи набутий) або імунологічна толерантність. І, нарешті, за деяких інфекцій (скрепі, куру) істотною роль у персистенції збудника відіграє *генетичний механізм*.

6.4. Пріонні інфекції

Трансмісивні губчастоподібні енцефалопатії людини і тварин (*спонгіозні*, або *спонгіформні, енцефалопатії, ТГЕ*). Це особлива група нейродистрофічних захворювань, які супроводжуються характерними ураженнями ЦНС: сильно виражена вакуолізація

нейронів, унаслідок чого мозкова тканина набуває вигляду губки (*status spongiosus*), дистрофія та випадіння нейронів, розростання опорної тканини мозку і формування амілоїдних бляшок.

Уперше пріонні захворювання як нову групу особливих хвороб охарактеризував у 1954 р. в Ісландії *Б. Сігурдсон*. У хворих на скрепі овець він відзначив у край тривалий інкубаційний період, неухильно прогресувальний розвиток хвороби і неминуче летальний наслідок.

У 1953 р. подібне неврологічне захворювання куру було виявлено в аборигенів о. Нова Гвінея. У 1957–1966 рр. американець *К. Гайдушек* провів ґрунтовне дослідження куру, звернув увагу на виняткові властивості можливого збудника і незвичайну епідеміологію захворювання. У 1976 р. К. Гайдушеку присуджено Нобелівську премію за відкриття нових механізмів походження і поширення інфекційних хвороб.

У середині 1990-х рр. у Великій Британії виникла епізоотія губчастоподібної енцефалопатії серед ВРХ (коров'ячий сказ, хвороба скажених корів). Слідом за цим були зафіксовані випадки нового варіанту хвороби Крейтцфельда – Якоба (нвХКЯ) серед відносно молодих людей. Потенційна небезпека поширення захворювання серед людей стимулювала інтенсивні наукові дослідження в цій галузі. У 1997 р. американець *С. Прузінер* отримав Нобелівську премію за відкриття пріонів – інфекційних агентів нового типу.

У людини відомі такі ТГЕ, як хвороба Крейтцфельда – Якоба, синдром Герстманна – Штраусслера – Шейнкера, куру, фатальне родинне безсоння; у тварин – скрепі овець і кіз, губчастоподібна енцефалопатія ВРХ, трансмісивна енцефалопатія норок, спонгіформна енцефалопатія котячих, хронічна виснажлива хвороба оленів і лосів.

Збудниками ТГЕ людини і тварин є **пріони** – протеїнові інфекційні частки (від англ. *protein infectious particle*). Це паличкоподібні структури завдовжки 100–200 нм і діаметром 10–20 нм, які складаються з глікопротеїну з мол. масою 32–40 кДа. Залежно від виду тварин довжина поліпептидного ланцюга пріона несуттєво коливається, зокрема 253 амінокислотні залишки в людини і до 265 – у ВРХ. У головному мозку хворих на ТГЕ людей і тварин виявляють скупчення пріонів – скрепіасоційовані фібрили (САФ) (рис. 71, стор. 184).

У складі пріонів не міститься нуклеїнових кислот. Де ж тоді знаходиться генетична інформація? Встановлено, що пріонний протеїн (PrP) існує у *двох ізоформах* (рис. 72, стор. 184): 1) нормальна, або клітинна, – PrP^C (*prion protein cellular*); 2) аномальна, або патологічна, інфекційна, – PrP^{Sc} (*prion protein scrapie*), яка здатна утворювати САФ.

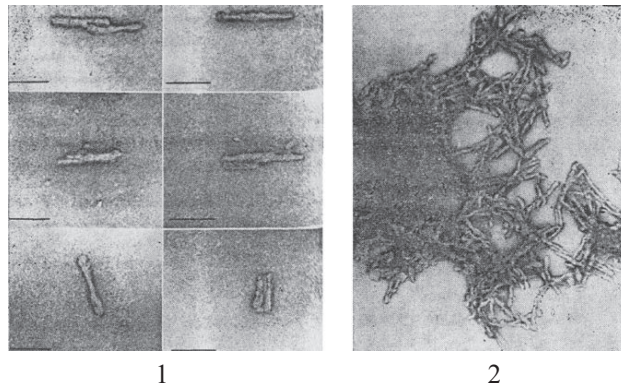


Рис. 71. Пріон скрепі:

1 – пріонові палички; 2 – скрепіасоційовані фібрили

(Філдс Б. та ін., 1989)

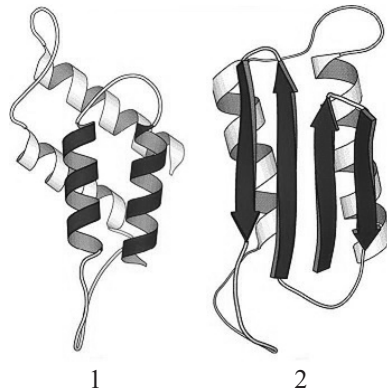


Рис. 72. Пріонний протеїн:

1 – клітинна ізоформа (PrP^C); 2 – інфекційна ізоформа (PrP^{Sc})

(Конен Ф., 1996)

Ген пріона знаходиться в геномі клітин всіх ссавців, а також також курей, черепах, риб, плодів мушок дрозофіл і детермінує продукцію нормальної ізоформи пріонного протеїну. PrP^C синтезується в основному в клітинах ЦНС, а також лімфоретикулярної тканини. Він утворюється на мембранах ендоплазматичної сітки і транспортується в секреторних везикулах на поверхню плазмолемі клітин. Під час транспортування відбувається процесинг PrP^C.

PrP^C має дуже важливе значення для життєдіяльності організму. Він визначає формування циркадних ритмів, регулюючи добові цикли активності та спокою в клітинах, органах і в організмі в цілому. PrP^C має значення в обміні Cu/Zn у ЦНС, нейротрансмісії, регуляції потоків Ca²⁺ через плазматичні мембрани клітин. PrP^C має вплив на антиоксидантні функції, сприяє тривалому виживанню нейронів і контролює процеси старіння організму.

Обидві ізоформи PrP ідентичні за вмістом і послідовністю амінокислот, а відрізняються лише за просторовою структурою молекул. Так, PrP^C має 43% α -спіральної та 3% β -складчастої структур, а PrP^{Sc} – відповідно 34% і 43%. Конверсія PrP^C у PrP^{Sc} може відбуватися спонтанно, під впливом екзогенного PrP^{Sc} і за мутацій гена PrP.

Усі ТГЕ людини і тварин є результатом посттрансляційних конформаційних змін PrP^C, що лежить в основі розмноження пріонів. Механізм конверсії PrP^C у PrP^{Sc} загалом виглядає так. Формується комплекс PrP^C-PrP^{Sc}, до якого приєднується протеїн-шаперон, який бере участь у перетворенні α -спіралей у β -складчасті структури. Утворений PrP^{Sc} у свою чергу з'єднується з наступною молекулою PrP^C і перетворює її в інфекційну ізоформу. Оскільки в заражених клітинах синтез PrP^C не змінюється, відбувається ланцюгова реакція, накопичується PrP^{Sc}, який спричинює дистрофічні зміни і загибель нейронів.

PrP^{Sc} потрапляє в організм аліментарним або парентеральним шляхом, розмножується спочатку в лімфоретикулярній тканині, потім – у грудному відділі спинного мозку, поширюється вздовж вісцеральних симпатичних волокон і досягає головного мозку. Концентрація його в ЦНС у 10–100 разів вища, ніж в інших органах і тканинах. При цьому не спостерігається запальної та імунологічних реакцій з боку організму. PrP^{Sc} в уражених клітинах індукує апоптоз, тобто запрограмований процес загибелі клітин. В уражених нейронах спостерігається виразна вакуолізація. Мозок помітно атрофується, набуває губкоподібної консистенції (спонгіозне переродження).

ТГЕ людини і тварин поділяються на *інфекційні*, *генетичні* та *спорадичні* захворювання. Інфекційними агентами, що спричинюють ТГЕ, є патогенні пріони екзогенного походження. Генетичні ТГЕ є наслідком мутації гена, що кодує структуру PrP. Спорадичні ТГЕ трапляються за відсутності будь-якого контакту хворого з патогенними пріонами чи мутацій у гені PrP. Спорадичні ТГЕ потребують подальшого ретельного дослідження для з'ясування етіологічних факторів.

Усі пріонні інфекції людини і тварин характеризуються такими ознаками: 1) 100%-ва смертність; 2) прогресувальне порушення поведінки, чутливості та координації рухів; 3) локалізація патологічних змін у ЦНС з утворенням множинних дрібних вакуолей (губчастоподібна структура); 4) тривалий інкубаційний період; 5) здатність пріонів долати видовий бар'єр і зумовлювати захворювання в інших видів.

Основні клінічні симптоми ТГЕ людини і тварин зумовлені повільно прогресувальними розладами ЦНС: порушення чутливості (гіперестезія шкіри, виражена реакція на звуки, рідше на світло), координації рухів (атаксія, спотикання, падіння) і поведінки (нервізм, агресивність, страх), а також облисіння і пігментація.

Хвороба Крейтцфельда – Якоба – це спорадичне захворювання, яке поширене в цілому світі та реєструється щорічно з частотою 0,5–1 випадок на 1 млн населення. Хворіють люди віком від 17 до 82 років. Інкубаційний період триває від 18 міс. до 20 років. Хвороба характеризується локомоторними розладами, прогресуючим недоумством, паралічами й абсолютною летальністю через 7–24 міс. після прояву клінічних ознак. Близько 10–15% випадків захворювання становлять родинні вогнища, що генетично детерміновано; 85–90% випадків виникають спонтанно. І лише в 1–5% випадків хвороба (нвХКЯ) розвивається як інфекційна внаслідок проникнення в організм екзогенного PrP^{sc}, що може відбутися в разі споживання м'яса і головного мозку хворої ВРХ. Певну небезпеку становлять фармацевтичні й косметичні препарати, виготовлені з тканин інфікованих тварин. Можливе спонтанне проникнення в організм PrP^{sc} через мікротравми шкіри і слизових оболонок, а також ятрогенним шляхом (1% випадків) – за трансплантації інфікованих органів (зокрема рогівки ока або твердої мозкової оболонки), за хірургічних операцій із використанням контамінованих інструментів або електродів, за гормонотерапії (ін'єкції людського гормону росту, отриманого з гіпофізу померлих).

Куру – рідкісна ендемічна хвороба, яка виявлена лише серед папуасів племені форє в гірських районах Нової Гвінеї. Механізм виникнення куру пов'язаний із ритуальним канібалізмом під час погребального обряду як прояв поваги до померлих. Основну участь у цьому ритуалі брали жінки і діти, тому захворюваність серед них була в 4–5 разів вищою, ніж серед чоловіків. Зараження відбувалося аліментарно, а також через пошкоджену шкіру, слизову оболонку носа і кон'юнктиву (під час розчленування руками тіл померлих). Короткочасне прогрівання на розпечених каменях у бамбукових циліндрах м'язової тканини, головного мозку та інших внутрішніх

органів померлого не інактивувало збудника, оскільки температура всередині циліндрів в умовах високого тиску не перевищувала 95 °С (а PrP^{sc} інактивується впродовж 1 год лише за тиску 2 атм – 120 °С).

Інкубаційний період за куру триває 25–30 років і більше. Хвороба характеризується ейфорією, прогресувальним порушенням координації рухів, паралічами і неминучою смертю через 6–24 міс. У період з 1957 по 1982 рр. від куру померли понад 2500 людей. З 1980-х рр. унаслідок заборони ритуального канібалізму смертність від куру різко зменшилася і становить поодинокі випадки на рік, що дає підставу припустити повне зникнення куру в найближчий час.

Чому на земній кулі існує єдине ендемічне вогнище куру? Можливо, спорадичний випадок хвороби Крейтцфельда – Якоба, яка поширена в цілому світі, в умовах незвичайних етнічних традицій Нової Гвінеї дав початок унікальній епідемії. Серійні пасажі мозкової тканини в організмі людей могли призвести до зміни клінічної картини хвороби, а також вірулентності вихідного агента. Крім того, не виключається роль генетичного фактора.

Синдром Герстманна – Штраусслера – Шейнкера – рідкісна спадкова хвороба (1 випадок на 10 млн людей), яка зареєстрована в США, Швеції, Німеччині, Великій Британії, Італії, Японії та має виключно сімейний характер. Хворіють люди віком від 20 до 60 років. За клінічним проявом захворювання подібне до описаних вище куру і хвороби Крейтцфельда – Якоба. Інкубаційний період триває 5–30 років. Далі спостерігаються прогресувальна атаксія, недоумство. Смерть настає через 4–5 років. PrP^{sc} з'являється у цих хворих унаслідок мутації гена PrP.

Фатальне сімейне безсоння – спадкове захворювання, яке уражає членів однієї родини і супроводжується стійким порушенням сну, яке не корегується жодними снодійними препаратами. Хворіють люди від 25 до 75 років. Хвороба триває від 6–13 міс. до 2–4 років і неминуче закінчується смертю.

Скрепі овець і кіз уперше описана Англії в 1732 р. і реєструється в багатьох країнах світу. Хворіють вівці й іноді кози. Чутливість овець коливається від 5 до 78% залежно від породи, а кози мають 100%-ву сприйнятливність. Зараження відбувається за прямого контакту з хворими тваринами, на пасовищах, заражених плідними водами, а також внутрішньоутробно. Існує генетична схильність до захворювання. Скрепі характеризується тривалим інкубаційним періодом (до 5 років), порушенням координації рухів, свербінням, паралічами. Тварини гинуть протягом кількох місяців із моменту прояву хвороби.

Трансмисивна енцефалопатія норок (ТЕН) уперше зареєстрована у США в 1947 р. Тварини заразилися після поїдання непроварених нутрощів і голів овець, інфікованих збудником скрепі. Хворі норки виділяють збудник із калом, контамінуючи ним корм. Норки можуть заразитися також за укусів і канібалізму. Інкубаційний період триває від 5 міс. до року. Клінічні ознаки ТЕН дуже подібні до скрепі: сильна збудливість, порушення координації рухів, самопогризання і неминуча загибель через кілька тижнів. Обов'язковим профілактичним заходом за ТЕН є ретельне проварювання субпродуктів овець у разі згодовування норкам.

У 1978 р. у США в стадах оленів і лосів спостерігали захворювання, подібне до скрепі, – *хронічна виснажлива хвороба*. Ймовірно, тварини заразилися на пасовищах, контамінованих збудником скрепі.

Губчастоподібна енцефалопатія ВРХ (коров'ячий сказ, хвороба скажених корів, GE ВРХ) зареєстрована вперше в 1986 р. у Великій Британії, де набула епізоотичного поширення. До кінця 1997 р. 60% молочних і 16% м'ясних стад виявилися неблагополучними, а до грудня 2000 р. було утилізовано близько 179 тис. корів. Поодинокі випадки захворювання зареєстровані в 15 країнах світу. GE ВРХ визнана як особливо небезпечна інфекція.

Виникнення хвороби пов'язують із використанням у раціоні ВРХ м'ясокісткового борошна, виготовленого з туш хворих на скрепі овець. Важливим фактором була зміна технології виробництва м'ясокісткового борошна з метою підвищення рентабельності (зниження температури і скорочення часу обробки трупів). За таких умов збудник скрепі, який характеризується високою стійкістю, зберігся й, очевидно, подолав видовий бар'єр. Хоч за біологічними властивостями збудник GE ВРХ відрізняється від збудника скрепі, проте не можна виключити його походження від якогось штаму пріона скрепі, який суттєво змінився і стабілізувався в процесі адаптації до організму ВРХ. У результаті заборони згодовувати м'ясокісткове борошно різко знизилася кількість випадків захворювання на GE ВРХ. Інших шляхів передачі збудника в природних умовах не встановлено.

Інкубаційний період за GE ВРХ триває від 2,5 до 8 років. Клінічні ознаки дуже подібні до інших TGE: локомоторні порушення, боязливість, агресивність, гіперестезія, неадекватна реакція на звук і загибель упродовж 4 міс.

GE описана в різних видів антилоп та оленів, які утримувалися в зоопарках і не контактували з великою й дрібною рогатою худобою. У раціон їм теж додавали м'ясокісткове борошно.

Збудник GE ВРХ здатний проходити видовий бар'єр. Описані випадки *спонгіформної енцефалопатії котячих* у домашніх і диких котів, пум, гепардів, оцелотів, тигрів та левів після вживання консервів або сирого м'яса хворої ВРХ.

Наведені приклади свідчать про спільність збудників TGE тварин і людини. Оскільки пріони здатні долати видовий бар'єр, це спонукає приділяти особливу увагу дослідженню факторів ризику зараження людей від тварин або через продукти харчування чи фармацевтичні препарати тваринного походження.

Слід зазначити, що залишається низка питань, які складно пояснити в рамках пріонної концепції TGE. Значний інтерес щодо походження TGE становить *гіпотеза молекулярної мімікрії* англійського імунолога А. Ебрінгера (1998). Згідно з даними його досліджень, деякі TGE (зокрема GE ВРХ і нвХКЯ) і розсіяний склероз є аутоімунними хворобами, що спричинюються сапрофітними бактеріями роду *Acinetobacter*, які населяють кишечник. Антигени цих бактерій містять амінокислотні послідовності, що імітують епітопи деяких протеїнів тканини головного мозку, зокрема мієліну, та індукують утворення антитіл. Останні реагують із мієліном, що призводить до загибелі нервових клітин.

Бактерії роду *Acinetobacter* поширені в продуктах тваринного походження, воді, ґрунті й повітрі. Тому цілком зрозуміла смерть строгих вегетаріанців від нвХКЯ. Для людини і тварин вміст в організмі великої кількості *Acinetobacter* ризиковано. А. Ебрінгер розробив метод MAN (Mielin–Acinetobacter–Neutrofilament), за допомогою якого в 1 мл крові тварини визначають наявність антитіл до *Acinetobacter* та їхню концентрацію. На основі титру антитіл до *Acinetobacter* можна зробити висновок про наявність або відсутність GE з ймовірністю помилки 10^{-6} .

За даними А. Ебрінгера, концентрація антитіл до *Acinetobacter* може слугувати індикатором наявності в людини розсіяного склерозу, хвороби Крейтцфельдта – Якоба та куру, у ВРХ – GE і, можливо, в овець і кіз – скрепі. Чим більше виробляється антитіл в організмі, тим сильніше їхня дія на ЦНС. При цьому змінені пріони є побічним продуктом хвороби, а не її причиною. Якщо в тварини є антитіла до *Acinetobacter*, то слід з'ясувати джерело потрапляння антигенів в організм (силос або інші корми, вода).

Підтвердження гіпотези А. Ебрінгера звільнить людей від страху перед пріонами, а також від обтяжливих для бюджету тестів індикації пріонів із метою виявлення інфікованих тварин. Для підтвердження

безпеки яловичини необхідно провести аналізи, що показують рівень контамінації м'яса і м'ясних продуктів *Acinetobacter* та які зміни в технологічному процесі треба зробити, щоб споживачі одержували продукти з мінімальною кількістю *Acinetobacter*.

6.5. Вірусний онкогенез

Здатність вірусів спричинювати пухлини була встановлена ще на початку ХХ століття, коли в 1908 р. *В. Еллерман* і *О. Банг* (Данія) встановили передавання лейкозу курей від хворої птиці здоровій за допомогою профільтрованих екстрактів лейкоцитів і сироватки крові. У 1911 р. *П. Раус* (США) довів вірусну етіологію щільної пухлини курей – саркоми, перещеплюючи її з допомогою безклітинних фільтратів.

Ці дослідження поклали початок **онковірусології**, що вивчає онкогенні віруси. Становлення цього самостійного розділу вірусології було пов'язано не тільки і не стільки з відкриттям нових онкогенних вірусів, а насамперед із теоретичними дослідженнями, спрямованими на розуміння їхньої природи й механізму трансформації клітин. Одним з основоположників онковірусології та імунології пухлин є всесвітньо відомий російський вірусолог, мікробіолог та імунолог, академік *Л. О. Зільбер*, автор *вірусогенетичної теорії походження пухлин* (1944–1961 рр.). Ця теорія базується на інтеграції вірусного генома з клітинним (див. підпункт 6.2.1, стор. 169).

До онкогенних належать віруси, які здатні перетворювати нормальну клітину в пухлинну, в тому числі й такі, що трансформують клітини лише *in vitro*, хоч *in vivo* їхня онкогенна дія не проявляється. На нинішній день відомо близько 200 вірусів, які спричинюють пухлини в хребетних (починаючи з риб і закінчуючи людиною). Вони належать до різних *таксономічних груп*: шести родин ДНК-вмісних вірусів (*Adenoviridae*, *Poxviridae*, *Papillomaviridae*, *Polyomaviridae*, *Herpesviridae*, *Hepadnaviridae*) і двох родин РНК-вмісних вірусів (*Retroviridae*, *Flaviviridae* – гепатівірус С).

Трансформація клітин – це спадкові зміни її властивостей під впливом чужорідної генетичної інформації, в тому числі вірусної. Трансформовані *in vitro* клітини відрізняються від нормальних за низкою ознак. Передусім це ознаки «соціальної» поведінки, тобто взаємовідносин клітин із субстратом росту і між собою.

Нормальні клітини починають ділитися тільки після прикріплення і розпластання на твердому субстраті, і цей поділ триває до появи контакту між сусідніми клітинами. Контактна інгібіція зумовлена наявністю із зовнішнього боку плазмолемі протеїну фібронектину, який утворює на клітинній поверхні відносно нерухому фібрилярну сітку, зв'язану через плазматичну мембрану з елементами цитоскелету. Внаслідок контактної інгібіції через 2–5 діб на склі формується моношар клітин.

На відміну від нормальних, трансформовані клітини здатні ділитися без прикріплення до твердого субстрату або сполучаються з ним лише відростками. Слабкий зв'язок із субстратом призводить до підповзання клітин одна на одну і формування багатoshарових вогнищ із хаотичним розміщенням клітин. У трансформованих клітинах зникає протеїн фібронектин, унаслідок чого вони втрачають властивість контактної інгібіції та здатні ділитися за високої концентрації на склі і в середовищах із низьким вмістом ростових факторів (сироватки). За трансформації змінюється морфологія клітин (частіше вони набувають округлої форми), з'являються вірусоспецифічні антигени.

Важливою ознакою трансформації клітин є їхня здатність індукувати пухлини після введення в організм тварин відповідного виду. Проте трансформовані *in vitro* клітини не завжди мають властивості пухлинних клітин, тобто здатність проявляти онкогенність *in vivo*. Іноді це пов'язано з імунологічною реакцією організму. У такому разі пухлинну природу трансформованих клітин можна продемонструвати шляхом уведення великої кількості клітин тваринам з ослабленою імунологічною реактивністю (наприклад, так званим голим мишам або тваринам, обробленим імунодепресантами). Однак і за цих умов не завжди виявляють пухлинні властивості трансформованих *in vitro* клітин. Тим більше не завжди в трансформованих клітинах з'являються ознаки злоякісного переродження – **малігнізації**: здатність до інвазивного росту і метастазування.

Існує поняття **«іморталізація клітин»**, коли клітини *in vitro* стають безсмертними, тобто перетворюються в клітинні лінії з необмеженим строком життя, проте в них повністю відсутня онкогенність для будь-яких видів експериментальних моделей. Хоча поняття «трансформована» і «пухлинна» (особливо «малігнізована») клітини неідентичні, ключовий механізм трансформувальної й пухлинної активності вірусів, очевидно, один і той самий.

Пухлинна клітина – це клітина, трансформована вірусом *in vivo*, яка стійко змінила свою «соціальну» поведінку в організмі. Вивчення

трансформувальної активності вірусів *in vitro* відкриває широкі можливості для розуміння механізму їхньої пухлинної дії.

Клітини, трансформовані онкогенним вірусом, завжди містять його генетичний матеріал. Про це свідчать такі *ознаки*: 1) безпосереднє виявлення вірусного генома методом ДНК-зондів або в ПЛР; 2) формування інфекційних віріонів потомства або індукція цього процесу; 3) утворення вірусоспецифічних мРНК; 4) синтез вірусних протеїнів.

У трансформованих клітинах виявляють вірусний геном в інтегрованому стані (адено-, поліома-, герпес-, гепадна- і ретровіруси) або у вигляді епісом (папілома- і герпесвіруси). Інтегрований із клітинною ДНК вірусний геном може бути повним (наприклад, у недефектних штамів вірусу саркоми Рауса з родини *Retroviridae*, гаммагерпесвірусу людини 4 з родини *Herpesviridae*) або дефектним (завжди в аденовірусів і часто в поліома-, герпес- і ретровірусів).

Геном онкогенного вірусу не тільки присутній у трансформованих клітинах, а й функціонує, тобто має місце транскрипція з утворенням вірусоспецифічних мРНК і трансляція з синтезом вірусних протеїнів (структурних і неструктурних). У клітинах, заражених онкогенними вірусами, можуть з'являтися неструктурні вірусні протеїни, які є показником клітинної трансформації. Це *антигени Т* (від лат. tumor – пухлина) і *трансплантаційні*. Т-антигени синтезуються на початкових стадіях репродукції онкогенних вірусів (зокрема поліома-, аденовірусів, вірусу саркоми Рауса з родини *Retroviridae*), і вони є ранньою ознакою процесу перетворення нормальної клітини в трансформовану. Трансплантаційні антигени виявляють зазвичай на плазмолемі вже трансформованих клітин.

Як онкогенний вірус перетворює нормальну клітину в пухлинну? Це питання має виняткове значення не тільки для онкології та вірусології, а й для розуміння таких важливих аспектів біології, як диференціація й регуляція поділу клітин. Велику роль у вирішенні цієї проблеми відіграла вірусогенетична теорія походження пухлин Л. О. Зільбера.

Можна уявити два принципово різні *механізми дії* онкогенного вірусу на клітину: 1) вірусний геном здійснює запуск процесу трансформації, проте не бере участі в його підтриманні (*гіпотеза запуску*); 2) для виникнення і підтримання трансформованого стану клітини необхідна постійна присутність вірусного генома (*гіпотеза присутності*).

Якщо провірна друга гіпотеза, то вірусний геном може впливати на клітину такими *механізмами*: 1) вірусний геном включається

в клітинний і займає таке положення, за якого порушується контроль клітинного поділу; функціонування вірусного генома при цьому необов'язкове (*гіпотеза положення*); 2) не вірусний геном, а продукти його експресії безпосередньо відповідають за виникнення і підтримання трансформованого стану клітини (*гіпотеза функціонування*).

Встановлено, що для прояву трансформувальної та онкогенної активності вірусів потрібна лише частина їхнього генома, яку називають *трансформувальною ділянкою*. Специфічні гени пухлинних вірусів, продукти яких безпосередньо відповідають за перетворення нормальної клітини в трансформовану і за підтримання трансформованого фенотипу, називаються *трансформувальними генами*, або *онкогенами*.

У РНК-вмісних ретровірусів виявлено до 35 онкогенів – *v-onc*. Усі вони мають клітинне походження. Прототипами вірусних онкогенів є висококонсервативні клітинні гени – *c-onc*, які називаються *протоонкогенами* (син.: *клітинні онкогени*, *клітинні трансформувальні гени*). Вони знаходяться в геномі всіх хребетних, а деякі виявлені в безхребетних (наприклад у дрозофіли) і навіть дріжджів. Припускається участь протоонкогенів у регуляції клітинного поділу і диференціації. Встановлена експресія певних *c-onc* у різних ембріональних тканинах. Клітинні гени були захоплені ретровірусами в процесі інтеграції ДНК-копії вірусної РНК із клітинним геномом (унаслідок рекомбінації ДНК-провірусу із *c-onc*) і підпали під контроль вірусних регуляторних механізмів. Онкогени не потрібні для репродукції ретровірусів і можуть утрачатися (наприклад, вірус саркоми Рауса в разі втрати гена *src* перетворюється у вірус лейкозу птахів). Проте продуктами експресії онкогенів є *вірусні трансформувальні протеїни (онкопротеїни)*, що відповідають за перетворення нормальної клітини в трансформовану.

В онкогенних ДНК-вмісних вірусів, на відміну від ретровірусів, трансформувальні гени, очевидно, неклітинного походження, оскільки не мають гомології з протоонкогенами і не рекомбінуються з клітинною ДНК. Ці гени є невід'ємною частиною вірусного генома, й їхні функції потрібні насамперед для реплікації вірусної ДНК. Так, у поліомавірусів продуктом ранньої транскрипції є Т-антиген, який не тільки спричинює трансформацію клітин, а й ініціює реплікацію вірусної ДНК.

Який механізм дії вірусних трансформувальних протеїнів на клітину? Вірусні онкопротеїни активізують або пригнічують роботу специфічних клітинних генів (протоонкогенів), які контролюють

поділ і диференціацію клітин. Клітинне походження онкогенів ретровірусів не дає змоги вважати віруси єдиним етіологічним фактором природного канцерогенезу.

Важливу роль у канцерогенезі (включаючи вірусний) відіграють *клітинні гени-супресори*. Продукти їхньої експресії беруть участь у контролі клітинного поділу і тим самим пригнічують трансформацію нормальної клітини в пухлинну. Нині відомо близько 10 генів-супресорів. Якщо вони нормально функціонують, тоді клітина дуже стійка до різноманітних канцерогенних факторів. У більшості спонтанних пухлин людини гени-супресори або відсутні внаслідок делеції відповідної ділянки генома, або не функціонують через пошкодження їхніх регуляторних елементів, або унаслідок мутації експресують функціонально неповноцінний протеїн.

Обов'язковою умовою вірусіндукованої трансформації клітини є *хронічна інфекція*, за якої життєздатність клітини не порушується і синтезуються вірусні трансформувальні протеїни – продукти вірусних онкогенів. Для того, щоб трансформація набула стійкого характеру, вірусний онкоген повинен закріпитися в клітині та постійно функціонувати з утворенням специфічної мРНК і відповідного онкопротеїну. Найкращий механізм закріплення *v-onc* у клітині – інтеграція вірусного і клітинного геномів.

Канцерогенез – це складний багатоступеневий процес, пов'язаний з активізацією вірусних або клітинних онкогенів та інактивацією генів-супресорів.

Наведемо приклади природного вірусіндукованого канцерогенезу. Віруси лейкозу Раушера й пухлин молочних залоз мишей із родини *Retroviridae* на першому етапі спричинюють інтенсивну проліферацію певних клітин (еритробласти за лейкозу Раушера і клітини молочної залози за раку цього органа). Трансформовані клітини не є злоякісними: вони не здатні до інвазивного росту і метастазування. Проте на другому етапі окремі трансформовані клітини малігнізуються і дають початок злоякісній пухлині. Роль вірусів на другому етапі, очевидно, несуттєва, а існує мутація певних клітинних генів.

Подібна ситуація спостерігається стосовно капіпапіломавірусу 2 (збудника папіломи Шоупа) з родини *Papillomaviridae*. На першому етапі вірус індукує в диких американських кролів доброякісні пухлини шкіри. На другому етапі, який настає не завжди (в 25% випадків), відбувається малігнізація клітин, і папілома перетворюється в карциному. Гаммагерпесвірус людини 4 з родини *Herpesviridae* спочатку спричинює в людини трансформацію лімфоцитів,

а пізніше – малігнізацію трансформованих клітин, що призводить до розвитку лімфоми Беркітта або назофарингеальної карциноми. Високоонкогенні адено-, поліомавіруси, вірус саркоми Рауса (з родини *Retroviridae*) здатні зразу надати злоякісного неопластичного потенціалу принаймні частині трансформованих клітин.

Малігнізація клітин може бути окремим випадком вірусіндукованої трансформації або виникає як незалежна від вірусу зміна трансформованих клітин. Онкогенні віруси є одним із можливих етіологічних факторів канцерогенезу поряд із спонтанним та індукованим мутагенезом, спричиненим такими факторами, як хімічні канцерогени і радіація. Проте вивчення вірусного канцерогенезу дуже важливе для розуміння механізму перетворення нормальної клітини в пухлинну. Подальше дослідження молекулярних і клітинних механізмів вірусіндукованої трансформації є важливим завданням онковірусології.

Контрольні запитання

1. Які фактори визначають патогенез вірусних інфекцій?
 2. Охарактеризуйте вірусні інфекції на клітинному рівні.
 3. Що таке цитопатичний ефект вірусу та які його причини?
 4. Назвіть можливі наслідки взаємодії вірусів із клітинами.
 5. Назвіть стадії патогенезу вірусних інфекцій на рівні організму.
 6. Якими шляхами проникають віруси в організм?
 7. Як відбувається поширення вірусів у організмі?
 8. Що таке тропізм вірусів і чим він зумовлений?
 9. Охарактеризуйте вірусні інфекції на рівні організму.
 10. Назвіть основні механізми персистенції вірусів.
 11. Охарактеризуйте природу пріонів та пріонні інфекції людини і тварин.
 12. Охарактеризуйте механізм трансформації клітин під дією онкогенних вірусів.
-

Розділ 7

ЕКОЛОГІЯ ВІРУСІВ ТА ЕПІЗООТОЛОГІЯ ВІРУСНИХ ІНФЕКЦІЙ

7.1. Основні завдання з екології вірусів

Екологія вірусів вивчає їхні взаємозв'язки з навколишнім середовищем у всій його різноманітності та наслідки цих взаємовідносин як для вірусів, так і для довкілля, включаючи людину й тварин.

Виникнення цього наукового напрямку у вірусології зумовили *дві обставини*: 1) всезростаючі темпи антропогенного перетворення біосфери внаслідок науково-технічного прогресу; 2) необхідність прогнозувати появу і розвиток епідемічних та епізоотичних спалахів вірусних інфекцій людини і тварин.

Традиційні напрямки епідеміологічних та епізоотологічних досліджень вірусних інфекцій накопичили значний досвід щодо боротьби з епідеміями й епізоотіями, які вже виникли. Проте в багатьох випадках конкретні причини, що призводять до їхньої появи, залишаються нез'ясованими. Для прогнозування епідемії та епізоотій і запобігання їм обов'язково необхідно з'ясувати такі *питання*. 1) Де вірусна популяція зберігається в період між епідеміями та епізоотіями? 2) Як відбувається вихід вірусних популяцій з екологічних ніш, що дає початок епідемії та епізоотії? 3) Чому час від часу змінюються властивості вірусної популяції, що часто визначає розвиток пандемій і панзоотій? Відповіді на ці питання дали б можливість покращити складання прогнозів спалахів вірусних інфекцій людини і тварин та намітити найраціональніші й ефективніші шляхи запобігання їм.

На екологію вірусів великий вплив мають *антропогенні фактори*: 1) забруднення довкілля промисловими відходами; 2) повсюдне застосування пестицидів, антибіотиків, вакцин та інших біопрепаратів; 3) урбанізація з величезною концентрацією населення в мегаполісах;

4) розвиток сучасних транспортних засобів; 5) господарське освоєння нових територій; 6) створення індустріального тваринництва з високою концентрацією поголів'я на обмежених площах.

Усе це призводить до порушення структури сформованих біоценозів*, сприяє залученню в епідемічний та епізоотичний процеси нових збудників, змінює властивості й шляхи циркуляції відомих вірусів, а також імунореактивність та сприйнятливність популяцій людей і тварин.

7.2. Екологічні ніші вірусів

Екологічні ніші вірусів у загальному розумінні – це місце, яке вони посідають у біосфері. Екологічні ніші включають територію (ареал), що займають певні вірусні популяції, їхні взаємовідносини з іншими організмами і роль у біоценозах.

Не ставши організмами, віруси водночас є своєрідною формою життя з усіма характерними його проявами. Вони здатні пристосовуватися до мінливих умов довкілля та еволюціонувати. Позбавлені власних систем синтезу протеїнів, віруси є автономними генетичними структурами, які назавжди прив'язані до внутрішнього середовища організму – від найпростішої прокаріотної клітини до вищого багатоклітинного організму. Ці організми і становлять екологічні ніші вірусів.

Віруси паразитують у бактеріях, археях, найпростіших, грибах, різноманітних видах рослин і тварин. У різних вірусів коло природних хазяїв (*спектр патогенності*) варіює. Відомі віруси з широким спектром патогенної активності, наприклад, збудники сказу, ящуру, грипу, хвороби Ауескі, ньюкаслської хвороби. Багато вірусів здатні паразитувати в організмах лише одного виду, зокрема збудники кору, краснухи, класичної та африканської чуми свиней, хвороби Тешена, вірусного гепатиту каченят.

Існують віруси з *двофазним типом поширення* в природі, коли відбувається послідовна зміна хазяїв або інший живий організм є механічним переносником. Наприклад, комахи нарівні з організмом тварини можуть бути місцем репродукції вірусів. Віруси тварин, які передаються через укуси кровосисних членистоногих (кліщів,

* *Біоценоз* (син.: біогеоценоз, екосистема) – це взаємозв'язок популяції з неживим середовищем.

комарів, москітів, мокреців), становлять екологічну групу *арбовірусів* (від англ. arthropod-borne-viruses – віруси, що передаються членистоногими). Віруси, які зв'язані з гризунами, належать до екологічної групи *робоірусів* (від англ. rodent-borne-viruses – віруси, що передаються гризунами).

7.3. Механізм виникнення і поширення вірусних інфекцій та передавання збудників

Вірусні інфекції тварин характеризуються певним *епізоотичним процесом*, який полягає у виникненні та поширенні вірусних інфекцій унаслідок ланцюгового передавання збудників від заражених організмів сприйнятливим здоровим. Безперервність ланцюга послідовних заражень тварин забезпечує збереження в природі вірусів як біологічних видів, а отже, і саме існування вірусних хвороб. У процесі еволюції віруси пристосувалися до паразитування в організмі тварин певного виду й одночасно до умов довкілля в ході постійного переміщення від одного хазяїна до іншого. Обов'язковою умовою виникнення кожного випадку вірусної інфекції є наявність *трьох ланок епізоотичного ланцюга*: 1) джерела збудника інфекції; 2) механізму його передавання; 3) сприйнятливого організму.

Джерело збудника інфекції – це заражений організм тварини або людини, де вірус зберігається, розмножується і виділяється в довкілля або безпосередньо передається іншому сприйнятливому індивіду. Джерелом збудника інфекції є клінічно хворі тварини і люди, вірусносії в стадії реконвалесценції та латентні вірусносії.

Залежно від джерела збудника інфекції вірусні хвороби поділяються на *дві групи*:

1) **антропонози** – властиві тільки людині й джерелом збудника інфекції є людина (наприклад, кір, поліомієліт, краснуха, гепатит В);

2) **зоонози** – спільні для людини і тварин, а джерелом збудника інфекції є тварина (наприклад, сказ, кліщовий енцефаліт, лімфоцитарний хориомеїніт, східний, західний і венесуельський енцефаломієліти коней).

Деякі фахівці серед групи зоонозних інфекцій розрізняють такі різновиди:

1) **строгі зоонози** – властиві тільки тваринам і джерелом збудника інфекції є тварина (наприклад, класична та африканська чума свиней,

африканська чума коней, хвороба Тешена, хвороба Ауескі, чума ВРХ, чума м'ясоїдних, алеутська хвороба норок);

2) **зооантропонози** – спільні для людини і тварин, а джерелом збудника інфекції є тварина;

3) **антропозонози** – спільні для людини і тварин, а джерелом збудника інфекції є людина (трапляються зрідка).

Найбільш інтенсивним і небезпечним джерелом збудника інфекції є клінічно хворі тварини за гострого перебігу хвороби. У разі хронічних інфекцій вірус виділяється у великих кількостях у період рецидивів. Небезпечним джерелом збудника інфекції є тварини за інпаратних та латентних інфекцій, своєчасне діагностування яких досить утруднене.

З організму віруси можуть виділятися *різними шляхами*: з калом, сечею, слиною, видихуванім повітрям, виділеннями з носа, рота, очей, статевих органів, спермою, молоком, ексудатом вогнищевих уражень шкіри і слизових оболонок. Конкретні шляхи виділення вірусів з організму залежать від їхнього тропізму і патогенезу хвороби.

Строки перебування вірусів в організмі тварини чи людини різні, що залежить від біологічних властивостей збудника, патогенетичних особливостей хвороби та імунореактивності організму. Виділення вірусів з організму може тривати і після зникнення клінічних ознак хвороби в період реконвалесценції. Нерідко після видужання тварини тривалий час залишаються вірусносіями, становлячи небезпечне джерело збудника інфекції. Так, вірусносійство після перенесення хвороби Ауескі становить 6–12 міс., ящуру – від 7–8 міс. до 2 років, інфекційної анемії коней – від 3–5 до 18 років.

Латентні вірусносії можуть бути серед здорових тварин, які контактували з хворими. Нерідко джерелом збудника інфекції для сільськогосподарських тварин слугують дикі тварини, зокрема за сказу, хвороби Ауескі, ящуру, класичної чуми свиней.

Як вже зазначалося, існують віруси з широким спектром патогенності, що уражають різні види тварин. Сукупність тварин певних біологічних видів, які є природними хазяями конкретного вірусу і забезпечують його розмноження та існування в природі, називається **резервуаром збудника інфекції**. Об'єкти неживої природи (повітря, вода, ґрунт, корми, підстилка, предмети догляду), куди віруси потрапляють із виділеннями хворих тварин, слугують лише **факторами передавання збудника інфекції**, оскільки не є природним середовищем їхнього існування. Факторами передавання вірусів можуть бути групи тварин, сировина і продукти тваринництва.

Отже, джерело збудника інфекції – це перша обов'язкова ланка епізоотичного ланцюга, що забезпечує можливість виникнення і поширення вірусної хвороби. Своєчасне виявлення, знешкодження або ліквідація джерела збудника інфекції є одним із важливих протиєпізоотичних заходів.

Навіть за наявності джерела збудника інфекції та сприйнятливих тварин жоден випадок вірусної хвороби не виникне, поки не відбудеться передавання вірусу від заражених організмів здоровим. Це здійснюється за допомогою **механізму передавання збудника інфекції** – еволюційного пристосування вірусів переміщатися від джерела збудника інфекції до здорових сприйнятливих тварин, що забезпечує нові випадки зараження і безперервність епізоотичного процесу.

За більшості вірусних інфекцій буває **горизонтальний** механізм передавання збудника, який складається з *трьох фаз*: 1) виділення вірусу із зараженого організму; 2) перебування його в довкіллі; 3) проникнення вірусу в організм нового хазяїна. З особливостями цих фаз зв'язані конкретні *шляхи передавання вірусів*: аерогенний (повітряно-крапельний), аліментарний (фекально-оральний), трансмісивний (через укуси кровосисних членистоногих) і контактний (через шкіру, видимі слизові оболонки або фактори довкілля).

За вірусних інфекцій трапляється ще один механізм передавання збудника інфекції – **вертикальний** (від батьків потомству). На відміну від горизонтального, він не супроводжується виходом вірусу в довкілля, а реалізується *чотирма шляхами*: внутрішньоутробний, генетичний, перинатальний і лактогенний (див. підпункт 6.3.1, стор. 174).

Отже, шляхи передавання вірусів дуже різноманітні. Під час проведення протиєпізоотичних заходів особливу увагу слід звертати на виявлення цих шляхів і розрив механізму передавання збудника інфекції.

Третьою обов'язковою ланкою епізоотичного ланцюга є **сприйнятливі тварини**. Забезпечення резистентності поголів'я до конкретного збудника інфекції за допомогою вакцинації або пасивної імунізації є важливим протиєпізоотичним заходом.

7.4. Екологічна роль вірусної персистенції, кровосисних членистоногих і хребетних

Виникнення, розвиток і згасання епідемій та епізоотій визначаються характером взаємодії між популяціями збудника інфекції та сприйнятливою хазяїна. У процесі еволюції склалися найвдаліші для збереження виду взаємозв'язки між вірусами і природними хазяями. Це найчастіше відповідає середньому рівню вірулентності вірусу і сприйнятливості організму. Переважно оптимальним для вірусної популяції типом взаємовідносин із хазяями є *вірусна персистенція – хронічні й латентні інфекції*, що характеризуються тривалим перебуванням вірусу в організмі. Особливе значення такий тип взаємовідносин має в період, несприятливий для передавання збудника і для стану популяції хазяїна, який є одночасно ідеальним сховищем вірусу і найдосконалішим засобом його поширення. Водночас із вірусоносійством хазяїн набуває захисту від гострої інфекції гомологічним вірусом. Персистенція вірусів у організмі птахів і кажанів забезпечує дисемінацію адаптованих збудників на великі території в період сезонних міграцій. Хронічні й латентні інфекції відіграють вирішальну роль у занесенні вірусів у нові регіони та збереженні їх у міжепідемічний і міжепізоотичний періоди. Епідемії та епізоотії – лише епізоди в житті вірусних популяцій. Вірусна персистенція іноді призводить до зміни властивостей вірусної популяції, зокрема до зниження або підвищення патогенних властивостей збудника.

Серед вірусів людини і тварин численну екологічну групу становлять *арбовіруси* (понад 500 видів), які передаються через укуси **кровосисних членистоногих**. Найбільше значення в поширенні арбовірусних інфекцій мають *комарі*, від яких ізольовано близько 56% арбовірусів (понад 230 видів), і *кліщі*, від яких виділено близько 25% арбовірусів (понад 100 видів).

Передавання вірусів кровосисними членистоногими здійснюється *різними шляхами*. Кліщі можуть заражатися аліментарно в процесі метаморфозу (у фазі личинки, німфи та імаго) і передавати віруси вертикальним шляхом: трансваріально (через яйце) і трансфазово. Водночас вони функціонують не лише як переносники, а й як резервуар арбовірусів у природних вогнищах. Личинки комарів заражаються аліментарно, передаючи вірус лялечці та імаго. У комарів можливий статевий шлях зараження і зрідка – трансваріальний.

Значення переносників у резервації й циркуляції арбовірусів у природі визначають такі *основні критерії*: 1) здатність вірусу до репродукції в тканинах кровосисного членистоногого за тієї чи іншої температури і мінімальної дози інфікування; 2) здатність вірусу долати бар'єри стінки кишечника і слинного апарату з накопиченням у слині в достатній концентрації для зараження хребетного в разі укусу; 3) висока щільність популяції переносника.

Іксодові кліщі є ефективними переносниками і резервуаром до 15% арбовірусів (близько 70 видів) завдяки тривалому циклу метаморфозу (до 5 років), здатності до трансфазового і трансваріального передавання збудників. Вони поширені на всіх континентах і здебільшого є трихазяїнними паразитами. Особливо велике значення іксодових кліщів в умовах помірного кліматичного поясу.

З *аргасовими кліщами* зв'язано до 10% арбовірусів (близько 40 видів). Аргасові кліщі належать до кровососів, які підстерігають у сховищі. Для них характерна поліфагія, тобто властивість харчуватися на будь-якому хребетному – від рептилії до людини. Аргасові кліщі здатні до тривалого голодування (понад 9 років), життєвий цикл досягає 20–25 років. Багато видів аргасових кліщів тісно пов'язані з птахами, що створює можливість трансконтинентального занесення арбовірусів.

Від *гамазових кліщів* виділено близько 10 арбовірусів, проте здатність їх до трансмісивної передачі збудників поки що не доведена. Разом з тим гамазові кліщі можуть брати участь у циркуляції деяких арбовірусів принаймні як механічні переносники.

Ефективними переносниками деяких арбовірусів є *мокреці* (понад 15 видів) і *москіти* (понад 35 видів).

Хоч в екології арбовірусів основну роль відіграють членистоногі, періодичне включення в паразитарну систему третього члена – *хребетних* – корисно для вірусної популяції. Це створює умови для збагачення її генофонду і призводить до освоєння нових екологічних ніш.

Епізоотичне та епідемічне значення різних видів хребетних визначається сукупністю *обставин*: 1) характер контактів із кровосисними членистоногими; 2) сприйнятливість до вірусів, зокрема розвиток вірусемії, достатньої для зараження кровосисних членистоногих; 3) ступінь щільності популяції; 4) напрямок сезонних міграцій; 5) здатність підтримувати персистенцію вірусів; 6) ступінь контакту з людиною і свійськими тваринами (синантропність).

Птахи відіграють провідну роль не лише в резервації вірусів у природних вогнищах, а й в їхньому транспортуванні на величезні

відстані під час сезонних міграцій. В еволюційному плані птахи – один із найдавніших резервуарів збудників інфекційних хвороб, у тому числі вірусної етіології.

Птахи мають винятково важливе значення в резервації та поширенні *арбовірусів*. Від птахів та їхніх ектопаразитів (іксодових й аргасових кліщів) виділено понад 100 арбовірусів, зокрема віруси східного, західного і венесуельського енцефаломієлітів коней, японського та кліщового енцефалітів, геморагічної гарячки Крим-Конго. Птахи відіграють велику роль у циркуляції *вірусу групи А*, ставши основним його резервуаром у природі, а також *ортоавулавірусу птахів 1* (збудника ньюкаслської хвороби).

Важливу роль в екології вірусів відіграють *дикі ссавці*. З *кажанами* пов'язано близько 40 арбовірусів. Окремі види кажанів подібно до птахів здійснюють сезонні міграції. Кажани поширені повсюдно, щільність їхніх популяцій висока, багато видів тяжіють до синантропних біоценозів. У кажанів розвивається тривала вірусемія, існує регулярне трансплацентарне передавання вірусів. Усі ці обставини зумовлюють важливе епідемічне та епізоотичне значення кажанів у циркуляції й особливо в резервації адаптованих до них вірусів. Зокрема, кажани є природним резервуаром збудників таких небезпечних вірусних інфекцій, як енцефаліти Ніпа і Гендра, геморагічна гарячка Марбург і, можливо, геморагічна гарячка Ебола.

З *гризунами* (миші, пацюки, вивірки, вовчки) встановлено зв'язок близько 100 арбовірусів. Повсюдне їхнє поширення, висока щільність популяцій, тісні контакти з кровосисними членистоногими, висока чутливість до зараження, схильність до персистенції вірусів із трансплацентарним передаванням, синантропність багатьох видів – усе це визначає винятково важливе значення гризунів у підтриманні природних вогнищ арбовірусів. Зокрема, з гризунами екологічно пов'язані такі небезпечні збудники, як лімфоцитарного хоріоменінгіту і геморагічних гарячок – південноамериканських (Ласса, болівійська, венесуельська, аргентинська, бразилійська), з нирковим синдромом і, можливо, Ебола.

В екології деяких вірусів важлива роль належить *приматам*, які є резервуаром збудників гарячок Чікункунья, О'ньонг-ньонг, денге джунглів, лісу Семліки, жовтої гарячки джунглів, геморагічної гарячки Марбург.

Природні вогнища сказу в різних частинах світу підтримуються за рахунок *лисиць, вовків, шакалів, кажанів* та інших диких тварин.

В екології деяких вірусів важлива роль належить *свійським тваринам*, зокрема свиням (вірус японського енцефаліту) і коням (віруси

венесуельського, східного і західного енцефаломієлітів коней). *Холоднокровні тварини* (змії, жаби) теж мають певне екологічне значення, зокрема в резервації вірусу західного енцефаломієліту коней.

Щільність популяції хазяїна є однією з важливих умов спалаху вірусного захворювання. Тваринницькі господарства промислового типу з високою концентрацією поголів'я підлягають загрози виникнення епізоотії та створюють передумови для розвитку епідемічних спалахів. Наприклад, інтенсивний розвиток свинарства в Японії призвів до різкого збільшення циркуляції вірусу японського енцефаліту. Регулярні спалахи гарячок Західного Нілу і Сіндбіс у ПАР тісно пов'язані зі зростанням поголів'я курей на птахофабриках. Поширення венесуельського енцефаломієліту коней серед населення Венесуели, Колумбії, країн Центральної Америки і на півдні США пов'язано з попередніми епізоотіями серед коней.

7.5. Спільність збудників вірусних інфекцій тварин і людини

Здатність до ураження одними і тими самими або близькими вірусами людини і тварин особливо яскраво проявляється серед *екологічної групи арбовірусів*. До неї входять понад 500 видів, зареєстрованих у Міжнародному каталозі арбовірусів, що належать в основному до восьми родин: *Togaviridae*, *Flaviviridae*, *Hantaviridae*, *Nairoviridae*, *Peribunyaviridae*, *Phenuiviridae*, *Reoviridae* і *Rhabdoviridae*.

Арбовіруси є збудниками природно-вогнищевих інфекцій із трансмісивним шляхом передавання. Багато з них спричинюють серед сільськогосподарських тварин спустошливі епізоотії зі значними економічними збитками, наприклад, африканська чума коней, африканська чума свиней, блутанг, гарячка долини Ріфт, хвороба Найробі.

Не менше 100 арбовірусів є патогенними для людини. Це, зокрема, збудники різноманітних гарячок (денге, О'ньонг-ньонг, жовта, неаполітанська москітна, омська геморагічна, долини Ріфт, Західного Нілу), енцефаломієлітів коней (венесуельський, східний, західний), енцефалітів (кліщовий, каліфорнійський, японський, Сент Луїс, долини Муррей).

Людина здебільшого є глухим біологічним кутом у циркуляції вірусів, хоча існує чимало винятків (гарячки жовта, неаполітанська

москітна, денге, Чікункунья, О'ньонг-ньонг), коли в певні періоди переважає антропонозний цикл циркуляції. Клінічний прояв арбовірусних інфекцій у людини характеризується трьома основними синдромами: системна і геморагічна гарячка та енцефаліт.

Родина Arenaviridae об'єднує 39 видів вірусів, які є збудниками природно-вогнищевих інфекцій та екологічно пов'язані з гризунами. Для людини патогенними є 10 маммаренавірусів.

Маммаренавірус лімфоцитарного хоріоменінгіту має глобальне поширення серед хатніх мишей, персистуючи в них упродовж усього життя і виділяючись з екскретами в навколишнє середовище. У людини за аерогенного або аліментарного зараження розвивається серозний менінгіт, а за внутрішньоутробного зараження – гідроцефалія плоду, зрощення мозкових оболонок, менінгоенцефаліт.

Усі інші маммаренавіруси поширені серед диких і напівсавантропних гризунів у Південній Америці та Африці. *Маммаренавіруси Ласса, Мачупо, Гуанаріто, аргентинський і бразилійський* належать до групи найнебезпечніших для людини вірусів, спричинюючи південноамериканські геморагічні гарячки (Ласса, болівійська, венесуельська, аргентинська, бразилійська) з високою летальністю. Причиною епідемічних спалахів є міграція гризунів у людське житло або контакт із ними під час сільськогосподарських робіт. Люди заражаються через їжу, воду, повітря, які контаміновані екскретами гризунів (в основному сечею), а також через пошкодження шкіри.

З *родину Rhabdoviridae* інтерес викликає *ліссавірус сказу*. Повсюдно у світі переважають дикі природні вогнища рабичної інфекції. Основним резервуаром ліссавірусу сказу в Європі, азійській частині РФ і Північній Америці є *лисиці*, які спричинюють 60–85% випадків захворювання. Середня щільність популяції лисиць 5 гол. і більше на 250 га забезпечує високий рівень підтримання і поширення епізоотії. У 40–80% заражених лисиць перебіг сказу хронічний і латентний, що підтримує циркуляцію вірусу в природі.

Крім лисиць, резервуаром збудника в Європі, Азії і Північній Америці є *вовки, куниці, гризуни*, у США – *скусни, еноти-полоскуни*, в Центральній і Південній Америці – *кажани* (вампири, комахоїдні та м'ясоїдні), в Південній Азії та Північній Африці – *шакали*, в Африці – *мангусты*, в Арктиці – *песці*.

Дикі тварини передають вірус за укусів, причому виділення збудника зі слиною починається за 10 діб до появи клінічних ознак. Людина і сільськогосподарські тварини є випадковою ланкою в природному вогнищі. Найбільшу небезпеку для людей становлять собаки

і коти, хоча кількість випадків сказу серед них приблизно в 9 разів менша, ніж серед диких тварин.

Родина Orthomyxoviridae. Вірус грипу А дуже поширений серед людей і тварин. Людські штами в природних умовах уражають свиней, собак, коней, ВРХ, свійських і диких птахів. Майже кожна епідемія грипу супроводжується вкоріненням збудника в популяції свійських і диких тварин (включаючи птахів) із тривалою автономною циркуляцією. У тварин, які контактували з хворими людьми, грипозна інфекція протікає субклінічно, але й можуть виникнути епізоотії зі значними збитками. Хрестоматійний приклад – перший спалах грипу свиней у США в 1918 р. під час пандемії «іспанки».

У природних умовах *основним резервуаром вірусу грипу А є перелітні птахи*, серед яких поширено безсимптомне вірусносієство в кишечнику і клоаці. Масове виділення вірусу грипу А з послідом диких птахів у місцях гніздування призводить до забруднення навколишнього середовища, особливо водою. Це створює додаткові умови для розсіювання вірусу грипу А в біосфері.

Одночасно з епідемічними штамами серед свійських тварин можуть циркулювати епізоотичні штами. У тварин встановлено *міжвидове передавання вірусу грипу А*. Так, пташині штами здатні спричинити захворювання у свиней, коней, собак, котів, тигрів, норок, куниць, кролів, пацюків, китів, котиків і тюленів. Штами вірусу свиней можуть уражати індиків. Зареєстровано численні випадки зараження людей (із летальними наслідками) штамами вірусу свиней і птахів. В організмі тварин (зокрема свиней) та особливо птахів можуть виникнути рекомбіанти (гібриди) між дикими й епідемічними штамами. Деякі з цих рекомбіантів за певного поєднання генів можуть стати родоначальниками нових пандемічних штамів вірусу грипу А.

Пріонні інфекції. Яскравим прикладом спільності збудників інфекційних хвороб тварин і людини є трансмісивні губчастоподібні енцефалопатії. Пріони здатні долати видовий бар'єр. Трансмісивна енцефалопатія норок виникає в разі поїдання непроварених нутрощів і голів овець, інфікованих збудником скрепі. Губчастоподібна енцефалопатія ВРХ набула епізоотичного поширення у Великій Британії з 1986 р. унаслідок застосування в раціоні тварин м'ясокісткового борошна, виготовленого з туш хворих на скрепі овець. Спонгіформна енцефалопатія котячих розвивається внаслідок згодовування консервів або м'яса хворої ВРХ. Встановлено безпосередній зв'язок між губчастоподібною енцефалопатією ВРХ і хворобою Крейтцфельда – Якоба в людей.

7.6. Еволюція вірусів

В епоху науково-технічного прогресу еволюція вірусів протікає значно швидше, ніж раніше, у зв'язку з прискореними темпами антропогенного перетворення біосфери. Еволюція вірусів у природі йде в різних напрямках, з яких основні – це *зміна антигенних, імуногенних і патогенних властивостей вірусів*, а також *поява нових вірусів*.

Яскравим свідченням цього еволюційного процесу є *вірус грипу А*. Йому властива унікальна мінливість поверхневих антигенів – Н і N, до яких в організмі утворюються вірусонейтралізуючі антитіла. Встановлено 18 підтипів Н і 11 підтипів N, поєднання яких зумовлює велику кількість антигенних варіантів вірусу грипу А (не менше 46). Основна маса їх циркулює серед птахів, особливо качок. В основі змін антигенної структури вірусу грипу А лежать такі *генетичні процеси*: антигенний дрейф, антигенний шифт та адаптивні мутації.

Антигенний дрейф зумовлений крапковими мутаціями генів Н і N і виражається поступовими й незначними змінами поверхневих антигенів, що відбуваються під впливом колективного імунітету. Антигенний дрейф знижує специфічність постінфекційних антитіл.

Антигенний шифт – це глибокі зміни генів Н і N, що призводить до повної заміни одного або обох поверхневих антигенів. У результаті утворюється цілком новий антигенний варіант вірусу, який зазвичай спричинює пандемію, оскільки в людей практично відсутній імунітет. У міру формування імунного прошарку пандемія йде на спад.

Ось хронологія появи антигенних шифтів вірусу грипу А:

1918–1920 рр. – антигенний варіант H1N1 (іспанський грип);

1957–1958 рр. – антигенний варіант H2N2 (азійський грип);

1968–1969 рр. – антигенний варіант H3N2 (гонконгівський грип);

1977–1978 рр. – антигенний варіант H1N1 (російський грип);

2009–2010 рр. – антигенний варіант H1N1 pdm09 (свинячий грип).

Яка причина антигенного шифту? Виникнення нових пандемічних штамів вірусу грипу А в природних умовах є результатом рекомбінації між вірусами, які циркулюють серед людей і тварин. Геном вірусу грипу А представлений одноланцюговою фрагментованою РНК, яка складається з 8 фрагментів. За змішаної інфекції клітин відбувається обмін фрагментами геномів між двома штамами вірусу, внаслідок чого вірусне потомство отримує генетичний матеріал з обох джерел.

Як показав генетичний аналіз, пандемічні штами вірусу грипу А, які спричинили пандемії 1957–1958 і 1968–1969 рр., з'явилися внаслідок рекомбінації людських і пташиних штамів.

Новизна антигенної структури вірусу грипу А стає вирішальним фактором у формуванні нового пандемічного штаму тільки в поєднанні з високою вірулентністю для людини, що генетично детерміновано. Численні антигенні варіанти вірусу грипу А ссавців і птахів є непатогенними для людей, незважаючи на їхню абсолютно нову антигенну структуру для існуючого колективного імунітету. Патогенними для людини є три антигенні варіанти: H1N1, H2N2 і H3N2. З 1997 р. зареєстровано численні випадки зараження людей пташиними штамми вірусу грипу А інших антигенних варіантів, зокрема H5N1, H7N7, H7N9, H9N2.

Пандемічний штам вірусу грипу А може виникнути не лише в результаті рекомбінацій, а й *адаптивних мутацій*, які з'являються внаслідок зараження людини або ссавців пташиним штамом вірусу. Встановлено, що вірус «іспанки» з'явився внаслідок адаптивних мутацій пташиного штаму в організмі свиней або людини.

Повернення в активну циркуляцію антигенного варіанту H1N1 у 1977 р. і 2009 р. свідчить про те, що збудники минулих пандемій та епідемій не зникають. Вони зберігаються в популяціях людей, свійських і диких тварин та періодично повертаються з новою силою, коли імунний прошарок населення знизиться до критичного рівня.

Усі нові епідемічно активні штами вірусу грипу А спочатку з'являються в зоні Південно-Східної Азії, де поєднуються дуже важливі екологічні особливості: 1) наявність у басейні Тихого океану величезних скупчень мігрувальних птахів – основного резервуару вірусу грипу А в природі; 2) висока щільність популяцій людей і тварин. У разі занесення вірусу з достатньо широкою екологічною пластичністю колосальна чисельність населення деяких азійських районів є тим «горючим матеріалом», що підвищує шанси селекції штаму, який має епідемічну потенцію, з його закріпленням у наступних пасажах і подальшим усезростаючим поширенням.

Еволюція різних вірусів у природі має свої особливості. Одним із важливих аспектів еволюційного процесу є *зміна патогенності* існуючих вірусів (наприклад, збудників міксоматозу, ньюкаслської хвороби) і *поява нових*, раніше невідомих вірусів. Нові віруси з'являються часто, що можна пояснити такими основними механізмами: 1) зміна екології місцевості; зазвичай це пов'язано з початком сільськогосподарських робіт чи війною, коли люди змушені контактувати

з переносниками або тимчасовими хазяями вірусів; 2) потрапляння неімунних осіб в ендемічні райони, де місцеве населення має популяційний імунітет; 3) зміни властивостей вірусів, пов'язані з обміном генів із вірусами рослин, комах або диких тварин; 4) поява нових стабільних мутантів існуючих вірусів.

Відомо багато нових хвороб, що з'явилися у зв'язку зі зміною екології (кліщовий енцефаліт, геморагічні гарячки Крим-Конго, омська, аргентинська та ін.). Освоєння «диких» територій завжди пов'язано із загрозою виникнення спалахів арбовірусних інфекцій за рахунок як відомих, так і поки що не виявлених збудників. Ситуація ускладнюється тією обставиною, що популяційний імунітет у новоприбулих контингентів відсутній. Ці обставини зумовлюють необхідність завчасного прогнозування й обстеження території, які підлягають освоєнню.

Контрольні запитання

1. Для чого потрібно вивчати екологію вірусів? **2.** Які антропогенні фактори мають вплив на екологію вірусів? **3.** Що таке екологічні ніші вірусів? **4.** Який механізм виникнення і поширення вірусних інфекцій та передавання збудників? **5.** У чому полягає екологічне значення персистенції вірусів? **6.** Яку роль відіграють кровосисні членистоногі та хребетні в екології вірусів? **7.** Охарактеризуйте спільність збудників вірусних інфекцій тварин і людини. **8.** Як відбувається еволюція вірусів у сучасних умовах?

Розділ 8

ПРОТИВІРУСНИЙ ІМУНІТЕТ

8.1. Особливості противірусного імунітету

Імунітет – це сукупність процесів, спрямованих на захист організму від генетично чужорідних субстанцій і збереження постійності внутрішнього середовища (гомеостазу).

Фактори і механізми противірусного імунітету мають свої особливості, що відрізняють їх від імунних реакцій щодо бактерій та інших патогенів тваринного і рослинного походження. Ці особливості визначаються природою вірусів, їхнім абсолютним внутрішньоклітинним паразитизмом на генетичному рівні. Вірусна інфекція – це насамперед інфекція чутливих клітин. Взаємодія вірусу і сприйнятливих клітин лежить в основі патогенезу вірусного захворювання. Поза клітинами віруси можуть зберігати життєздатність, але не здатні розмножуватися, бо є неклітинними формами життя і не мають власних систем синтезу протеїнів.

Імунні реакції організму на позаклітинний вірус подібні до реакцій на бактерії та їхні токсини: спрямовані безпосередньо на патоген. Захисні реакції на внутрішньоклітинні стадії морфогенезу вірусу діють опосередковано через клітини, і тільки так гальмується репродукція вірусу з наступним звільненням від нього організму. *Захист клітин від вірусної генетичної інформації та пригнічення репродукції вірусу є кардинальною особливістю противірусного імунітету.* Зазначаючи його специфіку, не слід забувати, що захисні реакції організму, спрямовані проти вірусів, підкоряються загальним імунологічним закономірностям. Антигени, імунокомпетентні клітини та антитіла лежать в основі специфічної імунної відповіді стосовно будь-яких генетично чужорідних агентів, у тому числі й вірусів.

Противірусний імунітет – це єдиний, нероздільний процес взаємодії клітинних, гуморальних і загальнофізіологічних реакцій організму, починаючи від моменту зараження та закінчуючи повною ліквідацією інфекції.

8.2. Віруси як антигени

Антигени – це речовини, які несуть ознаки генетичної чужорідності та при введенні в організм спричиняють розвиток специфічних імунних реакцій.

Віруси як антигени принципово не відрізняються від інших повноцінних антигенів (наприклад бактерій і токсинів) і є добрими стимуляторами клітинних та гуморальних імунних реакцій.

Антигенна будова вірусів, незважаючи на відносну простоту їхньої організації, складна і визначається кількістю структурних протеїнів. Кожний вірусний протеїн має кілька *антигенних детермінант*, або *епітопів*. Це ділянки (10–20 амінокислот), які здатні взаємодіяти з антитілами та антигенозв'язувальними рецепторами лімфоцитів. Епітопи визначають *специфічність антигену*.

Вірусні антигени розрізняються за ступенем специфічності їхніх епітопів. Є штам-, тип-, вид-, групо- і підгрупоспецифічні антигени.

У процесі інфекції або імунізації можуть вироблятися антитіла до всіх антигенів, які входять у структуру віріона. Проте різні вірусні антигени відіграють неоднакову роль в імуногенезі. Першочергове значення для імунітету мають *поверхневі антигени*, розміщені в зовнішній оболонці віріона (капсидний чи суперкапсидний залежно від складності його організації) й особливо *прикріплювальні протеїни*, через які відбувається адсорбція вірусу на плазмолемі клітини. Нейтралізація антитілами саме цих антигенів позбавляє вірус здатності приєднуватися до чутливої клітини та інфікувати її. Антигени, не зв'язані з прикріплювальними протеїнами, й особливо внутрішні антигени, локалізовані в глибинних структурах віріона, мають значення не стільки для імунітету, скільки для патогенезу вірусної інфекції, будучи токсигенними і нерідко алергенними речовинами. Антитіла до внутрішніх антигенів (наприклад серцевинних протеїнів), які можуть утворитися в процесі інфекції, мають діагностичне значення. Вірусні антигени, що індукують утворення захисних (вірусонейтралізуювальних) антитіл, називаються *протективними*.

Антигенна активність властива і численним ензимам, які виявлені в складі віріонів, але тільки вірусоспецифічним. Ензимами клітинного походження не є чужорідними для організму і тому не індукують імунної відповіді.

Поверхневі антигени вірусів є лабільнішими, ніж внутрішні, що пов'язано з еволюційним пристосуванням вірусів долати дію

імуних факторів. Яскравою ілюстрацією цього слугує унікальна мінливість Н і N у вірусу грипу А – антигенний дрейф та антигенний шифт.

У складно організованих вірусів виявляють у структурі суперкапсидної оболонки *антигени клітини-хазяїна*, де відбувалася їхня репродукція. Так виникає *антигенна мімікрія*, що призводить до зниження імунної відповіді. Крім того, в складі деяких вірусів (зокрема грипу А і натуральної віспи) містяться так звані *гетерогенні антигени*, ідентичні певним тканинним протеїнам хазяїна. Так, у вірусу грипу А виявлено антигени, що визначають А групу крові людини. Явища антигенної мімікрії та гетерогенності зумовлюють персистенцію вірусів у організмі, даючи їм змогу уникати дії захисних механізмів. Ці феномени пояснюють також слабкість імунної відповіді за деяких вірусних захворювань. За рахунок антигенів клітини-хазяїна, які знаходяться в складі віріонів, можуть виникати перехресні імунологічні реакції, що створює труднощі в ідентифікації збудника і призводить до помилкових діагностичних висновків.

Вірусіндуковані антигени. Заражені клітини містять зазвичай, окрім віріонів, різні вірусні протеїни-антигени, які з'являються в результаті надлишкового синтезу вірусних компонентів або внаслідок деструкції віріонів, наприклад, у макрофагах. Антигенні властивості мають також неструктурні вірусні протеїни, що утворилися в процесі інфекції.

Вірусні антигени локалізуються в різних частинах клітини (залежно від природи вірусів) – в ядрі, ядерці, цитоплазмі, плазмолемі, що доступно візуальному спостереженню завдяки використанню РІФ або імунопероксидазного методу ІФА. Вірусні антигени, які розташовані на поверхні плазмолемі клітин, можуть стати об'єктом дії антитіл, сенсibilізованих лімфоцитів і макрофагів.

У клітинах, заражених онкогенними вірусами (зокрема поліомавіруси людини 1 і 2, поліомавірус макак-резусів 1, вірус саркоми Рауса), можуть з'явитися неструктурні вірусні протеїни, що є ознакою клітинної трансформації. *Т-антигени* (від лат. tumor – пухлина) виникають на початкових стадіях репродукції вірусів в ядрі або цитоплазмі інфікованих клітин залежно від того, ДНК- чи РНК-геномний вірус спричинив їхній синтез. *Трансплантаційні антигени* з'являються пізніше на поверхні плазмолемі, коли вже настає трансформація клітин.

Вірусні антигени – віріонні та вірусіндуковані – мають важливе значення для імунітету. Будучи чужорідними для організму, вони стимулюють виникнення клітинних і гуморальних захисних реакцій.

8.3. Клітинні фактори противірусного імунітету

Противірусний імунітет залежить передусім від функції *імунокомпетентних клітин (імуноцитів)*, які здійснюють імунні реакції. Імуноцити розпізнають вірусні антигени, утворюють стосовно них специфічні антитіла та інші речовини, що пригнічують інфекційну активність вірусів, а також діють безпосередньо на віруси й уражені клітини, спричинюючи їхню деструкцію.

Імунною системою є лімфоїдна тканина, яка представлена лімфоїдними органами і скупченнями лімфоїдних клітин у різних тканинах організму. Основна функція лімфоїдної тканини – розпізнавання та елімінація (видалення) генетично чужорідних речовин і збереження гомеостазу.

До імунної системи належать: 1) *центральні лімфоїдні органи* – тимус, кістковий мозок, фабрицієва сумка у птахів; 2) *периферійні лімфоїдні органи* – селезінка, лімфатичні вузли, лімфоїдна тканина слизових оболонок і травного каналу (мигдалини, пєєрові бляшки і лімфоїдні фолікули тонкого кишечника, апендикс), лімфоцити циркулювальної крові.

Центральною фігурою імунної системи є **лімфоцити**, що походять від стовбурових клітин кісткового мозку. Розрізняють *Т-лімфоцити* (тимусозалежні), які імунологічно дозрівають у тимусі, та *В-лімфоцити* (бурсазалежні), що проходять диференціацію у фабрицієвій сумці в птахів або в кістковому мозку в ссавців.

Т-лімфоцити забезпечують клітинний імунітет та одночасно здійснюють функцію регуляції імунної відповіді. Розрізняють три типи Т-лімфоцитів: Т-хелпери, Т-супресори і цитотоксичні Т-лімфоцити (ЦТЛ).

В-лімфоцити забезпечують синтез антитіл і відповідають таким чином за розвиток гуморального імунітету. Існує п'ять типів В-лімфоцитів, які є попередниками плазматичних клітин, що продукують антитіла класів IgM, IgG, IgA, IgD та IgE.

Лімфоцити здатні реагувати з конкретним антигеном завдяки експресії на плазмолемі *специфічних рецепторів*, які представлені молекулами імуноглобулінів. Окрім того, лімфоцити мають значну кількість поверхневих антигенних структур, які називаються *маркерами* і визначають функціональні відмінності різних субпопуляцій Т- і В-лімфоцитів.

В імуногенезі бере участь ще одна клітинна популяція – **макрофаги**, що складають *систему мононуклеарних фагоцитів*. Сюди

належать моноцити крові й тканинні макрофаги (гістіоцити), які поширені в організмі: в печінці, селезінці, легенях, лімфатичних вузлах, кістковому мозку, нервовій системі та інших тканинах.

Усі взаємодії імунокомпетентних клітин регулюють медіатори імуногенезу **цитокини**. Це розчинні біологічно активні речовини переважно протеїнової природи, які продукуються лімфоцитами і макрофагами у відповідь на антигенну стимуляцію та виконують посередницьку функцію між імуноцитами. Цитокини беруть участь у розпізнаванні антигену, активізують або, навпаки, інгібують клітинні чинники імунітету. Медіатори імуногенезу виявляють у сироватці крові, секретах слизових оболонок і тканинах організму.

В основі імуногенезу лежить кооперативна взаємодія різних популяцій імуноцитів. Передумовою цієї взаємодії є ідентичність антигенів **головного комплексу гістосумісності** (МНС, від англ. Major histocompatibility complex). Це ділянка ДНК вищих хребетних, що кодує антигени гістосумісності й відіграє важливу роль у відторгненні чужорідного трансплантата. МНС кодує також здатність до імунної відповіді на численні антигени, схильність до певних імунних захворювань, синтез компонентів коменту. МНС-антигени знаходяться на поверхні клітин усіх вищих хребетних. Спектр молекул МНС унікальний для кожного організму і визначає його біологічну індивідуальність, що дає змогу відрізнити «своє» (гістосумісне) від «чужого» (несумісного).

Схема імуногенезу (рис. 73, стор. 215). У складний механізм імунної відповіді першими залучаються **макрофаги**. Вони розпізнають антиген, який поступає в організм, поглинають його і розщеплюють на фрагменти під дією лізосомальних ензимів. Фрагменти антигену внаслідок екзоцитозу виставляються на поверхні макрофага і зв'язуються з молекулами МНС. Саме ці комплекси антиген-молекула МНС розпізнаються **Т-хелперами** і слугують сигналом для запуску подальших імунологічних реакцій. Макрофаги продукують медіатор інтерлейкін-1 (ІЛ-1), під впливом якого починають посилено розмножуватися Т-хелпери. Активовані Т-хелпери синтезують ІЛ-2, що слугує сигналом для **В-лімфоцитів**, а цитокини ІЛ-4, ІЛ-5, ІЛ-6 та ІФН- α стимулюють проліферацію В-лімфоцитів та їхню диференціацію в **плазматичні клітини**, які синтезують антитіла до введеного антигену.

Отже, Т-хелпери активізують В-лімфоцити. У разі відсутності такого впливу В-система виявляється нездатною до повноцінної імунної відповіді, й можлива поява імунологічної толерантності, коли не виробляються антитіла до конкретного антигену.



Рис. 73. Схема імуногенезу

Допомога Т-хелперів потрібна також для індукції **цитотоксичних Т-лімфоцитів (ЦТЛ)**, що з'являються під впливом ІЛ-2. ЦТЛ розпізнають і лізують клітини-мішені, які містять на своїй поверхні чужорідні антигени (вірусоспецифічні, пухлинні або чужорідні гістосумісності). ЦТЛ звільняють організм від клітин, що продукують вірусне потомство, лізуючи їх. ЦТЛ убивають також ракові клітини, відторгають трансплантати, забезпечуючи таким чином протипухлинний і трансплантаційний імунітет.

Антиген активізує також **Т-супресори**, які обмежують проліферацію Т- і В-лімфоцитів на різних стадіях імуногенезу і запобігають прояву надмірних форм імунної відповіді, наприклад алергії. Т-супресори блокують автоімунні реакції, тобто вироблення антитіл до власних антигенів організму, отже, забезпечують розвиток природної імунологічної толерантності. Порушення функції Т-супресорів може призвести до автоімунних захворювань та інших форм імунопатології. Т-супресори, як і Т-хелпери, виконують функції головних регуляторів імунної відповіді.

Частина Т- і В-лімфоцитів, стимульованих антигеном, після 2–3 ділень переходить у стан спокою та слугує основою **імунологічної пам'яті** – здатності організму давати прискорені й посилені імунні реакції у відповідь на повторне введення антигену. Імунологічна пам'ять може зберігатися роками і властива як клітинному, так і гуморальному імунітету. Т-лімфоцити мають тривалішу імунологічну пам'ять.

Окрім Т- і В-лімфоцитів, в імуногенезі бере участь ще одна популяція лімфоцитів із цитотоксичними властивостями – **природні кілери (НК-клітини)**. Головна їхня ознака – відсутність основних поверхневих маркерів Т- і В-лімфоцитів. НК-клітини здатні спонтанно знищувати пухлинні й заражені вірусом клітини без попередньої антигенної стимуляції. Це основні клітини організму, які здійснюють протипухлинний захист. Окрім спонтанної цитотоксичності, природні кілери беруть участь в антитілозалежному лізисі заражених вірусом клітин.

У противірусному імунітеті важливе значення мають **макрофаги**. Вони не тільки беруть участь у розпізнаванні, первинній обробці та представленні антигену Т-лімфоцитам. Макрофаги виконують самостійну важливу функцію щодо звільнення організму від вірусів. Вони здатні захоплювати цілі віріони, комплекси вірусів з антитілами, заражені клітини та перетравлювати їх за допомогою лізосомальних ензимів. Значно вища фагоцитарна активність відмічається в макрофагів, отриманих від імунних тварин. На відміну від Т- і В-лімфоцитів, дія макрофагів на віруси неспецифічна.

Макрофаги лімфатичних вузлів, селезінки, печінки, легень, кісткового мозку, внутрішньої стінки судин та інших органів здійснюють надзвичайно важливу бар'єрну функцію. Вони не пропускають вірус у кров і лімфу. Віремія виникає, якщо вірусу вдається подолати місцеві бар'єри макрофагів. Макрофаги забезпечують очищення крові, захоплюючи і перетравлюючи віріони. Особливо активні макрофаги в присутності специфічних антитіл, які аглютинують віріони і тим самим сприяють процесу їхнього фагоцитозу та дезінтеграції.

Клітинний імунітет стосовно вірусів не обмежується участю лише імуніцитів. Природою клітин, з якими взаємодіє вірус, визначається **видовий (спадковий, вроджений) імунітет**. В основі його лежить відсутність в організмі чутливих клітин, здатних забезпечити репродукцію вірусу. Нагадаємо, що сприйнятливість клітин до вірусу у свою чергу зумовлюють два основні фактори: 1) наявність на плазмолемі клітин специфічних рецепторів, які забезпечують адсорбцію віріонів; 2) присутність у клітинах ензимів, потрібних для депротейнізації. Якщо якогось із цих чинників немає, клітини є нечутливими до вірусу.

Проте не завжди спостерігається відповідність між вродженою несприйнятливістю до вірусів тварин *in vivo* та резистентністю клітин їхніх тканин *in vitro*. Наприклад, до морбіллівірусу кору чутливі клітини нирок мурчака і кроля, курячі фіброласти, але спричинити експериментальну інфекцію кору в цих тварин не вдається. В організмі резистентних тварин складаються інакші взаємовідносини між вірусом і клітинами, ніж *in vitro*, завдяки функції інших факторів видового імунітету (інгібітори, температура тіла тощо).

Видовий імунітет генетично детермінований і передається за спадковістю. Наприклад, тварини резистентні до альфагерпесвірусу людини 3, який спричинює вітряну віспу та оперізувальний лишай; на класичну та африканську чуму свиней хворіють тільки свійські й дикі свині.

Існує різний ступінь напруженості видового імунітету – від абсолютної резистентності до відносної, яку можна подолати за допомогою різноманітних факторів: висока доза зараження, рентгеноопромінення, обробка кортизоном тощо. Наприклад, пестівірус С (збудник класичної чуми свиней) можна адаптувати до організму кроля тривалими серійними пасажами.

Видовий імунітет залежить від віку, зокрема, до вірусу ящуру чутливі новонароджені білі миші та кролі, а дорослі тварини – резистентні. На природну резистентність до вірусів істотний вплив мають, окрім спадкових і вікових, гормональні фактори.

8.4. Гуморальні фактори противірусного імунітету

До гуморальних факторів противірусного імунітету належать *антитіла, інгібітори, комплемент, інтерферони* та інші *медіатори імуногенезу*, що знаходяться в сироватці крові, секретах слизових оболонок і тканинах організму.

8.4.1. Антитіла

Антитіла – це імуноглобуліни (Ig), які синтезуються в організмі у відповідь на введення антигену і здатні специфічно взаємодіяти з ним. Антитіла виробляються В-лімфоцитами в тісній взаємодії з Т-лімфоцитами і макрофагами.

У противірусному імунітеті головну роль відіграють імуноглобуліни класів IgM, IgG та IgA. Їх виявляють у сироватці крові, секретах слизових оболонок, молозиві, молоці, слині, сльозах, спинномозковій рідині.

Імуноглобуліни сумарно становлять третину всіх протеїнів сироватки крові тварин і людини. З них 70–80% припадає на **IgG**, які мають важливе значення в гуморальному імунітеті, передусім за генералізованих інфекцій та особливо в захисті від повторного зараження.

IgM становлять 5–10% сироваткових імуноглобулінів. Вони першими з'являються в організмі після антигенної стимуляції, отже, є антитілами первинної імунної відповіді. Виявлення IgM використовують для ранньої діагностики вірусних інфекцій.

IgA складають 10–15% сироваткових імуноглобулінів. Це основний клас антитіл, що знаходиться в секретах слизових оболонок респіраторного і травного трактів, молоці, слині, сльозах. Секреторні IgA зумовлюють формування місцевого імунітету

слизових оболонок і таким чином забезпечують захист від вірусів, які проникають в організм через дихальні шляхи або травний канал.

У разі введення в організм тварини або людини антигену синтез специфічних антитіл розвивається в певному порядку. За первинного поступлення антигену першими з'являються IgM (на 3–5-ту добу), потім – IgG (на 5–14-ту добу) і нарешті – IgA (на 15–21-шу добу). У разі повторного введення антигену швидко та інтенсивно починають синтезуватися IgG (на 3–5-ту добу), а також IgA. IgM з'являються так само, як за первинної імунної відповіді.

Молекули Ig мають кілька *активних центрів* (IgG – 2, IgA – 2 або 4, IgM – 10), що здатні *специфічно зв'язуватися з антигенними детермінантами*. В основі цієї специфічної взаємодії лежить просторова комплементарність.

Антитіла нейтралізують інфекційну активність вірусів. **Механізми вірусонейтралізуючої дії антитіл** різноманітні. Антитіла зв'язуються з вірусними прикріплювальними протеїнами на поверхні віріона, блокують їх, унаслідок чого вірус утрачає здатність адсорбуватися на плазмолемі чутливої клітини. Для просторової блокади прикріплювальних протеїнів необхідно приєднання до одного віріона декількох молекул антитіл. У складно організованих вірусів антитіла також *блокують злиття суперкапсидної оболонки з плазмолемою*. Антитіла здатні *склеювати віріони в конгломерати*, що сприяє їхньому фагоцитозу. Аглотинація вірусів антитілами має фундаментальне значення для усунення вірусемії.

Вірусонейтралізуюча дія антитіл посилюється в присутності комплементу, який приєднується до молекули Ig, зв'язаного з антигеном, і створює додаткові стеричні перешкоди для вірусних прикріплювальних протеїнів. Комплекси вірус–антитіло або вірус–антитіло–комплемент затримуються в бар'єрних органах (лімфатичні вузли, селезінка, печінка тощо) і підлягають деструктивній дії макрофагів та ензимів. У присутності комплементу антитіла можуть спричинити лізис складно організованих вірусів унаслідок необоротних конформаційних змін вірусних глікопротеїнів.

Нейтралізуюча дія антитіл спрямована на позаклітинний вірус. Внутрішньоклітинний вірус є недоступним для антитіл. Однак антитіла разом із комплементом здатні здійснити лізис заражених клітин, якщо на плазмолемі клітин локалізовані вірусні антигени (вірусні глікопротеїни або віріони потомства, що брунькуються). Крім того, антитіла залучаються в інші антитілозалежні цитотоксичні реакції за участю NK-клітин.

За багатьох вірусних захворювань тварин і людини встановлена пряма залежність між титрами гуморальних антитіл і резистентністю організму до зараження. Це стосується насамперед генералізованих інфекцій, які супроводжуються вірусемією (кір, кліщовий енцефаліт, поліомієліт, ньюкаслська хвороба, чума ВРХ, класична чума свиней та ін.). Збігання строків видужання з появою специфічних антитіл у високих титрах використовується для *серологічної (ретроспективної) діагностики* під час дослідження парних сироваток крові, взятих на початку і наприкінці хвороби. Зростання кількості гуморальних антитіл унаслідок вакцинації об'єктивно відображає ефективність проведених щеплень.

У противірусному імунітеті важливу роль відіграють *секреторні IgA*, які забезпечують місцевий імунітет слизових оболонок респіраторного і травного трактів та нейтралізують вірус у місці проникнення. Це особливо важливо за вогнищевих інфекцій (грип, парагрип-3 ВРХ, ротавірусний і коронавірусний ентрити ВРХ), коли основна репродукція збудників відбувається біля вхідних воріт інфекції.

Тривалість і напруженість противірусного імунітету після захворювання бувають різними, що залежить насамперед від імуногенності вірусу та імунологічної реактивності організму. За багатьох генералізованих інфекцій (наприклад, натуральна віспа, кір, чума м'ясоїдних) створюється надійний захист від повторного зараження на численні роки і навіть довічно. За вогнищевих інфекцій (парагрип-3 і РС-інфекція ВРХ) імунітет короточасний, утрачається через кілька місяців, у зв'язку з чим можливі повторні захворювання. За багатьох інфекцій імунітет *нестерильний*: не запобігає персистенції вірусів у організмі (наприклад, герпетична інфекція людини, вірусна діарея ВРХ, інфекційний ринотрахеїт ВРХ, хвороба Ауескі).

8.4.2. Інгібітори

Інгібітори – це глікопротеїни, що знаходяться в нормальних сироватках крові, секретах слизових оболонок та різних тканинах організму людини і тварин.

За фізико-хімічними властивостями сироваткові інгібітори поділяються на *термолабільні* й *термостабільні*. Термолабільними є *β-інгібітори*, які інактивуються за 60...62 °С. До термостабільних належать *α-інгібітори*, що втрачають активність за 75 °С, і *γ-інгібітори*, які не руйнуються за 100 °С. Критерієм поділу сироваткових інгібіторів на термолабільні й термостабільні є їхня стійкість

до прогрівання за 56 °С упродовж 30 хв. Однак повна інактивація β-інгібіторів відбувається за 60...62 °С упродовж 1 год.

Інгібітори є важливим неспецифічним фактором противірусного імунітету, будучи першим гуморальним бар'єром, що перешкоджає контакту вірусу з чутливими клітинами. Інгібітори *нейтралізують інфекційну та гемаглютинувальну активність вірусів* у місці проникнення (в секретах слизових оболонок) і на шляху до чутливих клітин. Взаємодіючи з прикріплювальними протеїнами віріонів, інгібітори спричинюють їхню просторову блокаду, внаслідок чого вірус утрачає здатність адсорбуватися на плазмолемі клітин і проникати в них. Отже, механізм противірусної дії інгібіторів подібний до дії антитіл, тільки має неспецифічний характер. Інгібітори можуть взаємодіяти з вірусом лише за наявності вільних, не нейтралізованих антитілами, прикріплювальних протеїнів.

Присутність інгібіторів у сироватках крові слід враховувати в діагностичній практиці під час постановки серологічних реакцій, оскільки інгібітори можуть імітувати позитивний результат реакції, що призводить до діагностичної помилки. Від термолабільних інгібіторів сироватки звільняють прогріванням за 56...60 °С упродовж 30 хв, а від термостабільних – обробкою каоліном, бентонітом, активованим вугіллям та іншими методами.

8.4.3. Комплемент

Комплемент – це складна система 20 протеїнів сироватки крові, представлена в неактивній формі у вигляді 9 компонентів: C1–C9. Біосинтез окремих компонентів комплекменту здійснюється в гепатоцитах, макрофагах і моноцитах крові.

Під впливом утворених комплексів антиген-антитіло відбувається *активація комплекменту класичним шляхом*, причому цей процес забезпечують лише два класи антитіл – IgG та IgM. До молекули Ig послідовно приєднуються компоненти комплекменту C142356789 у вигляді протеолітичного каскаду: кожний наступний компонент розщеплюється попереднім. Це призводить у кінцевому результаті до утворення низькомолекулярних продуктів із певною біологічною дією.

Активація основного компонента комплекменту C3 забезпечує його фіксацію на клітинній плазматичній мембрані. Утворений комплекс C1423 сприяє фагоцитозу та має істотне значення для лізису. Але тільки приєднання компонентів C5–C9 (так званого *мембраноатакувального комплексу*) надає комплекменту здатності

спричинити необоротні пошкодження плазмолемі або суперкапсиду деяких вірусів.

Участь комплекменту в противірусному імунітеті різностороння. Він *посилює вірусонейтралізуючу активність антитіл* завдяки утворенню великих за розмірами комплексів антиген–антитіло–комплемент, які зв'язуються з рецепторами макрофагів. Це особливо важливо стосовно IgM, що виникають на ранніх стадіях імунної відповіді та характеризуються низькою афінністю (тобто відносно неміцним зв'язуванням активного центру Ig з антигенною детермінантою). Разом з антитілами комплекмент *лізує віруси* із суперкапсидною оболонкою або *інфіковані клітини* з локалізованими на їхній поверхні вірусними антигенами. І, нарешті, комплекмент здатний *самостійно лізувати* деякі складно організовані віруси (наприклад ретровіруси) за відсутності антитіл, зв'язуючись із відповідними вірусними протеїнами.

8.4.4. Інтерферони

Інтерферони (ІФН) – це глікопротеїни, що кодуються генетичним апаратом хребетних (від риб до людини). У геномі людини ідентифіковано 20 генів ІФН. Здатність виробляти ІФН властива всім клітинам організму, але найактивнішими його продуцентами є лейкоцити.

Розрізняють *три основні типи ІФН*: 1) **ІФН-α** (22 підтипи) – синтезується в основному лейкоцитами, а також макрофагами, моноцитами і В-лімфоцитами; 2) **ІФН-β** (5 підтипів) – утворюється в основному в фібробластах та епітеліальних клітинах; 3) **ІФН-γ** (2 підтипи) – продукується лімфоцитами (Т-хелпери, НК-клітини).

ІФН спонтанно не продукуються інтактними клітинами, для їхнього утворення потрібні **індуктори**. Це можуть бути віруси, бактерії або їхні токсини, екстракти з бактерій і грибів, синтетичні речовини (полікарбоксилати, полісульфати, декстрини). Найефективнішими індукторами ІФН є вірусні дволанцюгові РНК (у тому числі реплікативні форми) і синтетичні дволанцюгові полірибонуклеотиди.

Найважливіший індукуювальний фактор ІФН – вірусна інфекція. Практично всі віруси можуть спричинити синтез ІФН. Але добрими індукторами ІФН є РНК-вмісні віруси, тоді як ДНК-вмісні віруси (за винятком поксвірусів) – значно слабкіші. Погано індукують ІФН віруси, схильні до тривалої персистенції (наприклад, адено- та герпесвіруси). Інтерфероногенна здатність вірусів зростає зі зниженням їхньої вірулентності.

Віруси стимулюють синтез ІФН- α та ІФН- β . ІФН- γ продукується у відповідь на невірусні індуктори: бактеріальні антигени і мітогени.

Синтез ІФН запускається індуктором, що адсорбується на плазмолеми незаражених клітин. У результаті активізуються гени ІФН, і на рибосомах відбувається синтез ІФН, які виходять із клітин. ІФН виявляють у сироватці крові, різних секретах і тканинах за більшості вірусних інфекцій. Максимальне накопичення ІФН встановлено в період вірусемії до утворення значної кількості антитіл. З організму частина ІФН (менш як 10%) виводиться із сечею, решта – руйнується клітинами.

ІФН властиві *дві основні функції*: противірусна (ІФН- α , ІФН- β) та антипроліферативна (в тому числі протипухлинна й імуномодулювальна).

Механізм противірусної дії ІФН. ІФН самі безпосередньо не діють на вірус – позаклітинний або внутрішньоклітинні стадії його репродукції. Вони впливають на віруси опосередковано через чутливі клітини (до контакту їх із вірусом). ІФН не виявляють біологічної активності всередині клітин, де вони утворюються. Синтезовані ІФН виходять у позаклітинний простір, зв'язуються зі специфічними рецепторами незаражених клітин і потрапляють шляхом ендцитозу всередину клітин.

Це призводить до активізації відповідних генів і синтезу ферментів – протеїнази і 2,5-олігоаденілатсинтетази, які зумовлюють *антивірусний стан клітин*. Протеїназа блокує трансляцію вірусних мРНК, а 2,5-олігоаденілатсинтетаза активізує рибонуклеазу L на руйнування вірусних мРНК. Отже, в заражених клітинах порушується синтез вірусних структурних протеїнів та ферментів, які здійснюють реплікацію вірусного геному, і репродукція вірусів припиняється. *Блокування трансляції вірусних мРНК та їхнє руйнування* зумовлюють універсальний механізм противірусної дії ІФН (рис. 74). Іноді ІФН блокують стадії депротейнізації та виходу віріонів потомства з клітини.

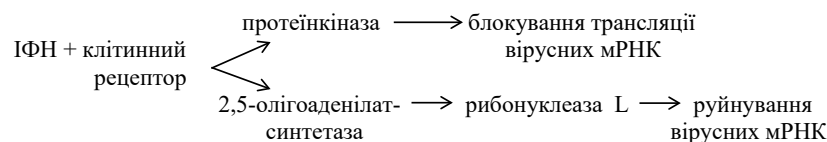


Рис. 74. Механізм противірусної дії ІФН

ІФН властива видова специфічність щодо хазяїна, в основі якої лежить, очевидно, специфічність їхньої взаємодії з рецепторами

плазмолеми клітини. Наприклад, людський ІФН діє тільки в організмі людини і неактивний в організмі інших біологічних видів, хоча бар'єри цієї видової специфічності не абсолютні.

ІФН є важливим неспецифічним фактором противірусного імунітету. Вони здатні пригнічувати репродукцію практично всіх вірусів, у тому числі онкогенних. ІФН захищають багато клітин організму від цитопатогенної дії вірусу, але не в змозі повністю ліквідувати вірусну інфекцію.

Крім противірусної дії, ІФН мають сильну *антипроліферативну активність* (особливо ІФН- γ). Вони впливають на різноманітні функції клітин: 1) пригнічення розмноження клітин (у тому числі ракових); 2) вплив на клітинну диференціацію (посилення або інгібіція синтезу певних протеїнів та ферментів); 3) вплив на імунну систему (стимуляція або пригнічення імунної відповіді). Антипроліферативна дія ІФН- γ в сотні разів сильніша, ніж в ІФН- α та ІФН- β , у зв'язку з чим його застосовують під час комплексної терапії онкологічних захворювань.

За більшості вірусних інфекцій встановлено чітку кореляцію між рівнем ІФН і тяжкістю захворювання. Тому використання готових препаратів ІФН (*екзогенні ІФН*) або стимуляція власних ІФН за допомогою індукторів (*ендогенні ІФН*) є досить ефективним методом профілактики і терапії вірусних інфекцій.

У медичній практиці ІФН успішно застосовують за багатьох вірусних інфекцій (як вогнищевих, так і генералізованих), зокрема за грипу та інших ГРВІ, герпесвірусних інфекцій, гепатиту В, ВІЛ-інфекції. У численних клінічних дослідженнях доведено ефективність використання ІФН у разі лікування таких неоплазій, як рак легень, яєчників, шийки матки, молочної залози, нирок, сечового міхура, а також меланоми, гепатоми й остеогенної саркоми.

У ветеринарній практиці індукцію ендогенних ІФН стимулюють вакцинні штами багатьох вірусів (зокрема збудників інфекційного ринотрахеїту ВРХ та ньюкаслської хвороби), причому кращий ефект досягається за інтраназального або аерозольного введення вакцини. Перспективним є застосування готових препаратів ІФН, отриманих із лейкоцитів і лімфоцитів свиней, ВРХ, овець, кролів, птиці. Розроблено біотехнологію одержання препаратів ІФН- α ВРХ (Бовівірекс), ІФН- γ ВРХ (γ -Бовіферон) і Комбіферон, які показали високу імуномодулювальну та противірусну активність за респіраторних і шлунково-кишкових захворювань телят.

8.5. Імунопатологія вірусних інфекцій

Імунна відповідь організму проти вірусів іноді може призводити до тяжких ускладнень і навіть летальних наслідків. Це пов'язано із залученням в імуногенез різних чинників і механізмів та надмірною активацією їх. Унаслідок цього розвиваються **імунопатологічні реакції**, які, будучи спрямованими проти збудника, водночас спричинюють пошкодження клітин і тканин хазяїна.

За вірусних інфекцій можуть виникати такі імунопатологічні реакції організму: 1) імунокомплексна патологія; 2) імунна деструкція заражених клітин; 3) автоімунні реакції; 4) гіперчутливість сповільненого типу; 5) імунологічна толерантність; 6) імунологічна недостатність (імунодефіцит).

Імунокомплексна патологія. У процесі інфекції можуть виникати *імунні комплекси*, в яких вірус зберігає інфекційну активність. Зазвичай це явище спостерігається за недостатньої концентрації антигену. Однак їхній надлишок не завжди сприяє інактивації збудника. Тривала циркуляція в організмі таких імунних комплексів призводить до постійного інфікування чутливих клітин та антигенної стимуляції імуноцитів. У результаті формуються нові імунні комплекси, що містять інфекційний вірус.

Яким чином вірус, асоційований з антигенами, здатний заражати клітини? Імунні комплекси фіксуються на клітинах, які мають рецептори до Fc-фрагмента Ig, що забезпечує адсорбцію та проникнення вірусу в клітину. Парадоксальне посилення репродукції багатьох вірусів (тога-, флаві-, перібун'я-, ганта-, найро-, фенуї-, рабдо- і рео-віруси) у присутності антигену особливо яскраво проявляється в разі зараження макрофагів. Водночас антиген захищає фагоцитований вірус від деструкції лізосомальними ензимами.

Збереження інфекційної активності вірусу в складі імунних комплексів є однією з основних причин виникнення хронічних вірусних інфекцій. У цьому разі створюється замкнуте коло: тривалий патологічний процес завдає шкоди репараційним системам гомеостазу організму, що у свою чергу призводить до виникнення умов для персистенції вірусу або його компонентів.

Імунні комплекси вірус-антиген або вірус-антиген-комплемент циркулюють у крові й міжтканинній рідині. За нормальних умов вони поглинаються макрофагами лімфатичних вузлів, селезінки, печінки, легень та інших органів, де здійснюється їхня деструкція. Проте в разі надмірного утворення імунних комплексів (що часто

спостерігається за хронічних вірусних інфекцій) відбувається відкладення їх у різних тканинах, на стінках кровоносних судин, базальних мембранах ниркових клубочків, синовіальних порожнин суглобів і хоріодальних сплетінь. Це спричинює пошкодження органів і тканин та виникнення імунопатологічних хвороб, за яких імунокомплексна патологія лежить в основі патогенезу.

Так, за інфекційної анемії коней (ІАК) найхарактернішою ознакою є анемія: різко зменшується кількість еритроцитів, що супроводжується розрідженням крові, погіршенням її з'єднання, зниженням рівня гемоглобіну. У цьому разі 99% інфекційного вірусу циркулює в крові в комплексі з антигенами, але вони не нейтралізують вірус. Основний механізм формування анемії пов'язаний з імунологічно опосередкованим гемолізом: еритроцити коня, заражені вірусом ІАК, покриваються специфічними антигенами і комплементом, унаслідок чого знижується тривалість їхнього життя, підвищується осмотична крихкість, збільшується еритрофагоцитоз. Окрім анемії, спостерігаються гломерулонефрит, гепатит, гіпергаммаглобулінемія, лімфаденопатія, зниження С3-компонента комплементу – всі ці патологічні явища імунологічно опосередковані.

Тяжкі ураження тканин, зумовлені відкладенням комплексів вірус-антиген-комплемент, виникають за африканської чуми свиней, алеутської хвороби норок. У разі хронічної форми гепатиту В із безперервним виділенням вірусного антигену (в основному HBsAg) розвиваються гломерулонефрит, васкуліти й артрити, спричинені імунними комплексами антиген-антиген.

Елементи імунокомплексної патології трапляються за більшості вірусних інфекцій і відіграють значну роль в їхньому патогенезі. Наприклад, за поліомієліту імунні комплекси фіксуються на стінках кровоносних судин, що призводить до порушення їхньої проникливості та сприяє проходженню вірусу через гематоенцефалічний бар'єр.

Імунна деструкція заражених клітин. Основним механізмом деструкції інфікованих вірусом клітин є *цитотоксична дія Т-лімфоцитів* (ЦТЛ), які з'являються через 1–3 доби після зараження. Проте здатність ЦТЛ руйнувати клітини-мішені може спричинити ураження органів і тканин. Різна дія ЦТЛ – захисна чи пошкоджувальна – залежить від стадії інфекції, на якій вони активізуються. На ранніх етапах патогенезу загибель нечисленних заражених клітин, що знаходяться в основному біля вхідних воріт інфекції, не спричинює порушення гомеостазу і сприяє видужанню. Проте на пізніх стадіях інфекції, коли внаслідок поширення вірусу в організмі

пошкоджено клітини багатьох органів і тканин, імунний цитоліз може призвести до порушень життєво важливих фізіологічних функцій організму й ускладнити інфекційний процес.

Яскравим прикладом імунопатологічних реакцій, зумовлених ЦТЛ, слугує експериментальна інфекція в мишей, заражених інтрацеребрально маммаренавірусом лімфоцитарного хоріоменінгіту. Хоч сам збудник має відносно слабку цитопатогенну дію, проте ЦТЛ атакують інфіковані клітини мозку, спричинюючи його пошкодження і загибель тварин. У разі гепатиту В ураження печінки зумовлює не сам вірус, який є нецитопатогенним, а ЦТЛ, що розпізнають вірусний антиген (HBsAg) на клітинній поверхні.

Єдиний механізм, який лежить в основі захисної й пошкоджувальної дії ЦТЛ, свідчить про обов'язкову участь імунопатологічних реакцій у патогенезі будь-якої вірусної інфекції. Імунопатологію можна розглядати як неминучу плату за видужання.

За вірусних інфекцій часто спостерігаються ускладнення, спричинені **автоімунними реакціями**, коли в організмі з'являються антитіла або ЦТЛ проти власних антигенів. Деструкція заражених вірусом клітин у процесі інфекції призводить до появи антигенно змінених клітинних структур, що сприймаються організмом як чужорідні та зумовлюють формування гуморальних і клітинних факторів імунітету. Змінені під дією вірусу антигени називаються **автоантигенами**, а фактори імунологічної реактивності щодо них – **автоантитілами** та **авто-Т-лімфоцитами**.

Автоімунні реакції організму спрямовані не лише проти власних антигенів. Конформаційна перебудова молекул антитіл, які взаємодіють з антигеном, є причиною утворення автоантитіл проти власних імуноглобулінів.

У патогенезі автоімунних реакцій важливу роль відіграє порушення проникливості судин під дією імунних комплексів. Унаслідок цього відбувається антигенна стимуляція елементів лімфоїдної тканини, синтез автоантитіл і поява авто-Т-лімфоцитів, які руйнують клітинні антигени, що стали чужорідними.

З автоімунними процесами зв'язано, наприклад, виникнення орхіту як ускладнення за епідемічного паротиту (свинки), що зумовлено підвищенням проникливості кровоносних і лімфатичних судин тестикулярної тканини. У разі гепатиту В головну роль в ураженні печінки відіграє Т-клітинна імунологічна реактивність не лише проти вірусного HBsAg, а й стосовно поверхневих мембранних ліпопротеїнів гепатоцитів.

За деяких вірусних інфекцій (наприклад хвороба Ауескі, африканська чума свиней) існують алергічні реакції у вигляді **гіперчутливості сповільненого типу (ГСТ)**. Це запальна реакція тканин, спрямована проти вірусних антигенів, що характеризується інфільтрацією уражених ділянок активованими макрофагами і Т-лімфоцитами. ГСТ виникає в попередньо сенсibiliзованому організмі, досягає максимального розвитку через 24–48 год після введення антигену та пов'язана з підвищеною проникливістю судин і зростаючим накопиченням макрофагів і Т-лімфоцитів. Забезпечуючи певний захист за вірусних інфекцій, ГСТ може спричинити пошкодження тканин.

Імунологічна толерантність – це специфічна імунологічна ареактивність стосовно конкретного антигену, що виникає внаслідок його попереднього контакту з незрілою імунною системою, наприклад у період ембріонального розвитку. Водночас здатність до імунної відповіді на інші антигени збережена. Так, зараження корів на ранній стадії тільності (1,5–4 міс.) нецитопатогенним штамом збудника вірусної діареї ВРХ може призвести до народження персистентно інфікованого потомства, в якого відсутні специфічні антитіла до цього вірусу внаслідок імунологічної толерантності. Такі телята виглядають клінічно здоровими, але мають постійну віремію та виділяють вірус у навколишнє середовище, становлячи небезпечне джерело збудника інфекції. У них різко знижена імунологічна реактивність (унаслідок імунодепресивної дії вірусу), що зумовлює високу чутливість до секундарної мікрофлори.

Взаємодія вірусу з організмом хазяїна може призвести до **імунологічної недостатності (імунодефіциту)**. Це порушення імунологічної реактивності, пов'язане з дефектами клітинної та (або) гуморальної ланок імунної системи. Класичним прикладом є **ВІЛ-інфекція (СНІД)**, за якої уражаються основні імунокомпетентні клітини: Т-хелпери, моноцити, макрофаги, деякі клони В-лімфоцитів. Незвичайним є патогенез ВІЛ-інфекції. Через 2–3 тижні після зараження відбувається обмежена репродукція вірусу, що контролюється організмом і призводить до утворення інтегрованого провірусу (внаслідок інтеграції ДНК-копії вірусного генома з клітинним). Т-хелпери швидко руйнуються, а макрофаги й моноцити не піддаються деструкції, а стають основними факторами транспортування вірусу в різні органи і тканини (зокрема у ЦНС) та головною причиною розвитку в організмі латентної інфекції. Через 3–12 тижнів після зараження в сироватці крові з'являються специфічні антитіла, які зберігаються на стабільному рівні протягом латентного періоду інфекції, що може

тривати від 6 міс. до 10–15 років. Проте ці антитіла не мають вірусонейтралізуючої активності, а виступають лише як маркер інфекції. У разі активації провірусної ДНК відбувається вибухоподібне розмноження вірусу з утворенням до 1 млрд віріонів потомства упродовж 1–2 діб, що знаменує перехід інфекції з латентної стадії в клінічну (СНІД). У цьому разі вірус спричинює злиття плазматичних мембран інфікованих і неінфікованих Т-хелперів з утворенням гігантських багатоядерних клітин – синцитіїв. Уражені Т-лімфоцити атакуються і знищуються ЦТЛ. У результаті розвивається імунodefіцит, на фоні якого виникають опортуністичні інфекції та злоякісні пухлини, що неминує призводить до летального наслідку.

Багато вірусів мають *імуносупресивну дію*, що пов'язано з їхньою здатністю розмножуватися в імунокомпетентних клітинах і спричинювати пошкодження лімфоїдної тканини. Так, за хвороби Марєка уражається фабрицева сумка, тимус і селезінка, внаслідок чого повністю виключається лімфопоез. Головною мішенню для вірусу інфекційного бурсальної хвороби є фабрицева сумка, яка поступово атрофується внаслідок некрозу лімфоїдних фолікулів. Атрофію фабрицевої сумки і тимусу спричинює вірус інфекційної анемії курчат. Пригнічення гуморальної відповіді на гетерологічні антигени спостерігається за вірусної діареї ВРХ, чуми ВРХ, чуми м'ясоїдних, алеутської хвороби норок, ньюкаслської хвороби. До вірусів особливо чутлива система мононуклеарних фагоцитів, яка першою зустрічається з інфекційним агентом.

Імунологічна недостатність поширена за вірусних інфекцій, що необхідно враховувати фахівцям ветеринарної медицини під час проведення вакцинопрофілактики. Живі вакцини проти деяких вірусних інфекцій (зокрема інфекційної бурсальної хвороби, вірусної діареї ВРХ) можуть мати імуносупресивну дію, що призведе до зниження імунологічної реактивності організму та активації персистувальних агентів.

І на завершення варто зупинитися на двох захворюваннях – алеутській хворобі норок та африканській чумі свиней, які є яскравим прикладом імунопатологічних реакцій організму.

Збудник алеутської хвороби норок, проявляючи виражений тропізм до лімфоцитів, стимулює інтенсивну проліферацію плазматичних клітин (плазмоцитоз) у кістковому мозку, селезінці, лімфатичних вузлах, печінці, нирках, сполучній тканині, навколо дрібних судин. Плазмоцити виробляють антитіла, що призводить до різкого підвищення в сироватці крові рівня імуноглобулінів

(особливо IgG) – гіпергаммаглобулінемії (гаммапатії). Титри антитіл у РЗК через 1,5 міс. після зараження досягають фантастичних величин – 1 : 8000–1 : 260000. У результаті накопичується величезна кількість імунних комплексів вірус-антитіло, в яких збудник зберігає інфекційну активність. Для алеутської хвороби норок характерна постійна персистенція вірусу в організмі й безперервне утворення імунних комплексів. Чому антитіла не нейтралізують вірус? Ймовірно, макрофаги в процесі фагоцитозу реактивують вірус, він розмножується в макрофагах, потім потрапляє в кров, взаємодіє з гуморальними антитілами, знову утворюються імунні комплекси, які захоплюються макрофагами, і таким чином виникає замкнуте коло. Комплекси вірус-антитіло-комплемент відкладаються в різних тканинах, що є причиною тяжких уражень, зокрема гломерулонефриту і периартеріту. У результаті відкладення імунних комплексів пошкоджуються лізосоми і звільняються цитофільні ензими, які денатурують протеїни цитоплазми клітин, роблячи їх автоантигенами. Змінені антигени організму стимулюють подальшу проліферацію плазматичних клітин, виробляються автоантитіла, утворюються нові імунні комплекси автоантиген-автоантитіло, що призводить до прогресувального розвитку патологічних процесів і загибелі.

Імунопатологічні реакції в разі хронічного перебігу *африканської чуми свиней* подібні до реакцій за інфекційної анемії коней та алеутської хвороби норок. В організмі розвивається тривала персистенція вірусу з утворенням високого титру преципітувальних, комплектозв'язувальних і нейтралізуювальних гемадсорбцію антитіл, які, однак, не нейтралізують вірус. Відсутність вірусонейтралізуювальних антитіл зумовлена природою збудника, особливостями його антигенної структури. Можливо, причиною цього унікального явища є антигенна мімікрія або гетерогенність (блокування або маскування протективних вірусних антигенів клітинними ліпідами або видовими антигенами вірусу чи хазяїна). Накопичення антитіл, які не здатні нейтралізувати вірус, призводить до гіпергаммаглобулінемії та утворення імунних комплексів вірус-антитіло-комплемент, що відкладаються в різних тканинах (особливо лімфоїдній), спричинюючи запальні, дистрофічні й некротичні зміни. У результаті розвиваються алергічні (ГСТ) та автоімунні реакції, ускладнюючи інфекційний процес і зумовлюючи загибель.

Контрольні запитання

1. У чому полягає кардинальна особливість протівірусного імунітету?
 2. Дайте характеристику вірусам як антигенам.
 3. Охарактеризуйте клітинні фактори протівірусного імунітету.
 4. Яка роль антитіл у протівірусному імунітеті та механізм їхнього синтезу?
 5. Яке значення інгібіторів і комплементу в протівірусному імунітеті?
 6. Охарактеризуйте інтерферони як важливий фактор протівірусного імунітету.
 7. Що ви знаєте про імунопатологічні реакції організму за вірусних інфекцій? Наведіть приклади.
-

Розділ 9

ІМУНОПРОФІЛАКТИКА ТА ХІМІОТЕРАПІЯ ВІРУСНИХ ІНФЕКЦІЙ

9.1. Загальні принципи імунопрофілактики вірусних інфекцій і типи вірусних вакцин

Важливе місце в загальному комплексі заходів щодо боротьби з вірусними інфекціями тварин посідає *специфічна профілактика (імунопрофілактика)*, яка забезпечується застосуванням вакцин, імунних сироваток та інших імуноглобулінових препаратів.

Вірусні вакцини – це імунобіологічні препарати, які виготовлені з живих чи інактивованих вірусів або їхніх компонентів. Для культивування вакцинного штаму вірусу використовують чутливі біологічні системи – лабораторні тварини, курячі ембріони і культури клітин.

Залежно від технології виготовлення розрізняють такі типи вірусних вакцин: 1) *цільновіріонні* – живі та інактивовані (I покоління); 2) *субодиничні* (II покоління); 3) *генноінженерні* – реасортантні, рекомбінантні (субодиничні, векторні) (III покоління), ДНК-вакцини, РНК-вакцини, рослинні; 4) *синтетичні* (IV покоління).

Залежно від здатності до репродукції вакцинного штаму всі вірусні вакцини поділяються на живі та інактивовані. *Живі вакцини* містять атенуйовані (ослаблені) штами вірусу, які отримані природним або штучним шляхом, включаючи генноінженерний метод. До *інактивованих* належать цільновіріонні та субодиничні вакцини.

Залежно від біологічної системи, що використовується для культивування вакцинного штаму вірусу, розрізняють тканинні, авінізовані та культуральні вакцини. *Тканинні вакцини* готують із суспензії тканини тварин, в якій розмножувався вакцинний вірус. Наприклад, вакцину проти сказу виготовляли раніше із головного мозку овець, заражених фіксованим штамом ліссавірусу сказу, а лапінізовану вакцину проти ящуру – з тканини заражених новонароджених кроленят.

Авінізовані вакцини готують з ембріональних рідин і тканин ембріонів курей (рідше качок та японських перепілок), заражених вакцинним штамом, наприклад, вакцини проти грипу птахів, ньюкаслської хвороби, вірусного гепатиту каченят. *Культуральні вакцини* готують із заражених культур клітин чи переживаючих тканин, використовуючи ролерний або суспензійний методи культивування клітин і тканин. Наприклад, вакцину проти ящуру отримують у перещеплюваній культурі клітин ВНК-21 та в експлантатах слизової оболонки язика ВРХ (метод Френкеля), які вирощують у суспензійному стані в металевих реакторах об'ємом 1000 л і більше.

Залежно від видової належності вакцинного штаму розрізняють *гомологічні вакцини* – з того самого виду вірусу, проти якого потрібно створити імунітет, і *гетерологічні вакцини* – з вірусів іншого виду, антигенно споріднених збуднику (наприклад, вакцина проти натуральної віспи). Більшість вірусних вакцин – гомологічні.

Залежно від складу вакцини поділяються на моновалентні, полівалентні, асоційовані та змішані. *Полівалентні* вакцини готують із кількох серотипів антигенів одного виду вірусу, наприклад інактивована вакцина проти ящуру з 7 серотипів вірусу А, О, С, Азія-1, Сат-1, Сат-2, Сат-3. *Асоційовані вакцини* містять антигени різних видів вірусів, наприклад «Бівак» – жива вакцина проти ПГ-3 та ІРТ ВРХ, «Тетравак» – інактивована вакцина проти ІРТ, ВД, рота- і коронавірусної інфекцій ВРХ. *Змішані вакцини* становлять суміш вірусних і бактеріальних антигенів, наприклад вакцина «Таурус» – проти ІРТ, ВД, ПГ-3 (жива) і лептоспірозу (інактивована) ВРХ, «Комбовак» – інактивована вакцина проти ІРТ, ПГ, ВД, РС, рота- і коронавірусної інфекцій та ешерихіозу ВРХ. Під час створення асоційованих і змішаних вакцин слід враховувати сумісність антигенів.

Вибір вакцини для специфічної профілактики тієї чи іншої вірусної інфекції визначають такі фактори, як технологія ведення тваринництва, епізоотологічна характеристика господарства, ступінь поширення інфекції, практична зручність методу вакцинації з метою максимального охоплення поголів'я тварин, тривалість і напруженість імунітету.

Розвиткові вірусних інфекцій можна запобігти також *пасивною імунізацією*, яку проводять за безпосередньої загрози виникнення захворювання, перед перевезенням тварин на виставки або в інші господарства. З цією метою застосовують *полівалентні імунні сироватки*, які виготовляють шляхом імунізації тварин-донорів атенуйованим вірусом, наприклад сироватки проти ПГ-3,

ВД, аденовірусної та РС інфекцій ВРХ, проти рота- і коронавірусної інфекцій та ешерихіозу ВРХ.

Для пасивної імунізації використовують також *полівалентні імуноглобуліни* (Глобкан-5 – проти чуми, парво- і коронавірусного ентеритів та аденовірусних інфекцій собак), *сироватки реконвалесцентів* (ящур, ПГ-3, ІРТ), *імунолактон* (сироватка молока корів, вакцинованих проти ящуру), *штучне молозиво* (антитіла з сироватки крові або молозива корів, вакцинованих проти рота- і коронавірусної інфекцій ВРХ).

Іноді застосовують *комбіновану (пасивно-активну) імунізацію* – одночасне введення імунної сироватки і вакцини (або спочатку вводять сироватку, а потім вакцину), наприклад за сказу, чуми собак, класичної чуми свиней.

9.2. Цільновіріонні вакцини

Цільновіріонні вакцини виготовляють із повноцінних віріонів атенуйованих (ослаблених) або інактивованих штамів вірусів, які культивують у різних біологічних системах: лабораторних тваринах, курячих ембріонах і в культурах клітин.

Живі цільновіріонні вакцини – це ліофілізовані суспензії атенуйованих штамів вірусів. Їх отримують шляхом селекції мутантів, що утворюються в процесі пасажування вірулентного вірусу в лабораторних об'єктах, або з природно ослаблених штамів вірусів, що виникають за атипичних і латентних форм перебігу інфекції (наприклад, штами В₁, Ла-Сота, F, FR і Бор/74/ВДНКІ ортоавуларіву русу птахів 1).

Основна відмінність вакцинних штамів від циркулювальних у природі диких вірусів – стійка втрата вірулентності вірусу з одночасним збереженням імуногенних властивостей. Водночас вакцинні штами мають здатність приживатися в організмі, тобто розмножуватися як у місці введення, так і в регіонарних лімфатичних вузлах і внутрішніх органах. Вакцинальний процес триває зазвичай від 5–10 діб до 2–4 тижнів і призводить до формування імунітету. Чим триваліше приживається вакцинний штам в організмі, тим ефективніша вакцина. Вакцинний штам, на відміну від дикого вірусу, розмножується в організмі хазяїна обмежено внаслідок підвищеної термочутливості (ts-мутанти) або зміни тропізму і втрати здатності

уражати певні тканини (наприклад, вакцинний фіксований штам ліс-савірусу сказу).

Живі вірусні вакцини мають істотні *переваги* порівняно з інактивованими. Основна з них – висока напруженість і тривалість поствакцинального імунітету, який багато в чому еквівалентний постінфекційному. Живі вакцини активізують усі ланки імунної системи, зумовлюючи збалансовану імунну відповідь – системну і місцеву. Живі вакцини можна вводити одноразово різними методами (підшкірно, внутрішньом'язово, інтраназально, аерозольно, перорально).

Поряд із зазначеними перевагами живі вакцини мають *недоліки*, а саме: 1) реактогенність, що може призвести до поствакцинальних ускладнень (наприклад, аборти у тільних корів після застосування живих вакцин проти ІРТ та ВД ВРХ); 2) можливість реверсії до дикого типу вірусу внаслідок генетичної нестабільності; 3) контамінація інфекційними агентами (вірусами, бактеріями, мікоплазмами), які персистують у біологічних системах; 4) чутливість до несприятливих факторів.

У медичній практиці використовують живі вакцини проти грипу, поліомієліту, кору, краснухи, епідемічного паротиту, аденовірусної інфекції, гарячки денге, жовтої гарячки; у ветеринарній практиці – живі вакцини проти парагрипу-3 ВРХ, інфекційного ринотрахеїту ВРХ, вірусної діареї ВРХ, хвороби Ауескі, сказу, чуми м'ясоїдних, ньюкаслської хвороби та ін.

Інактивовані цільновіріонні вакцини готують з *очищеного* і часто *концентрованого вірусу*, який інактивований різними факторами: формаліном, гідроксиламіном, етанолом, β -пропіолактоном, етиленіміном тощо. *Основна вимога* до інактивованих вакцин – повна і незворотна інактивація вірусного генома за максимального збереження поверхневих антигенів, які стимулюють утворення протективних (вірусонейтралізуювальних) антитіл.

Усі інактиватори є сильними мутагенами. За абсолютної інактивації вони мають зумовити такі зміни вірусного генома, що унеможливають його транскрипцію, трансляцію чи реплікацію. Інактивовані вакцини підлягають суворому контролю на повноту інактивації, оскільки наявність інфекційного вірусу призводить до серйозних наслідків. Залишкову інфекційність інактивованих вакцин можуть зумовити різноманітні генетичні взаємодії між окремими незруйнованими фрагментами нуклеїнових кислот.

Промислове виробництво інактивованих вакцин потребує великих об'ємів вірусної сировини. У зв'язку з цим гостро стоїть питання

клітинних субстратів. Тривалий час виробництво більшості вірусних вакцин ґрунтувалося на використанні первинних культур клітин із нормальних тканин тварин. Окрім того, в медичній практиці використовували деякі лінії диплоїдних клітин з обмеженою життєвою потенцією. Проте всезростаючі потреби серійного виробництва вакцин не можуть забезпечити первинні культури клітин. Особливо це стосується інактивованих концентрованих і субдинічних вакцин, виготовлення яких потребує збільшення кількості вірусної сировини. Це завдання можна вирішити лише з використанням перещеплюваних клітинних ліній, що характеризуються необмеженим строком життя, високою стандартністю і порівняно низькою вартістю.

Тривалий час вважалося недопустимим застосування перещеплюваних культур клітин у виробництві вірусних вакцин у зв'язку з їхньою онкогенною потенцією. Проте за останні десятиріччя накопичено значний досвід у використанні перещеплюваних культур клітин тварин для розмноження вакцинних штамів. На основі стабільної лінії ВНК-21 виготовляють інактивовану вакцину проти ящуру, а на основі стабільної лінії Vero – інактивовані вакцини проти поліомієліту і сказу. Методи контролю гарантують відсутність у препаратах біологічно активних кількостей онкогенних домішок (гетерогенна ДНК, трансформувальні протеїни, ендогенні віруси).

Важливим етапом при виготовленні інактивованих вакцин є очищення вірусної сировини від клітинного баласту. Інактивований вірус не розмножується в організмі, і для стимуляції інтенсивної імунної відповіді потрібно вводити значну кількість вакцини, а домішки клітинних протеїнів створюють додаткове навантаження на імунну систему.

Основна *перевага* інактивованих вакцин – їхня повна безпечність. *Недоліком* є менша імуногенність, у зв'язку з чим потрібно збільшувати дозу і кратність введення препарату. Крім того, парентеральний спосіб застосування інактивованих вакцин не стимулює місцевої імунної відповіді.

Інактивовані вакцини застосовують для профілактики грипу, поліомієліту, гепатиту В, сказу, ящуру, хвороби Ауескі, кліщового та японського енцефалітів, інфекційного ринотрахеїту ВРХ та ін.

9.3. Субодиничні вакцини

У цільновіронних вакцинах формування імунітету індукують лише поверхневі антигени, які становлять близько 10% вірусних протеїнів. Субодиничні вакцини виготовляють із глікопротеїнів складно організованих вірусів, які є протективними антигенами, що стимулюють утворення вірусонейтралізуючих антитіл. Субодиничні вакцини позбавлені клітинного баласту, який лише посилює реактогенність і може спричинити алергічні реакції.

Виготовлення субодиничних вакцин складається з таких етапів: 1) дезінтеграція віріонів за допомогою протеолітичних і ліполітичних ензимів, органічних розчинників, лугів або детергентів, які руйнують ліпідний шар суперкапсидної оболонки та інактивують вірусний геном; 2) виділення та очищення протективних вірусних антигенів (глікопротеїнів) ультрацентрифугуванням або гельфільтрацією.

Субодиничні вакцини виготовлені зі збудників грипу А і В, кору, гепатиту В, сказу, хвороби Ауескі, інфекційного ринотрахеїту ВРХ, трансмісивного гастроентериту свиней та ін. Проте імуногенність субодиничних вакцин зазвичай нижча, ніж у цільновіронних. У зв'язку з цим їх треба вводити з ад'ювантами та імуномодуляторами, які посилюють імунну відповідь (алюмінію гідроксид, аеросил, сироватковий альбумін). Імуногенність субодиничних вакцин можна підвищити, конструюючи їх у вигляді *віросом*. Для цього очищені вірусні глікопротеїни включають у ліпосоми, які мають ад'ювантні властивості.

9.4. Генноінженерні вакцини

Генна інженерія створює широкі можливості для конструювання і промислового виробництва вірусних вакцин. Сучасний підхід базується на введенні до складу вакцини тільки протективних вірусних антигенів, які індукують антитілоутворення. Генноінженерні вакцини є продуктом спрямованої рекомбінації вірусів. На основі технології рекомбінантною ДНК розроблено *шість типів* вірусних вакцин: реасортантні, рекомбінантні (субодиничні, векторні), ДНК-вакцини, РНК-вакцини і рослинні.

Реасортантні вакцини виготовляють з атенуованих реасортантів або делеційних мутантів, які характеризуються генетичною

стабільністю. *Реасортанти* отримують за допомогою пересортування генів у вірусів із фрагментованим геномом (вірус грипу А), а *делеційні мутанти* – шляхом делеції відповідних генів (наприклад у збудників простого герпесу і хвороби Ауескі). Це призводить до втрати вірулентності вірусів та збереження імуногенних властивостей.

Принцип створення **рекомбінантних субодиничних вакцин** ґрунтується на виділенні з вірусного генома генів, які кодують протективні вірусні антигени, та їхнє клонування в клітинах прокариотів або еукаріотів на основі плазмідного або фагового вектора. Клонована вірусна ДНК експресується у вигляді вірусного протеїну в прокариотичних чи еукаріотичних клітинах. Так, протективні протеїни збудників ящуру, гепатиту В, грипу А, сказу, простого герпесу та поліомієліту були синтезовані в бактеріях і дріжджах. На завершальному етапі отриманий після руйнування реципієнтних клітин імуногенний вірусний протеїн очищують за допомогою ультрацентрифугування в поєднанні з імуноафінною хроматографією та застосовують як вакцинний препарат.

Іноді для клонування та експресії потрібних генів застосовують культури клітин людини і тварин. Так, НВs-антиген вірусу гепатиту В успішно продукують у перещеплюваних клітинних лініях L і COS, заражаючи їх рекомбінантною ДНК із геном НВsAg, що сконструйована на основі вірусного вектора (папіломавірусів ВРХ або поліомавірусу макаки-резус 1).

Рекомбінантні векторні вакцини конструюють на основі атенуованого вірусного вектора – *вірусу вісповакцини*, в геном якого вбудовують гени протективних протеїнів іншого вірусу (наприклад, збудників гепатиту В, грипу А, сказу, хвороби Ауескі, везикулярного стоматиту, ньюкаслської хвороби). За внутрішньошкірного введення такого препарату відбувається репродукція рекомбінантного вірусу з розвитком вакцинального процесу, характерного для вісповакцини, та одночасний синтез протективних протеїнів іншого вірусу, що індукує специфічну імунну відповідь.

Новим напрямком у розробці генноінженерних вакцин є **ДНК-вакцини**. Це плазмідні ДНК із вбудованими генами протективних вірусних протеїнів, що вводять безпосередньо в організм тварин. Рекомбінантну ДНК на основі плазмідного вектора реплікують в *E. coli*, потім очищують і використовують як вакцинний препарат.

Лише 0,01–1% плазмідної ДНК поглинається клітинами організму, які синтезують протективний вірусний протеїн. Він розщеплюється клітинними протеазами на короткі пептиди, які в комплексі

з молекулами МНС виставляються на поверхні клітин, де розпізнаються Т-хелперами. Це індукує збалансовану імунну відповідь, а саме: синтез вірусонейтралізуючих антитіл В-лімфоцитами, проліферацію ЦТЛ, активізацію макрофагів і НК-клітин. Протективний вірусний протеїн може звільнитися з клітини в екстрацелюлярний простір у нерозщепленому стані та захоплюватися антигенопрезентабельними клітинами (макрофагами).

Плазмідна ДНК тривалий час (до 3–6 міс.) функціонує в клітинах організму, не реплікується в них, не інтегрує з хромосомами і не спричинює утворення антитіл проти неї. ДНК-вакцинам властива ефективність живих і безпечність інактивованих вакцин. Сконструйовано ДНК-вакцини проти сказу, грипу А, гепатиту В, кліщового енцефаліту, хвороби Ауескі, інфекційного ринотрахеїту та вірусної діареї ВРХ, парвовірусної інфекції собак. В одну плазмідну ДНК можна вбудувати гени протективних протеїнів кількох вірусів і гени цитокинів – регуляторів імунної відповіді.

Найсучаснішими генноінженерними вакцинами є **РНК-вакцини** (*мРНК-вакцини*). Їх виготовляють на основі вірусної мРНК, яку одержують шляхом транскрипції *in vitro* плазмідної ДНК-матриці із вбудованими генами протективних вірусних протеїнів. Синтезовану мРНК вміщують у ліпідну наночастку, яка транспортує вакцинну мРНК всередину клітин до рибосом. Далі відбувається трансляція із синтезом протективного вірусного протеїну, який виставляється на поверхні клітин, спричинюючи збалансовану імунну відповідь організму, як це відбувається в разі застосування ДНК-вакцин. Розроблено мРНК-вакцини проти COVID-19.

Рослинні вакцини виготовляють на основі трансгенних рослин, у геном яких вбудовують гени протективних вірусних антигенів. Наприклад, у рослинах тютюну експресовано антигени вірусів гепатиту В і COVID-19, у томатах – ліссавірусу сказу, в картоплі – вірусу геморагічної хвороби кролів, у люцерні – вірусу ящуру. Згодовування трансгенних рослин тваринам індукує утворення вірусонейтралізуючих антитіл. Зручний оральний спосіб введення і низька собівартість визначають широку перспективність таких вакцин.

9.5. Синтетичні вакцини

Синтетичні вакцини створюють шляхом *біоорганічного синтезу епітопів протективних вірусних антигенів*. Конструювання таких вакцин можливе за повного розшифрування пептидних послідовностей антигенних детермінант. Пептиди синтезують з окремих амінокислот, використовуючи зазвичай твердофазний метод. Технологічні розробки синтетичних вакцин чітко зорієнтовані на мінімальні розміри пептидів, що стимулюють імунну відповідь організму. Ідеальна синтетична вакцина – це комплекс із кількох коротких пептидів по 5–7 амінокислотних залишків, який містить бажану комбінацію антигенних детермінант різних вірусів.

Синтетичні вакцини безпечні через відсутність інфекційного вірусу, не потребують очищення антигенного матеріалу, дають необмежені можливості для асоціації вірусних антигенів, стабільні. Проте головний *недолік* синтетичних вакцин – недостатня імуногенність, тому їх потрібно вводити з ад'ювантами та імуномодуляторами або конструювати у вигляді віросом. Синтетичні вакцини розроблені проти грипу, гепатиту В, герпетичної інфекції, ящуру.

9.6. Хіміотерапія вірусних інфекцій

Значні труднощі у створенні ефективних хіміотерапевтичних препаратів для лікування і профілактики вірусних інфекцій зумовлені специфікою вірусів як облігатних внутрішньоклітинних паразитів на генетичному рівні. Репродукція вірусів тісно пов'язана з біосинтетичними процесами заражених клітин. *Головним завданням* хіміотерапії вірусних інфекцій є розробка таких препаратів, які б специфічно блокували репродукцію вірусів та не зачіпали процесів життєдіяльності клітин, систем і цілого організму. Пошук антивірусних речовин із вибірковою дією є складним завданням. Тому успіхи хіміотерапії вірусних інфекцій досить скромні, набір ефективних хіміопрепаратів відносно невеликий, а розробка кожного з них потребує багато часу.

Мішенню дії антивірусних речовин є вірусоспецифічні процеси в зараженій клітині або сама інфікована клітина. Класичними мішенями стали *вірусні ензими* (ДНК- і РНК-полімерази). Впливаючи на ензими, що входять до складу віріонів або утворюються

в зараженій клітині в процесі репродукції вірусів, можна загальмувати синтез вірусних нуклеїнових кислот. Є різні способи впливу на вірусоспецифічні ензими, зокрема інгібіція їхнього синтезу або каталітичної активності.

Дія антивірусних хіміопрепаратів може бути спрямована на *заражені клітини*. Це пов'язано зі зміною проникливості плазмолемі під дією вірусної інфекції, у зв'язку з чим інгібітори синтезу макромолекул проникають тільки в заражені клітини, не зачіпаючи нормальні.

Противірусна активність препарату в принципі може бути спрямована на будь-яку стадію репродукції вірусу. Проте далеко не завжди спостерігається пряма кореляція противірусної активності сполуки *in vitro* з клінічною ефективністю, оскільки умови репродукції вірусу *in vitro* та *in vivo* сильно різняться. Багато речовин, які виявляють противірусну дію *in vitro*, не можна використовувати в клінічній практиці через те, що вони є антиметаболітами, токсичними не тільки для вірусів, а й для клітин хазяїна.

Для доклінічної оцінки противірусних препаратів незамінними є лабораторні тварини. Ці моделі забезпечують тонкий підбір експериментальних умов і дають змогу зробити висновки про токсичність досліджуваної сполуки. Проте деякі актуальні віруси людини (наприклад, бетагерпесвірус 5, гаммагерпесвірус 4, вірус гепатиту В) не розмножуються в організмі лабораторних тварин. У цьому разі значний інтерес становлять аналогічні віруси тварин, які спричинюють подібні захворювання у відповідних хазяїв. На лабораторних тваринах противірусні препарати перевіряють не лише на токсичність, а й на тератогенність і канцерогенність.

Противірусні препарати, що використовуються в медичній практиці, характеризуються вузьким спектром активності. Більшість із них діє на функції ензимів, які зумовлюють синтез вірусних нуклеїнових кислот.

Основні групи противірусних хіміотерапевтичних препаратів

1. *Інгібітори проникнення вірусів у клітини*: респігем, синагіс (ортопневмовірус людини), абрева, VZIG VariZIG (герпесвіруси), фузеон, селзентрі (ВІЛ). Блокують взаємодію віріонів із клітинними рецепторами.

2. *Інгібітори депротейнізації вірусу групи А*: амантадин, римантадин. Блокують злиття суперкапсиду віріона з плазмолемою і подальше вивільнення нуклеокапсиду в цитоплазму. У зв'язку з поширеною резистентністю вірусу амантадин практично перестали використовувати для лікування грипу.

3. *Інгібітори нейрамінідази вірусів групи А і В*: занамавір, озельтамівір, перамівір, октаноат ланінамівіру. Блокують депротейнізацію вірусів і звільнення віріонів потомства із заражених клітин.

4. *Інгібітори ДНК-полімераз герпесвірусів, аденовірусів і поксвірусів*: відарабін, цитарабін, ідоксириндин, трифторидин, ацикловір, ганцикловір. Блокують синтез вірусних ДНК. Застосовуються для лікування герпетичного кератиту та енцефаліту, вітряної віспи, оперізувального лишая, генітального герпесу, цитомегаловірусної інфекції, аденовірусного кератиту.

5. *Інгібітори зворотної транскриптази ВІЛ*: зидовудин, ставудин; ламівудин, зальцитабін; діданозин; абакавір, емтрицитабін, невірапін, ефавіренс етравірін, рилпівірін, делавірдин. Блокують зворотню транскрипцію, чим унеможливується подальше зараження клітин.

6. *Інгібітори інтегрази ВІЛ*: ралтегравір, долутегравір, елвітегравір. Блокують інтеграцію ДНК-копії вірусного генома з клітинною ДНК.

7. *Інгібітори протеази ВІЛ*: саквінавір, індинавір, ритонавір, дарунавір, типранавір. Блокують протеолітичне нарізання поліпротеїну-попередника, з якого утворюються ензими (зворотна транскриптаза, інтеграза, протеаза) і структурні протеїни вірусу.

8. *Інгібітори протеази гепацівірусу С*: інцівек, віктреліс, олізіо, ванігеп, зепатир. Блокують протеолітичне нарізання поліпротеїну-попередника на функціонально активні протеїни.

9. *Інгібітор полімераз герпесвірусів, вірусу гепатиту В, ВІЛ*: фоскарнет. Блокує реплікацію вірусних геномів.

10. *Інгібітор вірусних РНК-полімераз*: рибавірін. Блокує реплікацію вірусних геномів. Застосовується для лікування РС-інфекції, гепатиту С, гантавірусних інфекцій (геморагічна гарячка з нирковим синдромом, гантавірусний легеневий синдром).

11. *Інгібітор синтезу пізніх вірусних протеїнів поксвірусів*: метисазон. Раніше застосовувався для лікування натуральної віспи, а також ускладнень після вакцинації. У зв'язку з ліквідацією хвороби препарат зберігають у резерві.

Отже, переважна більшість сучасних медичних хіміотерапевтичних препаратів ефективна в основному щодо грипу А і В та ГРВІ (РС-інфекція), різноманітних герпесвірусних інфекцій (зокрема простий герпес, вітряна віспа – оперізувальний лишай, цитомегаловірусна інфекція), ВІЛ-інфекції, гепатитів В і С, гантавірусних інфекцій. Окремі препарати розроблені для лікування папіломавірусних інфекцій. Для всіх інших вірусних хвороб етіотропних засобів немає.

До загальних *недоліків* зазначених препаратів належить відносно вузький спектр протівірусної активності, а також не виключена можливість формування резистентних штамів вірусів, що може звести нанівець ефективність хіміотерапії.

У процесі еволюції віруси набули здатності пристосовуватися до несприятливих впливів навколишнього середовища. Це стосується і лікарських препаратів. У клінічних умовах зареєстровано випадки стійкості вірусів до римантадину, ацикловіру, ганцикловіру, невірапіну, зидовудину. Резистентність вірусів до хіміопрепаратів формується частіше за багаторазового їхнього застосування і передається наступним поколінням. Важлива роль у формуванні резистентних штамів належить процесам селекції, коли з генетично неоднорідної популяції диких штамів під впливом препарату відбувається селекція резистентних варіантів. Окрім того, можлива мутагенна дія самого препарату. Знизити ймовірність появи резистентності вірусів до хіміопрепаратів можна, застосовуючи одночасно два препарати з різним механізмом дії.

Для профілактики і терапії вірусних інфекцій широко використовують *інтерферони* (ІФН). Існуючі медичні препарати ІФН поділяються за складом на ІФН- α , ІФН- β , ІФН- γ , а за походженням – на *природні* (ІФН I покоління) та *рекомбінантні* (ІФН II покоління).

У промисловому виробництві ІФН використовують кілька технологій. *ІФН- α* виробляють у культурі лейкоцитів донорської крові, застосовуючи в ролі індуктора респіровірус мишей або ортоавулавірус птахів I із родини *Paramyxoviridae*. У зв'язку з дефіцитом і високою вартістю сировини (донорська кров) економічно вигіднішою технологією промислового виробництва ІФН- α є використання перещеплених лімфобластоїдних клітин людини, які культивують у вигляді суспензійних культур.

ІФН- β отримують у різних диплоїдних лініях фібробластів ембріона людини, які обробляють синтетичним індуктором полі(I):полі(Ц) (поліінозин-поліцитозин).

Розроблено біотехнології промислового виробництва *рекомбінантних ІФН* різних типів (α , β , γ). Створено штам *E. coli* – продуцент ІФН- α . В 1 л бактеріальної культури, що містить близько 10^{11} клітин, концентрація ІФН- α досягає 5 мг. Це в 5 тис. разів більше тієї кількості, яку можна отримати з 1 л донорської крові.

Основою виробництва рекомбінантних ІФН можуть стати дріжджі та клітини вищих еукаріотів. Здійснено синтез гена ІФН- α хімічним шляхом.

Спектр захворювань, за яких рекомендовано застосування ІФН, широкий. Це герпесвірусні ураження (кератити і кератокон'юнктивіти, генітальний герпес, оперізувальний лишай), гострі та хронічні гепатити, грип та ГРВІ, ВІЛ-інфекція, папіломавірусні ураження (гострокінцева кондилома, папіломатоз гортані, бородавки та ін.), кір, епідемічний паротит, сказ. До цього переліку треба додати вірусні ускладнення за трансплантації органів і на тлі прийому імунодепресантів.

Механізм протівірусної дії ІФН полягає в індукції антивірусного стану клітин за рахунок синтезу ензимів протеїнази і 2,5-олігоаденілатсинтетази з прямим протівірусним ефектом. Унаслідок цього в заражених клітинах пригнічується синтез вірусних структурних протеїнів та ензимів, необхідних для реплікації вірусного генома, і процес репродукції вірусу припиняється.

Препарати ІФН органічно доповнюють *індуктори ІФН*. Це різномірідна за складом група природних і синтетичних сполук, які стимулюють в організмі синтез власних (ендогенних) ІФН. Багато з цих препаратів виявляють, окрім антивірусного, протипухлинний та імуномодулювальний ефекти. Найкращі *синтетичні індуктори ІФН* – очищена 2-ланцюгова РНК і штучні полірибонуклеотиди з високою молекулярною масою, які резистентні до ензимного розкладання. Особливо ефективний полімер полі(I):полі(Ц).

У медичній практиці використовують такі індуктори ІФН, як *мегасин, полудан, аміксин, циклоферон, неовір, ларіфан і ридостин*. Протівірусна активність цих індукторів ІФН у цілому збігається з дією екзогенних ІФН. Їх застосовують за грипу та ГРВІ, герпесвірусних інфекціях (енцефаліти, кератити), гепатитах А і В, ентеровірусних інфекціях, сказі, ВІЛ-інфекції/СНІДі.

У ветеринарній практиці перспективним є застосування препаратів ІФН- α та ІФН- γ ВРХ (*Бовівірекс і γ -Бовіферон*) та їхніх індукторів для підвищення неспецифічної резистентності телят за респіраторних і шлунково-кишкових захворювань, а також препарату *Комбіферон* (на основі рекомбінантних ІФН- α та ІФН- γ) із широким спектром антивірусної та імуномодулювальної дії. З індукторів ІФН ефективними виявилися рослинні препарати: *похідні госиполу – саврац, рагосин і кагоцел* – стимулюють синтез ІФН- α , а *лектин кормових бобів* – синтез ІФН- γ .

Що стосується *хіміотерапії вірусних інфекцій тварин*, то в цьому разі треба керуватися такими міркуваннями. Економічний ефект має перевищувати вартість препарату і затрати на обробку тварин.

Препарат повинен бути зручним для групового застосування, захищати з профілактичною метою не менше ніж 70% тварин, а в разі лікування – не менше як 50%, послаблювати тяжкість перебігу хвороби, не перешкоджати формуванню імунітету і не давати побічних ефектів (токсигенність, тератогенність). У ветеринарній практиці з терапевтичною метою використовують патогенетичні й симптоматичні препарати. З удосконаленням методів виробництва і зниженням собівартості ІФН стане економічно вигідно застосовувати їх для профілактики і лікування багатьох вірусних інфекцій тварин.

Контрольні запитання

1. Охарактеризуйте загальні принципи імунопрофілактики вірусних інфекцій. 2. Які ви знаєте типи вірусних вакцин? 3. Як виготовляють живі цільновіронні вакцини? 4. Принцип конструювання інактивованих цільновіронних вакцин. 5. Що таке субодиничні вакцини, як їх виготовляють? 6. Охарактеризуйте генноінженерні вакцини. 7. Принцип конструювання синтетичних вакцин. 8. Назвіть основні групи противірусних хімотерапевтичних препаратів.

Розділ 10

ЛАБОРАТОРНА ДІАГНОСТИКА ВІРУСНИХ ІНФЕКЦІЙ ТВАРИН

10.1. Загальні принципи лабораторної діагностики вірусних інфекцій тварин

Діагностика має надзвичайно важливе значення в системі заходів боротьби з вірусними інфекціями тварин. Швидко і правильно поставлений діагноз забезпечує успіх ліквідації спалахів захворювання, оскільки дає змогу чітко уявити конкретну епізоотичну ситуацію і 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 і спричинить значні економічні збитки.

Постановка діагнозу на вірусні інфекції тварин складається з *двох етапів*: клініко-епізоотологічна і лабораторна діагностика.

Клініко-епізоотологічна діагностика проводиться безпосередньо в господарстві на основі аналізу клінічних симптомів хвороби, патологоанатомічних змін органів і тканин та епізоотологічних даних (відомості про види й вікові групи захворілих тварин, швидкість поширення інфекції, захворюваність та летальність тощо). Аналіз усіх цих даних дає змогу поставити лише попередній діагноз, тому що за багатьох вірусних хвороб вони можуть бути подібними. Крім того, нерідкісні випадки атипового перебігу захворювання, а також латентних та асоційованих (змішаних) інфекцій, які спричинюються кількома збудниками.

Вирішальне значення в постановці остаточного діагнозу належить **лабораторній діагностиці**. Навіть за такої хвороби, як ящур, коли клініко-епізоотологічний діагноз ставиться зазвичай точно, обов'язково треба проводити лабораторне дослідження з метою встановлення серотипу і варіанту збудника, що необхідно знати 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 план лабораторного дослідження.

Лабораторна діагностика вірусних інфекцій тварин ґрунтується на трьох групах методів: *експресні; вірусологічні та серологічні (ретроспективні)*. Вибір конкретного методу вирішується в кожному окремому випадку залежно від характеру захворювання, підозрюваного збудника і можливостей лабораторії.

Експрес-методи оснований на швидкому виявленні вірусу або його компонентів безпосередньо в патологічному матеріалі. До цієї групи належать такі методи: 1) виявлення *віріонів* вірусів методами електронної мікроскопії, а також імуноелектронної та світлової мікроскопії (вірусоскопія); 2) виявлення внутрішньоклітинних *тілець-включень* вірусів методом світлової мікроскопії; 3) ідентифікація *вірусних антигенів* у серологічних реакціях (РІФ, ІФА, РЗК, РДП, РГГА, РНГА, ІХА та ін.); 4) ідентифікація *вірусних нуклеїнових кислот* молекулярно-генетичними методами (метод ДНК-зондів, ПЛР).

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

Вірусологічні методи ґрунтуються на ізоляції 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*. Під час вибору біологічних систем враховують дані клініко-епізоотологічного діагнозу і вид тварини, від якої взятий патологічний матеріал. Сукупність цих даних дає змогу вибрати потрібні лабораторні моделі та метод їхнього зараження. В окремих випадках ставлять біопробу (або імунологічну пробу) на природно сприйнятливих тваринах.

Якщо за первинного зараження досліджуваним 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 лабораторної моделі; 2) низькою концентрацією вірусу в патологічному матеріалі.

У такому разі перший пасаж вважається «сліпим». Від інфікованих біологічних об'єктів беруть відповідний вірусомісний матеріал

і заражають ним нову партію об'єктів, тобто проводять другий пасаж. Якщо і в другому пасажі не проявиться реакція на вірус, його теж вважають «сліпим» і проводять третій пасаж. Із кожним пасажем вірус адаптується до біологічних систем, концентрація його збільшується, і він проявляє свою інфекційну дію. Часто для ізоляції вірусу з патологічного матеріалу треба провести не менше 3–4 «сліпих» пасажів.

Наступним етапом вірусологічного дослідження є ідентифікація виділеного вірусу в серологічних реакціях: РН, РІФ, ІФА, РЗК, РГГА, РНГА, РГГАд, РДП та ін. Окрім того, вірус ідентифікують методами ЕМ та ІЕМ.

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

Методи серологічної (ретроспективної) діагностики. Незалежно від результатів ізоляції вірусу з патологічного матеріалу та його ідентифікації проводять дослідження парних сироваток крові на наявність специфічних антитіл. Із цією 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 захворювання. Антитіла виявляють у різних серологічних реакціях: РН, РГГА, РНГА, РНГАд, РЗК, РДП, ІФА та ін.

Чому недостатньо одноразового серологічного дослідження? Річ у тім, що одноразовий позитивний результат, навіть якщо титр антитіл високий, не має діагностичної цінності (за винятком ситуації, коли в цьому регіоні з'являється зовсім новий вірус). Він свідчить про контакт тварини з вірусом, однак не визначає, коли саме цей контакт відбувся. Наявність сироваткових антитіл може бути наслідком попереднього захворювання, безсимптомної інфекції, вакцинації або молозивного походження. Серологічні дослідження мають діагностичну цінність тоді, коли вони виявляють зростання титру антитіл.

Недоліком методів серологічної діагностики є їхня ретроспективність, тому що до моменту постановки діагнозу тварини перебувають на стадії видужування.

10.2. Відбір клінічного і патологоанатомічного вірусомісного матеріалу

У лабораторній діагностиці вірусних інфекцій тварин точність діагнозу залежить передусім від правильного відбору патологічного матеріалу від хворих, загиблих або вимушено забитих тварин і швидкого транспортування його в лабораторію.

Загальне правило: патологічний матеріал потрібно брати по можливості стерильно, якнайскоріше після появи чітких клінічних ознак хвороби, коли концентрація вірусу є максимальною, або не пізніше 2–4 год після загибелі, щоб уникнути дисемінації кишкової мікрофлори (внаслідок послаблення бар'єрної функції кишечника) і посмертних змін тканин. Слід враховувати той факт, що за деяких вірусних інфекцій (наприклад, хворобі Тешена) спостерігається феномен посмертної автостерилізації, що робить неможливим виділення збудника.

Патологічний матеріал беруть із врахуванням *тропізму вірусу* і шляхів виділення його з організму в різні стадії хвороби, а саме:

1) за підозри *пневмотропного вірусу* (грип свиней і коней, парогрип-3 ВРХ, РС-інфекція ВРХ) – носовий слиз, носоглоткові змиви, слизові оболонки верхніх дихальних шляхів, легені, бронхіальні й середостінні лімфатичні вузли;

2) за підозри *нейротропного вірусу* (сказ, хвороба Тешена, східний, західний і венесуельський енцефаломієліти коней) – головний і спинний мозок;

3) за підозри *дерматропного (епітеліотропного) вірусу* (віспа, ящур, везикулярний стоматит) – стінки і вміст везикул, пустул, зіскрібки з уражених ділянок шкіри й слизових оболонок;

4) за підозри *ентеротропного вірусу* (ротавірусна і коронавірусна інфекції ВРХ), – кал, слизова оболонка тонкого кишечника, брижові лімфатичні вузли;

5) за підозри *політропного вірусу* (інфекційний ринотрахеїт і вірусна діарея ВРХ), – змиви з носа, кон'юнктиви і статевих органів, сперма, абортований плід, слизові оболонки респіраторного і травного тракту, паренхіматозні органи, мигдалини, лімфатичні вузли, головний мозок (залежно від клінічного прояву хвороби);

6) за підозри *пантропного вірусу* (хвороба Ауескі, класична чума свиней) – паренхіматозні органи, лімфатичні вузли, головний і спинний мозок.

У гострій стадії хвороби в період вірусемії обов'язково беруть *кров* (з яремної вени в об'ємі 5–10 мл) із метою ізоляції вірусів (насамперед пантропних, а також політропних). Для виділення вірусів використовують *цільну дефібриновану* або «*лакову*» *кров* (суміш крові з дистильованою водою 1 : 1), або *окремі кров'яні елементи* (для цього кров беруть з антикоагулянтом – 2,5%-й розчин натрію цитрату на 0,9%-му розчині NaCl 1 : 2; 0,2 мл рідкого гепарину з активністю 5 тис. ОД/мл або 0,2 мл сухого гепарину на 100 мл крові; консервувальний розчин Альсевра* 1 : 5).

Крім того, кров необхідна для серологічного дослідження. З цією метою її беруть без антикоагулянту в об'ємі 10–15 мл, двічі в одних і тих самих тварин, на початку і наприкінці хвороби з інтервалом 2–3 тижні для одержання *парних сироваток крові*. Для цього пробірки з кров'ю витримують 1 год за 37 °С. Утворений згусток обводять скляною паличкою або пастерівською піпеткою та ставлять на 18–20 год у холодильник за 4 °С (для прискорення ретракції кров'яного згустку і збільшення виходу сироватки). Сироватку відбирають піпеткою, за потреби центрифугують за 1500 об/хв для видалення домішок еритроцитів, обробляють пеніциліном 100–200 ОД/мл і стрептоміцином 100–200 мкг/мл, ставлять бактеріологічний контроль (посіви на МПА, МПБ, МППБ, середовище Сабуро). Сироватки зберігають у холодильнику за 4 °С або в замороженому стані за –10...–20 °С.

Носовий і вагінальний секрет відбирають за допомогою стерильних ватних тампонів на дерев'яній чи пластиковій паличці – сухих або змочених у стабілізуючому середовищі** для попередження швидкої інактивації вірусу. Тампони вміщують у флакони зі стабілізуючим середовищем.

Змиви зі слизових оболонок (носа, рота, носоглотки, очей, прямої кишки, вагіни, препуція, клоаки у птахів) одержують, зрошуючи відповідну порожнину за допомогою шприца зі стабілізуючим середовищем і збирають рідину, що стікає, у флакони.

У разі ураження ротової порожнини беруть *слину*, яку збирають у пробірку, якщо саливація інтенсивна. За помірної саливації користуються стерильним ватним тампоном, який вводять під

* Консервувальний розчин Альсевра: 24,6 г глюкози, 9,6 г натрію цитрату, 5,04 г натрію хлориду і 1200 мл дистильованої води.

** Склад стабілізуючого середовища: 0,9% розчину NaCl (рН 7,0) або розчину Хенкса, антибіотики (пеніцилін 500 ОД/мл, стрептоміцин 500 мкг/мл і ністатин 20 ОД/мл) і протеїновий стабілізатор (0,5% желатину чи 0,5–1% альбуміну сироватки крові ВРХ).

щоку, витримують 10–15 хв, потім дістають пінцетом і за допомогою шприца відтискають слину в пробірку.

Проби *калу* відбирають із прямої кишки шпателем або паличкою і вміщують у пробірку чи флакон.

Проби *сечі* беруть за допомогою катетера або під час природного сечовипускання в стерильний посуд.

Везикулярну і пустульозну рідину відбирають шприцом із тонкою голкою чи пастерівською піпеткою, кінці якої запаюють. Поверхню везикул і пустул попередньо обробляють спиртом або ефіром. Можна зразу розбавити рідину стабілізуювальним середовищем (1:5).

Стінки везикул, пустул, кірки і луски з поверхні шкіри знімають пінцетом та вміщують у флакони зі стабілізуювальним середовищем. Також роблять зіскрібки з уражених ділянок шкіри і слизових оболонок ротової порожнини та носового дзеркала. Зіскрібки зі слизової оболонки глотки і стравоходу беруть спеціальним зондом.

Розтин трупів тварин проводять згідно із загальноприйнятою методикою. Для вірусологічного дослідження найчастіше використовують *легені, печінку, селезінку, нирки, лімфатичні вузли, слизові оболонки носа, рота, трахеї, бронхів, тонкого кишечника, шматочки новоутворень*. За наявності макроскопічних змін органів з ураженої ділянки вирізають шматочки масою 10–20 г, захоплюючи також неушкоджену тканину. *Головний мозок* беруть повністю, розпилюючи черепну коробку після видалення волосяного покриву, шкіри і м'язів та зняття твердої мозкової оболонки. *Спинний мозок* виймають цілим або фрагментами разом із корінцями, розсікаючи вздовж хребта м'язи спини, остисті відростки хребців і видаливши тверду мозкову оболонку.

Консервування і транспортування проб патологічного матеріалу. Взятий патологічний матеріал потрібно якнайскоріше консервувати, щоб зберегти вірус, оскільки його титр за відсутності живих клітин швидко знижується. Найкращим методом консервування патологічного матеріалу є використання термосів з *охолоджувальними сумішами*: 1) 3 частини льоду та 1 частина кухонної солі (–15...–20 °C); 2) суміш рівних об'ємів сухого льоду (твердої вуглекислоти) та етилового спирту (–70 °C); 3) сухий лід (–79 °C).

Треба мати на увазі, що деякі віруси швидко гинуть під час заморожування. Це стосується насамперед респіраторних вірусів (наприклад збудники ПГ-3 і РС-інфекції ВРХ). Тому для збереження таких вірусів патологічний матеріал консервують за температури танучого льоду (2...4 °C). У деяких випадках вірусомісний матеріал

зберігають у рідкому азоті (–196 °C), зокрема кров і пухлинну тканину за діагностики хвороби Марека.

Для консервування шматочків органів і тканин можна використувати 50%-й розчин *гліцерину* (на 0,9%-му розчині NaCl) у співвідношенні 1:5–1:10. Однак треба мати на увазі, що такий патологічний матеріал не придатний для дослідження в РІФ, консервування вірусомісних рідин і зараження лабораторних об'єктів. Тому одночасно з пробамі матеріалу, вміщеними у флакони з гліцерином, потрібно направляти мазки-відбитки на предметних скельцях для люмінесцентної мікроскопії. Крім гліцерину, шматочки органів і тканин можна вміщувати в *стабілізуювальне середовище* (див. стор. 249).

На пробірки і флакони наклеюють етикетки з лейкопластиру, де пишуть простим олівцем, який саме матеріал і від якої тварини отриманий. Проби вміщують у металевий контейнер, що кладуть у термос і обкладають мішечками з охолоджувальною сумішшю. Проби, консервовані гліцерином або стабілізуювальним середовищем, посилають незамороженими за температури танучого льоду (2...4 °C). Термос опечатують, прикріплюють етикетку з картону або фанери, на якій вказують господарство, вид тварини, перелік матеріалу і дату. Обов'язково пишуть супровідну, де подають повну інформацію про тварину, від якої взяті проби, епізоотологічні дані господарства, вид матеріалу, попередній діагноз, прізвище спеціаліста і дату. Цими даними керуються під час вибору напряму лабораторного дослідження.

Доставлені в лабораторію проби треба негайно використати для виділення вірусу. Якщо через якісь причини (наприклад відсутність культури клітин) дослідження відкладається, патологічний матеріал потрібно зберігати за –20...–70 °C. Слід уникати багаторазового заморожування і відтавання його, оскільки це призводить до інактивації вірусу.

Підготовка вірусомісного матеріалу для дослідження. У лабораторії отриманий патологічний матеріал звільняють від консерванту (розморожують, відмивають від гліцерину). Частину матеріалу використовують для вірусологічного дослідження, іншу – зберігають у холодильнику в разі додаткових досліджень.

Підготовка органів і тканин (виготовлення 10%-ї вірусомісної суспензії). Тканину ретельно подрібнюють ножицями, розтирають у ступці з додаванням стерильного кварцового піску, розбавляють ФБР або розчином Хенкса з розрахунку 1:10, центрифугують за 2–3 тис. об/хв упродовж 15–30 хв. Надосадову рідину

(вірусомісну суспензію) переносять у флакони і додають антибіотики широкого спектра дії для деконтамінації (звільнення від супутньої мікрофлори): пеніцилін 100–1000 ОД/мл і стрептоміцин 100–1000 мкг/мл (доза залежать від виду тканини). Після експозиції 30–60 хв за кімнатної температури ставлять *бактеріологічний контроль*: роблять посіви на МПА, МПБ, МППБ і середовище Сабуро. За негативного результату бактеріологічного контролю вірусомісну суспензію використовують для зараження лабораторних об'єктів, а в разі позитивного результату її повторно обробляють антибіотиками і знову перевіряють на стерильність. У рідкісних випадках вірусомісну суспензію звільняють від мікрофлори пропусканням через бактеріальні фільтри (фарфорові, азбестові, мембранні), що пов'язано з частковою адсорбцією на них вірусу. Вірусомісну суспензію зберігають за $-20 \dots -70$ °С.

Підготовка секретів і змивів. Секрети і змиви центрифугують за 2–3 тис. об/хв, надосадову рідину обробляють пеніциліном 500–1000 ОД/мл та стрептоміцином 500–1000 мкг/мл і після бактеріологічного контролю використовують для зараження лабораторних об'єктів. З осаду роблять мазки для РІФ. Аналогічно готують змиви і мазки, які одержані за допомогою ватних тампонів, занурених у стабілізувальне середовище. Тампони струшують 10–15 хв, ретельно витискають, отриману рідину центрифугують, обробляють антибіотиками, ставлять бактеріологічний контроль.

Підготовка калу. У флакон зі скляними намистинами вносять 10 мл ФБР або розчину Хенкса та 1 г калу. Струшують до утворення гомогенної суміші, центрифугують за 2–3 тис. об/хв. Надосадову рідину обробляють пеніциліном 500–1000 ОД/мл, стрептоміцином 500–1000 мкг/мл і ністатином 30–40 ОД/мл, ставлять бактеріологічний контроль. Вірусомісну суспензію зберігають за $-10 \dots -20$ °С. У день зараження лабораторних об'єктів її розморожують і повторно центрифугують.

Підготовка сечі. Сечу за потреби освітлюють центрифугуванням за 2–3 тис. об/хв, обробляють пеніциліном 500–1000 ОД/мл і стрептоміцином 500–1000 мкг/мл, ставлять бактеріологічний контроль.

Підготовка вмісту везикул і пустул. Нативні везикулярну і пустульозну рідини розбавляють 0,9%-м розчином NaCl або розчином Хенкса 1 : 5, центрифугують за 2–3 тис. об/хв 20 хв, обробляють пеніциліном 200–500 ОД/мл і стрептоміцином 200–500 мкг/мл, ставлять бактеріологічний контроль. Аналогічно готують везикулярну і пустульозну рідини, розбавлені стабілізувальним середовищем 1 : 5.

Підготовка уражень шкіри і слизових оболонок. Стінки везикул і пустул, кірки й луски шкіри розтирають у ступці зі стерильним кварцовим піском, розбавляють 0,9%-м розчином NaCl або розчином Хенкса 1 : 5–1 : 10, центрифугують за 2–3 тис. об/хв, обробляють пеніциліном 200–500 ОД/мл і стрептоміцином 200–500 мкг/мл, ставлять бактеріологічний контроль.

Підготовка крові. Кров (дефібриновану, «лакову» або з антикоагулянтом) заморожують. Після відтавання гемолізовану кров центрифугують за 2–3 тис. об/хв 15 хв, обробляють пеніциліном 100–200 ОД/мл і стрептоміцином 100–200 мкг/мл, ставлять бактеріологічний контроль. Для виділення вірусу придатна також зсіла кров. Її розтирають у ступці, додають розчин Хенкса 1 : 1 або 1 : 2, центрифугують, обробляють антибіотиками, ставлять бактеріологічний контроль.

Отримання сироватки крові. Беруть 10–15 мл крові в стерильну пробірку з гумовою пробкою, витримують 1 год за 37 °С. Утворений згусток обводять скляною паличкою або пастерівською піпеткою та ставлять на 18–20 год у холодильник за 4 °С (для прискорення ретракції кров'яного згустку і збільшення виходу сироватки). Сироватку відбирають піпеткою, в разі потреби центрифугують за 1500 об/хв для видалення домішок еритроцитів, обробляють пеніциліном 100–200 ОД/мл і стрептоміцином 100–200 мкг/мл, ставлять бактеріологічний контроль. Сироватки зберігають у холодильнику за 4 °С або в замороженому стані за $-10 \dots -20$ °С.

10.3. Експрес-діагностика вірусних інфекцій тварин

10.3.1. Вірусоскопія

Вірусоскопія використовується для індикації в патологічному матеріалі віріонів вірусів віспи ссавців і птахів із родини *Poxviridae*, розміри яких досягають $(300-390) \times (170-260)$ нм. Мазки готують із папул, везикул, пустул або кірок, у птахів – із віспяних бородавок, висушують на повітрі і перед фарбуванням вміщують на 3 хв у дистильовану воду. Для фарбування віріонів найчастіше використовують метод М. А. Морозова.

Фарбування за М. А. Морозовим

1. Реактив № 1 – *рідина Руге* (1 мл льодяної оцтової кислоти, 2 мл 40%-го розчину формальдегіду і 100 мл води) – 1 хв; промивання дистильованою водою.

2. Реактив № 2 – розчин таніну (5 г таніну, 100 мл дистильованої води і 1 мл рідкої карболової кислоти) – 1–2 хв; промивання дистильованою водою.

3. Реактив № 3 – аміачний розчин аргентум нітрату (5 г аргентуму нітрату розчиняють у 100 мл дистильованої води та додають по краплях 25%-й розчин аміаку, поки не розчиниться утворений буро-чорний осад і не залишиться легка опалесценція; для фарбування реактив розбавляють дистильованою водою 1:10) – 1–2 хв за легкого підігрівання до появи темно-коричневого забарвлення; промивання дистильованою водою.

Висушені на повітрі або фільтрувальним папером препарати розглядають у світловому мікроскопі під імерсійною олією. Віріони вірусів віспи мають вигляд дрібних темно-коричневих тілець округлої форми, які розміщені у вигляді скупчень, рядами або дифузно на жовтому фоні препарату (рис. 75).

Перевагою вірусоскопії є швидкість одержання результатів (упродовж 0,5–1 год після доставляння матеріалу в лабораторію), простота і доступність техніки виконання. Недоліком є те, що найчіткіші результати можна отримати тільки в разі дослідження мазків зі свіжих везикул і везикулярної рідини (до нагноєння) або свіжих віспяних бородавок у птахів. У разі використання мазків із пустул і кірок вірогідність методу значно знижується. Методом вірусоскопії не завжди вдається відрізнити віріони від подібних за формою клітинних елементів. Окрім того, вірусоскопія не дає змоги диференціювати різні види вірусів віспи.

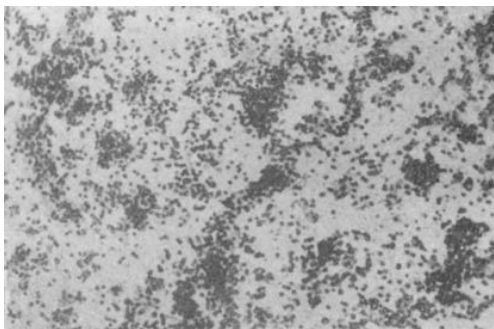


Рис. 75. Віріони вірусу віспи корів, фарбування за М. А. Морозовим
(Ніколау Ш. С. та ін., 1965)

10.3.2. Електронна та імуноелектронна мікроскопія

Електронна мікроскопія (ЕМ) є важливим методом ідентифікації вірусів, який дає змогу диференціювати їх за морфологією. Особливе значення цього методу за дослідження вірусів, що важко культивуються в лабораторних умовах, а також у разі виділення нових вірусів і діагностики асоційованих інфекцій. Широке застосування ЕМ у діагностиці вірусних захворювань тварин стримується обмеженою доступністю електронних мікроскопів для лабораторій та їхнім технічним обслуговуванням.

Принцип роботи електронного мікроскопа. Електронний мікроскоп складається з вертикальної колони, де розміщена електронна гармата і система електромагнітних лінз, та пульта керування. В середині колони створюється вакуум 10^{-4} – 10^{-5} мм рт. ст. Джерелом електронів є вольфрамова нитка – *катод*, під час нагрівання якої струмом у кілька сотень мікроампер відбувається *термоелектронна емісія*. Електрони прискорюються в електричному полі з різницею напруги в кілька десятків тисяч вольт між катодом та анодом. Потік електронів фокусується *першою електромагнітною конденсорною лінзою* в пучок, що проходить через досліджуваній об'єкт. У цьому разі електрони відхиляються від початкових траєкторій через різну електронну щільність частин об'єкта. Чим щільніші ділянки об'єкта, тим більша їхня розсіювальна здатність, отже, тим темнішим буде їхнє зображення на екрані. Такий змінений потік електронів фокусується і збільшується *другою електромагнітною лінзою об'єктива*, внаслідок чого формується первинне проміжне зображення об'єкта. Це зображення ще раз збільшується *третьою електромагнітною проєкційною лінзою* і потрапляє на флуоресціювальний екран, де виникає остаточне зображення об'єкта, яке можна фотографувати. Зазвичай розглядання і фотографування об'єкта відбувається за збільшення в 30–100 тис. разів. Надалі під час фотодрукування зображення ще раз збільшується в 5–10 разів.

Ідентифікацію вірусів проводять на підставі визначення їхньої форми, розмірів і структури. Розміри віріонів та їхніх структурних частин визначають у нанометрах (нм), ділячи величину, встановлену на електронограмі, на загальне збільшення мікроскопа і фотодруку. Морфологія віріонів специфічна для кожної таксономічної групи вірусів.

Виготовлення препаратів для ЕМ. Досліджувані об'єкти для ЕМ мають бути у вигляді вірусосмісних суспензій або

ультратонких зрізів, які вміщують на мідні предметні сітки, покриті колодієвими, формваровими або вуглецевими плівками-основами.

Для отримання чіткого зображення потрібно створити різну електронну щільність між фоном та об'єктом, а також структурами об'єкта. Як контрастувальні речовини використовують водні розчини фосфорновольфрамової кислоти, молібдату амонію, силіцієвольфраму натрію (2–4%-ві), ацетату уранілу (0,5–2%-й), оксалату уранілу (0,5%-й), формиату уранілу (1%-й). Контрастувальна речовина непрониклива для електронного пучка, який легко проходить крізь органічний матеріал. Вона обволікує віріони, проникає в їхні гідрофільні ділянки, заміщуючи воду, і робить віріони електроннощільними, чітко визначаючи при цьому їхню структуру.

Для створення контрасту між досліджуваним об'єктом і фоном препарату застосовують методи негативного і позитивного контрастування. За негативного контрастування контрастувальна речовина високої електронної густини оточує віріони, що мають меншу густину, і вони мають світліший вигляд на темному фоні (рис. 76). За позитивного контрастування, навпаки, віріони мають темніший вигляд на світлому фоні (рис. 77).

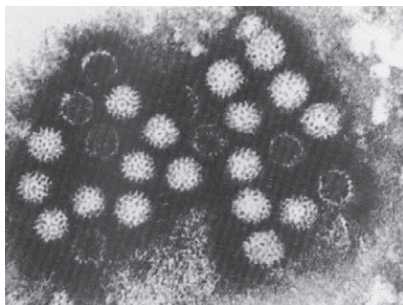


Рис. 76. Віріони вірусу африканської чуми коней, негативне контрастування

(Сюрін В. М. та ін., 1998)



Рис. 77. Віріони вірусу фіброми кролів, позитивне контрастування

(Биковський А. Ф. та ін., 1983)

Підготовка вірусомісного матеріалу для ЕМ залежить від концентрації вірусу, його чистоти від сторонніх баластних речовин і морфології. ЕМ дає позитивні результати, якщо вміст віріонів у 1 мл вірусомісної суспензії становить не менше ніж 10^5 – 10^6 . Здебільшого потрібне попереднє очищення і концентрація вірусу.

Шматочки органів, тканин і кал гомогенізують у 9 об'ємах дистильованої води, освітлюють центрифугуванням за 5–10 тис. об/хв 10–20 хв. Для очищення і концентрації вірусу до надосадової рідини додають 60% насиченого розчину амонію сульфату, ретельно струшують і вміщують на 1 год у рефрижератор. Потім суміш центрифугують за 9–11 тис. об/хв 10 хв, надосадову рідину зливають, а осад ресуспендують у 2–4 краплях дистильованої води. З такої суспензії отримують зазвичай препарати високої якості. Змиви зі слизових оболонок концентрують ультрацентрифугуванням або ультрафільтрацією. У нативному вигляді, без попереднього очищення й концентрації можна досліджувати везикулярну і пустульозну рідини, суспензію розтертих кірок, носовий секрет, а також культуральну рідину інфікованої культури клітин та алантоїсну рідину заражених курячих ембріонів після ізоляції вірусу з досліджуваного патологічного матеріалу.

Розроблено різні методики виготовлення препаратів із вірусомісних суспензій для ЕМ. Одним із найпоширеніших є флотаційний метод. У цьому разі на воскову пластинку наносять краплю вірусомісної суспензії, на яку вміщують на 1–2 хв предметну сітку плівкою-основаю вниз для адсорбції вірусу. Надлишок рідини на сітці видаляють фільтрувальним папером. Якщо вірусомісна суспензія недостатньо очищена від баластних речовин, предметну сітку з адсорбованим вірусом відмивають, вміщуючи її плівкою-основаю вниз на 1–2 краплі дистильованої води; надлишок вологи знімають фільтрувальним папером. Далі проводять контрастування препарату, вміщуючи предметну сітку на 30–50 с на краплю контрастувальної речовини, надлишок якої знімають фільтрувальним папером.

В ЕМ широко застосовують дослідження ультратонких зрізів в разі вивчення структури віріонів і різноманітних аспектів взаємодії вірусів із чутливими клітинами *in vitro* та *in vivo*. Досліджуваний об'єкт (шматочки органів і тканин, осад десквамованих клітин змивів, сечі, калу, клітини зараженої культури) потрібно зафіксувати з метою максимального збереження клітинної структури. Для цього найчастіше застосовують 2,5%-й розчин глутаральдегіду або 1%-й розчин осмію тетраоксиду. Потім об'єкт відмивають від фіксатора ФБР, зневоднюють у зростаючих концентраціях спирту або ацетону, вміщують в епоксидну чи поліефірну смолу і полімеризують за 95 °С 60 хв або за 40...80 °С 1–2 доби. З отриманих блоків готують на ультрамікротомах зрізи завтовшки 50–90 нм, які монтують на предметні сітки і контрастують.

Імуноелектронна мікроскопія (ІЕМ) ґрунтується на виявленні в електронному мікроскопі комплексів віріонів з антитілами. У разі взаємодії вірусу з антитілами утворюються агрегати віріонів, оточених ореолом з антитіл, які легше виявити в електронному мікроскопі, ніж поодинокі вірусні частки. Метод ІЕМ чутливіший від ЕМ в 10–100 разів. Він дає змогу виявляти віріони за титру вірусу близько $10^{3.5}$ ЕД₅₀/мл, а різні способи приготування препаратів можуть підвищити чутливість методу ще на один-два порядки.

В ІЕМ зазвичай використовують *нативну сироватку*, освітлену низькошвидкісним центрифугуванням чи фільтруванням. Для підвищення чутливості методу сироватку освітлюють *ультрацентрифугуванням* або використовують її *глобулінові фракції*. У разі дослідження складно організованих вірусів сироватку прогривають за 56...60 °С 30 хв для інактивації комплементу, який може спричинити лізис суперкапсидної оболонки віріонів. Найкраще зображення структури віріонів та їхня агрегація досягається за оптимальної концентрації антитіл, що підбирається дослідним шляхом із різними розведеннями сироватки.

Приготування препаратів для ІЕМ. Досліджувану вірусовмісну суспензію змішують зі специфічною сироваткою в співвідношенні 4:1 або 5:1, витримують 1 год за 37 °С і 16–18 год за 4 °С, потім центрифугують за 10–15 тис. об/хв для осадження імунних комплексів. Осад ресуспендують у кількох краплях дистильованої води, адсорбують на предметну сітку і контрастують.

Метод ІЕМ використовується не тільки для індикації та ідентифікації вірусів у досліджуваному матеріалі, а й для їхньої серотипізації, а також із метою виявлення і титрування антитіл у сироватках реконвалесцентів.

10.3.3. Виявлення тілець-включень вірусів

У патологічному матеріалі хворих і загиблих тварин за багатьох вірусних інфекцій виявляють *тілець-включення*, природа яких може бути різною залежно від виду вірусу: 1) скупчення віріонів потомства (зрілих або на стадії формування); 2) накопичення вірусних протеїнів, що не увійшли до складу віріонів потомства; 3) клітинний матеріал, змінений унаслідок репродукції вірусу. Здебільшого тілець-включення – це вірусні «фабрики», тобто місця синтезу вірусних протеїнів і нуклеїнових кислот та складання віріонів потомства. У вірусних «фабриках» виявляють клітинні структури (наприклад, рибосоми, осміофільні волокна).

Тілець-включення *класифікують*: 1) за локалізацією в клітині: внутрішньоядерні (типів А і В) і цитоплазматичні; 2) за складом нуклеїнової кислоти: ДНК- і РНК-вмісні; 3) за тинкторіальними властивостями: базофільні (фарбуються основними барвниками) та оксифільні, або ацидофільні (фарбуються кислими барвниками); 4) за гомогенністю: аморфні, зернисті, гранулярні та волокнисті.

Зазвичай ДНК-вмісні віруси утворюють внутрішньоядерні тілець-включення, а РНК-вмісні – цитоплазматичні. Проте є винятки. Так, ДНК-геномні віруси віспи формують цитоплазматичні тілець-включення. Невелика група вірусів зумовлює появу тілець-включень обох типів (наприклад збудники чуми ВРХ і парагрипу-3 ВРХ).

Деякі тілець-включення отримали назви на честь авторів, які вперше виявили їх: за сказу – *тілець Бабеша – Негрі*, натуральної віспи й вісповакцини – *тілець Гварнієрі*, віспи птахів – *тілець Боллінгера*, інфекційного ларинготрахеїту птахів – *тілець Зейфреда*, чуми м'ясоїдних – *тілець Лентца*, інфекційного гепатиту собак – *тілець Рубарта*.

Морфологія, тинкторіальні властивості та локалізація тілець-включень специфічні для кожного вірусу. Тому виявлення їх у патологічному матеріалі хворих або загиблих тварин має певне діагностичне значення, особливо за такої хвороби, як сказ.

Виявлення тілець Бабеша – Негрі. *Тілець Бабеша – Негрі* – це скупчення нуклеокапсидів ліссавірусу сказу (без суперкапсидної оболонки) в поєднанні з продуктами клітинної реакції на вірусну інфекцію. Їх виявляють у цитоплазмі заражених клітин: за *буїної форми* сказу найчастіше в клітинах амонових роїв, а за *паралітичної форми* – в довгастому і спинному мозку.

Тілець Бабеша – Негрі мають різні розміри (від 0,25 до 25 мкм) і форму. Найчастіше трапляються тілець округлої або овальної форми, діаметром 4–10 мкм. Вони оточені оболонкою та містять зернисті включення (від 1 до 15). Тілець зафарбовуються кислими барвниками, а їхня внутрішня зернистість – основними. Така зерниста структура дає змогу диференціювати тілець Бабеша – Негрі від інших внутрішньоклітинних включень.

Кількість і розміри тілець залежать від тривалості хвороби. Тілець Бабеша – Негрі з'являються за 3–4 доби до появи перших клінічних ознак хвороби. Чим довший інкубаційний період, тим інтенсивніше вони розвиваються: більша їхня кількість, величина і чіткіше виражена внутрішня зернистість. Тілець Бабеша – Негрі виявляють у 65–85 % випадків сказу.

Для індикації в патологічному матеріалі тілець Бабеша – Негрі готують гістозрізи з різних відділів головного мозку: кора великих півкуль, мозочок, довгастий мозок, амонів ріг (не менше двох препаратів із кожного відділу). Для виявлення тілець Бабеша – Негрі використовують спеціальні методи фарбування, найчастіше за *Муромцевим* або *Селлером*.

Фарбування за С. М. Муромцевим

1. Фіксація свіжих, вологих препаратів в етиловому або метиловому спирті 1–2 год за кімнатної температури або 15–20 хв за 50...70 °С; промивання дистильованою водою.

2. Синька Мансона 1:40 (2 г бури розчиняють у 25 мл бідистильованої води за кип'ятіння, додають у гарячий розчин 0,5 г метиленової синьки і доводять бідистильованою водою до 1 л) – 5–10 хв.

3. 5–10%-й розчин таніну – 5–10 хв до появи блакитного відтінку; промивання дистильованою водою, висушування фільтрувальним папером.

4. Абсолютний спирт або суміш абсолютного спирту з ацетоном (1:1) – кілька секунд; висушування на повітрі.

Препарати розглядають у світловому мікроскопі під імерсійною олією. Цитоплазма нервових клітин блідо-блакитна, ядра сині, ядерця темно-сині, еритроцити оранжево-червоні, а тілця Бабеша – Негрі різко окреслені, фіолетового кольору з рожевим відтінком і темно-синьою зернистістю.

Фарбування за Селлером

На свіжі, вологі препарати наносять на 10–30 с фарбу, яка складається із суміші 1%-х розчинів основного фуксину і метиленового синього у співвідношенні 1:2; промивають ФБР, висушують на повітрі.

Нервові клітини (цитоплазма, ядра та ядерця) зафарбовуються в синій колір, еритроцити цегляно-червоні, а тілця Бабеша – Негрі пурпурово-червоного кольору з темно-синьою зернистістю.

10.3.4. Метод ДНК-зондів

Метод ДНК-зондів використовують із метою виявлення вірусних ДНК- і РНК-геномів безпосередньо в патологічному матеріалі. Він ґрунтується на молекулярній гібридизації нуклеїнових кислот – здатності одноланцюгових молекул з'єднуватися у дволанцюгові за умови їхньої комплементарності. Цей метод незамінний для ідентифікації вірусів, що не культивуються в лабораторних умовах, а також персистувальних вірусів і провірусів (інтегровані вірусоспецифічні нуклеотидні послідовності в складі клітинних геномів).

Суть *молекулярної гібридизації* полягає в тому, що молекулу двониткової ДНК денатурують на два окремі нуклеотидні ланцюги під дією температури 80...100 °С або лугу, а потім у разі тривалої експозиції за 55...65 °С одноланцюгові ДНК взаємодіють та утворюють двониткову молекулу, ідентичну вихідній. Реакція молекулярної гібридизації може відбутися між будь-якими двома одноланцюговими нуклеїновими кислотами – ДНК-ДНК, ДНК-РНК, РНК-РНК, але за обов'язкової умови: якщо вони мають комплементарні нуклеотидні послідовності.

Одноланцюгові ДНК, за допомогою яких у досліджуваному матеріалі виявляють комплементарні нитки, називаються *ДНК-зондами*. Їх виготовляють на основі плазмідного вектора, в який вбудовують висококонсервативний фрагмент вірусної ДНК або ДНК-копію необхідного фрагмента вірусної РНК, що отримують зворотною транскрипцією. Рекомбінантну ДНК мітять радіоактивним фосфором (P³²) або біотином і денатурують за 80...100 °С. У результаті отримують дві одноланцюгові молекули ДНК із вірусоспецифічними нуклеотидними послідовностями, які є ДНК-зондами.

Методика індикації вірусних нуклеїнових кислот у патологічному матеріалі методом ДНК-зондів складається з таких *етапів*:

1. Конструювання ДНК-зонда і мічення P³² або біотином.

2. Виділення з патологічного матеріалу нуклеїнових кислот та їхня денатурація (центрифугат суспензії з досліджуваного матеріалу обробляють спочатку протеїназою К, потім фенолом із хлороформом, які руйнують протеїни; після їхнього видалення нуклеїнові кислоти осаджують за –70 °С, осад відмивають спиртом і піддають денатурації кип'ятінням або обробкою лугом).

3. Контакт одноланцюгових нуклеїнових кислот із ДНК-зондом за 55...65 °С упродовж 2 год, що призводить до утворення дволанцюгових молекул у разі їхньої комплементарності (молекулярна гібридизація).

4. Видалення всіх негібридизованих молекул нуклеїнових кислот (обробкою натрію додецилсульфатом і натрію цитратом).

5. Індикація утворених дволанцюгових молекул нуклеїнових кислот за міткою зонда (P³² виявляють методом авторадіографії або підрахунком імпульсів у гамма-лічильнику, а наявність біотину встановлюють колориметричним методом).

Метод ДНК-зондів є високочутливою реакцією, яка дає змогу встановити в досліджуваному матеріалі нуклеїнові кислоти

в низьких концентраціях (1–10 пг*). Проте чутливість методу часто недостатня для виявлення провірусів, якщо заражено небагато клітин в організмі. У такому разі проводять ампліфікацію певних фрагментів ДНК у ПЛР, а потім ідентифікують ДНК за допомогою міченого зонда.

Розвиток технології виробництва рекомбінантних ДНК і хімічного синтезу нуклеїнових кислот дає змогу отримувати ДНК-зонди будь-якої специфічності, що сприяє широкому впровадженню цього методу у вірусологічну практику.

10.3.5. Полімеразна ланцюгова реакція

Полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР) полягає в багатократному збільшенні *in vitro* копій унікальних фрагментів ДНК вірусу, який треба ідентифікувати в досліджуваному матеріалі.

Ділянка ДНК, що потрібно копіювати, називається *ампліфіконом*. Його межі визначаються зазвичай двома олігонуклеотидними праймерами. Це відрізки одноланцюгової ДНК завдовжки 20–30 нуклеотидів, які комплементарні певним послідовностям кожної з ниток ДНК-матриці та слугують затравкою для синтезу нового ланцюга ДНК. Під час синтезу ДНК праймери фізично вбудовуються у фрагменти ДНК-матриці, що ампліфікуються.

Праймери добудовує до заданого розміру термостабільний ензим *Taq-ДНК-полімераза*, яка отримана з термофільної бактерії *Thermophilus aquaticus*. *Taq-ДНК-полімераза* витримує багаторазове нагрівання до 90...100 °С, що дає змогу проводити реакцію в автоматичному режимі – *ампліфікаторі*. *Taq-ДНК-полімераза* синтезує ланцюг ДНК розміром до 1000 пар нуклеотидів за 1 хв. Можливості ПЛР в ідентифікації вірусів ще більше зросли у зв'язку з виділенням із термофільної бактерії *Thermus thermophilus* ензиму, що проявляє активність як ДНК-полімерази, так і зворотної транскриптази. За допомогою цього ензиму спрощується виявлення у ПЛР геномів РНК-вмісних вірусів.

Реакційна суміш, де відбувається ПЛР, має містити в достатній кількості нуклеотиди («будівельні блоки»), специфічні олігонуклеотидні праймери і досліджуваний матеріал у вигляді ізольованої з нього ДНК або ДНК-копії РНК-генома, яку отримують зворотною транскрипцією.

ПЛР складається з *трьох процесів*, що циклічно повторюються:

- 1) денатурація досліджуваної дволанцюгової ДНК нагріванням реакційної суміші до 90...100 °С;
- 2) відпалювання праймерів (гібридизація праймерів із комплементарними ділянками одноланцюгової ДНК за 55...65 °С);
- 3) елонгація (добудова) праймерів до заданого розміру вірусного генома під дією *Taq-ДНК-полімерази* за 72 °С.

Весь цикл ампліфікації триває всього 5–10 хв і може повторюватися до 20–40 разів. За кожний цикл відбувається подвоєння кількості молекул ДНК у пробі. Кожен із новосинтезованих ланцюгів ДНК слугує матрицею для синтезу молекул ДНК, які за довжиною та нуклеотидними послідовностями ідентичні ділянці ДНК, вибраній для ампліфікації. Практично вдається ампліфікувати фрагменти ДНК завдовжки до 3–4 тис. пар нуклеотидів (хоча можна досягти і 10 тис. пар нуклеотидів). За 40 циклів ампліфікації кількість копій ДНК зростає в 10^{13} разів, причому довгі необмежені копії ДНК синтезуються лише з вихідних батьківських ланцюгів ДНК. Таку кількість вірусної ДНК тепер можна ідентифікувати будь-яким методом: 1) електрофорез в агарозі або поліакриламідному гелі з фарбуванням бромідом етидію; 2) колориметричний, флуориметричний чи радіоізотопний методи з використанням мічених попередників синтезу нуклеїнових кислот і, зокрема, ДНК-зондів. Збільшення кількості вірусної ДНК у 10^6 разів цілком достатньо для виявлення її методом ДНК-зондів без попереднього накопичення вірусу в культурі клітин.

ПЛР у поєднанні з методом ДНК-зондів успішно використовують для діагностики хвороби Ауескі, чуми ВРХ, вірусної діареї ВРХ, інфекційного ринотрахеїту ВРХ, класичної та африканської чуми свиней, алеутської хвороби норок, хвороби Марека та ін. ПЛР незамінна при ідентифікації вірусів, для яких ще не знайдені чутливі культури клітин або не розроблені серологічні тести, а також у разі дослідження проб із навколишнього середовища, що сильно контаміновані мікроорганізмами і непридатні для зараження культури клітин.

* Один пікограм (пг) становить 10^{-12} г.

10.4. Виділення вірусів у чутливих біологічних об'єктах

10.4.1. Виділення вірусів в організмі лабораторних тварин

10.4.1.1. Вимоги до лабораторних тварин

Однією з поширених моделей для виділення вірусів із патологічного матеріалу є *лабораторні тварини*. Найчастіше у вірусологічній практиці застосовують білих мишей, кролів, білих пацюків і мурчаків, рідше – сірійських хом'яків і тхорів. Іноді як лабораторні об'єкти використовуються кури, голуби, кошенята і цуценята. І в рідкісних випадках проводять біопробу на природно сприйнятливих тваринах (наприклад, за ящуру, інфекційної анемії коней, класичної та африканської чуми свиней), що пов'язано з потенційною небезпекою поширення інфекції та економічними витратами.

Основні вимоги, які ставляться до лабораторних тварин: 1) мають бути абсолютно здоровими; 2) мають бути чутливими до досліджуваного вірусу (відповідного виду і віку); 3) повинні мати стандартну чутливість до вірусу.

Тварин, які надходять до віварію вірусологічної лабораторії, витримують у карантині 2–3 тижні. У разі встановлення інфекційного захворювання всю партію тварин вибраковують. Треба мати на увазі, що в лабораторних тварин трапляються *латентні інфекції*. Наприклад, серед мишей може персистувати вірус екстремелії, який спричинює некротичне запалення лап, а за генералізації інфекції – вогнища некрозу в печінці й селезінці. Пневмонії в мишей спричинюють близько 10 вірусів, найчастіше респіровірус. Маммаренавірус лімфоцитарного хоріоменінгіту і вірус енцефаломієліту мишей зумовлюють нейроінфекції, що проявляються судомами, парезами і паралічами.

Постановка біопробу на тваринах-вірусоносіях може призвести до активізації латентного збудника і діагностичної помилки в кінцевому результаті. Безсимптомна вірусна інфекція проявляється також зниженням (аж до повного зникнення) чутливості тварин до досліджуваного вірусу внаслідок явища інтерференції. Цих труднощів вдається уникнути, якщо періодично проводити контроль. Для виявлення латентних інфекцій убивають кількох тварин, із певних органів виготовляють суспензії та заражають відповідними методами тварин цієї ж групи (наприклад суспензію з мозку вводять інтрацеребрально). За наявності безсимптомного вірусоносійства зараження призводить

до загострення інфекційного процесу. Крім того, для виявлення латентної інфекції тварин обробляють імунодепресантами, зокрема кортизоном. Ступінь чутливості тварин до вірусів можна встановити, якщо заражати їх заздалегідь відомим вірусомісним матеріалом.

Для культивування вірусів використовують лабораторних тварин того виду, який є чутливим до цього збудника. Наприклад, штами вірусу грипу А людини і свиней добре репродукуються в організмі тхорів, хом'яків, мишей і пацюків, а кролі й мурчакі несприйнятливі до них. Вік тварини теж має істотне значення за постановки біопробу. Більшість вірусів краще розмножується в організмі молодих і навіть новонароджених тварин. Так, до вірусу ящуру чутливі новонароджені мишенята і кроленята, тоді як дорослі тварини абсолютно резистентні. Проте в окремих випадках для відтворення специфічних клінічних ознак хвороби використовують дорослих тварин, наприклад, кролів за діагностики хвороби Ауескі або мурчаків за діагностики ящуру.

Стандартна чутливість до вірусу досягається підбором тварин за принципом аналогів (одного віку, статі, маси). Однією пробою досліджуваного матеріалу заражають не менше чотирьох тварин. У науково-дослідній роботі використовують тварин *інбредних ліній*, що отримані внаслідок близькородинного спаровування (впродовж не менш як 20 поколінь), які практично однаково реагують на той чи інший вірус.

Для деяких вірусологічних досліджень (наприклад за виділення вірусу з нез'ясованими патогенними властивостями) потрібно застосовувати *гнотобіотів*. Це стерильні тварини, які одержують шляхом кесарева розтину або ампутації матки і вирощують у стерильних ізоляторах. Стерильних птахів отримують інкубацією яєць зі стерильною шкаралупою в стерильному інкубаторі. Гнотобіоти більш чутливі до вірусної інфекції. Крім того, їхнє застосування повністю виключає вплив латентних збудників, які можуть персистувати в організмі лабораторних тварин. Проте отримання і вирощування гнотобіотів пов'язано з великими економічними затратами, що стримує впровадження їх у вірусологічну практику.

10.4.1.2. Методи експериментального зараження лабораторних тварин

Розроблено різні способи введення інфекційного матеріалу лабораторним тваринам, що визначається тропізмом вірусу. У вірусологічній практиці найчастіше використовують такі *методи зараження*

(рис. 78): підшкірний (п/ш), внутрішньошкірний (в/ш), у скарифіковану шкіру, внутрішньом'язовий (в/м), внутрішньочеревний (в/ч), внутрішньовенний (в/в), інтраназальний (і/н), інтрацеребральний (і/ц).

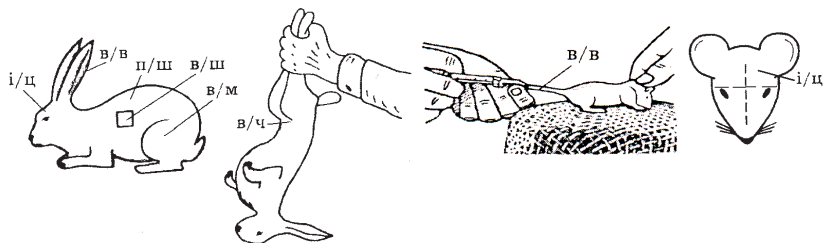


Рис. 78. Методи експериментального зараження лабораторних тварин

(Скибіцький В. Г. та ін., 2005)

Підшкірне зараження. Місце ін'єкції – в ділянці спини, черева або бокової поверхні тіла. Після видалення шерсті й дезінфекції 3%-м спиртовим розчином йоду захоплюють складку шкіри, і в її основу паралельно до поверхні тіла вводять голку. Максимальна доза для зараження: миші – 0,5 мл, щури і мурчаки – 3 мл, кролі – 5 мл.

Внутрішньошкірне зараження. У кролів і мурчаків на боці, череві або спині вистригають і виголюють шерсть, дезінфікують. Тонку голку скосом назовні вводять паралельно до поверхні шкіри так, щоб голка просвічувалася крізь епідерміс. Матеріал інокулюють до припіднімання шару шкіри у вигляді бугорка. Дрібних тварин заражають у плантарну поверхню задньої кінцівки, вводючи голку в шкіру в напрямку від пальців до заплесневого суглоба. Максимальна доза для зараження: миші – 0,02 мл, пацюки – 0,05 мл, мурчаки і кролі – 0,1 мл.

Зараження в скарифіковану шкіру проводять у кролів. У ділянці боку, черева або спини вистригають і виголюють шерсть, дезінфікують. Роблять кілька поверхневих подряпин голкою чи пастерівською піпеткою (до появи крапель лімфи), наносять матеріал, який втирають шпателем або скляною паличкою. Максимальна доза зараження – 1 мл.

Внутрішньом'язове зараження. Після видалення шерсті й дезінфекції голку вводять у м'язи стегна, спрямовуючи її перпендикулярно до поверхні тіла. Максимальна доза для зараження: миші – 0,3 мл, пацюки – 1 мл, мурчаки – 2 мл, кролі – 5 мл.

Внутрішньочеревне зараження. Тварину фіксують вертикально вниз головою для того, щоб органи черевної порожнини змістилися до діафрагми і не травмувати кишечник під час інокуляції матеріалу. Відтягують задню кінцівку, дезінфікують ділянку паху, куди вводять голку під кутом 45° до поздовжньої осі тіла на глибину 0,3–0,5 см. Максимальна доза для зараження: миші – 1 мл, пацюки – 2 мл, мурчаки – 5 мл, кролі – 10 мл.

Внутрішньовенне зараження. Кролів заражають у крайову вену вуха. На місці ін'єкції вистригають шерсть, дезінфікують шкіру, вуха масажують або натирають ксилолом і перетискають біля основи для набухання вени. Голку вводять у судину в напрямку до голови приблизно на 1 см і водночас перестають перетискати вуха. Білих мишей і пацюків заражають у бокові вени хвоста, для розширення яких хвіст розтирають ксилолом або витримують у гарячій воді. Хвіст перетискають біля основи, вводять голку скосом назовні у вену нижньої третини хвоста, де шкіра тонша, в напрямку до тулуба. У разі потрапляння в судину рідина легко надходить зі шприца, а судина на всьому проміжку біліє. У мурчаків потрібне хірургічне препарування яремної вени. Максимальна доза для зараження: миші – 1 мл, пацюки і мурчаки – 2 мл, кролі – 5 мл.

Інтраназальне зараження. Проводять під легким ефірним наркозом (за винятком кролів), щоб уникнути розбрикування вірусомісної суспензії в разі чхання. Сонну тварину фіксують ніздриями догори, і в кожному з них вводять інфекційний матеріал за допомогою шприца або пастерівської піпетки. Максимальна доза для зараження: миші – 0,05 мл, пацюки – 0,1 мл, мурчаки – 0,3 мл, кролі – 1 мл.

Інтрацеребральне зараження. У молодих кролів і мурчаків після видалення шерсті й дезінфекції проколюють шкіру і череп у надочному жолобі туберкуліною голкою з обмежувачем (на 4–5 мм). Дорослих кролів заражають через черепно-мозковий отвір, який роблять на 2 см вище поперекової лінії, умовно проведеної між зініцями. У мишей і пацюків голкою з обмежувачем (на 1–2 мм) проколюють шкіру і череп у точці, що лежить у центрі квадрата, утвореного середньою сагітальною лінією і перпендикуляром до неї по зовнішньому краю очниць. Максимальна доза для зараження: миші – 0,03 мл, пацюки – 0,05 мл, мурчаки – 0,1 мл, кролі – 0,3 мл.

10.4.1.3. Індикація вірусів в організмі лабораторних тварин

Заражених тварин розміщують в ізоляторах і ведуть щоденне спостереження. *Ознаками репродукції вірусів* в організмі лабораторних тварин є клінічні симптоми, патологоанатомічні зміни і загибель (табл. 5, стор. 269–274). Треба мати на увазі, що загибель тварин у перші дні після зараження можуть спричинити токсичні фактори або травма. Клінічні ознаки в заражених лабораторних тварин найчастіше мають неспецифічний характер (наприклад, пригнічення, зниження апетиту, задуха тощо). Однак в окремих випадках біопробою на лабораторних тваринах можна відтворити типову клінічну картину захворювання, зокрема хвороби Ауескі на кролях та ящуру на мурчаках. Якщо тварини не реагують на зараження, їх убивають через проміжок часу, що дорівнює двом інкубаційним періодам, беруть під час розтину відповідний матеріал і проводять наступний пасаж.

Розтин заражених лабораторних тварин роблять зразу після загибелі з метою аналізу патологоанатомічних змін і головне – відбору вірусомісного матеріалу для ідентифікації виділеного збудника. Труп дрібних тварин фіксують голками на дошці або кюветі з парафіном у спинному положенні. Для великих тварин використовують спеціальні столики або дошки з відповідними фіксувальними пристосуваннями.

Розтин проводять із дотриманням правил асептики й антисептики. Основне правило розтину: до трупа можна торкатися тільки інструментами або руками в гумових рукавицях. Перед розтином шкіру обробляють спиртом або дезрозчином (3–5%-ві розчини фенолу або лізолу). Для препарування шкіри і підшкірної клітковини роблять розріз по середній лінії від симфізу до ший, а далі – в напрямку до кінцівок; шкіру препарують і фіксують голками (рис. 79).

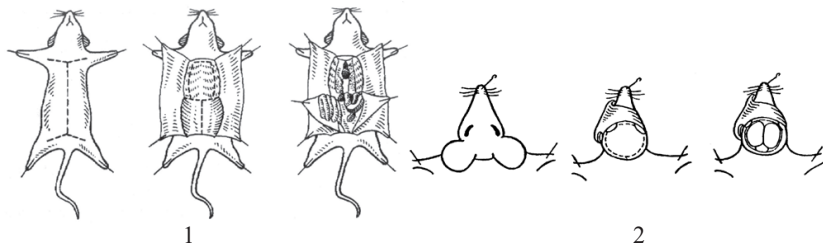


Рис. 79. Розтин миші:

1 – розтин черевної та грудної порожнин;

2 – розтин черепної порожнини

(Троценко М. І. та ін., 1989)

Для розтину *черевної порожнини* роблять розріз черевної стінки по середній лінії від симфізу до мечоподібного відростка, а далі – під лінією діафрагми. Утворені трикутники черевної стінки відводять убік і фіксують. Пінцетом відтягують кишечник вліво до появи паренхіматозних органів. Як вірусомісний матеріал використовують шматочки печінки, селезінки, нирок, брижових лімфатичних вузлів, ділянок кишечника за наявності патологоанатомічних змін або з урахуванням клінічних ознак перед загибеллю. У дрібних тварин беруть цілі органи.

За розтину *грудної порожнини* розрізають ребра і видаляють їх разом із грудною кісткою. Для дослідження беруть легені, середостінні лімфатичні вузли, трахею.

Для розтину *черепної порожнини* тварину кладуть на черево, фіксують передні кінцівки і голову. Розріз шкіри роблять у ділянці ший та в напрямку до очниць. Шкіру разом із вухами препарують і стягують уперед, оголюючи черепну коробку. Розріз черепної коробки проводять від великого мозкового отвору в напрямку до очниць. Потім розрізають черепну кістку між очницями і видаляють усю вирізану ділянку. У великих тварин кістки черепа розпилюють. З основи черепа дістають головний мозок, підрізавши черепно-мозкові нерви.

Патологічний матеріал від заражених лабораторних тварин беруть згідно з тропізмом вірусу і використовують для ідентифікації виділеного збудника. Матеріал зберігають у замороженому стані за $-20 \dots -70$ °С.

Таблиця 5

Культивування вірусів в організмі лабораторних тварин

Вірус	Методи зараження	Ознаки репродукції вірусів
1	2	3
Білі миші		
Ліссавірус сказу (збудник сказу)	і/ц, п/ш	Скуйовдження шерсті, горбатість спини, порушення координації рухів, параліч кінцівок, загибель
Альфагерпесвірус свиней 1 (збудник хвороби Ауескі)	і/ц, п/ш	Паралічі, загибель
Вірус ящуру	п/ш, в/ч	Парези, паралічі, загибель, некроз скелетних м'язів і міокарда

Таблиця 5 (продовження)

1	2	3
Везикуловіруси Індіана, Алагоас, Кокал і Нью-Джерсі (збудники везикулярного стоматиту)	і/ц, в/ч	Скуйовдження шерсті, тремтіння, атаксія, параліч кінцівок, загибель
Альфгерпесвірус ВРХ 2 (збудник виразкового маміліту ВРХ)	і/ц	Загибель
Вірус нодулярного дерматиту	і/ц	Загибель
Вірус віспи корів	п/ш, в/ч	Загибель
Вірус вісповакцини	в/ш	Набряк і вузлики на шкірі
Епсілонпапіломавірус 1, ксіпапіломавірус 1, дельтапапіломавірус 4 (збудники папіломатозу ВРХ)	п/ш	Пухлини
Ефемеровірус гарячки ВРХ (збудник ефемерної гарячки ВРХ)	і/ц	Збудження, пригнічення, атаксія, параліч задніх кінцівок, відставання в рості, загибель
Ортобун'явірус Акабане (збудник хвороби Акабане)	і/ц	Втрата рефлексу ссання, паралічі, загибель
Ортонайровірус хвороби овець Найробі (збудник хвороби Найробі)	і/ц, в/ч	Симптоми енцефаліту, загибель, некроз і геморагії в головному мозку
Флебовірус гарячки долини Ріфт (збудник гарячки долини Ріфт)	в/ч, в/в, п/ш, в/м, і/ц	Загибель, некроз печінки, РГА
Вірус блутанга (збудник інфекційної катаральної гарячки овець)	і/ц	Збудження, атаксія, коматозний стан, загибель
Вірус хвороби Люпінга (збудник шотландського енцефаломієліту овець)	і/ц	Скуйовдження шерсті, в'ялість, збудження, тремор, порушення координації рухів, судоми, парези кінцівок, загибель
Вірус везикулярної хвороби свиней	і/ц	Тремор, порушення координації рухів, паралічі, загибель
Респіровірус свиней 1 (збудник парагрипу свиней)	і/н	Геморагічна пневмонія, загибель
Кардіовірус А (збудник енцефаломіокардиту свиней)	і/ц, і/н, в/ч	Скуйовдження шерсті, порушення координації рухів, судоми, паралічі задніх кінцівок, загибель

Таблиця 5 (продовження)

1	2	3
Вірус японського енцефаліту	і/ц	Симптоми енцефаліту, загибель
Вірус грипу А (штами грипу коней, свиней, птахів)	і/н	Симптоми ураження дихальних шляхів, загибель, вогнищева пневмонія
Альфгерпесвіруси коней 1, 4 (збудники вірусного аборту кобил і ринопневмонії коней)	і/ц	Симптоми енцефаломієліту, загибель
	в/ч, і/н	Загибель, гепатит
Вірус африканської чуми коней	і/ц	Парези, паралічі, загибель
Віруси енцефаломієлітів коней (венесуельського, східного і західного)	і/ц, в/м, в/ч, п/ш	Симптоми енцефаліту або енцефаломієліту, загибель
Вірус інфекційної бурсальної хвороби	і/ц, в/ч	Свербіння, атаксія, тремор, коматозний стан, загибель
Вірус менінгоенцефаліту індіків Ізраїля	і/ц	Симптоми ураження ЦНС, загибель
Білі пацюки		
Альфгерпесвірус свиней 1 (збудник хвороби Ауескі)	п/ш, і/н	Паралічі, загибель
Ефемеровірус гарячки ВРХ (збудник ефемерної гарячки ВРХ)	і/ц	Збудження, пригнічення, атаксія, параліч задніх кінцівок, відставання в рості, загибель
Ортобун'явірус Акабане (збудник хвороби Акабане)	і/ц	Втрата рефлексу ссання, паралічі, загибель
Флебовірус гарячки долини Ріфт (збудник гарячки долини Ріфт)	в/ч, в/в, п/ш, в/м, і/ц	Загибель, некроз печінки, РГА
Вірус грипу А (штами збудника грипу свиней)	і/н	Симптоми ураження дихальних шляхів, загибель
Респіровірус свиней 1 (збудник парагрипу свиней)	і/н	Симптоми ураження дихальних шляхів
Вірус японського енцефаліту	і/ц	Симптоми енцефаліту, загибель
Віруси енцефаломієлітів коней (венесуельського, східного і західного)	і/ц, в/м, в/ч, п/ш	Симптоми енцефаліту або енцефаломієліту, загибель
Вірус інфекційної бурсальної хвороби	і/ц	Симптоми ураження ЦНС, загибель

Таблиця 5 (продовження)

1	2	3
Мурчаки		
Вірус ящуру	в/ш	Афти на лапках і слизовій оболонці ротової порожнини
Везикуловіруси Індіана, Алагоас, Кокал і Нью-Джерсі (збудники везикулярного стоматиту)	в/ш	Везикули на лапках та язичі
Альфгерпесвірус ВРХ 2 (збудник виразкового маміліту ВРХ)	в/ш	Некроз шкіри
Вірус нодулярного дерматиту	в/ш	Внутрішньошкірні некротичні вузлики
Кардіовірус А (збудник енцефаломіокадиту свиней)	і/н, в/ч	Скуйовдження шерсті, парез задніх кінцівок, загибель
Респіровірус свиней 1 (збудник парагрипу свиней)	і/н	Симптоми ураження дихальних шляхів
Вірус японського енцефаліту	і/ц	Симптоми енцефаліту, загибель
Альфгерпесвіруси коней 1 і 4 (збудники вірусного аборту кобил і ринопневмонії коней)	в/ч	Аборт або загибель, некрози в печінці, крововиливи в легенях, гастроентерит
Вірус африканської чуми коней	і/ц	Парези, паралічі, загибель
Віруси енцефаломієлітів коней (венесуельського, східного і західного)	і/ц, в/м, в/ч, п/ш	Симптоми енцефаліту або енцефаломієліту, загибель
Мастаденовірус собак А (збудник аденовірусної інфекції собак)	п/ш	Симптоми пневмонії, загибель
Кролі		
Ліссавірус сказу (збудник сказу)	і/ц	Паралічі, загибель
Альфгерпесвірус свиней 1 (збудник хвороби Ауескі)	п/ш, в/м	Збудження, свербіння, розчухи, паралічі, загибель
Вірус ящуру	п/ш, в/ч	Парези, паралічі, загибель, некроз скелетних м'язів і міокарда

Таблиця 5 (продовження)

1	2	3
Везикуловіруси Індіана, Алагоас, Кокал і Нью-Джерсі (збудники везикулярного стоматиту)	у слизову оболонку язика	Везикули на слизовій оболонці ротової порожнини
Альфгерпесвірус ВРХ 2 (збудник виразкового маміліту ВРХ)	в/ш	Некроз шкіри
Вірус нодулярного дерматиту	в/ш	Внутрішньошкірні некротичні вузлики
Вірус віспи корів	в/ш, у скарифіковану шкіру	Інфільтрати з некрозом і геморагіями, папули, пустули на шкірі
Вірус вісповакцини	в/ш, у скарифіковану шкіру	Інфільтрати, папули, пустули на шкірі
Вірус орф (збудник контагіозної екзими овець і кіз)	у скарифіковану шкіру	Гіперемія, припухлість і папули на шкірі
Вірус японського енцефаліту	і/ц	Симптоми енцефаліту, загибель
Віруси енцефаломієлітів коней (венесуельського, східного і західного)	і/ц, в/м, в/ч, п/ш	Симптоми енцефаліту або енцефаломієліту, загибель
Вірус міксоми (збудник міксоматозу кролів)	в/ш, у кон'юнктивальний мішок	Блефарокон'юнктивіт, риніт, пухлинні вузлики або драглисті набряки на шкірі
Вірус фіброми кролів	п/ш	Пухлини на шкірі з з некрозом та ерозіями
Каппапапіломавірус 2 (збудник папіломатозу кролів)	у скарифіковану шкіру	Папіломи на шкірі
Хом'яки		
Епсилонпапіломавірус 1, ксіпапіломавірус 1, дельтапапіломавірус 4 (збудники папіломатозу ВРХ)	п/ш	Пухлини
Мастаденовірус ВРХ В (збудник аденовірусної інфекції ВРХ)	п/ш, в/ч, і/ц, у грудну порожнину	Пухлини
Ефемеровірус гарячки ВРХ (збудник ефемерної гарячки ВРХ)	і/ц	Збудження, пригнічення, атаксія, параліч задніх кінцівок, відставання в рості, загибель

Таблиця 5 (закінчення)

1	2	3
Флебовірус гарячки долини Ріфт (збудник гарячки долини Ріфт)	в/ч, в/в, п/ш, в/м, і/ц	Загибель, некроз печінки, РГА
Вірус блутанга (збудник інфекційної катаральної гарячки овець)	і/ц	Симптоми енцефаліту, загибель
Вірус хвороби Люпінга (збудник шотландського енцефаломієліту овець)	і/ц	Скуйовдження шерсті, в'ялість, збудження, тремор, порушення координації рухів, судоми, парез кінцівок, загибель
Кардіовірус А (збудник енцефаломіокардиту свиней)	і/н, в/ч	Скуйовдження шерсті, парез задніх кінцівок, загибель
Респіровірус свиней 1 (збудник парогрипу свиней)	і/н	Симптоми ураження дихальних шляхів
Вірус грипу А (штами збудника грипу свиней)	і/н	Симптоми ураження дихальних шляхів, загибель
Вірус японського енцефаліту	і/ц	Симптоми енцефаліту, загибель
Альфагерпесвіруси коней 1 і 4 (збудники вірусного аборту кобил і ринопневмонії коней)	і/ц	Симптоми енцефаломієліту, загибель
Віруси енцефаломієлітів коней (венесуельського, східного, західного)	і/н, п/ш, в/ч, п/ш	Загибель, гепатит
Віруси енцефаломієлітів коней (венесуельського, східного, західного)	і/ц, в/м, в/ч, п/ш	Симптоми енцефаліту або енцефаломієліту, загибель
Мастаденовірус собак А (збудник аденовірусної інфекції собак)	п/ш	Пухлини
Авіаденовірус курей А (збудник аденовірусної інфекції птахів)	п/ш	Пухлини
Вірус саркоми Рауса	п/ш	Пухлини
Вірус інфекційної бурсальної хвороби	і/ц	Симптоми ураження ЦНС, загибель
Вірус менінгоенцефаліту індиків Ізраїля	і/ц	Симптоми ураження ЦНС, загибель

10.4.2. Виділення вірусів у курячих ембріонах

10.4.2.1. Вимоги до курячих ембріонів

У вірусологічній практиці для виділення вірусів із патологічного матеріалу використовують *курячі ембріони*, які мають істотні *переваги* порівняно з лабораторними тваринами. Їм властива висока чутливість до вірусів, що пояснюється недостатнім розвитком імунної системи. Курячі ембріони стерильні, економічні й доступні для будь-якої вірусологічної лабораторії. Водночас не можна повністю гарантувати стерильність цієї біологічної системи, оскільки курячі ембріони від заражених птахів можуть містити різні патогени (віруси лейкозу і саркоми Рауса, ортоавулавірус 1, метаавулавірус 2, грипу А, коронавірус, альфагерпесвірус 1, тремовірус А, віспи, авіаденовіруси, мікоплазми, сальмонели).

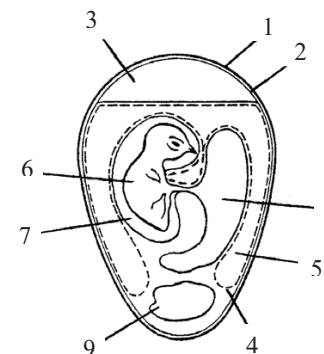
Для зараження використовують курячі ембріони віком від 5 до 12 діб із благополучних щодо інфекційних захворювань господарств. Ембріони старшого віку менш чутливі до вірусів, що пов'язано з підвищенням у них концентрації неспецифічних вірусних інгібіторів.

Будова курячого ембріона (рис. 80). Зовні ембріон вкритий твердою пористою шкаралупою, до якої прилягає *підшкаралупна оболонка*. Біля тупого кінця яйця вона розділяється на два листки, де утворюється *повітряна камера*. До підшкаралупної оболонки прилягає *хоріонлантоїсна оболонка* (ХАО), що пронизана кровеносними судинами і виконує функцію органа дихання ембріона. ХАО обмежує *алантоїсну порожнину*, в якій накопичуються продукти обміну. Зародок знаходиться ексцентрично в амніотичній порожнині, що заповнена навколоплідною рідиною й оточена оболонкою. Зародок пуповиною зв'язаний із *жовтковим мішком*, який

Рис. 80. Будова курячого ембріона 10-денного віку:

- 1 – шкаралупа;
- 2 – підшкаралупна оболонка;
- 3 – повітряна камера;
- 4 – хоріонлантоїсна оболонка;
- 5 – алантоїсна порожнина;
- 6 – зародок;
- 7 – амніотична порожнина;
- 8 – жовтковий мішок;
- 9 – білок

(Ніколау Ш. С. та ін., 1965)



є резервуаром поживних речовин. У гострому кінці яйця знаходиться залишок білка, який містить лізоцим, що захищає зародок від стафілокової та інших інфекцій.

У лабораторії курячі ембріони інкубують у термостаті за температури 37 °С, вологості 60–70% і відкритих вентиляційних отворів. Перед зараженням курячі ембріони розглядають на овоскопі в темному приміщенні з метою встановлення їхньої життєздатності: кровоносні судини ХАО наповнені кров'ю, зародок рухомий.

На шкаралупі простим олівцем відмічають межу повітряної камери і місцезнаходження зародка. Шкаралупу перед зараженням обробляють 2%-м спиртовим розчином йоду, а іноді ще й протирають запаленим спиртовим тампоном.

10.4.2.2. Методи експериментального зараження курячих ембріонів

Розроблено шість методів експериментального зараження курячих ембріонів: 1) в алантоїсну порожнину (9–11-й день інкубації); 2) на ХАО (10–12-й день інкубації); 3) у жовтковий мішок (5–7-й день інкубації); 4) в амніотичну порожнину (6–10-й день інкубації); 5) у зародок (7–12-й день інкубації); 6) у кровоносні судини ХАО (11–12-й день інкубації).

Останні два методи використовуються нечасто. Інокуляція інфекційного матеріалу безпосередньо в зародок нерідко супроводжується неспецифічною загибеллю внаслідок травмування. Зараження в кровоносні судини ХАО є технічно складним методом.

Зараження в ту чи іншу структуру курячого ембріона проводять у період її максимального розвитку, коли кількість клітин є найбільшою. Вибір методу зараження курячих ембріонів визначається тропізмом вірусу. Кожною пробою досліджуваного матеріалу заражають не менше чотирьох ембріонів у дозі 0,1–0,2 мл.

Зараження в алантоїсну порожнину (2 способи, рис. 81, стор. 277):

1) ембріон розміщують вертикально. У шкаралупі роблять отвір на 5–6 мм вище межі повітряної камери. Голку вводять вертикально на глибину 10–12 мм. Після внесення вірусомісного матеріалу отвір закривають краплею розплавленого парафіну;

2) ембріон розміщують горизонтально. На боковій поверхні шкаралупи роблять отвір (попередньо на овоскопі вибирають безсудинну ділянку ХАО) і вводять голку на глибину 2–3 мм. Щоб рідина не витікала, потрібно зробити ще один отвір над повітряною камерою. Після зараження отвори закривають парафіном.

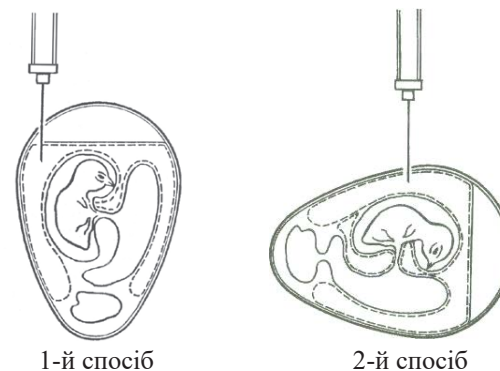


Рис. 81. Зараження курячого ембріона в алантоїсну порожнину

(Ніколау Ш. С. та ін., 1965)

Зараження на ХАО (2 способи, рис. 82, стор. 278):

1) *через природну повітряну камеру*. Ембріон розміщують вертикально. У шкаралупі над повітряною камерою вирізають отвір діаметром 1,5–2 см. Пінцетом обережно знімають підшкаралупну оболонку, не пошкоджуючи ХАО, і наносять вірусомісний матеріал. Отвір закривають лейкопластиром;

2) *через штучну повітряну камеру*. Ембріон розміщують горизонтально. У шкаралупі роблять два отвори: один невеликий – над центром повітряної камери, а другий діаметром 0,2–0,5 см – на боковій поверхні з боку зародка над безсудинною ділянкою ХАО, яку попередньо вибирають на овоскопі. Оголену підшкаралупну оболонку обережно проколюють, не пошкоджуючи ХАО. Гумовою грушею відсмоктують повітря з природної повітряної камери. У цьому разі ХАО переміщується, й утворюється штучна повітряна камера. Через боковий отвір наносять на ХАО вірусомісний матеріал. Отвір на боці закривають лейкопластиром, а над повітряною камерою – парафіном. Інкубацію ембріонів проводять у горизонтальному положенні боковим отвором догори.

Зараження в жовтковий мішок (2 способи, рис. 83, стор. 278):

1) ембріон розміщують вертикально. Роблять отвір у шкаралупі над центром повітряної камери. Голку вводять на глибину 3,5–4 см під кутом 45° до вертикальної осі в напрямку, протилежному місцезнаходженню зародка. Після інокуляції вірусомісного матеріалу отвір закривають парафіном;

2) ембріон розміщують горизонтально так, щоб жовтковий мішок був угорі, а зародок – внизу. Отвір роблять у шкаралупі з боку жовткового мішка на середині довжини яйця. Голку вводять вертикально на глибину 1 см. Після зараження отвір закривають парафіном.

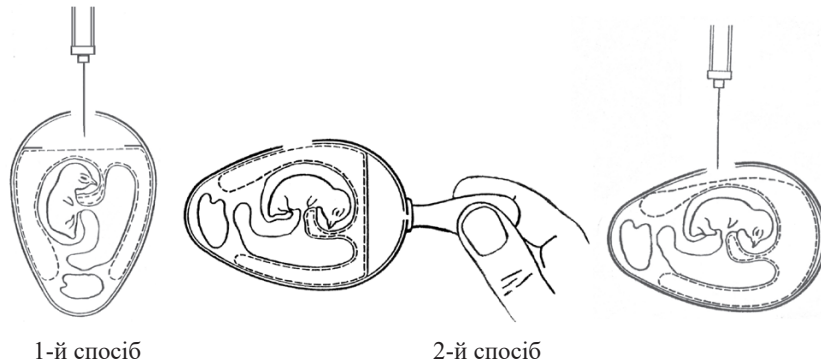


Рис. 82. Зараження курячого ембріона на ХАО

(Ніколау Ш. С. та ін., 1965)

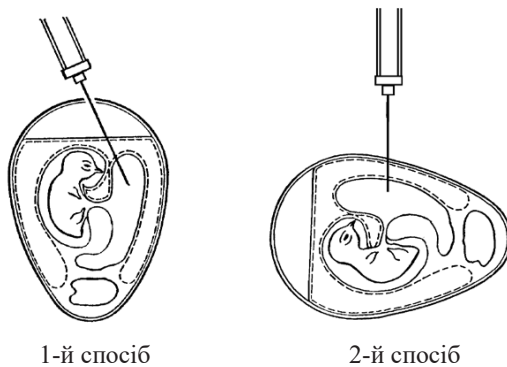


Рис. 83. Зараження курячого ембріона в жовтковий мішок

(Ніколау Ш. С. та ін., 1965)

Зараження в амніотичну порожнину (2 способи, рис. 84, стор. 279):

1) **закритий спосіб.** Зараження проводять у затемненому боксі на овоскопі. Ембріон розміщують горизонтально. Роблять отвір у шкаралупі над центром повітряної камери. Голку із затупленим кінцем вводять у напрямку до зародка, легким поштовхом прокалюють амніон та інокулюють вірусомісний матеріал. Доказом того, що голка потрапила в амніон, є рух зародка в напрямку її пересування

і відчуття слабого опору в разі введення матеріалу. Якщо голка знаходиться в алантоїсній порожнині, суспензія зі шприца вільно вводиться в яйце. Після зараження отвір закривають парафіном;

2) **відкритий спосіб.** Ембріон розміщують вертикально. У шкаралупі над повітряною камерою вирізають отвір діаметром 1–1,5 см. Пінцетом знімають підшкаралупну оболонку. Пінцет із зімкненими браншами вводять у напрямку до зародка, захоплюють амніотичну оболонку разом із ХАО і підтягують зародок до отвору. Голку вводять в амніон та інокулюють вірусомісний матеріал. Далі оболонки відпускають, а отвір закривають лейкопластиром.

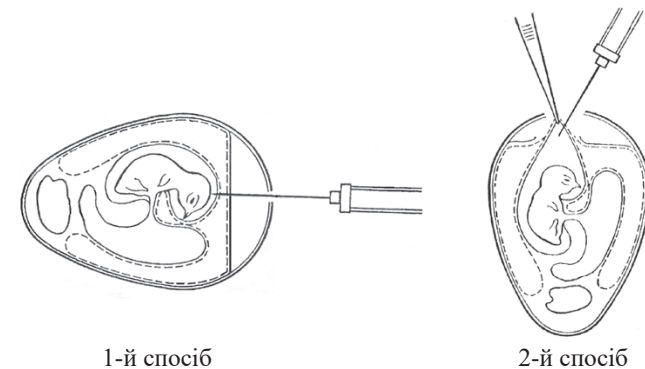


Рис. 84. Зараження курячого ембріона в амніотичну порожнину

(Ніколау Ш. С. та ін., 1965)

Зараження в зародок (2 способи):

1) заражають так само, як в амніон закритим способом, із тією різницею, що беруть гостру голку. Ознакою того, що голка потрапила в зародок, є підкорення його рухам голки;

2) заражають так само, як в амніон відкритим способом. Через отвір у шкаралупі підтягують зародок. Голку вводять у різні ділянки тіла зародка або в головний мозок.

Зараження в кровоносні судини ХАО (2 способи):

1) зараження проводять на овоскопі. Вибирають велику кровоносну судину, по ходу якої обережно видаляють незначну ділянку шкаралупи. На підшкаралупну оболонку наносять краплю спирту, й оболонка стає прозорою. Тонку голку вводять у кровоносну судину, що підтверджується її рухливістю в разі незначних бокових рухів голки. Після введення вірусомісного матеріалу отвір закривають лейкопластиром;

2) ембріон розміщують вертикально, зрізують шкаралупу над повітряною камерою. На підшкаралупну оболонку наносять кілька крапель спирту, й оболонка стає прозорою. Вибирають велику кровоносну судину і вводять вірусомісний матеріал. Отвір закривають лейкопластиром.

10.4.2.3. Індикація вірусів у курячих ембріонах

Заражені ембріони підписують простим олівцем, кладуть у термостат і щодня розглядають на овоскопі. Загиблі ембріони переносять у холодильник і витримують 16–18 год за 4 °С або 1–2 год за –10...–20 °С. Це значно полегшує їхній наступний розтин унаслідок ущільнення тканин і звуження кровоносних судин та дає можливість отримати чисті ембріональні рідини. Загибель ембріонів у перші 24 год після зараження зумовлена найчастіше бактеріальною чи грибковою контамінацією за нестерильної роботи або травмуванням зародка під час зараження. Така загибель вважається неспецифічною. Проте існують віруси, які можуть спричинити швидку загибель ембріонів (наприклад, високовірулентні пташині штами вірусу грипу А або ортоавулавірусу птахів 1). Якщо ембріони не гинуть, їх інкубують до моменту максимального накопичення збудника (кожний вірус має певний цикл репродукції), а потім умертвляють і розтинають (рис. 85, стор. 281).

Розтин курячих ембріонів проводять у стерильних умовах із метою аналізу патологоанатомічних змін і головне – відбору вірусомісного матеріалу для ідентифікації виділеного збудника. Як вірусомісний матеріал використовують алантоїсну й амніотичну рідини, ХАО, жовтковий мішок, зародок (залежно від тропізму вірусу).

Шкаралупу протирають 2%-м спиртовим розчином йоду і зрізають вище межі повітряної камери. Проколюють підшкаралупну оболонку разом із ХАО (в безсудинній ділянці), пінцетом притримують структури ембріона і пастерівською піпеткою відбирають до 10 мл алантоїсної рідини. Піпетку вводять в амніон під шию зародка і відбирають до 1 мл амніотичної рідини. Пінцетом піднімають верхню частину ХАО, зрізають ножицями і вміщують у чашку Петрі з 0,9%-м розчином NaCl. Виймають зародок, підтримуючи його за шию та відділяючи від пупкового канатика. Жовтковий мішок і білок вносять у чашку Петрі. Частину ХАО, що залишилася на шкаралупі, виймають пінцетом, вміщують у чашку Петрі з 0,9%-м розчином NaCl, промивають до отримання прозорої рідини, розправляють двома пінцетами і розглядають на темному фоні. Двома пінцетами беруть

жовтковий мішок, витискають його вміст, переносять у чашку Петрі з 0,9%-м розчином NaCl і промивають.

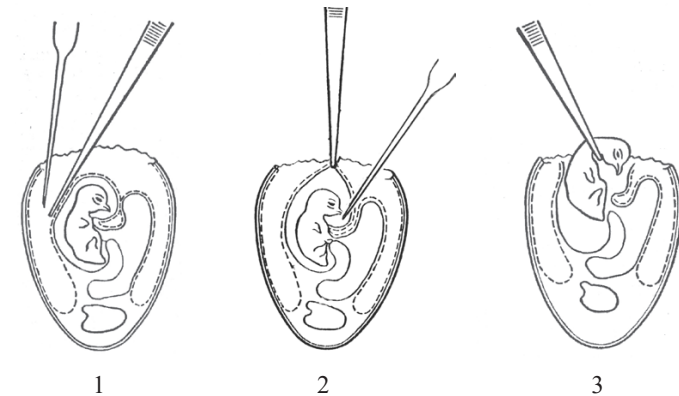


Рис. 85. Розтин курячого ембріона:

1 – відбір алантоїсної рідини; 2 – відбір амніотичної рідини;
3 – виймання зародка

(Ніколау Ш. С. та ін., 1965)

Вірусомісний матеріал, отриманий за розтину курячих ембріонів, перевіряють на стерильність (посіви на МПА, МПБ, МППБ, середовище Сабура) і використовують для ідентифікації виділеного збудника. Зберігають матеріал за –20...–70 °С.

Ознаками репродукції вірусів у курячих ембріонах є загибель (у характерні для кожного виду вірусу строки), патологоанатомічні зміни і гемаглютинація з ембріональними рідинами (табл. 6, стор. 283–286). З патологоанатомічних змін типовими є помутніння і набряк ХАО, утворення на ХАО некротичних вузликів – віспин (рис. 86, стор. 282), вогнищ клітинної проліферації – бляшок (рис. 87, стор. 282), гіперемія, крововиливи й набряки на зародку, карликовість і муміфікація зародка (рис. 88, стор. 282), вогнища некрозу в паренхіматозних органах, зміна кольору печінки.

Важливим методом індикації вірусів у курячих ембріонах є реакція гемаглютинації (РГА), що ґрунтується на здатності вірусів склеювати еритроцити певного виду. Ця властивість зумовлена наявністю у вірусів протеїну гемаглютиніну, за рахунок якого вони адсорбуються на поверхні еритроцитів. Один віріон приєднується одночасно до двох еритроцитів, і вони склеюються у вигляді пластівців, видимих неозброєним оком. РГА використовується для індикації

в курячих ембріонах гемаглютинувальних вірусів (грипу А, ортоавулавірусу птахів 1, коронавірусу птахів, респіровірусу ВРХ 3, морбіллівірусу собак та ін.). Особливо цінна ця реакція в разі виявлення вірусів, які розмножуються в курячих ембріонах, але не зумовлюють жодних змін (наприклад респіровірус ВРХ 3, слабовірулентні штами ортоавулавірусу птахів 1). Для постановки РГА на склі змішують краплю ембріональної рідини (алантоїсної або амніотичної) з краплею 5%-ї суспензії еритроцитів певного виду. За наявності

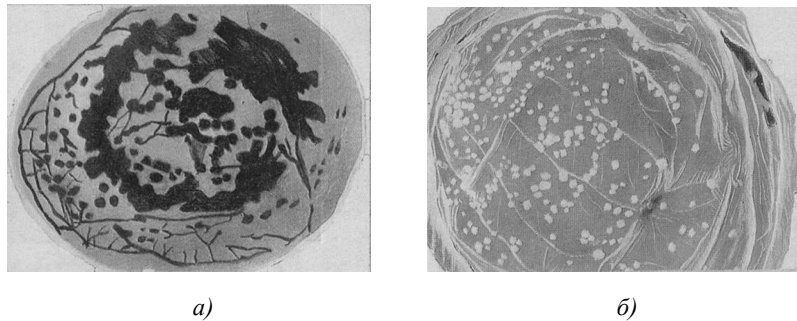


Рис. 86. Віспини на ХАО курячих ембріонів, заражених вірусом віспи корів (а) та альфагерпесвірусом свиней 1 (б)

(Сюрін В. М. та ін., 1991)

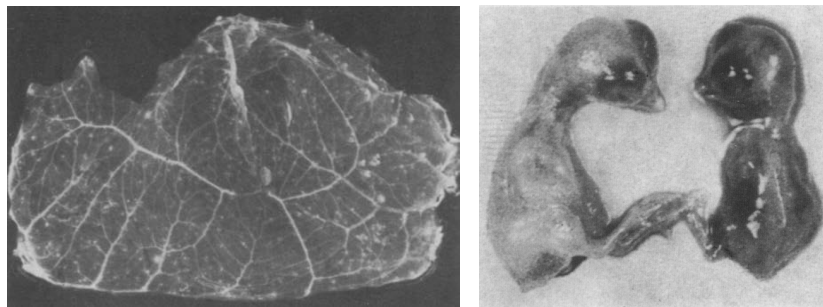


Рис. 87. Бляшки на ХАО курячого ембріона, зараженого альфагерпесвірусом птахів 2

(Сюрін В. М. та ін., 1998)

Рис. 88. Зародки 16-денних курячих ембріонів:

а – незаражений;
б – заражений коронавірусом птахів

(Сюрін В. М. та ін., 1998)

гемаглютинувального вірусу через 5–10 хв випадають пластівці склених еритроцитів.

Таблиця 6

Культивування вірусів у курячих ембріонах

Віруси	Методи зараження	Ознаки репродукції вірусів
1	2	3
Поксвіруси		
Вірус віспи корів	на ХАО, в алантоїсну порожнину	Загибель, геморагічні віспини на ХАО
Вірус віспи овець	на ХАО	Віспини на ХАО
Вірус віспи кіз	на ХАО	Віспини на ХАО
Вірус нодулярного дерматиту	на ХАО	Віспини на ХАО
Вірус вісповакцини	на ХАО	Загибель, віспини на ХАО
Вірус міксоми (збудник міксоматозу кролів)	на ХАО	Віспини на ХАО
Вірус віспи птахів	на ХАО	Загибель, віспини на ХАО
Герпесвіруси		
Альфагерпесвірус свиней 1 (збудник хвороби Ауескі)	на ХАО	Загибель, віспини на ХАО
Альфагерпесвіруси коней 1 і 4 (збудники вірусного аборту кобил і ринопневмонії коней)	у жовтковий мішок, в алантоїсну порожнину, в амніон	Загибель, віспини на ХАО
Альфагерпесвірус птахів 1 (збудник інфекційного ларинготрахеїту птахів)	на ХАО	Загибель, некротично-вогнищеві та дрібновузликові ураження ХАО
Альфагерпесвіруси курячих 2 і 3 (збудники хвороби Марека)	на ХАО, в жовтковий мішок	Загибель, вогнища клітинної проліферації на ХАО (бляшки), збільшення печінки і селезінки
Аденовіруси		
Авіадеповіруси птахів А, В, С, D, E (збудники аденовірусної інфекції птахів)	на ХАО, в кровоносні судини ХАО, в алантоїсну порожнину, в жовтковий мішок	Загибель, гіперемія, крововиливи, карликовість або кучерявість зародка; набряк, помутніння і некротичні вогнища на ХАО; некроз печінки, збільшення об'єму алантоїсної рідини, зменшення об'єму амніотичної рідини; РГА

Таблиця 6 (продовження)

1	2	3
Папіломавіруси		
Епсілонпапіломавірус 1, ксіпапіломавірус 1, дельтапапіломавірус 4 (збудники папіломатозу ВРХ)	на ХАО	Епітеліальні потовщення ХАО
Параміксовіруси		
Респіровірус ВРХ 3 (збудник парагрипу-3 ВРХ)	в алантоїсну порожнину, в амніон, на ХАО	РГА
Респіровірус свиней 1 (збудник парагрипу свиней)	в алантоїсну порожнину, в амніон, у жовтковий мішок	Загибель, РГА
Морбіллівірус собак (збудник чуми м'ясоїдних)	в алантоїсну порожнину, на ХАО, у жовтковий мішок	Загибель, помутніння ХАО
Ортоавулавірус птахів 1 (збудник ньюкаслської хвороби)	в алантоїсну порожнину, в амніон, на ХАО	Загибель, крововиливи на зародку, РГА
Рабдовіруси		
Везикуловіруси Індіана, Алагоас, Кокал і Нью-Джерсі (збудники везикулярного стоматиту)	на ХАО	Загибель, віспини на ХАО
Ортоміксовіруси		
Вірус грипу А (штами збудника грипу коней)	в алантоїсну порожнину, в амніон	РГА
Вірус грипу А (штами збудника грипу свиней)	в алантоїсну порожнину, в амніон	Крововиливи на зародку, РГА
Вірус грипу А (штами збудника грипу птахів)	в алантоїсну порожнину, в амніон	Загибель, крововиливи на зародку, РГА
Перібун'явіруси		
Ортобун'явірус Акабане (збудник хвороби Акабане)	у жовтковий мішок	Загибель, деформація кінцівок, водянка головного мозку

Таблиця 6 (продовження)

1	2	3
Фенуївіруси		
Флебовірус гарячки долини Ріфт (збудник гарячки долини Ріфт)	у жовтковий мішок	Загибель, РГА
Тогавіруси		
Віруси енцефаломієлітів коней (західного, східного і венесуельського)	на ХАО, в алантоїсну порожнину, в амніон, у жовтковий мішок	Загибель, РГА
Флавівіруси		
Пестівіруси А і В (збудники вірусної діареї ВРХ)	у жовтковий мішок	Загибель
Вірус менінгоенцефаліту індиків Ізраїля	у жовтковий мішок	Загибель, РГА
Вірус хвороби Люпінга (збудник шотландського енцефаломієліту овець)	на ХАО, в жовтковий мішок	Загибель, дрібновогнищеві помутніння ХАО, набряк ХАО та амніотичної оболонки, зародка, некроз печінки, ознаки жовтяниці (ембріональні рідини, вміст кишечника і жовткового мішка зеленого кольору)
Коронавіруси		
Коронавірус птахів (збудник інфекційного бронхіту курей)	в алантоїсну порожнину, в амніон, на ХАО	Загибель, карликовість і муміфікація зародка, набряк ХАО та амніотичної оболонки, збільшення об'єму алантоїсної рідини, зменшення об'єму амніотичної рідини, зморщування жовткового мішка, РГА
Пікорнавіруси		
Тремівіруси А і В (збудники інфекційного енцефаломієліту птахів)	в алантоїсну порожнину, в амніон, у жовтковий мішок	Загибель, атрофія м'язів, водянка головного мозку
Авігепатовірус А (збудник вірусного гепатиту каченят)	на ХАО, в алантоїсну порожнину	Загибель, набряки, гіперемія та крововиливи на зародку, набряк ХАО й печінки, печінка жовто-сірого або жовто-зеленого кольору

Таблиця 6 (закінчення)

1	2	3
		з вогнищами некрозу, ознаки жовтяниці (ембріональні рідини, вміст кишечника і жовткового мішка зеленого кольору)
Ретровіруси		
Вірус саркоми Рауса	на ХАО, в амніон, у кровоносні судини ХАО	Вогнища клітинної проліферації на ХАО (бляшки)
Вірус лейкозу птахів	у жовтковий мішок	Лімфоматоз
Вірус мієлобластозу птахів	у кровоносні судини ХАО	Мієлобластоз
Ревіруси		
Вірус блутанга (збудник інфекційної катаральної гарячки овець)	у жовтковий мішок, на ХАО, в кровоносні судини ХАО	Загибель, зародок вишнево-червоного кольору з множинними крововиливами
Вірус африканської чуми коней	на ХАО	Загибель
Бірнавіруси		
Вірус інфекційної бурсальної хвороби	на ХАО, в жовтковий мішок, в алантоїсну порожнину	Загибель, гіперемія, крововиливи, набряки і карликовість зародка, некротичні вогнища в печінці, селезінці й нирках

10.4.3. Виділення вірусів у культурах клітин

10.4.3.1. Типи культур клітин

і принципи їхнього виготовлення

Найдосконалішою моделлю для виділення вірусів із патологічного матеріалу є *культури клітин*. Вони знімають видові обмеження культивування вірусів, оскільки *in vitro* можна вирощувати будь-які клітини різних видів тварин. Немає єдиної клітинної культури, що була б придатною для ізоляції будь-якого вірусу. Тому в лабораторній діагностиці вірусних інфекцій тварин зазвичай застосовують кілька видів клітинних культур залежно від того, який вірус передбачається виділити.

У вірусологічній практиці найчастіше використовують *одношарові (або моношарові) культури клітин*. Це клітини *in vitro*, отримані

внаслідок диспергування тканин, які прикріплюються до субстрату і розмножуються, утворюючи моношар (на склі пробірок, флаконів, матраців, лунок мікропланшетів). Одношарові культури клітин поділяються на *первинні, субкультури, перецелювані та диплоїдні*.

Первинні (або первинно-трипсинізовані) культури клітин виготовляють з органів і тканин, що взяті безпосередньо з організму здорової тварини не пізніше 2–3 год після забою (наприклад, нирки, сім'яники, легені, шкіра тощо). Краще культивуються *in vitro* клітини ембріональних тканин, а також тварин раннього віку, оскільки вони мають вищу потенцію росту. Адаптація вірусів до первинних культур проходить успішніше, якщо вони отримані з органів природно сприйнятливих тварин.

Для виготовлення *первинної культури клітин* від здорової тварини не пізніше 2–3 год після забою беруть відповідні органи або тканини, наприклад, нирки, сім'яники, легені, шкіру. Подрібноють ножицями на шматочки розміром 2–5 мм, промивають кілька разів розчином Хенкса до отримання прозорої рідини й обробляють протеолітичним ензимом, найчастіше 0,25%-м розчином трипсину (1 : 10), для дезагрегації тканини. Трипсинізацію проводять на магнітній мішалці дробно за температури 37 °С 3–5 разів по 5–30 хв (залежно від виду тканини до повного її виснаження) або за 4–6 °С 12–16 год. Ензим руйнує міжклітинні речовини, і тканина диспергується на окремі клітини. Трипсин із клітинами, що відділилися, фільтрують через 2–3 шари марлі в колбу, яку поміщають у холодильник за 4 °С для припинення дії ензиму за методу теплої трипсинізації. Трипсин із клітинами зливають у центрифужні пробірки і центрифугують за 1000 об/хв 10–15 хв. Трипсин видаляють, осад клітин розводять невеликою кількістю ростового середовища (199, Ігла або 0,5%-й гідролізат лактоальбуміну з додаванням 5–10 % сироватки крові ВРХ).

Після підрахунку кількості клітин у камері Горяєва* суспензію розводять ростовим середовищем до оптимальної посівної концентрації

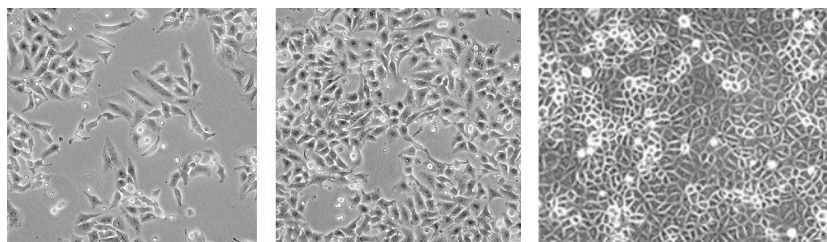
* Підрахунок кількості клітин у камері Горяєва: до 1 мл суспензії клітин додають 1 мл 0,1 %-го розчину кристалвіолету (на 0,1 н розчині лимонної кислоти), перемішують, заповнюють камеру Горяєва і підраховують у двох камерах нефарбовані клітини з чіткими контурами та ядрами. Кількість клітин у 1 мл суспензії (X) визначають за формулою:

$$X = \frac{A \times 2 \times 1000}{0,9},$$

де А – середня кількість клітин в одній камері; 2 – коефіцієнт розведення суспензії; 1000 – кількість мм³ у 1 мл; 0,9 – об'єм камери Горяєва в мм³.

(200–500 тис. клітин у 1 мл), розливають по пробірках (по 1 мл), лунках мікропланшетів (по 0,2 мл) або матрацах (10–15% від об'єму), вміщують у термостат за 37 °С.

У своєму розвитку культура клітин проходить *три фази*. Перша фаза – *адаптації*, триває 2–24 год і характеризується *адгезією* клітин, тобто прикріпленням їх до скла. Друга фаза – *логарифмічного росту*, супроводжується діленням клітин, які поступово покривають поверхню скла. Третя фаза – *стаціонарна*, характеризується формуванням через 3–5 діб моношару внаслідок *контактної інгібіції* клітин, тобто припинення їхнього поділу за контакту (рис. 89, 90). Швидкість утворення моношару на склі залежить від виду тканини, віку тварини, якості живильного середовища, посівної концентрації клітин та інших факторів. Моношар зберігає життєздатність упродовж 1–3 тижнів (за умови періодичної зміни живильного середовища, яке закислюється продуктами метаболізму клітин). З часом



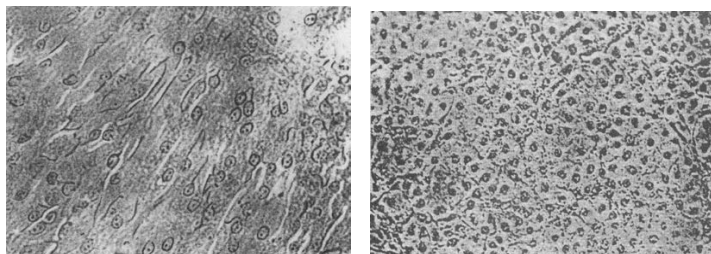
а)

б)

в)

Рис. 89. Формування моношару культури клітин

(<https://docplayer.ru/55714801-Soderzhanie-referat-5-oboznacheniya-i-sokrashcheniya-6-vvedenie-7-osnovnaya-chast-8.html>)



а)

б)

Рис. 90. Первинні культури клітин сім'яників теляти (а) і нирок свині (б)

(Ліхачов М. В. та ін., 1973; Сюрін В. М. та ін., 1984)

клітини старіють, і настає їхня *неспецифічна дегенерація*: вони округлюються, відриваються від скла і гинуть.

Первинні культури позбавлені багатьох клітин, які присутні у вихідній тканині, оскільки не всі клітини здатні прикріпитися до субстрату і вижити в умовах *in vitro*. Проте клітини первинних культур гетерогенні, і в них найповніше представлені типи клітин тієї тканини, звідки вони отримані. Первинні культури високочутливі до вірусів, онкогенно безпечні. *Недоліком* їх є значна трудомісткість виготовлення, а також можливість контамінації латентними вірусами і мікоплазмами, що персистують в організмі тварин, тканини яких використовують для трипсинізації.

Субкультури клітин виготовляють із первинних, вирощених у матрацах, після формування моношару. Клітини знімають зі скла 0,25%-м розчином трипсину або 0,02%-м розчином версену (експозиція 15–30 хв за 37 °С до появи перших ознак відшарування клітин), ресуспендують у ростовому середовищі та пересівають у матраці, пробірки або мікропланшети. Через 3–5 діб формується моношар субкультури клітин. За чутливістю до вірусів субкультури клітин не відрізняються від первинних. Проте за субкультивування кількість клітин збільшується в 2–2,5 рази. Крім того, з'являється можливість виявити контамінацію клітин вірусами і мікоплазмами, а також отримати одноріднішу популяцію клітин. Субкультури клітин можна одержати за 2–5 пересівів, 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 перещеплюваних.

Перещеплювані культури клітин (син.: *стабільні*, або *постійні, клітинні лінії*) виготовляють із первинних шляхом тривалих пересівів (не менш як 70 разів із триденними інтервалами). Такі клітини зазвичай мають змінений каріотип порівняно з вихідною культурою (гетероплоїдний набір хромосом), необмежений строк життя, і багато з них виявляють онкогенні властивості.

Одержання перещеплюваних клітинних ліній – нечасте явище. Їх вдається отримати з популяції клітин первинних культур, які мають підвищену активність росту і розмноження. Щодо причин появи перещеплюваних ліній клітин існують різні точки зору, зокрема вважають, що вони з'являються внаслідок мутацій або активізації клітинних онкогенів.

Перещеплювані культури клітин можна одержати як із нормальних, так і пухлинних тканин тварин і людини. Серед них широко

застосовуються такі клітинні лінії, як *HeLa* (з карциноми шийки матки жінки), *Hep-2* (з карциноми гортані людини), *KB* (з карциноми ротової порожнини людини), *L* (з підшкірної сполучної тканини миші), *BHK-21* (з нирки сірійського хом'яка), *Vero* (з нирки африканської зеленої мавпи) та багато інших (рис. 91).

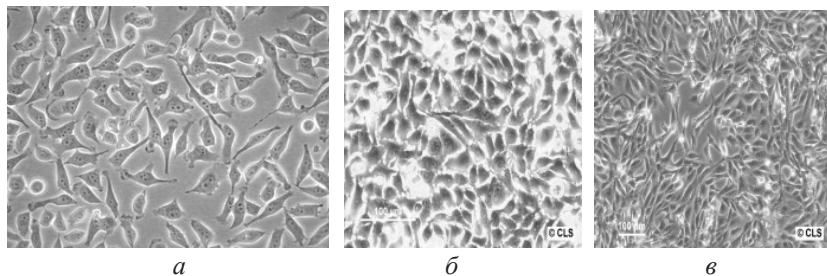


Рис. 91. Перещеплювані культури клітин HeLa (а), Hep-2 (б) і Vero (в)

(<https://www.sigmaldrich.com/catalog/product/mm/scc112?lang=en®ion=UA>, http://sputnic-group.ru/catalog/section_1396906/; http://sputnic-group.ru/catalog/section_1397194/)

Перещеплювані 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, за пересівів з'являється можливість виявити контамінацію культури вірусами і мікоплазмами. Проте перещеплювані культури мають серйозний *недолік*: схильність до малігнізації (злякисного переродження).

Диплоїдні культури клітин (син.: **диплоїдні клітинні лінії**) – це морфологічно однорідні популяції клітин, стабілізовані в процесі культивування *in vitro*, які мають обмежений строк життя, зберігають каріотип, властивий вихідній тканині, вільні від контамінантів і не виявляють онкогенної активності за трансплантації хом'ячкам.

Диплоїдні культури клітин виготовлені з різних тканин ембріона людини (легені (рис. 92, стор. 291), нирки, серце, шкірна і м'язова тканини) і тварин (нирки ембріонів корів, овець, свиней; нирки телят, ягнят, поросят та ін.). Процес *одержання диплоїдної культури клітин* проходить у три етапи: 1) виготовлення посівного пулу клітин і заморожування його основної частини; 2) контроль диплоїдності;

3) накопичення диплоїдних клітин безпосередньо для репродукції вірусів. Строк життя диплоїдної культури клітин обмежений – 40–60 пасажів. Далі поступово настає дегенерація клітин.

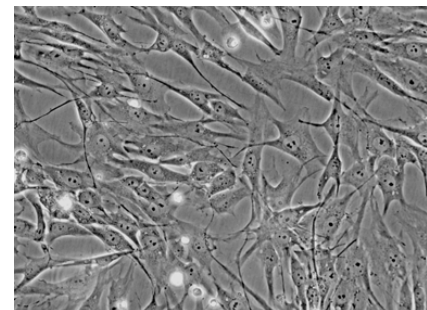


Рис. 92. Диплоїдна культури клітин Wi-38

(<https://naked-science.ru/article/sci/liniya-kletok-wi-38-spasla-10>)

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

Для виділення вірусів, які важко адаптуються до культур клітин, використовують **метод співкультивування**. Він полягає в одночасному культивуванні клітин трипсинізованої зараженої тканини і чутливих клітин моношарової культури (зокрема перещеплюваної). Цей метод застосовують у разі вивчення хронічних і повільних вірусних інфекцій.

За латентних інфекцій нечасто вдається виділити вірус традиційним шляхом зараження клітинних культур суспензією з патологічного матеріалу. У таких випадках застосовують **метод культивування уражених тканин**: із досліджуваного 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 за збереження їхньої структури та функції. Органні культури не здатні до розмноження. У разі вивчення респіраторних вірусних інфекцій широко застосовують метод органного культивування носового,

трахеального і бронхіального епітелію. Для цього шматочки тканини розміром 1–3 мм вміщують на скарифіковане дно пластикової чашки Петрі, вносять живильне середовище (агар, зсіла плазма або синтетичне) 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 за відсутності або помірного розростання його тканин. У цьому разі зберігається не лише структура тканини, а й деякі функціональні особливості, наприклад, миготіння війок, яке припиняється внаслідок репродукції вірусів.

10.4.3.2. Розчини і живильні середовища для культур клітин

Робота з культурами клітин вимагає абсолютної стерильності, ретельної підготовки посуду, відповідних розчинів, живильних середовищ і високої якості води.

Для виготовлення живильних середовищ і за різних маніпуляцій із культурами клітин (відмивання тканини від кров'яних елементів, відмивання культури від ростового середовища, розведення вірусу) використовують *збалансовані сольові розчини Хенкса та Ерла*. Вони містять солі натрію, калію, магнію й кальцію, а також глюкозу, що забезпечує збереження рН, осмотичного тиску в клітинах і відповідну концентрацію необхідних неорганічних речовин.

Диспергувальний 0,25%-й розчин трипсину застосовують для дезагрегації тканини на окремі клітини і для зняття клітин зі скла за пересівів. *Диспергувальний 0,02%-й розчин версену* (натрієва сіль етилендіамінтетраоцтової кислоти) використовують для зняття клітин зі скла.

Для вирощування культури клітин широко застосовують *синтетичні середовища 199 та Ігла*. До складу середовища 199 входять понад 60 компонентів: 20 амінокислот, 16 вітамінів, складові частини нуклеїнових кислот (пурини, піримідини), коензими, відновники, джерела ліпідів і вуглеводів, 7 мінеральних солей, глюкоза. Середовище Ігла складається з 13 амінокислот, 8 вітамінів, 6 мінеральних солей, глюкози. Крім того, використовують *напівсинтетичні середовища*, які є ензимними гідролізатами різних протеїнових речовин, найчастіше *0,5%-й розчин гідролізату лактоальбуміну* (середовище ГЛА).

До всіх живильних середовищ (іноді – до розчинів Хенкса та Ерла) додають *індикатор феноловий червоний* (0,002%) для контролю рН. За нейтрального значення рН колір середовища червоно-оранжевий.

У міру підкислення продуктами метаболізму клітин рН середовища знижується, і воно поступово жовтіє, що слугує сигналом для його заміни. У разі зрушення рН у лужний бік середовище стає малинового кольору. Це зазвичай буває тоді, коли пробірки або матраци, де культивуються клітини, нещільно закриті гумовими пробками.

Для знищення бактеріальної мікрофлори до живильних середовищ і розчинів додають *антибіотики*: 100 ОД/мл пеніциліну і 100 мкг/мл стрептоміцину. За потреби використовують ністатин 50 ОД/мл для пригнічення росту плісняви.

За призначенням живильні середовища поділяються на дві групи: *ростові та підтримувальні*. Ростові середовища застосовують у перші дні культивування клітин; вони забезпечують життя і розмноження клітин. До складу ростових середовищ входить 5–10% сироватки крові (частіше ВРХ), що містить фактори адгезії й росту, без яких клітини не зможуть прикріпитися до скла і ділитися. Підтримувальні середовища не містять сироватки крові; вони забезпечують життєдіяльність клітин і використовуються після формування моношару та зараження культури клітин вірусом.

10.4.3.3. Консервування культур клітин

Клітинні культури часто необхідно законсервувати, щоб мати запас клітин із певною біологічною характеристикою. Це стосується насамперед диплоїдних і перещеплюваних клітинних ліній. Нині із тканин людини і тварин отримані тисячі клітинних ліній, які зберігаються в національних банках клітинних культур різних країн.

Найкращим методом консервування клітин є *заморожування в рідкому азоті* (–196 °С). Для цього клітини знімають зі скла матраців трипсином або версенем і суспендують у живильному середовищі в концентрації 10⁶ клітин на 1 мл. Як захисні речовини до середовища додають 10–40% сироватки крові ВРХ і 10% диметилсульфоксиду або гліцерину. Суспензію розливають в ампули по 3 мл, запаюють і витримують 1–2 год за 4 °С для контакту з консервантом. Потім клітини заморожують у суміші етилового спирту із сухим льодом до –70 °С, поступово знижуючи температуру, і вміщують на зберігання в посудини Дюара з рідким азотом. За цих умов клітини мають майже необмежений строк зберігання за повної відсутності ризику механічного пошкодження.

Життєздатність заморожених клітин відновлюють, вміщуючи ампулу з клітинами у водяну баню з температурою 37 °С за легкого

струшування на 1–2 хв. Потім суспензію клітин виливають у матрац, додають відповідну кількість ростового середовища і культивують у термостаті за 37 °С. 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 за 4 °С. За сприятливих умов, що виключають перегрівання або заморожування клітин, 80–90% їх зберігає життєздатність упродовж 7–8 дб.

10.4.3.4. Індикація вірусів у культурах клітин

Методика зараження культури клітин проста. З пробірок, лунок мікропланшетів або матраців із сформованим моношаром клітин зливають ростове середовище, культуру промивають 1–2 рази розчином Хенкса. У пробірці і лунки мікропланшетів вносять по 0,1–0,2 мл вірусомісного матеріалу і залишають на 1–2 год за кімнатної температури або за 37 °С для адсорбції вірусу на поверхні клітин. Кожною проборою заражають по 4–10 пробірок або лунок мікропланшетів із культурою клітин. У матраці вносять вірусомісний матеріал у кількості 1–1,5% від об'єму. Після контакту вірусомісний матеріал видаляють і додають підтримувальне середовище: в пробірці – по 1 мл, лунки мікропланшетів – по 0,2 мл, у матраці – 10–15% від об'єму.

У разі виділення вірусу з патологічного матеріалу деякі проби (наприклад кал) можуть мати токсичну дію на клітини. Тому після адсорбції вірусу моношар клітин відмивають 1–2 рази розчином Хенкса (або живильним середовищем), а потім наливають підтримувальне середовище. Пробірки, планшети і матраці ставлять у термостат за 37 °С та щодня розглядають під малим збільшенням мікроскопа.

Основною ознакою розмноження вірусу в культурі клітин є **цитопатогенна дія** (ЦПД), або **цитопатичний ефект** (ЦПЕ). Це будь-які морфологічні зміни клітин, які виникають унаслідок репродукції вірусу (рис. 93, стор. 295). 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 у культуральну рідину і гинуть;

2) *фрагментація клітин* – під дією вірусу клітини розпадаються на окремі фрагменти, відділяються від скла і переходять у культуральну рідину у вигляді клітинного детриту;

3) *утворення симпластів* (син.: *синцитії, полікаріоцити*) – під дією вірусу плазмолемі сусідніх клітин зливаються, і виникають гігантські багатоядерні клітини.

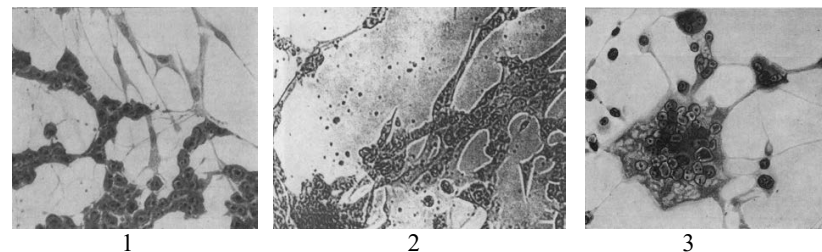


Рис. 93. Цитопатогенна дія вірусів:

1 – округлення клітин; 2 – фрагментація клітин;
3 – утворення симпластів

(Сторін В. М. та ін., 1991; Ліхачов М. В. та ін., 1973)

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

- + (25%) – деструкція окремих клітин культури;
- ++ (50%) – деструкція половини клітин культури;
- +++ (75%) – деструкція більшості клітин культури, утворення пустот у моношарі внаслідок відривання клітин від скла;
- ++++ (100%) – деструкція всіх клітин культури, на склі залишаються невеликі вогнища змінених клітин.

Для отримання максимальної концентрації вірусу пробірки і матраці із зараженою культурою клітин виймають із термостату на кінцевих стадіях ЦПД (3–4 плюси).

Вірус, який розмножується в культурі клітин, накопичується поступово в культуральній рідині. Проте частина вірусу може залишатися в незруйнованих клітинах. Для звільнення клітинноз'язаного вірусу клітини дезінтегрують 2–3-разовим заморожуванням – відтаванням або ультразвуком.

ЦПД вірусів потрібно відрізнити від неспецифічної дегенерації клітин, що спостерігається за старіння культури. Тому для контролю залишають 4–6 пробірок (або лунок мікропланшетів) із незараженою культурою, в яких лише змінюють середовище. Крім того, слід пам'ятати про дегенерацію клітин, зумовлену токсичною дією досліджуваного матеріалу. Для виключення цього в разі потреби проводять додатковий пасаж: інфікованою культуральною рідиною заражають

нові пробірки (лунки мікропланшетів) з культурою клітин. Якщо дегенерація була зумовлена токсичним фактором, то ЦПД у другому пасажі не проявляється.

Характерним для ЦПД багатьох вірусів є утворення *внутрішньо-клітинних тілець-включень*. Для їхнього виявлення культуру клітин, вирощену на покривних скельцях у пробірках або пеніцилінових флаконах, заражають досліджуваною вірусомісною суспензією, потім фіксують відповідним методом (фіксатори Буена, Карнуа, Ценкера або метиловий спирт) і фарбують гематоксиліном та еозинном. У цьому разі ядра клітин забарвлюються в синій колір, цитоплазма – в рожевий, а тілець-включення – в синій (базофільні) чи рожевий (ацидофільні, або еозинофільні) колір, що залежить від властивостей вірусу.

Деякі онкогенні віруси (зокрема вірус саркоми Рауса) можуть спричинити в культурі клітин *цитопроліферативний (трансформувальний) ефект*. Він полягає в утворенні фокусів трансформації, що складаються зі скупчень кількох шарів округлих клітин, які під впливом вірусу втратили властивість контактної інгібіції та набули здатності до безперервного поділу (рис. 94).

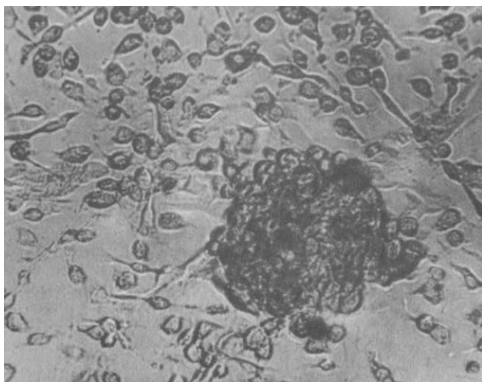


Рис. 94. Трансформувальний ефект вірусу саркоми Рауса в первинній культурі фібробластів курячого ембріона

(Тімаков В. Д., 1985)

Індикацію вірусів у культурі клітин можна провести за явищем *гемадсорбції*. Це прикріплення еритроцитів до плазмолемі клітин, заражених гемаглютинувальним вірусом (наприклад збудниками грипу ссавців і птахів, парагрипу-3 ВРХ, ньюкаслської хвороби). Гемадсорбція виникає за рахунок вірусного протеїну гемаглютиніну,

що модифікує клітинну плазмолему, і вона стає спорідненою з рецепторами еритроцитів. Кожний вірус здатний спричинити гемадсорбцію еритроцитів того виду, який він аглютинує, причому гемадсорбція проявляється швидше, ніж ЦПД.

Для постановки *реакції гемадсорбції (РГАд)* у 2–4 пробірки (або лунки мікропланшетів) з інфікованою культурою клітин через 3–5 діб після зараження вносять по 0,2 мл (або по 0,05 мл) 0,4–0,5%-ї суспензії еритроцитів певного виду. Витримують (пробірки в горизонтальному положенні) 10–15 хв за кімнатної температури або 30–40 хв за 4 °С (залежно від виду вірусу), злегка струшують і розглядають під малим збільшенням мікроскопа. Для контролю такі самі маніпуляції проводять із незараженою культурою клітин. Реакція вважається позитивною, якщо в пробірках (або лунках мікропланшетів) з інфікованою культурою еритроцити прикріпилися до поверхні клітин, а в контрольних – гемадсорбція відсутня. Гемадсорбція буває дифузною (рис. 95), вогнищевою (рис. 96) або лише по периферії моношару у вигляді «намиста», що залежить від виду вірусу і культури клітин.

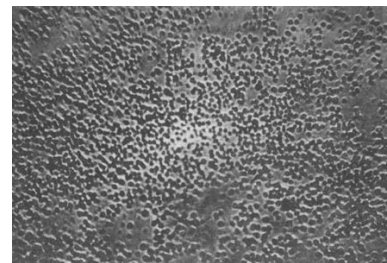


Рис. 95. Дифузна гемадсорбція в первинній культурі клітин фібробластів курячого ембріона, зараженій ортоавулавірусом птахів 1

(Панікар І. І., 1997)

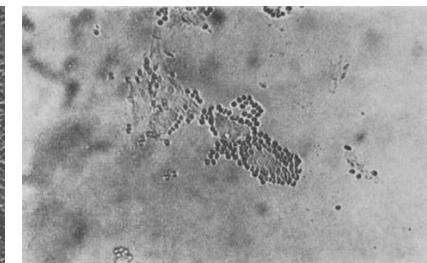


Рис. 96. Вогнищева гемадсорбція в первинній культурі клітин нирок теляти, зараженій респіровірусом ВРХ 3

(Штарке Г. та ін., 1970)

Бувають випадки, коли вірус не має гемаглютинувальних властивостей, проте проявляє гемадсорбцію. Це стосується, зокрема, вірусу африканської чуми свиней. Механізм гемадсорбції невідомий, припускається наявність у вірусу гемадсорбтивного антигену.

Для індикації вірусів у культурі клітин можна застосовувати *метод бляшок*. Це обмежені вогнища загиблих під дією вірусу клітин у суцільному моношарі культури. Для отримання бляшок культуру клітин, вирощену в матрацах, промивають розчином Хенкса

і заражають вірусом (у невисокій концентрації). Після контакту 1–2 год за 37 °С видаляють вірусомісну рідину і вносять *спеціальне агарове покриття*, до складу якого входять такі компоненти: агар, розчин Ерла, сироватка крові ВРХ, натрію гідрокарбонат, антибіотики та індикатор нейтральний червоний. Усі компоненти змішують у певному співвідношенні* за температури 50...55 °С. Для нашарування на культуру середовище охолоджують до 37 °С. Через 30–60 хв після застигання середовища матраци вміщують у термостат за 37 °С, загорнувши у світлонепроникний матеріал, бо індикатор має фотодинамічний вплив на клітини і в разі доступу світла може інгібувати утворення бляшок. Інкубацію проводять клітинами догори. Спостерігають за появою бляшок упродовж 4–12 діб.

За цей час адсорбований вірус проникає всередину клітин, проходить повний цикл репродукції. Віріони потомства можуть уражати лише сусідні клітини, оскільки культура вкрита агаровим середовищем, що обмежує поширення вірусу. Тому в суцільному моношарі живих клітин виникають вогнища зруйнованих клітин унаслідок репродукції вірусу. Над живими клітинами середовище підкислюється продуктами метаболізму і стає червоно-рожевого кольору. Над вогнищами загиблих клітин середовище безбарвне. Це і є бляшки (рис. 97, 98, стор. 299). Кожна бляшка є результатом репродукції одного віріона, але за умови інфікування культури високими розведеннями вірусу, щоб виключити множинність зараження клітин. За високої концентрації вірусу бляшки зливаються.

Час появи й морфологія бляшок залежать від виду і штаму вірусу, типу культури клітин та умов культивування. Деякі віруси утворюють бляшки без агарового покриття, що пов'язано з особливостями їхньої репродукції (наприклад, альфагерпесвіруси птахів 2 і 3).

Метод бляшок технічно складний для виконання, тому використовується в основному для титрування вірусів, а також із метою отримання генетично однорідних популяцій вірусів (клонів) в разі дослідження їхніх генетичних властивостей.

Існують нецитопатогенні віруси, які розмножуються в культурі клітин без прояву ЦПД. Для їхньої індикації використовують методи, які ґрунтуються на явищах *інтерференції* та *екзальтації вірусів*.

* Склад агарового покриття за Уоллісом – Мельником: 1,5%-й розчин агару американської фірми «Діфко» (або освітлений очищений 2,5%-й розчин агару) на тричі дистильованій воді – 90 мл, розчин Ерла в 10-разовій концентрації – 18 мл, тричі дистильована вода – 59,4 мл, сироватка крові ВРХ – 4 мл, 7,5%-й розчин NaHCO₃ – 10,8 мл, пеніцилін (100 тис. ОД/мл) – 0,18 мл, стрептоміцин (100 тис. мкг/мл) – 0,18 мл, нейтральний червоний (1 : 1000) – 3 мл.

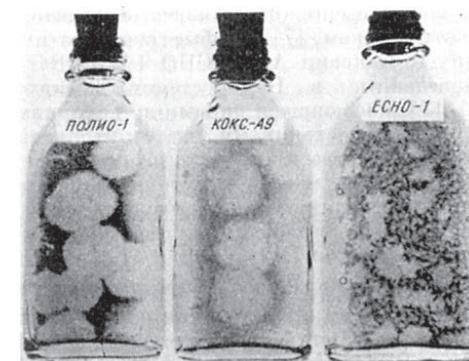


Рис. 97. Бляшки в первинній культурі клітин нирок мавпи, зараженій ентеровірусами С і В

(Ніколау Ш. С. та ін., 1965)

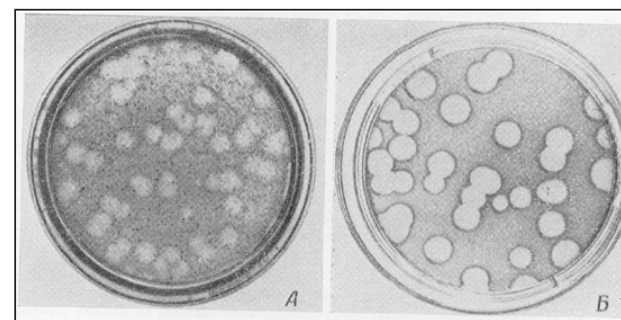


Рис. 98. Бляшки в первинній культурі фібробластів курячого ембріона, зараженій вірусом венесуельського енцефаломієліту коней

(Жданов В. М., Гайдамович С. Я., 1966)

Інтерференція – це здатність деяких вірусів пригнічувати репродукцію інших. На основі інтерференції можна виявити в культурі клітин нецитопатогенні віруси шляхом спільного культивування їх із цитопатогенними вірусами, репродукцію яких вони гальмують. Так, якщо культуру клітин заразити спочатку нецитопатогенним пестівірусом С (збудником класичної чуми свиней), а потім – вірусом ящуру, то ЦПД вірусу ящуру не проявляється внаслідок явища інтерференції. Або інший приклад: нецитопатогенні штами альфакоронавірусу 1 (збудника трансмісивного

гастроентериту свиней) гальмують розвиток ЦПД пестівірусів А і В (збудників вірусної діареї ВРХ).

Феномен *екзальтації* полягає в прояві ЦПД у культурі клітин, зараженій двома вірусами: один із них нецитопатогенний, а другий – цитопатогенний, але в цій культурі не розмножується. Наприклад, екзальтація ортоавулавірусу птахів 1 (збудника ньюкаслської хвороби) пестівірусом С у культурі клітин сім'яників поросят (клітини, заражені нецитопатогенним пестівірусом С, під дією ортоавулавірусу птахів 1 лізуються). Інший приклад: екзальтація ортоавулавірусу птахів 1 в культурі клітин сім'яників телят у присутності нецитопатогенних штамів пестівірусів А і В.

Орієнтовним методом виявлення вірусів у культурі клітин є *кольорова (або метаболічна) проба*. Вона полягає в тому, що в незаражених культурах під впливом продуктів метаболізму клітин живильне середовище, яке містить індикатор феноловий червоний, підкислюється і стає жовтого кольору. У той час у заражених культурах клітини гинуть під дією вірусу, і середовище зберігає червоний колір. Найчіткіші результати одержують стосовно вірусів із високою швидкістю репродукції при культивуванні їх у культурах, що повільно ростуть. Вірогідність кольорової проби невисока, тому цей метод використовується у вірусологічній практиці нечасто.

Для індикації та ідентифікації вірусів у клітинах зараженої культури застосовують також *ЕМ*, *РІФ* та *ІФА* (методи описано в підпунктах 10.3.2, 10.6.8, 10.6.9, стор. 255, 326, 329).

10.5. Титрування вірусів

Під час виділення вірусів у чутливих біологічних системах виникає необхідність їхнього кількісного визначення в одиниці об'єму вірусомісного матеріалу, що важливо для наступної серологічної ідентифікації збудників. Віруси титрують за інфекційною та гемаглютинувальною активністю, відповідно визначають *інфекційний* і *гемаглютинувальний титри*.

10.5.1. Титрування вірусів за інфекційною активністю, оцінюваною за статистичним ефектом

Оскільки чутливість біологічних систем до вірусів (навіть високівірулентних штамів) коливається в широких межах, інфекційний титр у здебільшого можна визначити як статистичну величину. За одиницю інфекційного титру прийнята *50 %-ва ефективна доза – ЕД₅₀*. Це така доза вірусу, яка спричинює інфекційний ефект у 50% заражених біологічних систем. Залежно від виду тест-об'єкта і форми прояву інфекційної дії вірусу ЕД₅₀ називається по-різному в кожному конкретному випадку (табл. 7).

Таблиця 7

Значення ЕД₅₀

Тест-об'єкти	Інфекційна дія вірусу	Назви ЕД ₅₀
Лабораторні тварини	Загибель	ЛД ₅₀ – 50 %-ва летальна доза
	Клінічні ознаки або патологоанатомічні зміни	ІД ₅₀ – 50 %-ва інфекційна доза
Курячі ембріони	Загибель	ЕЛД ₅₀ – 50 %-ва ембріональна летальна доза
	Патологоанатомічні зміни	ЕІД ₅₀ – 50 %-ва ембріональна інфекційна доза
Культура клітин	Цитопатичний ефект	ТЦД ₅₀ – 50 %-ва тканинна цитопатична доза

Для визначення ЕД₅₀ готують ряд послідовних 10-разових розведень вірусу на 0,9 %-му розчині NaCl, розчині Хенкса або середовищі для культури клітин (залежно від виду тест-об'єкта). У кінцевих розведеннях інфекційна дія вірусу не повинна проявлятися. Кожним розведенням вірусу в однаковому об'ємі заражають рівну кількість чутливих тест-об'єктів (не менше 4). Спостерігають упродовж 5–12 діб, враховують результати дії вірусу (загибель, клінічні ознаки, патологоанатомічні зміни чи ЦПД). Розведення вірусу, яке зумовлює 50 %-й інфекційний ефект, розраховують статистичними методами, найчастіше за методом Ріда і Менча. Потім визначають, скільки ЕД₅₀ містить такий самий об'єм нерозведеного вірусу та перераховують кількість ЕД₅₀ на 1 мл вірусомісного матеріалу, що і буде показником титру вірусу.

Розрахунок ЕД₅₀ за методом Ріда і Менча. *Приклад:* протитрувати вірус ектромелії на білих мишках, заражаючи їх внутрішньочеревно в об'ємі по 0,5 мл по 6 мишок на одне розведення вірусу; титр вірусу визначити в ЛД₅₀.

Метод Ріда і Менча ґрунтується на інтерполяції фактичних результатів титрування й отриманні кумулятивних даних. Це дає змогу штучно збільшити кількість тест-об'єктів і відповідно зменшити погрішність розрахунку ЛД₅₀. Виходять із логічного припущення, що мишка, яка вижила в разі зараження високою дозою вірусу, тим більше виживе від меншої дози. І навпаки, тварина, що загинула від низької дози вірусу, тим більше загине від високої дози.

З огляду на це підсумовують фактичні дані (табл. 8). Спочатку отримують кумулятивні дані щодо тварин, які вижили, додаючи їхню кількість від більших доз вірусу до менших (↓).

Таблиця 8

Титрування вірусів за методом Ріда і Менча

Розведення вірусу	Фактичні дані		Кумулятивні дані			
	ви-жило ↓	заги-нуло ↑	ви-жило	заги-нуло	відношення загиблих до заражених	відсоток летальності
10 ⁻¹	0	6	0	17	17:17	100
10 ⁻²	1	5	1	11	11:12	91,7
10 ⁻³	2	4	3	6	6:9	66,7
10 ⁻⁴	4	2	7	2	2:9	22,2
10 ⁻⁵	6	0	13	0	0:13	0
10 ⁻⁶	6	0	19	0	0:19	0

Від розведення вірусу 10⁻¹ жодна мишка не вижила, а від розведення 10⁻² вижила одна. Ці цифри переписують у відповідну графу кумулятивних даних, оскільки нема що підсумовувати. Від розведення 10⁻³ фактично вижило 2 мишки плюс 1, що вижила від більшої дози вірусу (10⁻²), разом буде 3. Від розведення 10⁻⁴ фактично вижило 4 мишки плюс 1 і 2, які вижили від більших доз (10⁻² і 10⁻³), разом буде 7. Від розведення 10⁻⁵ фактично вижило 6 мишок плюс 1, 2, і 4, які вижили від більших доз (10⁻², 10⁻³ і 10⁻⁴), разом буде 13. А за розведення 10⁻⁶, якщо скласти всі дані, отримуємо 19 мишок.

Так само одержують кумулятивні дані щодо тварин, які загинули, підсумовуючи їхню кількість від менших доз вірусу до більших (↑). Потім вираховують відсоток летальності для кожного розведення вірусу, користуючись отриманими кумулятивними даними.

Розведення вірусу, яке містить 1 ЛД₅₀, визначають за формулою:

$$\lg \text{ЛД}_{50} = \lg B - \frac{b-50}{b-a} \times \lg d,$$

де $\lg \text{ЛД}_{50}$ – ступінь розведення вірусу, що містить 1 ЛД₅₀; B – розведення вірусу, яке дає ефект, більший ніж 50% (10⁻³); b – відсоток, що відповідає розведенню B (66,7); a – відсоток, що відповідає розведенню, яке дає ефект, менший ніж 50% (22,2); d – коефіцієнт розведення вірусу (10).

$$\lg \text{ЛД}_{50} = \lg 10^{-3} - \frac{66,7-50}{66,7-22,2} \times \lg 10 = -3 - \frac{16,7}{44,5} \times 1 = -3 - 0,37 = -3,37.$$

Отже, 0,5 мл вірусу, розведеного в 10^{-3,37} разів, містить 1 ЛД₅₀. Тоді в 0,5 мл нерозведеної вірусомісної суспензії міститься 10^{3,37} ЛД₅₀. Значить, титр вірусу становить:

$T = 10^{3,37} \text{ ЛД}_{50}/0,5 \text{ мл}$, або $2 \times 10^{3,37} \text{ ЛД}_{50}/\text{мл}$, або, якщо перевести в абсолютне число, 4688 ЛД₅₀/мл.

Розведення вірусу, яке містить 1 ЛД₅₀, можна знайти іншим способом:

$$X = \frac{b-50}{b-a} \times \lg d = \frac{66,7-50}{66,7-22,2} \times 1 = \frac{16,7}{44,5} = 0,37.$$

Різниця між відсотками вище 50% і 50% становить 16,7, а різниця між відсотками вище 50% і нижче 50% – 44,5. Відношення 16,7:44,5 показує, на яку величину відрізняється розведення вірусу 10⁻³ від того, що ми шукаємо, якщо його помножити на логарифм коефіцієнта розведення ($\lg 10 = 1$): $10^{-3-0,37} = 10^{-3,37}$. Далі визначають титр вірусу, як зазначено вище.

10.5.2. Титрування вірусів за інфекційною активністю, оцінюваною за одиничним ефектом

Інфекційну активність вірусів можна оцінити за одиничним ефектом – появі в тест-об'єктів локальних уражень, а саме: утворення бляшок у культурі клітин і віспин на ХАО курячого ембріона. Відповідно інфекційний титр вірусів визначають у *бляшкоутворювальних одиницях (БУО)* і *віспоутворювальних одиницях (ВУО)*. **1 БУО** – це доза вірусу, яка спричинює утворення однієї бляшки в культурі клітин. **1 ВУО** – це доза вірусу, яка спричинює утворення однієї віспини на ХАО курячого ембріона.

Для визначення інфекційного титру вірусу в БУО або ВУО певним розведенням вірусомісного матеріалу в однаковому об'ємі

заражають кілька матраців із культурою клітин або курячих ембріонів на ХАО. Через відповідний час підраховують кількість бляшок або віспин. Титр вірусу визначають за формулою:

$$T = \frac{n}{V \times a},$$

де n – середнє арифметичне кількості бляшок на один матрац або віспин на один курячий ембріон; V – об'єм вірусу; a – розведення вірусу.

Приклад. Визначити титр вірусу віспи курей у суспензії зі шматочків ураженої шкіри. Вірусомісним матеріалом у розведенні 1 : 10 заразили 4 курячі ембріони на ХАО в об'ємі по 0,2 мл. Через 6 діб інкубації зробили розтин курячих ембріонів і підраховали кількість віспин. Їх виявилось 9, 7, 10 і 14.

$$n = \frac{9 + 7 + 10 + 14}{4} = \frac{40}{4} = 10$$

$$V = 0,2 \text{ мл}$$

$$a = 1 : 10 = 0,1$$

$$T = \frac{10}{0,2 \times 0,1} = \frac{10}{0,02} = 500 \text{ ВУО / мл.}$$

Визначення інфекційної активності вірусу за бляшкоутворенням є вірогідним методом, на один-два порядки чутливішим від титрування за цитопатичним ефектом. Проте він має технічні труднощі, пов'язані з отриманням бляшок. Стосовно віспин, то використання їх для титрування вірусів обмежується досить нечисленною групою вірусів, здатних утворювати некротичні вогнища на ХАО курячого ембріона.

10.5.3. Титрування вірусів за гемаглютинувальною активністю

Гемаглютинація – це здатність вірусів склеювати еритроцити за рахунок протейну *гемаглютиніну*, який знаходиться в капсидній або суперкапсидній оболонці віріонів (залежно від складності їхньої організації). Механізм гемаглютинації полягає в адсорбції віріонів на поверхні еритроцитів та утворенні «містків» між ними, внаслідок чого еритроцити склеюються й осідають на дно пробірки або лунки планшета у вигляді «парасольки». Неаглютиновані еритроцити осідають у вигляді «гудзика» (рис. 99, стор. 305). Процес гемаглютинації є оборотним. Віруси, що адсорбувалися на еритроцитах, можуть

звільнитися з їхньої поверхні під дією вірусного ензиму *нейрамінідази*.

Кожний гемаглютинувальний вірус здатний склеювати еритроцити тварин певних видів, за відповідної температури й рН середовища (табл. 9, стор. 306–310). *Реакція гемаглютинації (РГА)* дає змогу швидко виявити гемаглютинувальні віруси в патологічному матеріалі від хворих тварин і заражених лабораторних тварин, в алантоїсній та амніотичній рідині курячих ембріонів і в культуральній рідині.

У РГА визначають гемаглютинувальний титр вірусу, який вимірюється в *гемаглютинувальних одиницях (ГАО)*. Для цього готують дворазові розведення вірусу на 0,9%-му розчині NaCl в однаковому об'ємі (0,5 мл, 0,2 мл, 0,1 мл, найчастіше – 0,05 мл, 0,025 мл або 0,02 мл). До кожного розведення вірусу додають такий самий об'єм 1%-ї суспензії еритроцитів певного виду. В останню лунку вірус не вносять, а залишають для контролю еритроцитів на спонтанну гемаглютинацію. Планшети струшують і витримують певний час за відповідної температури (4 °C, 18...22 °C або 37 °C) залежно від виду вірусу. Найчастіше експозиція становить 60 хв за кімнатної температури.

Результати реакції оцінюють у плюсах після повного осідання еритроцитів у контрольній лунці (рис. 100, стор. 306):

++++ – всі еритроцити аглютиновані й утворюють суцільний шар у вигляді «парасольки» з опалими краями;

+++ – всі еритроцити аглютиновані й утворюють «парасольку» з рівними краями;

++ – більшість еритроцитів аглютинована й утворює «парасольку», по краях якої відмічається тонке кільце з неаглютинованих еритроцитів;

+ – більшість еритроцитів не аглютинована й утворює осад у вигляді «гудзика», по краях якого є незначна «парасолька» (або по краях «парасольки» розміщується широке кільце з неаглютинованих еритроцитів);

– – всі еритроцити не аглютиновані й осіли у вигляді «гудзика» з рівними краями.

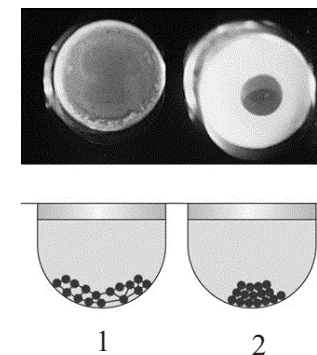


Рис. 99. Результат РГА:

- 1 – осад еритроцитів у вигляді «парасольки»;
2 – осад еритроцитів у вигляді «гудзика»
(Cummings B., 2007)

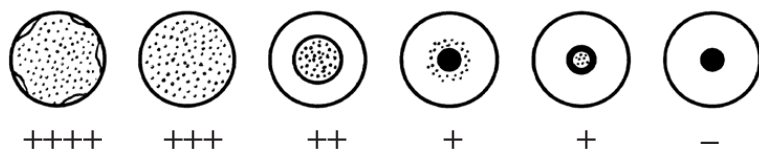


Рис. 100. Оцінка результатів РГА

За **1 ГАО** приймають найбільше розведення вірусу, яке спричинює чітко виражену гемаглютинацію (не менше ніж на 2 плюси). Кількість ГАО в нерозведеній вірусомісній суспензії виражає титр вірусу.

Показником гемаглютинувального титру вірусу є число, обернено пропорціональне його розведенню. Наприклад, якщо 1 ГАО міститься в розведенні вірусу 1:128, то його титр становить 128 ГАО. У разі позначення гемаглютинувального титру об'єм вірусомісного матеріалу можна не вказувати, оскільки об'єм титрування не має істотного впливу на результати РГА (завжди змішують рівні об'єми вірусу та 1%-ї суспензії еритроцитів).

Таблиця 9

Гемаглютинувальні властивості вірусів тварин

Віруси	Еритроцити	Температура, °С	pH
1	2	3	4
Поксвіруси			
Вірус віспи корів	Курки	37	6,0–8,0
Вірус віспи птахів	Курки	37	7,2–7,4
Вірус вісповакцини	Курки	37	6,0–8,0
Вірус орф (збудник контагіозної екцими овець і кіз)	Курки	37	6,0–8,0
Герпесвіруси			
Альфагерпесвірус ВРХ 1 (збудник інфекційного ринотрахеїту ВРХ)	Миші, пацюка, хом'яка, мурчака, людини (0 група крові)*	4	7,2
Альфагерпесвіруси коней 1 і 4 (збудники вірусного аборту кобил і ринопневмонії коней)	Коня, мурчака	4, 37	7,2
Альфагерпесвірус качиних 1 (збудник чуми качок)	Курки, качки, коня, барана	4	7,2

Таблиця 9 (продовження)

1	2	3	4
Аденовіруси			
Мастаденовіруси ВРХ А, В і С, атаденовірус ВРХ D (збудники аденовірусної інфекції ВРХ)	Миші, пацюка	4	7,2–7,4
Мастаденовіруси овець А, В і С (збудники аденовірусної інфекції овець)	Миші, пацюка	4	7,2
Мастаденовіруси свиней А, В і С (збудники аденовірусної інфекції свиней)	Миші, пацюка, мурчака, мавпи, людини (0 група крові)	4, 37	7,2
Мастаденовіруси коней А і В (збудники аденовірусної інфекції коней)	Пацюка, кроля, коня, корови, вівці, людини (0 група крові)	4	7,2
Мастаденовірус собак А (збудник аденовірусної інфекції собак)	Пацюка, мурчака, людини (0 група крові)	18–22	6,5–7,5
Авіадееновірус птахів А (збудник аденовірусної інфекції птахів)	Пацюка	37	7,2
Атаденовірус качок А (збудник синдрому зниження несучості)	Курки, качки, гуски, голуба, пави, людини (0 група крові)	4, 18–22, 37	7,2
Папіломавіруси			
Епсилонпапіломавірус 1, ксіпапіломавірус 1, дельтапапіломавірус 4 (збудники папіломатозу ВРХ)	Миші	4–12	6,8–8,4
Парвовіруси			
Бокапарвовірус копитних 1 (збудник парвовірусної інфекції ВРХ)	Коня, барана, кози, собаки, мурчака, хом'яка, качки, гуски, людини (0 група крові)	4	5,0–8,0
Протопарвовірус копитних 1 (збудник парвовірусної інфекції свиней)	Мурчака, миші, пацюка, kota, мавпи, курчати, людини (0 група крові)	4	7,2
Протопарвовірус м'ясоїдних 1 (штами збудника парвовірусної інфекції собак)	Свині, kota, мавпи	4, 18–22	5,8–8,2

Таблиця 9 (продовження)

1	2	3	4
Протопарвовірус м'ясо-їдних 1 (штами збудника парвовірусної інфекції котів)	Свині	4	6,8
Протопарвовірус м'ясо-їдних 1 (штами збудника вірусного ентериту порок)	Свині, кота, барана, корови, норки, лисиці, курки	4	6,5–6,8
Параміксовіруси			
Респіровірус ВРХ 3 (збудник парагрипу-3 ВРХ)	Мурчака, кроля, миші, корови, вівці, кози, свині, буйвола, мавпи, голуба, гуски, індика	4, 18–22, 37	5,7–7,2
Морбіллівірус чуми ВРХ (збудник чуми ВРХ)	Мавпи, кроля, мурчака, миші, пацюка**	18–22	7,2
Орторубулавірус свиней (збудник синдрому «блакитне око» свиней)	Мурчака, кроля, миші, пацюка, хом'яка, корови, кози, свині, коня, кота, собаки, курчати, людини (0, А, В і АВ групи крові)	37	7,2
Респіровірус свиней 1 (збудник парагрипу свиней)	Мурчака, кроля, миші, пацюка, хом'яка, корови, барана, свині, курки, голуба, мавпи, людини (0 група крові)	18–22, 37	7,2
Морбіллівірус чуми собак (збудник чуми м'ясоїдних)	Курки, мурчака	18–22	7,0
Ортоавулавірус птахів 1 (збудник ньюкаслської хвороби)	Курки, голуба, індика, мурчака, миші, корови, вівці, кози, свині, коня, людини (0 група крові)	18–22	7,2
Метаавулавірус птахів 2 (збудник парагрипу-2 птахів)	Курки, качки, мурчака, миші, пацюка, корови	18–22	7,2
Рабдовіруси			
Ліссавірус сказу (збудник сказу)	Гуски, курки, мавпи, мурчака, пацюка, вівці, людини (0 група крові)	0–4	6,2–6,4
Везикуловіруси Індіана, Алагоас, Кокал, Нью-Джерсі (збудники везикулярного стоматиту)	Гуски	4	5,8

Таблиця 9 (продовження)

1	2	3	4
Ортоміксовіруси			
Вірус грипу А (штами збудника грипу свиней)	Курки, качки, галки, тхора, мурчака, пацюка, собаки, їжака, людини (0 група крові)	18–22	7,2
Вірус грипу А (штами збудника грипу коней)	Курки, качки, гуски, голуба, мурчака, пацюка, миші, хом'яка, кроля, кота, собаки, корови, вівці, свині, коня, людини (0 група крові)	18–22	7,2
Вірус грипу А (штами збудника грипу птахів)	Курки, качки, мурчака, пацюка, кроля, корови, вівці, свині, коня, людини (0 група крові)	18–22	7,2
Фенуївіруси			
Флебовірус гарячки долини Ріфт (збудник гарячки долини Ріфт)	Курчати, миші, мурчака, людини (А група крові)	25 °С	6,5
Тогавіруси			
Віруси енцефаломієлітів коней (західного, східного і венесуельського)	Курчати, гуски	4, 18–22, 37	5,8–6,2
Флавівіруси			
Вірус японського енцефаліту	Курчати, півня, гуски, голуба, барана, мурчака, кроля	18–22	6,0–6,5
Вірус менінгоенцефаліту індиків Ізраїля	Гуски	18–22	6,2–6,4
Коронавіруси			
Бетакоронавірус 1 (штами збудника коронавірусної інфекції ВРХ)	Миші, пацюка, хом'яка	18–22	7,2
Бетакоронавірус 1 (штами збудника енцефаломієліту свиней)	Мурчака, пацюка, кота, курки	4	7,2
Альфакоронавірус 1 (збудник інфекційного гастро-ентериту свиней)	Курчати, мурчака, корови	4	7,2
Коронавірус птахів (збудник інфекційного бронхіту курей)	курки***	18–22, 37	7,2

Таблиця 9 (закінчення)

1	2	3	4
Пікорнавіруси			
Ентеровірус Е (збудник ентеровірусної інфекції ВРХ)	Пацюка, мурчака, мавпи, корови, вівці, коня	4	7,2
Кардіовірус А (збудник енцефаломіокардиту свиней)	Мурчака, пацюка, коня, барана, собаки	4, 18–22	8,0
Каліцівіруси			
Вірус геморагічної хвороби кролів	Вівці, курки, людини (0 група крові)	18–22	7,2
Ретровіруси			
Вірус лейкозу ВРХ	Миші	4	6,0
Вірус інфекційної анемії коней	Мурчака	4, 18–22, 37	5,5–7,5
Реовіруси			
Ортореовірус ссавців (збудник реовірусної інфекції ВРХ)	Корови, людини (0, А, В і АВ групи крові)	4, 18–22, 37	7,2
Ротавіруси А, В і С (штами збудників ротавірусної інфекції ВРХ)	Мурчака, людини (0 група крові)	37	7,2–7,4
Ротавіруси А, В і С (штами збудників ротавірусної інфекції свиней)	Мурчака, свині, людини (0, А і В групи крові)	4	7,2
Вірус блутанга (збудник інфекційної катаральної гарячки овець)	Вівці, кроля, гуски, людини (0 група крові)	4, 18–22, 37	6,0–9,0
Вірус африканської чуми коней	Коня	37	6,4

Примітка: * після попередньої концентрації вірусу ПЕГ-6000 або ультрацентрифугуванням;

** після попереднього екстрагування гемаглютиніну з інфікованої культури клітин і концентрації в 20 разів діалізом;

*** після попередньої обробки вірусу трипсином або фосфоліпазою С.

10.6. Серологічні реакції

10.6.1. Загальні принципи серологічних реакцій

В основі *серологічних реакцій* лежить специфічна взаємодія антигенів (вірусних протеїнів) та антитіл. Серологічні реакції мають дуже важливе значення в лабораторній діагностиці вірусних інфекцій тварин. Їх широко використовують у повсякденній діагностичній практиці, а саме: 1) для *експрес-діагностики* – швидкого виявлення вірусних антигенів безпосередньо в патологічному матеріалі від хворих і загиблених тварин; 2) для *ідентифікації вірусу*, виділеного в чутливих біологічних системах (лабораторних тваринах, курячих ембріонах або культурах клітин); 3) для *серологічної (ретроспективної) діагностики* – встановлення зростання титру антитіл у парних сироватках крові тварин-реконвалесцентів.

У вірусологічній практиці найчастіше застосовують такі серологічні реакції, як реакція нейтралізації (РН), реакція гальмування гемаглютинації (РГГА), реакція непрямой гемаглютинації (РНГА), реакція гальмування гемадсорбції (РГГАд), реакція зв'язування комплементу (РЗК), реакція дифузійної преципітації (РДП), реакція імуофлуоресценції (РІФ), імуоферментний аналіз (ІФА), імуохроματοграфічний аналіз (ІХА). Вибір серологічної реакції для ідентифікації вірусу або антитіл визначається в основному властивостями самого збудника, а також можливостями лабораторії та кваліфікацією персоналу. У кожній серологічній реакції є свої переваги і недоліки.

З метою швидкого виявлення вірусних антигенів у патологічному матеріалі найчастіше використовують РІФ та ІФА. Для серологічної ідентифікації ізольованих у лабораторних об'єктах вірусів застосовують РГГА, коли збудник виявив гемаглютинувальні властивості. Якщо вірус виділяли в культурі клітин і він виявив гемадсорбтивні властивості, тоді ідентифікують його у РГГАд. За відсутності гемаглютинувальних і гемадсорбтивних властивостей ідентифікацію вірусу проводять за допомогою РН у тій біологічній системі, в якій він був виділений. Якщо вірус нецитопатогенний, тоді надійним методом ідентифікації його в культурі клітин є РІФ.

За ретроспективної діагностики треба мати на увазі, що в сироватках крові тварин-реконвалесцентів, окрім антитіл, завжди містяться *вірусні інгібітори* (термолабільні й термостабільні). Вони можуть імітувати позитивний результат серологічних реакцій і призвести до діагностичної помилки, у зв'язку з чим їх потрібно інактивувати.

Від *термолабільних інгібіторів* сироватки крові звільняють прогріванням за 56...60 °С упродовж 30 хв. Для видалення *термостабільних інгібіторів* застосовують різні методи обробки сироваток (каоліном, бентонітом, активованим вугіллям тощо) залежно від виду тварини, від якої отримана сироватка, і вірусу, що використовується як антиген у серологічній реакції.

У разі дослідження сироваток крові в таких серологічних реакціях, як РГГА і РНГА, треба враховувати наявність сироваткових неспецифічних аглютининів проти еритроцитів тварин. Для видалення цих аглютининів досліджувані сироватки обробляють еритроцитами тварин того виду, які будуть використані в реакції.

Під час проведення РЗК треба враховувати *антикомплементарну активність* сироваток, тобто здатність зв'язувати комплемент і таким чином перешкоджати гемолізу еритроцитів. Для позбавлення сироваток антикомплементарних властивостей їх обробляють комплементом мурчака, ембріональною сироваткою, вуглекислим газом та ін.

Для постановки серологічних реакцій біологічна промисловість випускає *набори діагностиків*, які складаються з антигенів і сироваток (специфічних, нормальних) та розраховані на проведення комплексних досліджень: експрес-діагностики, ідентифікації ізольованих у лабораторних об'єктах вірусів і ретроспективної діагностики. *Специфічні антигени* отримують з ембріональних рідин (алантоїсної, амніотичної) заражених курячих ембріонів або з культуральних вірусомісних рідин, а *нормальні антигени* – від незаражених біологічних об'єктів або із суспензій тканин здорових тварин. *Специфічні сироватки* отримують шляхом імунізації тварин-донорів, а *нормальні сироватки* беруть від здорових тварин. Технологія виготовлення та контроль діагностиків (на стерильність, активність і специфічність) здійснюється на біофабриках згідно з діючими інструкціями. На кожному діагностикум затверджена настанова щодо його практичного використання в умовах лабораторії. Деякі діагностичні набори готують експериментальними серіями в науково-дослідних закладах. Нині лабораторії використовують діагностичні набори для діагностики багатьох вірусних інфекцій тварин, зокрема сказу, ящуру, лейкозу ВРХ, парагрипу-3 ВРХ, інфекційного ринотрахеїту ВРХ, хвороби Тешена, інфекційної анемії коней, грипу коней, грипу птахів, ньюкаслської хвороби, інфекційного бронхіту курей, лейкозу птахів.

10.6.2. Реакція нейтралізації

Реакція нейтралізації (РН) ґрунтується на властивості антитіл блокувати інфекційну активність вірусу, тобто його здатність репродукуватися в чутливих біологічних системах. Вірусонейтралізувальна дія антитіл полягає в їхній взаємодії з прикріплювальними протеїнами віріона, відповідальними за його адсорбцію на клітині (рис. 101).

РН ставлять на лабораторних тваринах (найчастіше новонароджених білих мишенятах), курячих ембріонах або в культурах клітин та оцінюють результати за *відсутністю інфекційного ефекту*, а саме: 1) у лабораторних тварин – відсутність захворювання і загибелі; 2) у курячих ембріонах – відсутність загибелі та патологоанатомічних змін; 3) у культурах клітин – відсутність ЦПД, бляшок і гемадсорбції.

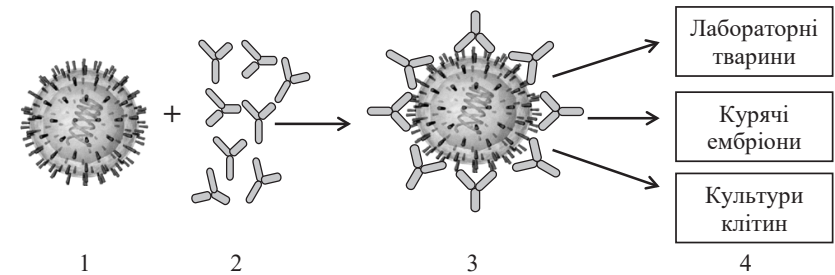


Рис. 101. Схема РН:

1 – вірус; 2 – антитіла; 3 – блокування антитілами вірусних прикріплювальних протеїнів; 4 – зараження тест-об'єктів

Виявлення антитіл у РН

Компоненти реакції: 1) досліджувані сироватки; 2) вірус; 3) тест-об'єкти (лабораторні тварини, курячі ембріони, пробірки або мікропланшети з культурою клітин); 4) 0,9%-й розчин NaCl, розчин Хенкса або середовище для культури клітин (для розведення сироваток і вірусу).

Постановка РН

1. *Визначення робочої дози вірусу.*

Проводять титрування вірусу за методом Ріда і Менча, визначають 1 ЕД₅₀ (див. підпункт 10.5.1, стор. 301). Для основного дослідження готують робочу дозу вірусу з таким розрахунком, щоб у кожний тест-об'єкт потрапило під час зараження 100 або 1000 ЕД₅₀.

2. *Основний дослід РН.*

а) готують дворазові розведення досліджуваної сироватки від 1:4 до 1:256 в однаковому об'ємі (в разі постановки реакції

на новонароджених мишенятах – 0,1–0,5 мл залежно від методу зараження; за постановки реакції на курячих ембріонах і в культурі клітин – 0,5 мл);

б) до кожного розведення сироватки додають такий самий об'єм вірусу в робочій дозі 100 або 1000 ЕД₅₀ на один тест-об'єкт;

в) суміші сироватки з вірусом струшують і витримують 1–2 год за кімнатної температури або 37 °С чи 16–18 год за 4 °С залежно від виду вірусу;

г) кожною сумішню сироватки з вірусом заражають по 4 тест-об'єкти в однаковому об'ємі (мишенятам інокують по 0,01 мл і/ц і 0,1–0,2 мл в/ч або п/ш; курячим ембріонам – по 0,2 мл; у пробірки з культурою клітин – по 0,2 мл суміші та 0,8 мл середовища; в лунки мікропланшетів із культурою клітин – по 0,1 мл суміші та 0,1 мл середовища);

д) за зараженими тест-об'єктами спостерігають 5–12 діб, враховують результати;

е) розраховують за методом Ріда і Менча розведення сироватки, яке захищає 50% тест-об'єктів від інфекційної дії вірусу в робочій дозі 100 або 1000 ЕД₅₀ на один тест-об'єкт. Це розведення сироватки є показником *титру вірусонейтралізувальних антитіл*;

є) одночасно ставлять *контролі*:

– контроль вірусу на інфекційну активність (вірус у робочій дозі 100 або 1000 ЕД₅₀ на один тест-об'єкт розводять 1:2 і заражають 4 тест-об'єкти);

– контроль робочої дози вірусу 100 або 1000 ЕД₅₀ на один тест-об'єкт (готують 10-разові розведення робочої дози вірусу включно до 0,1 ЕД₅₀ і заражають кожним розведенням по 4 тест-об'єкти);

– контроль сироватки на токсичність (сироватку в розведенні 1:8 інокують 4 тест-об'єктам);

– контроль тест-об'єктів (4 тест-об'єкти залишають незараженими, в пробірках із культурою клітин змінюють живильне середовище).

Вищенаведену методику постановки РН можна застосовувати і для *ідентифікації виділеного вірусу*. Для цього до дворазових розведень специфічної та нормальної сироваток додають такий самий об'єм досліджуваного вірусу в робочій дозі 100 або 1000 ЕД₅₀ на один тест-об'єкт і після контакту заражають чутливі тест-об'єкти. Вірус вважається ідентифікованим, якщо специфічна сироватка нейтралізує інфекційну активність досліджуваного збудника до її титру за умови прояву інфекційного ефекту в присутності нормальної сироватки.

Перевага РН в її універсальності: РН можна ставити з усіма вірусами і на всіх біологічних об'єктах, що використовуються для виділення та культивування збудників. Проте ця реакція дуже трудомістка, потребує багато часу, зусиль і матеріальних затрат.

10.6.3. Реакція гальмування гемаглютинації

Реакція гальмування гемаглютинації (РГГА) (син.: *реакція затримки гемаглютинації – РЗГА*) ґрунтується та здатності антитіл гальмувати гемаглютинувальну активність вірусів за рахунок блокування гемаглютиніну на поверхні віріона (рис. 102). РГГА використовується для лабораторної діагностики грипу А ссавців і птахів, парагрипу-3 ВРХ, чуми м'ясоїдних, ньюкаслської хвороби та багатьох інших вірусних інфекцій, спричинених гемаглютинувальними вірусами.

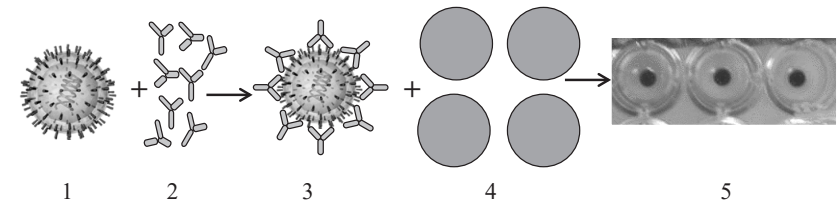


Рис. 102. Схема РГГА:

1 – вірус; 2 – антитіла; 3 – блокування антитілами вірусного гемаглютиніну; 4 – еритроцити; 5 – затримка гемаглютинації

Виявлення антитіл у РГГА

Компоненти реакції: 1) досліджувані сироватки; 2) специфічна і нормальна сироватки; 3) вірус; 4) 1%-ва суспензія еритроцитів; 5) 0,9%-й розчин NaCl.

Постановка РГГА

1. *Визначення робочої дози вірусу*.

Вірус титрують у РГА в об'ємі 0,02 мл, визначають 1 ГАО (див. підпункт 10.5.3, стор. 304). Для основного дослідження беруть вірус у робочій дозі 4 ГАО. Наприклад, якщо 1 ГАО встановлена при розведенні вірусу 1:128, тоді для приготування робочої дози 4 ГАО вірус розводять 1:32, тобто до 1 мл вірусу додають 31 мл 0,9%-го розчину NaCl.

2. *Контроль робочої дози вірусу 4 ГАО*.

а) у чотирьох лунках готують дворазові розведення робочої дози вірусу 4 ГАО на 0,9%-му розчині NaCl в об'ємі 0,02 мл;

б) у всі лунки додають по 0,02 мл 1%-ї суспензії еритроцитів;

в) планшети струшують і залишають за кімнатної температури на 60 хв;

г) у разі правильного вибору робочої дози вірусу в першій і другій лунках, які містять відповідно 2 ГАО та 1 ГАО, має бути чітка гемаглютинація (на 3 і 2 плюси), а в третій і четвертій лунках, де є 0,5 ГАО і 0,25 ГАО, гемаглютинації не повинно бути;

д) якщо отримують інші результати, то концентрацію вірусу в робочій дозі виправляють додаванням 0,9%-го розчину NaCl (якщо гемаглютинація спостерігається більше ніж у двох лунках) або вірусу (якщо гемаглютинація відмічається менше ніж у двох лунках) і наново ставлять контроль 4 ГАО.

3. Основний дослід РГГА.

а) готують дворазові розведення досліджуваної сироватки на 0,9%-му розчині NaCl від 1 : 10 до 1 : 1280 і вище в об'ємі 0,02 мл;

б) у всі лунки додають по 0,02 мл робочої дози вірусу 4 ГАО;

в) планшети струшують і витримують від 30 хв до 18 год за відповідної температури (4 °С, 18...22 °С або 37 °С) залежно від виду вірусу. Найчастіше експозиція становить 30–60 хв за кімнатної температури;

г) у всі лунки додають по 0,02 мл 1%-ї суспензії еритроцитів*;

д) планшети струшують і витримують 60–90 хв за кімнатної температури;

е) за *титр антитіл* приймають найвище розведення сироватки, яке спричинює повне гальмування гемаглютинації;

є) одночасно ставлять *контролі*:

– контроль досліджуваної сироватки (0,04 мл сироватки в розведенні 1 : 10 + 0,02 мл 1%-ї суспензії еритроцитів);

– контроль еритроцитів (0,02 мл 1%-ї суспензії еритроцитів + 0,04 мл 0,9%-го розчину NaCl);

– контроль специфічності (постановка основного дослід РГГА зі специфічною й нормальною сироватками).

Цю методику використовують і для *ідентифікації вірусу*. Для цього до дворазових розведень специфічної та нормальної сироваток додають такий самий об'єм досліджуваного вірусу в робочій дозі 4 ГАО і після контакту – 1%-ву суспензію еритроцитів. Вірус вважається ідентифікованим, якщо специфічна сироватка гальмує гемаглютинувальну активність досліджуваного збудника до її титру за умови повної гемаглютинації в присутності нормальної сироватки.

* В іншій модифікації РГГА до суміші сироватки з вірусом додають такий самий об'єм 1%-ї суспензії еритроцитів (у цьому разі 0,04 мл).

Позитивним у РГГА є простота і доступність методики, висока чутливість, швидкість отримання результатів. Недолік реакції – вплив на результат неспецифічних інгібіторів гемаглютинації, які містяться в нормальних сироватках крові тварин і людини.

10.6.4. Реакція непрямой гемаглютинації

Реакція непрямой гемаглютинації (РНГА) (син.: *реакція пасивної гемаглютинації – РПГА*) ґрунтується на здатності еритроцитів, які сенсibiliзовані вірусними антигенами або антитілами, аглютинуватися в присутності гомологічних імунних компонентів (рис. 103).

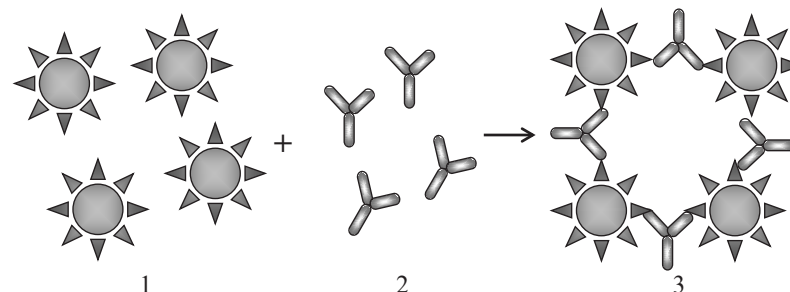


Рис. 103. Схема РНГА:

1 – еритроцитарний антиген; 2 – антитіла;

3 – аглютинація еритроцитарного антигену антитілами

Треба відрізнити РНГА від РГА: в РГА еритроцити склеюються в результаті їхньої безпосередньої взаємодії з вірусами, а в РНГА – комплексами антиген-антитіло. РНГА використовується для лабораторної діагностики багатьох вірусних інфекцій, зокрема ящуру, хвороби Ауескі, інфекційного ринотрахеїту ВРХ, аденовірусної інфекції ВРХ, класичної чуми свиней, лейкозу птахів, інфекційного ларинготрахеїту птахів, реовірусної інфекції птахів, синдрому зниження несучості, вірусного гепатиту каченят.

Виявлення антитіл у РНГА

Компоненти реакції: 1) досліджувані сироватки; 2) специфічна і нормальна сироватки; 3) 1%-й антигенний еритроцитарний діагностикум (еритроцитарний антиген); 4) 0,9%-й розчин NaCl (з 1% НСК).

Приготування еритроцитарного антигену (мастаденовірусів ВРХ А, В, С, атаденовірусу ВРХ D) складається з таких етапів:

1) *стабілізація еритроцитів* барана або людини 0 групи крові формаліном 2 год за 37 °С, унаслідок чого вони можуть зберігатися за 4 °С кілька років, не гемолізуючись;

2) *танізація еритроцитів* – обробка формалінованих еритроцитів розчином таніну (1 : 20 тис.) 10–15 хв за 37 °С; танізовані еритроцити мають високу здатність адсорбувати протеїни, в тому числі вірусні антигени; їх можна зберігати за 4 °С до 7 діб;

3) *сенсibiliзація еритроцитів* – обробка танізованих еритроцитів вірусомісною культуральною рідиною впродовж 60 хв за 37 °С; відмиті сенсibiliзовані еритроцити розводять на ФБР (з 1% НСК) до 1%-ї концентрації.

Постановка РНГА

1. Готують дворазові розведення досліджуваної сироватки від 1 : 10 до 1 : 1280 на 0,9%-му розчині NaCl (рН 7,2–7,4 з 1% НСК) в об'ємі 0,02 мл.

2. До кожного розведення сироватки додають по 0,02 мл 1%-го еритроцитарного антигену.

3. Планшети струшують і витримують 1,5–2 год за кімнатної температури.

4. Результати реакції оцінюють так само, як РГА (див. стор. 305).

5. За *титр антитіл* приймають найвище розведення сироватки, яке зумовлює гемаглютинацію не менше ніж на 2 плюси.

6. Одночасно ставлять *контролі*:

– контроль еритроцитарного антигену (0,02 мл 1%-го еритроцитарного антигену + 0,02 мл 0,9%-го розчину NaCl з 1% НСК);

– контроль специфічності (постановка РНГА зі специфічною й нормальною сироватками).

Для ідентифікації деяких вірусів (наприклад вірусу ящуру, песті-вірусу С, альфагерпесвірусу свиней 1, авігепатовірусу А) використовують *антитільні еритроцитарні діагностикуми*. Вони являють собою еритроцити, сенсibiliзовані імуноглобулінами, виділеними зі специфічних сироваток.

РНГА характеризується високою чутливістю, простою технікою постановки, швидкістю отримання результатів. Недолік реакції – труднощі в приготуванні стабільних еритроцитарних діагностикумів.

10.6.5. Реакції гальмування і нейтралізації гемадсорбції

Реакція гальмування гемадсорбції (РЗГАд) (син.: *реакція затримки гемадсорбції – РЗГАд*) ґрунтується на взаємодії антитіл із модифікованою плазмолемою клітин культури, яка заражена гемаглютинувальним вірусом, унаслідок чого клітини втрачають здатність адсорбувати еритроцити.

РЗГАд використовується для ідентифікації збудників грипу ссавців і птахів, парагрипу-3 ВРХ, ньюкаслської хвороби та інших гемаглютинувальних вірусів. Особливо цінна ця реакція в тих випадках, коли цитопатичні зміни клітин недостатньо виражені.

Ідентифікація вірусу в РЗГАд

Компоненти реакції: 1) досліджуваний вірус (пробірки або мікропланшети із зараженою культурою клітин); 2) специфічна сироватка; 3) 0,5%-ва суспензія еритроцитів; 4) розчин Хенкса.

Постановка РЗГАд

1. З 3–4 пробірок (або лунок мікропланшетів) з інфікованою культурою клітин зливають живильне середовище, культуру промивають двічі розчином Хенкса.

2. У половину пробірок додають по 0,2 мл специфічної сироватки і 0,6 мл розчину Хенкса (в лунки мікропланшетів – по 0,02 мл специфічної сироватки і 0,18 мл розчину Хенкса), в інші (контрольні) пробірки – тільки розчин Хенкса по 0,8 мл (у контрольні лунки мікропланшетів – по 0,2 мл). Витримують 20–30 хв за кімнатної температури.

3. У всі пробірки вносять по 0,2 мл 0,5%-ї суспензії еритроцитів (у лунки мікропланшетів – по 0,05 мл), витримують 10–15 хв за кімнатної температури або 30–40 хв за 4 °С (залежно від виду вірусу), злегка струшують і розглядають під малим збільшенням мікроскопа.

4. Вірус вважається ідентифікованим, якщо в пробірках (або лунках мікропланшетів) із специфічною сироваткою гемадсорбція відсутня, а в контрольних – наявна.

На явищі гемадсорбції ґрунтується *реакція нейтралізації гемадсорбції (РНГАд)*, яку використовують не тільки для ідентифікації виділеного вірусу, а й для *виявлення антитіл*. Спочатку визначають робочу дозу еталонного штаму вірусу. Для цього 10-разовими розведеннями вірусу заражають по 2–4 пробірки (або лунки мікропланшетів) із культурою клітин і через 3–5 діб ставлять РГАд (див. вище п. 3). Найвище розведення вірусу, яке зумовлює гемадсорбцію, приймають за *одну гемадсорбтивну одиницю* (1 ГАДО). Для основного дослідження беруть вірус у робочій дозі 100 ГАДО/0,1 мл (на одну пробірку або лунку мікропланшета із культурою клітин).

Дворазові розведення досліджуваної сироватки (від 1 : 4 до 1 : 256 і вище) змішують з еталонним штамом вірусу в робочій дозі 100 ГАДО/0,1 мл, після контакту заражають пробірки (або лунки мікропланшетів) з культурою клітин і через кілька днів ставлять РЗГАд. За *титр антитіл* приймають найвище розведення сироватки, за якого гемадсорбція не спостерігається.

Недоліком РГГАд і РНГАд є вплив на вірогідність результатів неспецифічних інгібіторів гемаглютинації, що містяться в сироватках, які використовують для постановки реакції.

10.6.6. Реакція зв'язування комплементу

Реакція зв'язування комплементу (РЗК) ґрунтується на взаємодії антигенів з антитілами в присутності комплементу. Реакція використовується для лабораторної діагностики багатьох вірусних інфекцій (ящур, везикулярний стоматит, хвороба Ауескі, аденовірусна інфекція ВРХ та ін.).

Компоненти РЗК: 1) вірусні антигени; 2) сироватки; 3) комплемент; 4) гемолізін (гемолітична сироватка); 5) 3%-ва суспензія еритроцитів барана.

У РЗК беруть участь *дві системи антиген-антитіло*: специфічна (вірусологічна) і гемолітична. До *специфічної системи* належать вірусні антигени і сироватки з гомологічними антитілами, а до *гемолітичної* – гемолізін та еритроцити барана.

Гемолізін – це сироватка крові кроля, імунізованого еритроцитами барана; містить антитіла до еритроцитів барана.

Комплемент – це складний комплекс протеїнів, присутніх у нормальній сироватці крові людини і тварин. Як комплемент використовують сироватку крові мурчака, що випускають на біофабриках у ліофілізованому вигляді. Комплемент має властивість приєднуватися до будь-якого комплексу антиген – антитіло (класів IgG і IgM). Це призводить до його активації з утворенням біологічно активних речовин, які спричиняють лізис антигену. Зокрема, в присутності гемолітичної сироватки комплемент зумовлює лізис еритроцитів барана (гемоліз).

Принцип постановки РЗК. Змішують вірус, сироватку і комплемент. Якщо вірусний антиген та антитіла гомологічні, утворюються імунні комплекси, які адсорбують комплемент, і за додавання гемолітичної системи спостерігається *затримка гемолізу*. У разі невідповідності антигену й антитіл комплемент залучається в реакцію з гемолітичною системою, внаслідок чого виникає *гемоліз* (рис. 104, стор. 321).

Вірусні антигени для РЗК отримують із заражених біологічних об'єктів: органів і тканин тварин, органів та екстраембріональних рідин курячих ембріонів, культуральної рідини. Тому в антигенних вірусних препаратах завжди міститься багато баластних речовин клітин хазяїна, що здатні адсорбувати комплемент за відсутності гомологічних антитіл. Інакше кажучи, вірусні антигени мають

антикомплементами, яких обов'язково потрібно позбутися. Для усунення антикомплемента антигени очищують від тканинних домішок шляхом обробки фторовуглецевими сполуками, ацетоном, ефіром, хлороформом, фреоном, β-пропіолактоном, метиловим або етиловим спиртом, а також багаторазовим заморожуванням і відтаванням.

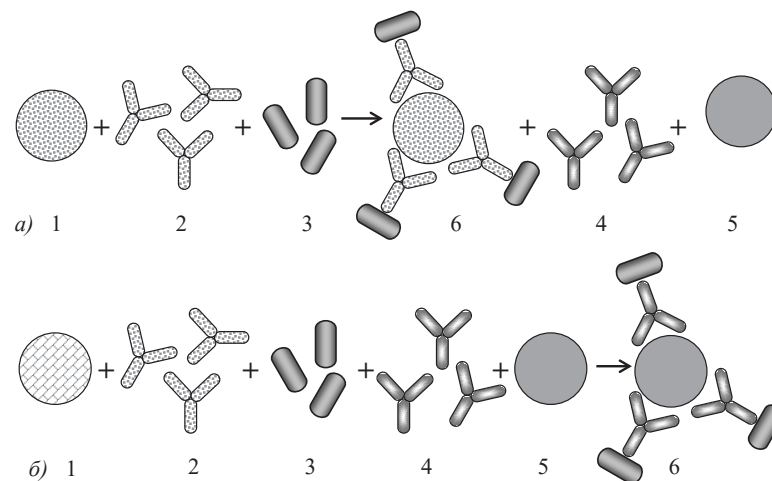


Рис. 104. Схема РЗК:

а – позитивна реакція; б – негативна реакція;
 1 – вірусний антиген; 2 – антитіла; 3 – комплемент;
 4 – гемолізін; 5 – еритроцити барана; 6 – імунні комплекси

Антикомплементація властива не лише вірусним антигенам, а й сироваткам, що також слід враховувати під час проведення реакції. Одним із найпоширеніших методів *позбавлення сироваток від антикомплементації* є обробка їх комплементом (3 об'єми сироватки + 1 об'єм комплементу, інкубація 16–18 год за 4 °С, а потім 30 хв за 37 °С). Після цього сироватки інактивують, як і в інших серологічних реакціях, за 56...60 °С 30 хв для руйнування неспецифічних вірусних інгібіторів і власного комплементу. Для запобігання появи антикомплементаційних властивостей сироватки зберігають у замороженому або ліофілізованому вигляді.

РЗК ставиться в кілька *етапів*: 1) титрування гемолізіну; 2) титрування комплементу; 3) основний дослід.

Для отримання вірогідних результатів РЗК обов'язково потрібно визначити оптимальну концентрацію всіх відомих її компонентів. Так,

за надлишку комплементу відбувається його зв'язування і з комплексом антиген-антитіло (якщо він утворився), і з гемолітичною системою, внаслідок чого може виникнути гемоліз і буде поставлений неправильний діагноз. Недостача комплементу зумовить затримку гемолізу в разі взаємодії його з гемолітичною системою і теж призведе до діагностичної помилки.

Реакцію можна ставити в різних об'ємах, найчастіше – по 0,02 мл кожного компонента. Треба мати на увазі, що загальний об'єм реакції є постійним. Тому за титрування тих чи інших компонентів або постановки контролю, якщо якийсь інгредієнт не використовується, замість нього дають 0,9%-й розчин NaCl.

Виявлення антитіл у РЗК

Компоненти реакції: 1) досліджувані сироватки; 2) специфічний і нормальний антигени; 3) специфічна і нормальна сироватки; 4) комплемент; 5) гемолізін; 6) 3%-ва суспензія еритроцитів барана; 7) 0,9%-й розчин NaCl.

Постановка РЗК

1. Титрування гемолізину.

Титрування гемолізину проводять при отриманні нової серії.

а) готують в об'ємі 0,02 мл розведення гемолізину 1:1000, 1:1500, 1:2000, 1:3000, 1:4000 і 1:5000 на 0,9%-му розчині NaCl;

б) до всіх розведень гемолізину додають по 0,02 мл комплементу 1:10 і 3%-ї суспензії еритроцитів барана, а також 0,04 мл 0,9%-го розчину NaCl (замість антигену і сироватки);

в) витримують у термостаті за 37 °C 10 хв;

г) результати реакції оцінюють у плюсах (після осідання еритроцитів):

++++ – 100%-ва затримка гемолізу (рідина безколірна, виражений осад еритроцитів);

+++ – 75%-ва затримка гемолізу (рідина злегка забарвлена, виражений осад еритроцитів);

++ – 50%-ва затримка гемолізу (рідина забарвлена, осад частини еритроцитів);

+ – 25%-ва затримка гемолізу (рідина інтенсивно забарвлена, незначний осад еритроцитів);

– – повний гемоліз (рідина інтенсивно забарвлена, осаду еритроцитів немає);

д) за *титр гемолізину* приймають найменшу його кількість, що спричинює повний лізис 3%-ї суспензії еритроцитів у присутності комплементу (1:10) за експозиції 10 хв за 37 °C;

е) для основного дослідження беруть гемолізін у потрібному титрі та готують гемолітичну систему, змішуючи рівні об'єми гемолізину в робочому титрі та 3%-ї суспензії еритроцитів барана. Перед використанням гемолітичну систему витримують 30 хв за 37 °C (для сенсibiliзації еритроцитів).

2. Титрування комплементу.

Титрування комплементу проводять у день постановки основного дослідження.

а) готують в об'ємі 0,02 мл розведення комплементу 1:10, 1:15, 1:20, 1:25, 1:30, 1:40, 1:60 і 1:80 на 0,9%-му розчині NaCl;

б) до всіх розведень комплементу додають по 0,04 мл гемолітичної системи та 0,9%-го розчину NaCl (замість антигену і сироватки);

в) витримують у термостаті за 37 °C 30 хв;

г) за *титр комплементу* приймають найменшу його кількість, у присутності якої гемолізін у потрібному титрі спричинює повний лізис 3%-ї суспензії еритроцитів за експозиції 30 хв за 37 °C;

д) для основного дослідження беруть комплемент у подвійному титрі й уточнюють його робочу дозу шляхом титрування в присутності антигенів (специфічного і нормального) і сироваток (досліджуваної, специфічної та нормальної), які мають різний ступінь антикомплементації.

3. Основний дослід РЗК.

а) готують дворазові розведення досліджуваної сироватки від 1:4 до 1:256 на 0,9%-му розчині NaCl в об'ємі 0,02 мл;

б) до кожного розведення сироватки додають по 0,02 мл специфічного антигену в робочій дозі, яку визначають шляхом титрування в присутності специфічної сироватки;

в) до кожної суміші сироватки з антигеном додають по 0,02 мл комплементу в робочій дозі, витримують 18–20 год за 4 °C (або 1 год за 37 °C) і 20–30 хв за кімнатної температури;

г) до кожної суміші сироватки, антигену і комплементу додають по 0,04 мл гемолітичної системи, витримують у термостаті за 37 °C 45 хв;

д) результати реакції оцінюють у плюсах зразу після прогрівання та остаточно – через 2 год експозиції за кімнатної температури;

е) за наявності в досліджуваній сироватці антитіл буде затримка гемолізу (на 2–4 плюси), а за їхньої відсутності спостерігається повний гемоліз. За *титр антитіл* приймають найвище розведення сироватки, яке спричинює затримку гемолізу не менше ніж на 2 плюси;

є) одночасно ставлять *контролі*:

– контроль специфічності (постановка основного досліді РЗК із специфічною та нормальною сироватками, досліджуваною сироваткою й нормальним антигеном);

– контроль сироваток (досліджуваної, специфічної та нормальної) на антикомплементарність (0,02 мл сироватки в розведенні 1:4 + 0,02 мл 0,9%-го розчину NaCl + 0,02 мл комплементу + 0,04 мл гемолітичної системи);

– контроль специфічного і нормального антигенів на антикомплементарність (0,02 мл антигену + 0,02 мл 0,9%-го розчину NaCl + 0,02 мл комплементу + 0,04 мл гемолітичної системи);

– контроль специфічного і нормального антигенів на гемотоксичність (0,02 мл антигену + 0,04 мл 0,9%-го розчину NaCl + 0,04 мл гемолітичної системи);

– контроль гемолітичної системи (з комплементом і без нього):

1) 0,04 мл гемолітичної системи + 0,02 мл комплементу + 0,04 мл 0,9%-го розчину NaCl;

2) 0,04 мл гемолітичної системи + 0,06 мл 0,9%-го розчину NaCl.

Цю методику РЗК можна застосовувати також для *ідентифікації вірусу*. Для цього до дворазових розведень досліджуваного вірусу від 1:4 до 1:8 додають специфічну сироватку (в робочій дозі, яку визначають шляхом титрування в присутності специфічного антигену), комплемент і після контакту – гемолітичну систему. Вірус вважається ідентифікованим, якщо відбувається 100%-ва затримка гемолізу в присутності специфічної сироватки за умови повного гемолізу в присутності нормальної сироватки.

Незважаючи на трудомісткість, РЗК має широке практичне застосування в лабораторній діагностиці багатьох вірусних хвороб тварин.

10.6.7. Реакція дифузійної преципітації

Реакція дифузійної преципітації (РДП) (син.: *реакція дифузійної преципітації в агарі – РДПА; реакція імунодифузії – РІД*) ґрунтується на здатності антигенів та антитіл дифундувати в агаровому гелі та в разі взаємодії утворювати лінії преципітації. Реакція використовується для лабораторної діагностики сказу, хвороби Ауескі, лейкозу ВРХ, аденовірусної інфекції ВРХ, хвороби Марека, віспи птахів та інших вірусних інфекцій.

Компоненти РДП: 1) досліджувані вірусомісні суспензії або сироватки; 2) специфічна і нормальна сироватки; 3) специфічний

і нормальний вірусні антигени; 4) 1–2%-й агар (найкраще фірми «Діфко», консервований фенолом 0,1% або натрію мертиоломатом 1:10 тис.); 5) 0,9%-й розчин NaCl.

Постановка РДП

1. На знежирені предметні скельця або в чашки Петрі наливають розплавлений 1–2%-й агар завтовшки 1–1,5 мм. Після застигання за допомогою металевих матриць вирізають лунки.

2. В одні лунки вносять досліджувані вірусомісні суспензії (або досліджувані сироватки – цільні чи у дворазових розведеннях), в інші – специфічні сироватки (або специфічні вірусні антигени) (рис. 105, 106 (стор. 326)).

3. Предметні скельця і чашки Петрі вміщують у вологу камеру, витримують 24–48 год за кімнатної температури або в термостаті за 37 °С.

4. Реакція вважається позитивною, якщо в агарі між лунками з досліджуваними вірусомісними суспензіями (досліджуваними сироватками) і специфічною сироваткою (специфічним вірусним антигеном) утворюються *білі лінії преципітації*. У разі ретроспективної діагностики за *титр антитіл* приймають найвище розведення сироватки, яке зумовлює утворення ліній преципітації.

5. Одночасно ставлять *контролі*:

– специфічна сироватка + специфічний антиген;

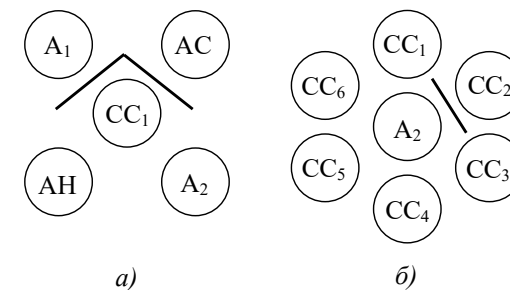
– специфічна сироватка + нормальний антиген (за ідентифікації вірусу);

– нормальна сироватка + специфічний антиген (у разі виявлення антитіл).

Перевагою РДП є проста техніка постановки, швидкість отримання результатів. Недолік – недостатня чутливість: у реакції виявляють антигени або антитіла за умови їхньої високої концентрації.

Рис. 105. Схема РДП:

A₁ – A₂ – досліджувані антигени;
AC – специфічний антиген;
AH – нормальний антиген;
CC₁ – CC₆ – специфічні сироватки



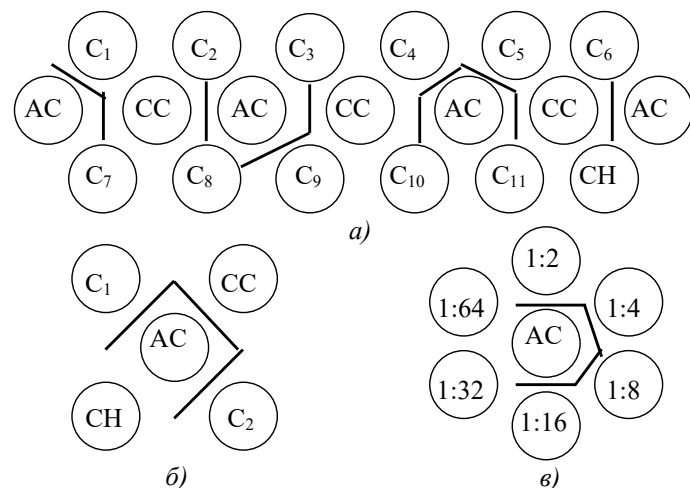


Рис. 106. Схема РДП для виявлення (а, б) і титрування (в) антитіл:

C₁ – C₁₁ – досліджувані сироватки; СС – специфічна сироватка; СН – нормальна сироватка; АС – специфічний антиген;
1 : 2–1 : 64 – розведення досліджуваної сироватки

10.6.8. Реакція імунофлуоресценції

Реакція імунофлуоресценції (РІФ) (син.: *метод флуоресціювальних антитіл – МФА*) ґрунтується на взаємодії антигенів із міченими флуорохромом антитілами, внаслідок чого виникає світіння за люмінесцентної мікроскопії під впливом ультрафіолетового випромінювання.

Для мічення антитіл із флуорохромів найчастіше використовують *флуоресцеїну ізотіоціанат (ФІТЦ)*, який зумовлює люмінесценцію зеленого кольору. РІФ застосовується для діагностики багатьох вірусних інфекцій (сказу, хвороби Ауескі, парагрипу-3 ВРХ, вірусної діареї ВРХ та ін.).

РІФ ставиться двома методами: прямим і непрямим.

Прямий метод РІФ (рис. 107, стор. 327)

Компоненти реакції: 1) досліджуваний вірус (мазки-відбитки або гістозрізи з патологічного матеріалу хворих тварин, препарати із зараженої культури клітин); 2) флуоресціювальні специфічна і нормальна сироватки; 3) немічені специфічна і нормальна сироватки; 4) препарати з органів здорових тварин або незараженої культури клітин.

Постановка РІФ

1. Препарати фіксують 10–15 хв в охолодженому ацетоні (–10...–15 °С), висушують на повітрі.

2. На препарати наносять флуоресціювальну специфічну сироватку, витримують 30 хв у вологій камері за кімнатної температури або у термостаті за 37 °С (залежно від виду вірусу).

3. Препарати відмивають 0,01 М ФБР (рН 7,2–7,4) тричі по 10 хв, споліскують дистильованою водою, висушують на повітрі й досліджують у люмінесцентному мікроскопі, застосовуючи нелюмінувальну імерсійну олію.

4. Результати реакції оцінюють у плюсах за інтенсивністю і специфічністю *флуоресценції* досліджуваного об'єкта в разі чіткої морфології клітин:

- ++++ – яскраве світіння смарагдово-зеленого кольору;
- +++ – яскраве світіння зеленого кольору;
- ++ – слабе світіння жовто-зеленого кольору;
- + – дуже слабе світіння невизначеного кольору;
- – відсутність флуоресценції.

5. Реакція вважається позитивною, якщо в препараті в трьох полях зору виявляється не менше як по 3–5 уражених вірусом клітин, що флуоресціюють яскраво-зеленим кольором на 3–4 плюси (внаслідок утворення комплексів антиген-антитіло). Флуоресценція буває *дифузною та гранулярною* залежно від виду вірусу і стадії його накопичення в клітині (рис. 108, 109, 110, стор. 328).

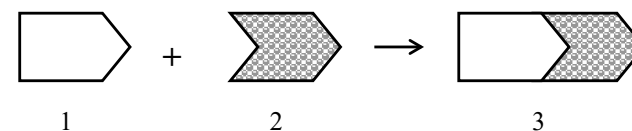


Рис. 107. Схема прямого методу РІФ:

1 – антиген; 2 – флуоресціювальне антитіло;
3 – флуоресціювальний імунний комплекс

За *непрямого методу РІФ (РНІФ)* досліджувані препарати обробляють двічі (рис. 111, стор. 328): спочатку неміченою специфічною сироваткою (30 хв у вологій камері за температури 18...22 °С або 37 °С), а потім після відмивання – флуоресціювальною антивидовою (антиглобуліновою) сироваткою. Її одержують шляхом імунізації тварини певного виду глобулінами, виділеними із сироватки тварини іншого виду, яка є продуцентом противірусної сироватки (наприклад,

антиглобулінові сироватки кроля отримують на віцях або козах). За наявності вірусного антигену виникає флуоресценція заражених клітин (унаслідок утворення складних комплексів антиген-антитіло-антивидове антитіло).

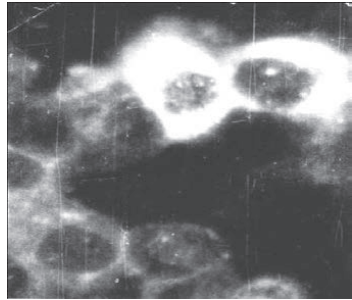


Рис. 108. Дифузне світіння антигена ротавірусу В у перещеплюваній культурі клітин MDBK
(Скибіцький В. Г., 1994)

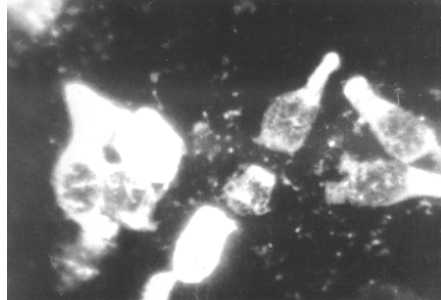


Рис. 109. Дифузне світіння антигена пестівірусу А в епітеліальних клітинах слизової оболонки тонкого кишечника теляти
(Калініна О. С., 1983)

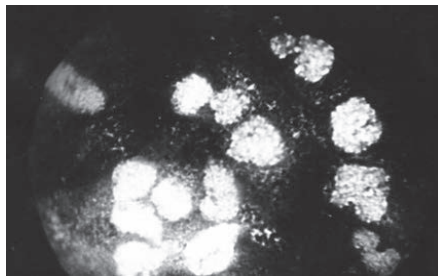


Рис. 110. Гранулярне світіння антигена авіаденовірусу птахів А в гепатоцитах курки
(Панікар І. І., 1990)

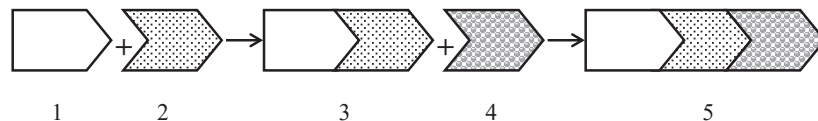


Рис. 111. Схема непрямого методу РІФ:
1 – антиген; 2 – антитіло; 3 – імунний комплекс;
4 – флуоресціювальне антивидове антитіло;
5 – флуоресціювальний імунний комплекс

Непрямий метод РІФ має *переваги*. Він потребує лише однієї флуоресціювальної сироватки – антивидової, за допомогою якої можна виявити антигени різних вірусів (за умови, що специфічні сироватки до цих вірусів отримані шляхом імунізації тварин одного виду). Крім того, РНІФ використовується не лише для ідентифікації вірусу, а й для *виявлення антитіл*. Для цього на фіксовані препарати з культури клітин, зараженої відомим вірусом, наносять спочатку дворазові розведення досліджуваної сироватки (від 1:10 до 1:1280), а після контакту – флуоресціювальну антивидову сироватку. Специфічні антитіла в досліджуваних сироватках виявляють за яскраво-зеленим світінням вірусного антигену в заражених клітинах. *Титр антитіл* – найвище розведення сироватки, за якого спостерігається чітка флуоресценція гомологічного антигену.

РІФ характеризується високою чутливістю, специфічністю і швидким отриманням результатів. Особливо цінна ця реакція для ідентифікації тих вірусів, які не мають цитопатогенних, гемаглютинувальних і гемадсорбівних властивостей. РІФ дає можливість вивчити процеси взаємодії вірусів із клітинами, дослідити динаміку накопичення вірусних антигенів у клітинах, антигенні зв'язки вірусів, а також патогенез вірусних інфекцій. Особливо важливе значення цього методу в разі дослідження асоційованих і хронічних інфекцій. Недолік РІФ – випадки неспецифічної флуоресценції, яку може спричинити наявність у специфічних сироватках нормальних антитіл або антитіл до гетерогенних тканинних протеїнів, фіксація мічених антитіл на лейкоцитах тощо.

10.6.9. Імуноферментний аналіз

Імуноферментний аналіз (ІФА) (син.: *імуноензимний аналіз – ІЕА*) ґрунтується на взаємодії антигенів із міченими ензимом антитілами, і за додавання індикаторного субстрату утворюється кольоровий продукт ензимної реакції. Цей метод характеризується високою специфічністю і чутливістю, яка в сотні разів перевищує чутливість інших серологічних реакцій. ІФА використовується для діагностики багатьох вірусних інфекцій (чума ВРХ, інфекційний ринотрахеїт ВРХ, ринопневмонія коней, хвороба Марека, нюкаслська хвороба та ін.).

Розроблено *два варіанти* ІФА: 1) гістохімічний метод, або імунопероксидазна реакція; 2) методи твердофазного ІФА (ELISA – від англ. enzyme-linked immunosorbent assay – ензимний імуносорбентний аналіз).

Імунопероксидазна реакція

Цей метод за суттю аналогічний РІФ. Він ґрунтується на використанні антитіл, мічених ензимом пероксидазою хрону (*імунопероксидазний кон'югат*). Утворення комплексу антиген-антитіло виявляють за допомогою *бензидинового субстрату* (діамінобензидину тетрахлоїду). Субстрат під дією ензиму розкладається з утворенням *кольорового продукту ензимної реакції*, що видимий у світловому мікроскопі (спочатку блакитного кольору, який швидко переходить у коричневий).

Реакцію ставлять двома методами: прямим і непрямим.

За *прямого імунопероксидазного методу* (рис. 112) на фіксовані в ацетоні препарати наносять імунопероксидазний кон'югат (1–2 год у вологій камері за 37 °С), промивають 0,9%-м розчином NaCl (15 хв) і дистильованою водою, наносять бензидиновий субстрат (5–10 хв у вологій камері за кімнатної температури), знову промивають і розглядають у світловому мікроскопі під імерсійною олією. Реакція вважається позитивною, якщо в клітинах виявляють дифузне жовто-коричнє забарвлення або гранули коричнево-чорного кольору.

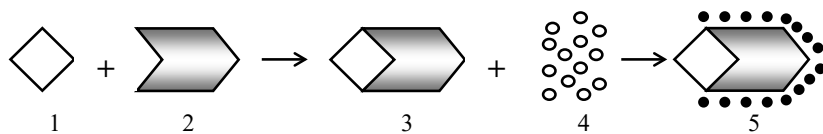


Рис. 112. Схема прямого імунопероксидазного методу ІФА:

1 – антиген; 2 – мічене ензимом антитіло; 3 – імунний комплекс;
4 – бензидиновий субстрат; 5 – імунний комплекс, виявлений за допомогою субстрату

За *непрямого імунопероксидазного методу* (рис. 113, стор. 331) препарати обробляють спочатку специфічною сироваткою (1–2 год у вологій камері за 37 °С), потім антивидовим імунопероксидазним кон'югатом і нарешті – бензидиновим субстратом. За наявності вірусу в досліджуваному матеріалі утворюються складні комплекси: антиген-антитіло-антивидове антитіло (мічене ензимом), і в результаті бензидиновий субстрат розкладається з утворенням кольорового продукту ензимної реакції.

Перевага непрямого імунопероксидазного методу полягає в універсальності мічених антивидових глобулінів, за допомогою яких ідентифікують антигени різних вірусів (якщо противірусні сироватки отримані шляхом імунізації тварин одного виду). Крім того, непрямий

імунопероксидазний метод можна застосовувати і для виявлення *антитіл*. Для цього на фіксовані препарати з культури клітин, зараженої вірусом, наносять спочатку досліджувані сироватки, потім після відмивання – антивидовий імунопероксидазний кон'югат і нарешті – бензидиновий субстрат. Наявність у досліджуваних сироватках специфічних антитіл встановлюють за утворенням кольорового продукту ензимної реакції, про що свідчить відповідне забарвлення заражених клітин культури.

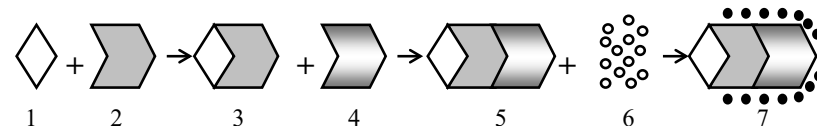


Рис. 113. Схема непрямого імунопероксидазного методу ІФА:

1 – антиген; 2 – антитіло; 3 – імунний комплекс; 4 – мічене ензимом антивидове антитіло; 5 – імунний комплекс; 6 – бензидиновий субстрат; 7 – імунний комплекс, виявлений за допомогою субстрату

Методи твердофазного ІФА

Ці методи ґрунтуються на застосуванні антигенів або антитіл, фіксованих на нерозчинних носіях. Як *твердофазні носії* в ІФА використовують планшети, пробірки, плівки із синтетичних полімерів, що мають високу сорбційну здатність, – полістиролу, поліакриламід, поліпропілену тощо, а також гранули із сефарози, целюлози, карбоксиметилцелюлози, нітроцелюлозні мембрани (фільтри). Особливо широко застосовують *полістиролові планшети*. Використання їх та автоматизація процесу постановки й обліку результатів реакції дають змогу за короткий час дослідити велику кількість проб сироваток крові на наявність антитіл або вірусовмісного матеріалу на наявність вірусних антигенів.

У твердофазному ІФА використовують *пероксидазні та лужнофосфатазні кон'югати*.

Існує кілька варіантів постановки твердофазного ІФА. Для ідентифікації вірусів найчастіше використовують *метод подвійних антитіл*, або *«сендвіч»-метод* (рис. 114, стор. 332). Для цього лунки полістиролових планшетів сенсibiliзують імуноглобуліном, виділеним зі специфічної до досліджуваного антигену сироватки. У лунки додають спочатку вірусовмісний матеріал, а потім після відмивання – мічені ензимом антитіла (гомологічні антигену) і нарешті – субстрат: ортофенілендіамід або 5-аміносалицилова кислота (для пероксидази)

і р-нітрофеніл-фосфат (для лужної фосфатази). Якщо в досліджуваному матеріалі є відповідний антиген, він зв'язується з адсорбованими в лунках антитілами, до утворених імунних комплексів приєднуються мічені ензимом антитіла. Отже, утворюються складні комплекси: антитіло-антиген-мічене антитіло, які виявляють за допомогою субстрату. Під дією ензиму субстрат розкладається з утворенням кольорового продукту ензимної реакції: ортофенілєндиамід дає оранжево-коричневе забарвлення, 5-аміносаліцилова кислота – інтенсивно-коричневе, а р-нітрофенілфосфат – жовте. Результати реакції враховують візуально за інтенсивністю забарвлення або за допомогою спеціальних спектрофотометрів (ридерів) за оптичним поглинанням рідини в реакційній системі. Інтенсивність забарвлення пропорційна кількості молекул ензиму, що міститься в імуноензимному кон'югаті, й таким чином характеризує концентрацію досліджуваного вірусного антигену, який зв'язався із зазначеним кон'югатом. За позитивний результат приймають підвищення оптичної густини досліджуваних проб над контрольними в 5–10 разів.

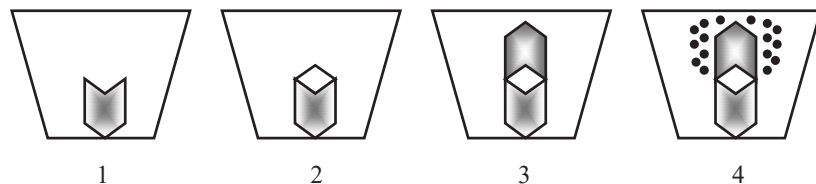


Рис. 114. Схема твердофазного ІФА: метод подвійних антитіл («сендвіч-метод»):

- 1 – адсорбція антитіл; 2 – внесення досліджуваного антигену;
- 3 – внесення мічених ензимом антитіл; 4 – додавання субстрату та утворення кольорового продукту ензимної реакції

Для виявлення антитіл у сироватках крові найчастіше використовують *непрямий метод твердофазного ІФА* (рис. 115, стор. 333). З цією метою лунки полістиролових планшетів сенсibiliзують вірусним антигеном, до якого визначають антитіла. У лунки додають спочатку досліджувані сироватки, а потім після відмивання – антивидовий імуноензимний кон'югат і нарешті – субстрат. Якщо в досліджуваній сироватці є антитіла, утворюються складні комплекси: антиген-антитіло-антивидове антитіло (мічене ензимом), і в результаті субстрат розкладається з утворенням кольорового продукту ензимної реакції.

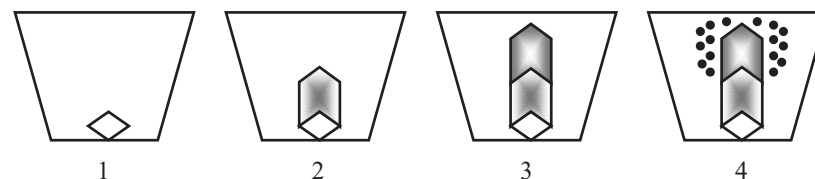


Рис. 115. Схема непрямого методу твердофазного ІФА:

- 1 – адсорбція антигену; 2 – внесення досліджуваної сироватки;
- 3 – внесення мічених ензимом антивидових антитіл; 4 – додавання субстрату та утворення кольорового продукту ензимної реакції

Для проведення ІФА на полістиролових планшетах зарубіжні фірми випускають комплекти приладів. Основна частина комплектів – обладнані мікрокомп'ютерами спектрофотометри, за допомогою яких вимірюють оптичну густину продукту ензимної реакції безпосередньо в лунках планшетів. Зчитування результатів дослідження 96 проб триває всього 1 хв.

За відсутності спеціального обладнання ІФА можна ефективно проводити на спектрофотометрах, флуориметрах або фотоелектроколориметрах. Правда, в цьому разі дещо знижується вірогідність і продуктивність методу.

10.6.10. Імунохроматографічний аналіз

Імунохроматографічний аналіз (ІХА) ґрунтується на принципі тонкошарової хроматографії та включає реакцію між вірусними антигенами і гомологічними антитілами в біологічних матеріалах (сеча, кал, цільна кров, сироватка або плазма крові).

Для виявлення вірусних антигенів використовують хроматографічні мембрани (імуностріпи) як твердий носій із нанесеними специфічними антитілами до досліджуваного вірусу. Одні антитіла мічені колоїдним золотом і є кон'югатом, інші (вторинні) – призначені для фіксації утворених імунних комплексів.

Після внесення досліджуваної проби в зону «S» імуностріпу іммобілізований кон'югат зв'язується з наявним вірусним антигеном. У результаті утворюється комплекси антиген-антитіло, які мігрують по капілярах імуностріпу і після взаємодії з вторинними антитілами фіксуються в зоні «Т» імуностріпу з появою горизонтальної зафарбованої смуги. Не зв'язаний із вірусним антигеном кон'югат мігрує далі по мембрані та взаємодіє з позитивним контролем, іммобілізованим у зоні «С» імуностріпу. Поява горизонтальної зафарбованої смуги

в цій зоні свідчить про активність і специфічність усіх компонентів системи (рис. 116).

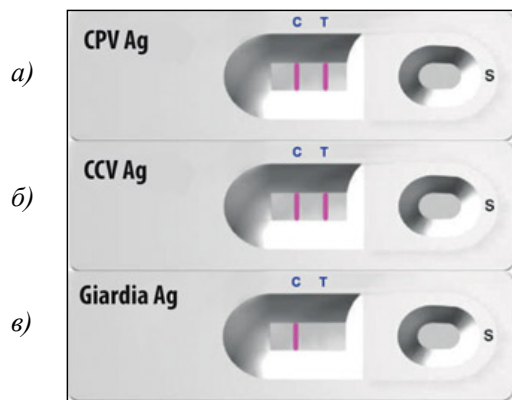


Рис. 116. Результат ІХА:

позитивний за парвовірозу (а) і коронавірозу собак (б);
негативний за лямбліозу собак (в);
S – зона внесення досліджуваної проби;
C – контрольна зона; Т – тестова зона

(<http://www.zooprice.ru/vet/invasion/vetexpert-testy-diagnostika-infektsii-invazii-pitom.html>)

ІХА використовується для експрес-діагностики вірусних інфекцій дрібних тварин: чума, аденовіроз і грип собак, парвовірусна і коронавірусна інфекції собак і котів, лейкемія та імунодефіцит котів. Розроблено комплексний експрес-тест для виявлення антитіл до вірусу імунодефіциту та антигенів вірусу лейкемії котів у цільній крові, сироватці або плазмі крові хворої тварини.

Перевагою ІХА є простота проведення, висока чутливість (93–100%) і специфічність (97,5–100%), швидкість отримання результату (5–20 хв), можливість застосування в польових і лабораторних умовах, незалежно від устаткування та спеціальної підготовки персоналу.

10.7. Схеми лабораторної діагностики вірусних інфекцій тварин

10.7.1. Поксвірусні інфекції

Віспа корів	
Збудник	Віруси віспи корів і вісповакцини, родина <i>Poxviridae</i> , підродини <i>Chordopoxvirinae</i> , рід <i>Orthopoxvirus</i>
Матеріал для дослідження	Ураження шкіри на стадіях папули, везикули, пустули і струпа, везикулярна іпустульозна рідина, парні сироватки крові
Експрес-методи	Вірусоскопія, цитоплазматичні вклучення типу тілець Гварнієрі (вірус вісповакцини), РДП
Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> 1) КЕ 10–12 днів, зараження на ХАО або в алантоїсну порожнину. Через 3–6 днів загибель, на ХАО віспини – геморагічні (вірус віспи корів) або білі (вірус вісповакцини); в разі зараження в алантоїсну порожнину через 3 дні загибель (вірус віспи корів); 2) КК нирок телят або ембріона корови, фібробластів курячого ембріона. Через 3 доби ЦПД: округлення клітин, цитоплазматичні тільця-вклучення; 3) кролі, зараження в скарифіковану шкіру або рогівку ока. Через 3–5 днів на шкірі інфільтрати (з некрозом і геморагіями від вірусу віспи корів) та віспяні ураження; на рогівці ока через 2–3 доби плями й крапки, оточені вінчиком, і цитоплазматичні вклучення типу тілець Гварнієрі (вірус вісповакцини). <i>Ідентифікація вірусу:</i> вірусоскопія, РІФ, РДП
Ретроспективна діагностика	РДП
Диференціальна діагностика	Ящур, паравакцина, везикулярний стоматит
Віспа овець	
Збудник	Вірус віспи овець, родина <i>Poxviridae</i> , підродини <i>Chordopoxvirinae</i> , рід <i>Capripoxvirus</i>
Матеріал для дослідження	Ураження шкіри на стадіях папули, пустули і струпа, пустульозна рідина, парні сироватки крові
Експрес-методи	Вірусоскопія, ЕМ, РДП, ІФА, ПЛР, цитоплазматичні тільця-вклучення
Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> КК нирок і сім'яників ягнят або козенят, ВНК-21. Через 2–4 доби ЦПД: округлення клітин, цитоплазматичні тільця-вклучення. <i>Ідентифікація вірусу:</i> РІФ, ІФА

Підрозділ 10.7.1 (продовження таблиці)

Ретроспективна діагностика	РН
Диференціальна діагностика	Контагіозна ектима, парша, короста, пустульозна екзема
Віспа кіз	
Збудник	Вірус віспи кіз, родина <i>Poxviridae</i> , підродина <i>Chordopoxvirinae</i> , рід <i>Capripoxvirus</i>
Матеріал для дослідження	Ураження шкіри на стадіях папули, пустули і струпа, пустульозна рідина, парні сироватки крові
Експрес-методи	Вірусоскопія, ЕМ, РДП, ІФА, ПЛР, цитоплазматичні тільця-включення
Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> КК нирок і сім'яників козенят або ягнят, ВНК-21. Через 2–4 доби ЦПД: округлення клітин, цитоплазматичні тільця-включення. <i>Ідентифікація вірусу:</i> РІФ, ІФА
Ретроспективна діагностика	РН
Диференціальна діагностика	Ящур, контагіозна ектима
Віспа свиней	
Збудник	Вірус віспи свиней, родина <i>Poxviridae</i> , підродина <i>Chordopoxvirinae</i> , рід <i>Suipoxvirus</i>
Матеріал для дослідження	Ураження шкіри на стадіях папули, пустули і струпа, пустульозна рідина
Експрес-методи	Вірусоскопія, ЕМ, ПЛР, цитоплазматичні тільця-включення
Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> КК РК-15. <i>Ідентифікація вірусу:</i> ПЛР
Ретроспективна діагностика	—
Диференціальна діагностика	Ящур, везикулярна хвороба, везикулярна екзантема, стригучий лишай, екзантеми за сальмонельозу, стрептококозу, ензоотичної пневмонії, екзантеми неінфекційної етіології (авітамінози, гіпокальцеція, гіперкератози)
Віспа коней	
Збудник	Віруси віспи корів і вісповакцини, родина <i>Poxviridae</i> , підродина <i>Chordopoxvirinae</i> , рід <i>Orthopoxvirus</i>
Матеріал для дослідження	Ураження шкіри і слизової оболонки рота на стадіях папули, везикули і пустули
Експрес-методи	Вірусоскопія, ЕМ

Підрозділ 10.7.1 (продовження таблиці)

Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> Кролі, зараження в скарифіковану шкіру або рогівку. Через 3–5 діб на шкірі інфільтрати (з некрозом і геморагіями від вірусу віспи корів) та віспяні ураження; на рогівці через 2–3 доби плями й крапки, оточені вінчиком, і цитоплазматичні включення типу тілець Гварнієрі (вірус вісповакцини). <i>Ідентифікація вірусу:</i> вірусоскопія
Ретроспективна діагностика	—
Диференціальна діагностика	Везикулярний стоматит, сап, епізоотичний лімфангіт, незаразний міхурцевий стоматит
Віспа кролів	
Збудник	Віруси віспи корів і вісповакцини, родина <i>Poxviridae</i> , підродина <i>Chordopoxvirinae</i> , рід <i>Orthopoxvirus</i>
Матеріал для дослідження	Ураження шкіри на стадіях папули, везикули, пустули і струпа, паренхіматозні органи, головний мозок
Експрес-методи	Вірусоскопія, ЕМ, РДП
Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> 1) КЕ, 10–12 днів зараження на ХАО. Через 3 доби загибель, геморагічні віспини на ХАО, крововиливи на зародку; 2) кролі, зараження в/ш або в скарифіковану шкіру. Через 5–6 діб набряк і некроз шкіри. <i>Ідентифікація вірусу:</i> вірусоскопія, РДП
Ретроспективна діагностика	—
Диференціальна діагностика	Виразковий стоматит, кокцидіоз
Віспа птахів	
Збудник	Вірус віспи птахів, родина <i>Poxviridae</i> , підродина <i>Chordopoxvirinae</i> , рід <i>Avipoxvirus</i>
Матеріал для дослідження	Віспяні ураження з гребеня, борідок і сережок, дифтеритичні ураження гортані й трахеї, парні сироватки крові
Експрес-методи	Вірусоскопія, РДП, РІФ, ПЛР, цитоплазматичні тільця-включення Боллінгера
Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> КЕ 10–12 днів, зараження на ХАО. Через 3–6 діб загибель, віспини на ХАО. <i>Ідентифікація вірусу:</i> вірусоскопія, РІФ, РДП
Ретроспективна діагностика	РДП, РНГА, ІФА

Підрозділ 10.7.1 (продовження таблиці)

Диференціальна діагностика	Інфекційний ларинготрахеїт, інфекційний бронхіт, пастерельоз, аспергільоз, парша, респіраторний мікоплазмоз, кандідамікоз, авітаміноз А
Нодулярний дерматит (шкірна бугорчатка)	
Збудник	Вірус нодулярного дерматиту, родина <i>Poxviridae</i> , підродини <i>Chordopoxvirinae</i> , рід <i>Capripoxvirus</i>
Матеріал для дослідження	Вузликові ураження шкіри, слина, сперма, кров, поверхневі лімфатичні вузли, парні сироватки крові
Експрес-методи	РІФ, ПЛР, ЕМ, цитоплазматичні тільця-включення
Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> 1) КК нирок і сім'яників телят або ягнят. Через 10–14 днів ЦПД: округлення клітин, цитоплазматичні тільця-включення; 2) КЕ 5–7 днів, зараження на ХАО. Віспини на ХАО; 3) мурчаки або кролі, зараження в/ш. Через 6–9 днів внутрішньошкірні некротичні вузлики. <i>Ідентифікація вірусу:</i> РН, РІФ, ІФА
Ретроспективна діагностика	РН, ІФА
Диференціальна діагностика	Ефемерна гарячка, ящур, віспа, туберкульоз (шкірна форма), стрептококоз, дерматофіліоз, демодекоз, шкірні ураження, спричинені личинками овода, укусами кліщів і комах
Папулезний стоматит ВРХ (папулоерозійний стоматит ВРХ)	
Збудник	Вірус папулезного стоматиту ВРХ, родина <i>Poxviridae</i> , підродини <i>Chordopoxvirinae</i> , рід <i>Parapoxvirus</i>
Матеріал для дослідження	Вузликові ураження слизової оболонки рота
Експрес-методи	Цитоплазматичні тільця-включення
Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> КК сім'яників телят або нирок ембріона корови. ЦПД: округлення клітин, цитоплазматичні тільця-включення. <i>Ідентифікація вірусу:</i> ЕМ
Ретроспективна діагностика	—
Диференціальна діагностика	Ящур, везикулярний стоматит, папіломатозний стоматит, інфекційний ринотрахеїт, незаразний стоматит
Паравакцина (псевдовіспа корів, вузлики доярок)	
Збудник	Вірус псевдовіспи корів, родина <i>Poxviridae</i> , підродини <i>Chordopoxvirinae</i> , рід <i>Parapoxvirus</i>

Підрозділ 10.7.1 (продовження таблиці)

Матеріал для дослідження	Вузликові ураження шкіри
Експрес-методи	Вірусоскопія
Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> КК сім'яників телят або нирок ембріона корови. Через 8–10 днів ЦПД: округлення клітин, цитоплазматичні тільця-включення. <i>Ідентифікація вірусу:</i> ЕМ
Ретроспективна діагностика	—
Диференціальна діагностика	Віспа корів, вісповакцина
Контагіозна ектима овець і кіз (контагіозний пустульозний дерматит)	
Збудник	Вірус орф, родина <i>Poxviridae</i> , підродини <i>Chordopoxvirinae</i> , рід <i>Parapoxvirus</i>
Матеріал для дослідження	Ураження шкіри на стадях папули, везикули, пустули і струпа, везикулярна і пустульозна рідини
Експрес-методи	РЗК, ІФА, вірусоскопія, ЕМ, ПЛР, цитоплазматичні тільця-включення
Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> 1) КК нирок, сім'яників або щитоподібної залози ягнят. Через 4–14 днів ЦПД: округлення клітин, цитоплазматичні тільця-включення; 2) кролята або кошенята, зараження в скарифіковану шкіру. Через 2–5 днів гіперемія, припухлість і папули на шкірі. <i>Ідентифікація вірусу:</i> вірусоскопія, РЗК, РН, ІФА
Ретроспективна діагностика	—
Диференціальна діагностика	Віспа, ящур, блутанг, везикулярний стоматит, некробактеріоз, мікотичний дерматит, копитна гниль
Міксоматоз кролів	
Збудник	Вірус міксоми, родина <i>Poxviridae</i> , підродини <i>Chordopoxvirinae</i> , рід <i>Leporipoxvirus</i>
Матеріал для дослідження	Уражені ділянки шкіри з інфільтрованою підшкірною клітковиною, сироватки крові
Експрес-методи	РІФ, ІФА, ПЛР
Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> 1) КЕ 10–12 днів, зараження на ХАО. Віспини на ХАО; 2) кролі, зараження в/ш і в кон'юнктивальний мішок. Через 3–6 днів клінічні ознаки хвороби, загибель, патоморфологічні зміни. <i>Ідентифікація вірусу:</i> РІФ, ІФА

Підрозділ 10.7.1 (закінчення таблиці)

Серологічна діагностика	ІФА, РЗК, РНІФ
Диференціальна діагностика	Інфекційний фіброматоз, стафілококоз, бродяча піемія
Інфекційний фіброматоз кролів (фіброма Шоупа)	
Збудник	Вірус фіброми кролів, родина <i>Poxviridae</i> , підродина <i>Chordopoxvirinae</i> , рід <i>Leporipoxvirus</i>
Матеріал для дослідження	Пухлинні ураження шкіри
Експрес-методи	ЕМ
Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> Кролі, зараження п/ш. Через 2–3 доби на шкірі пухлини з геморагіями і некрозом, іноді загибель, патоморфологічні зміни. <i>Ідентифікація вірусу:</i> ЕМ
Ретроспективна діагностика	—
Диференціальна діагностика	Міксоматоз

10.7.2. Герпесвірусні інфекції

Хвороба Ауескі	
Збудник	Альфагерпесвірус свиней 1, родина <i>Herpesviridae</i> , підродина <i>Alphaherpesvirinae</i> , рід <i>Varicellovirus</i>
Матеріал для дослідження	Носовий слиз, абортований плід, плацента, головний мозок, легені, печінка, селезінка, мигдалини, лімфатичні вузли, парні сироватки крові
Експрес-методи	РІФ, ІФА, РНГА, ПЛР
Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> 1) КК нирок або щитоподібної залози поросят, сім'яників телят, фіброblastів курячого ембріона, РК-15, ВНК-21. Через 4–5 діб ЦПД: округлення клітин, симпласти, внутрішньоядерні тільця-включення; 2) кролі, зараження п/ш або в/м. Через 2–3 доби збудження, свербіння, розчухи, паралічі та загибель. <i>Ідентифікація вірусу:</i> РН, РІФ, ІФА, РНГА, РДП
Ретроспективна діагностика	РН, ІФА, РНГА, РАЛ, РДП, РЗК
Диференціальна діагностика	Сказ, хвороба Тешена, класична чума свиней, грип свиней, сальмонельоз, ешерихіоз (набрякова хвороба), лістеріоз, чума м'ясоїдних, ензоотичний енцефаломієліт лисиць, енцефаломієліти коней (східний, західний і венесуельський), кормові отруєння

Підрозділ 10.7.2 (продовження таблиці)

Інфекційний ринотрахеїт ВРХ (інфекційний пустульозний вульвовагініт ВРХ)	
Збудник	Альфагерпесвірус ВРХ 1, родина <i>Herpesviridae</i> , підродина <i>Alphaherpesvirinae</i> , рід <i>Varicellovirus</i>
Матеріал для дослідження	Кров, змиви з носової порожнини, кон'юнктиви, вагіни і препуція, сперма, слизові оболонки носа, рота, передшлунків, тонкого кишечника, легені, трахея, бронхи, лімфатичні вузли (бронхіальні, середостінні, брижові), мигдалини, селезінка, головний мозок, абортований плід, парні сироватки крові
Експрес-методи	РІФ, ІФА, ПЛР, внутрішньоядерні тільця-включення
Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> КК нирок або сім'яників телят, нирок ембріона корови, MDBK. Через 2–4 доби ЦПД: округлення клітин, симпласти, внутрішньоядерні тільця-включення; РГА. <i>Ідентифікація вірусу:</i> РН, РІФ, ІФА, РГГА
Ретроспективна діагностика	РН, РНГА, ІФА
Диференціальна діагностика	Вірусна діарея, зляккісна катаральна гарячка, ящур, парагрип-3, аденовірусна інфекція, респіраторно-синцитіальна інфекція, хламідіоз
Зляккісна катаральна гарячка	
Збудник	Гаммагерпесвірус коров'ячих антилоп 1, родина <i>Herpesviridae</i> , підродина <i>Gammaherpesvirinae</i> , рід <i>Macavirus</i>
Матеріал для дослідження	Кров, головний мозок, паренхіматозні органи, лімфатичні вузли, парні сироватки крові
Експрес-методи	ПЛР
Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> КК щитоподібної залози або наднирників телят, нирок ембріона корови. Через 5–9 діб ЦПД: округлення клітин, синцитії, внутрішньоядерні тільця-включення. <i>Ідентифікація вірусу:</i> РЗК
Ретроспективна діагностика	РЗК
Диференціальна діагностика	Чума, ящур, сказ, вірусна діарея, інфекційний ринотрахеїт, лептоспіроз, лістеріоз
Виразковий маміліт ВРХ (герпесвірусний маміліт ВРХ)	
Збудник	Альфагерпесвірус ВРХ 2, родина <i>Herpesviridae</i> , підродина <i>Alphaherpesvirinae</i> , підродина рід <i>Simplexvirus</i>
Матеріал для дослідження	Везикулярні ураження шкіри і слизової оболонки рота, парні сироватки крові

Підрозділ 10.7.2 (продовження таблиці)

Експрес-методи	Цитоплазматичні та внутрішньоядерні тільця-включення
Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> КК нирок ягнят або ембріона корови. Через 3 доби ЦПД: синцитії, цитоплазматичні та внутрішньоядерні тільця-включення. <i>Ідентифікація вірусу:</i> РН, РІФ
Ретроспективна діагностика	РН, РНГА
Диференціальна діагностика	Нодулярний дерматит, віспа, вісповакцина, паравакцина
Цитомегаловірусна інфекція свиней (цитомегалія поросят)	
Збудник	Бетагерпесвірус свиней 2, родина <i>Herpesviridae</i> , підродина <i>Bethaherpesvirinae</i> , рід <i>Roseolovirus</i>
Матеріал для дослідження	Змиви з носової порожнини, легені, нирки, парні сироватки крові
Експрес-методи	РНІФ, внутрішньоядерні тільця-включення
Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> КК легених макрофагів поросят. Через 3–14 діб ЦПД: округлення і збільшення розмірів клітин, внутрішньоядерні тільця-включення. <i>Ідентифікація вірусу:</i> РНІФ
Ретроспективна діагностика	РНІФ, ІФА
Диференціальна діагностика	Хвороба Ауескі, репродуктивно-респіраторний синдром, парвовірусна інфекція
Ринопневмонія коней (вірусний аборт кобил)	
Збудник	Альфагерпесвіруси коней 4 і 1, родина <i>Herpesviridae</i> , підродина <i>Alphaherpesvirinae</i> , рід <i>Varicellovirus</i>
Матеріал для дослідження	Кров, змиви з носової порожнини і вагіни, слизова оболонка носа, легені, печінка, селезінка і тимус абортіваних плодів або новонароджених лошат, плацента, головний і спинний мозок, парні сироватки крові
Експрес-методи	РІФ, ІФА, РЗК, ПЛР, внутрішньоядерні тільця-включення

Підрозділ 10.7.2 (продовження таблиці)

Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> 1) КК нирок коня, ембріона корови, ембріона свині або кроля. Через 3–5 діб ЦПД: округлення клітин, симпласти, внутрішньоядерні тільця-включення; РГАд, РГА; 2) КЕ 8–12 днів, зараження в жовтковий мішок, алантоїсну або амніотичну порожнину. Через 4 доби загибель, віспини на ХАО, внутрішньоядерні тільця-включення; 3) вагітні мурчаки, зараження в/ч. Через 2–20 діб аборт або загибель; некрози в печінці, крововиливи в легенях, гастроентерит, внутрішньоядерні тільця-включення; 4) хом'ячки або білі мишенята, зараження і/ц, і/н, п/ш чи в/ч. Загибель з ознаками енцефаломієліту через 12–24 год за і/ц зараження або через 5–8 діб за інших методів, патоморфологічні зміни (енцефаломієліт чи гепатит, внутрішньоядерні тільця включення). <i>Ідентифікація вірусу:</i> РІФ, ІФА, РДП, РН, РГТА, РГТАд
Ретроспективна діагностика	РН, РЗК, РГТА, ІФА
Диференціальна діагностика	Грип, риновірусна інфекція, аденовірусна інфекція, вірусний артеріїт, сальмонельоз
Інфекційний ринотрахеїт котів (герпес котів)	
Збудник	Альфагерпесвірус котів 1, родина <i>Herpesviridae</i> , підродина <i>Alphaherpesvirinae</i> , рід <i>Varicellovirus</i>
Матеріал для дослідження	Змиви з носової порожнини і кон'юнктиви, парні сироватки крові
Експрес-методи	РІФ, ПЛР, внутрішньоядерні тільця-включення
Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> КК нирок або легень кошенят, CRFK і FS. Через 24 год ЦПД: округлення клітин, синцитії, внутрішньоядерні тільця-включення. <i>Ідентифікація вірусу:</i> РН, РІФ
Ретроспективна діагностика	РН, ІФА
Диференціальна діагностика	Каліцівірусна інфекція, реовірусна інфекція, хламідіоз, мікоплазмоз
Інфекційний ларинготрахеїт птахів	
Збудник	Альфагерпесвіруси курячих 1, родина <i>Herpesviridae</i> , підродина <i>Alphaherpesvirinae</i> , рід <i>Itovirus</i>
Матеріал для дослідження	Трахеальний ексудат, слизові оболонки носових ходів, гортані, трахеї, кон'юнктиви, легені, парні сироватки крові

Підрозділ 10.7.2 (продовження таблиці)

Експрес-методи	РІФ, ІФА, ПЛР, внутрішньоядерні тільця-включення Зейфреда
Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> 1) КЕ 10–12 днів, зараження на ХАО. Через 4–6 діб загибель; некротично-вогнищеві та дрібновузликові ураження ХАО, внутрішньоядерні тільця-включення Зейфреда; 2) КК фібробластів або нирок курячого ембріона, нирок курчат. Через 3–4 доби ЦПД: округлення клітин, симпласти, внутрішньоядерні тільця-включення. <i>Ідентифікація вірусу:</i> РН, РІФ, ІФА, РДП
Ретроспективна діагностика	РН, ІФА
Диференціальна діагностика	Ньюкаслська хвороба, інфекційний бронхіт, грип, віспа, респіраторний мікоплазмоз, пастерельоз, гемофільоз, авітаміноз А
Хвороба Марека (нейролімфоматоз птахів)	
Збудник	Альфагерпесвіруси курячих 2 і 3, родина <i>Herpesviridae</i> , підродина <i>Alphaherpesvirinae</i> , рід <i>Mardivirus</i>
Матеріал для дослідження	Кров, пір'я, паренхіматозні органи, яєчники, сім'яники, серце, фабрицієва сумка, тимус, шкіра, м'язи, головний мозок, периферійні нерви (плечового і крижово-сідничного сплетіння), парні сироватки крові
Експрес-методи	РІФ, РДП, ІФА, ПЛР, внутрішньоядерні тільця-включення
Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> 1) КЕ 10–12 днів або 4–5 днів, зараження на ХАО чи в жовтковий мішок. Через 3 або 8–9 діб загибель, вогнища клітинної проліферації на ХАО (бляшки), збільшення печінки і селезінки; 2) КК нирок курячого ембріона або курчат, фібробластів курячого чи качинового ембріонів. Через 4–5 діб ЦПД: округлення клітин, симпласти, внутрішньоядерні тільця-включення. <i>Ідентифікація вірусу:</i> РДП, РІФ, ІФА
Ретроспективна діагностика	РДП, ІФА
Диференціальна діагностика	Лейкоз, інфекційний енцефаломієліт, ньюкаслська хвороба, грип, лістеріоз, авітамінози В, Е і D, кормова енцефаломаліяція
Чума качок (вірусний ентерит качок)	
Збудник	Альфагерпесвірус качиних 1, родина <i>Herpesviridae</i> , підродина <i>Alphaherpesvirinae</i> , рід <i>Mardivirus</i>

Підрозділ 10.7.2 (закінчення таблиці)

Матеріал для дослідження	Печінка, селезінка, нирки, серце, слизова оболонка стравоходу, парні сироватки крові
Експрес-методи	РІФ, внутрішньоядерні тільця-включення
Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> 1) качині ембріони 10–12 днів, зараження на ХАО. Через 4 доби загибель; геморагічний діатез; 2) КК фібробластів качинового ембріона. Через 2 доби ЦПД: округлення клітин, внутрішньоядерні тільця-включення. <i>Ідентифікація вірусу:</i> РН, РІФ
Ретроспективна діагностика	РН
Диференціальна діагностика	Вірусний гепатит, грип, ньюкаслська хвороба, пастерельоз, кормова інтоксикація

10.7.3. Асфарвірусні інфекції

Африканська чума свиней	
Збудник	Вірус африканської чуми свиней, родина <i>Asfarviridae</i> , рід <i>Asfivirus</i>
Матеріал для дослідження	Кров, паренхіматозні органи, мигдалини, лімфатичні вузли, серце, сироватки крові
Експрес-методи	РІФ, ІФА, РЗК, РДП, метод ДНК-зондів, ПЛР
Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> КК лейкоцитів крові або кісткового мозку свиней. Через 3–7 діб ЦПД: цитоплазматичні тільця-включення, лізис клітин, симпласти (клітини-тіні); РГАД. <i>Ідентифікація вірусу:</i> РІФ, РГАД, ПЛР
Серологічна діагностика	РНІФ, ІФА, РЗК, ЗІЕФ
Диференціальна діагностика	Класична чума, хвороба Ауескі, бешиха, пастерельоз, сальмонельоз, сибірка

10.7.4. Аденовірусні інфекції

Аденовірусна інфекція ВРХ	
Збудник	Мастаденовіруси ВРХ А, В і С, атаденовірус ВРХ D, родина <i>Adenoviridae</i> , роди <i>Mastadenovirus</i> і <i>Atadenovirus</i>
Матеріал для дослідження	Змиви з носової порожнини, кон'юнктиви і прямої кишки, кал, слизові оболонки носа, рота, передшлунків, тонкого кишечника, легені, трахея, бронхи, лімфатичні вузли (бронхіальні, середостінні, брижові), селезінка, нирки, мигдалини, парні сироватки крові
Експрес-методи	РІФ, ІФА, РЗК, РДП, ПЛР, внутрішньоядерні тільця-включення

Підрозділ 10.7.4 (продовження таблиці)

Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> КК нирок або легень ембріона корови, сім'яників телят. Через 5–7 діб ЦПД : округлення клітин, скупчення у вигляді грона, внутрішньоядерні тільця-включення; РГА. <i>Ідентифікація вірусу:</i> РІФ, РН, РЗК, РДП, РГГА
Ретроспективна діагностика	РНГА, ІФА, РЗК, РДП, РНІФ
Диференціальна діагностика	Парагрип-3, вірусна діарея, інфекційний ринотрахеїт, респіраторно-синцитіальна інфекція, хламідіоз
Аденовірусна інфекція овець	
Збудник	Мастаденовіруси овець А, В і С, атаденовірус овець D, родина <i>Adenoviridae</i> , роди <i>Mastadenovirus</i> і <i>Atadenovirus</i>
Матеріал для дослідження	Змиви з носової порожнини, кал, слизові оболонки носа, трахеї, передшлунків, тонкого кишечника, легені, нирки, лімфатичні вузли (bronхіальні, середостінні, брижові), парні сироватки крові
Експрес-методи	РІФ, внутрішньоядерні тільця-включення
Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> КК нирок або легень ембріонів вівці та кози, сім'яників ягнят і козенят. Через 7–10 діб ЦПД: округлення клітин, внутрішньоядерні тільця-включення. <i>Ідентифікація вірусу:</i> РІФ, РЗК, РДП, РН
Ретроспективна діагностика	РН, РЗК, РДП, РГГА, РНГА
Диференціальна діагностика	Пастерельоз, сальмонельоз, стрептококоз, стронгілятоз
Аденовірусна інфекція свиней	
Збудник	Мастаденовіруси свиней А, В і С, родина <i>Adenoviridae</i> , рід <i>Mastadenovirus</i>
Матеріал для дослідження	Кал, слизові оболонки носа, тонкого кишечника, паренхіматозні органи, мигдалини, головний мозок, парні сироватки крові
Експрес-методи	РІФ, ІФА, внутрішньоядерні тільця-включення
Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> КК нирок свині або РК-15. ЦПД: округлення клітин, внутрішньоядерні тільця-включення. <i>Ідентифікація вірусу:</i> РІФ, РЗК, РДП, РН
Ретроспективна діагностика	РН, РДП
Диференціальна діагностика	Грип, парагрип, хвороба Тешена

Підрозділ 10.7.4 (продовження таблиці)

Аденовірусна інфекція коней	
Збудник	Мастаденовіруси коней А і В, родина <i>Adenoviridae</i> , рід <i>Mastadenovirus</i>
Матеріал для дослідження	Змиви з носової порожнини, слизова оболонка носа, трахея, легені, парні сироватки крові
Експрес-методи	РІФ, внутрішньоядерні тільця-включення
Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> КК нирок коня або теляти. ЦПД: округлення клітин, внутрішньоядерні тільця-включення. <i>Ідентифікація вірусу:</i> РІФ, РН
Ретроспективна діагностика	РН
Диференціальна діагностика	Грип, ринопневмонія
Інфекційний гепатит собак	
Збудник	Мастаденовірус собак А, родина <i>Adenoviridae</i> , рід <i>Mastadenovirus</i>
Матеріал для дослідження	Змиви з гортані, сеча, кал, паренхіматозні органи, лімфатичні вузли, асцитна рідина, головний і спинний мозок, парні сироватки крові
Експрес-методи	ІХА, РІФ, РДП, РЗК, ІФА, ПЛР, внутрішньоядерні тільця-включення Рубарта
Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> КК нирок собак. Через 2 доби ЦПД: округлення клітин, скупчення у вигляді грона, внутрішньоядерні тільця-включення; РГА. <i>Ідентифікація вірусу:</i> РІФ, РЗК, РДП, РН, РГГА
Ретроспективна діагностика	РДП, РЗК
Диференціальна діагностика	Чума, парвовірусна інфекція, сказ, лептоспіроз, сальмонельоз, токсоплазмоз, авітаміноз В ₁ , кормові отруєння
Аденовіроз собак	
Збудник	Мастаденовірус собак А, родина <i>Adenoviridae</i> , рід <i>Mastadenovirus</i>
Матеріал для дослідження	Змиви з носової порожнини і кон'юнктиви, легені, лімфатичні вузли, парні сироватки крові
Експрес-методи	ІХА, РІФ, РДП, ІФА, ПЛР, внутрішньоядерні тільця-включення
Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> КК нирок собак. Через 2 доби ЦПД: округлення клітин, внутрішньоядерні тільця-включення. <i>Ідентифікація вірусу:</i> РІФ, РН, РДП
Ретроспективна діагностика	РН, РДП

Підрозділ 10.7.4 (закінчення таблиці)

Диференціальна діагностика	Чума, грип, парагрип, герпесвірусна інфекція, реовірусна інфекція
Аденовірусна інфекція птахів	
Збудник	Авіадеповіруси птахів А, В, С, D і Е, родина <i>Adenoviridae</i> , рід <i>Aviadenovirus</i>
Матеріал для дослідження	Послід, трахея, легені, печінка, селезінка, кишечник, клоака, яйцепровід, парні сироватки крові
Експрес-методи	РІФ, внутрішньоядерні тільця-включення
Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> 1) КЕ 10–12 днів, зараження на ХАО. Через 5–10 днів загибель; гіперемія, крововиливи, карликовість або кучерявість зародка; набряк, помутніння і некротичні вогнища на ХАО; некроз печінки, зміна об'єму ембріональних рідин; внутрішньоядерні тільця-включення; РГА; 2) КК нирок курячого ембріона або курчат. Через 2–5 днів ЦПД: округлення клітин, внутрішньоядерні тільця-включення; РГА. <i>Ідентифікація вірусу:</i> РІФ, РН, РГГА, РЗК, РДП, ІФА
Ретроспективна діагностика	РН, РГГА, РДП, ІФА
Диференціальна діагностика	Інфекційний бронхіт, інфекційний ларинготрахеїт, ньюкаслська хвороба, інфекційна бурсальна хвороба, респіраторний мікоплазмоз
Синдром зниження несучості	
Збудник	Атадеповірус качок А, родина родина <i>Adenoviridae</i> , рід <i>Atadenovirus</i>
Матеріал для дослідження	Послід, змиви з носоглотки кон'юнктиви, кров, носова перегородка, трахея, легені, печінка, селезінка, лімфатичні вузли, кишечник, клоака, яйцепровід, парні сироватки крові
Експрес-методи	РІФ, ПЛР, внутрішньоядерні тільця-включення
Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> 1) качині ембріони 12–14 днів, зараження в алантоїсну порожнину. Через 7–10 днів загибель; РГА; 2) КК фіробластів, нирок або печінки качинового ембріона, печінки курячого ембріона. Через 3 доби ЦПД: округлення клітин, внутрішньоядерні тільця-включення; РГА. <i>Ідентифікація вірусу:</i> РГГА, РІФ, РН
Ретроспективна діагностика	РГГА, РН, РНГА, РНІФ, РДП, ІФА
Диференціальна діагностика	Інфекційний бронхіт, інфекційний ларинготрахеїт ньюкаслська хвороба, респіраторний мікоплазмоз

10.7.5. Папіломавірусні інфекції

Папіломатоз ВРХ	
Збудник	Епсілонпапіломавірус 1, ксіпапіломавірус 1, дельтапапіломавірус 4, родина <i>Papillomaviridae</i> , підродина <i>Firstpapillomavirinae</i> , роди <i>Epsilonpapillomavirus</i> , <i>Xipapillomavirus</i> і <i>Deltapapillomavirus</i>
Матеріал для дослідження	Пухлинні ураження шкіри, сироватки крові
Експрес-методи	РІФ, РДП, ПЛР
Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> КЕ 10–12 днів, зараження на ХАО. Епітеліальні потовщення ХАО. <i>Ідентифікація вірусу:</i> РІФ, РДП
Серологічна діагностика	РДП, РНГА, ІФА
Диференціальна діагностика	—
Папіломатоз кролів	
Збудник	Каппапапіломавірус 2, родина <i>Papillomaviridae</i> , підродина <i>Firstpapillomavirinae</i> , рід <i>Kappapapillomavirus</i>
Матеріал для дослідження	Пухлинні ураження шкіри
Експрес-методи	РІФ
Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> Кролі, зараження в скарифіковану шкіру. Через 2–4 тижні папіломи. <i>Ідентифікація вірусу:</i> РІФ
Ретроспективна діагностика	—
Диференціальна діагностика	Фіброматоз

10.7.6. Парвовірусні інфекції

Парвовірусна інфекція ВРХ	
Збудник	Бокапарвовірус копитних 1, родина <i>Parvoviridae</i> , підродина <i>Parvovirinae</i> , рід <i>Bocaparvovirus</i>
Матеріал для дослідження	Кал, слизова оболонка тонкого кишечника, парні сироватки крові
Експрес-методи	РІФ, внутрішньоядерні тільця-включення
Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> КК нирок, сім'яників, селезінки або легень ембріона корови. Через 3–4 доби ЦПД: внутрішньоядерні тільця-включення, лізис клітин; РГАд, РГА. <i>Ідентифікація вірусу:</i> РІФ, РГГА, РГГАд, РН

Підрозділ 10.7.6 (продовження таблиці)

Ретроспективна діагностика	РГГА, РН
Диференціальна діагностика	Ротавірусна інфекція, коронавірусна інфекція
Парвовірусна інфекція свиней	
Збудник	Протопарвовірус копитних 1, родина <i>Parvoviridae</i> , підродини <i>Parvovirinae</i> , рід <i>Protoparvovirus</i>
Матеріал для дослідження	Плід (муміфікований або мертвонароджений), легені, нирки, сім'яники, головний мозок, слизова оболонка носа, сироватки крові плодів, поросят (до прийому молозива) і свиноматок
Експрес-методи	РІФ, РГГА, ПЛР
Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> КК нирок, сім'яників або щитоподібної залози поросят. Через 3–4 доби ЦПД: округлення клітин, внутрішньоядерні тільця-включення, РГА. <i>Ідентифікація вірусу:</i> РІФ, РГГА
Серологічна діагностика	РГГА, РН, РЗК, РДП, ЗІЕФ, РНІФ, ІФА
Диференціальна діагностика	Ентеровірусна інфекція, реовірусна інфекція, аденовірусна інфекція, чума, грип
Парвовірусна інфекція собак (парвовірусний ентерит собак)	
Збудник	Протопарвовірус м'ясоїдних 1, бокапарвовірус м'ясоїдних 1, родина <i>Parvoviridae</i> , підродини <i>Parvovirinae</i> , роди <i>Protoparvovirus</i> і <i>Vocaparvovirus</i>
Матеріал для дослідження	Кал, тонкий кишечник, серце, печінка, селезінка, нирки, парні сироватки крові
Експрес-методи	ІХА, ІФА, РІФ, РГГА, РНГА, ЕМ, ІЕМ, ПЛР, внутрішньоядерні тільця-включення
Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> КК А-72, CRFK. ЦПД не проявляється. <i>Ідентифікація вірусу:</i> РІФ
Ретроспективна діагностика	РГГА, РНГА, РН у поєднанні з РІФ, ЗІЕФ, ІФА
Диференціальна діагностика	Чума, інфекційний гепатит, коронавірусна інфекція, аліментарний і паразитарний гастроентерити
Панлейкопенія котів (парвовірусна інфекція котів, чума котів)	
Збудник	Протопарвовірус м'ясоїдних 1, родина <i>Parvoviridae</i> , підродини <i>Parvovirinae</i> , рід <i>Protoparvovirus</i>
Матеріал для дослідження	Слина, кал, селезінка, головний мозок, тонкий кишечник, парні сироватки крові

Підрозділ 10.7.6 (продовження таблиці)

Експрес-методи	РІФ, ІФА, ІХА, внутрішньоядерні тільця-включення
Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> КК нирок, селезінки або лімфатичних вузлів кошенят. Через 4–5 діб ЦПД: потоншення і шорсткість клітин, внутрішньоядерні тільця-включення; РГА. <i>Ідентифікація вірусу:</i> РІФ, РН, РГГА
Ретроспективна діагностика	РН, РГГА, РНІФ
Диференціальна діагностика	Лейкемія, токсоплазмоз, кормові отруєння, ураження травного тракту чужорідними тілами
Вірусний ентерит норок	
Збудник	Протопарвовірус м'ясоїдних 1, родина <i>Parvoviridae</i> , підродини <i>Parvovirinae</i> , рід <i>Protoparvovirus</i>
Матеріал для дослідження	Кал, печінка, жовчний міхур, селезінка, нирки, слизова оболонка тонкого і товстого кишечника, брижові лімфатичні вузли, парні сироватки крові
Експрес-методи	РІФ, РДП, РГГА, ІФА, внутрішньоядерні й цитоплазматичні тільця-включення
Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> 1) КК нирок кошенят або норок. ЦПД не проявляється; РГА; 2) норки, зараження орально. Через 4 доби клінічні ознаки хвороби, загибель, патоморфологічні зміни. <i>Ідентифікація вірусу:</i> РІФ, РГГА
Ретроспективна діагностика	РГГА, РДП
Диференціальна діагностика	Чума, ешерихіоз, сальмонельоз, пастерельоз
Алеутська хвороба норок (вірусний плазмодитоз норок)	
Збудник	Амдопарвовірус м'ясоїдних 1, родина <i>Parvoviridae</i> , підродини <i>Parvovirinae</i> , рід <i>Amdoparvovirus</i>
Матеріал для дослідження	Печінка, селезінка, нирки, лімфатичні вузли, сироватки крові
Експрес-методи	РІФ, ПЛР
Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> Норки, зараження в/ч. Через 30–40 діб клінічні ознаки хвороби, загибель, патоморфологічні зміни. <i>Ідентифікація вірусу:</i> РІФ, ПЛР
Серологічна діагностика	РНІФ, ЗІЕФ, ІФА
Диференціальна діагностика	Аліментарна жирова дистрофія печінки

Підрозділ 10.7.6 (закінчення таблиці)

Вірусний ентерит гусей (вірусний гепатит гусей, чума гусей)	
Збудник	Депендопарвовірус гусей 1, родина <i>Parvoviridae</i> , підродина <i>Parvovirinae</i> , рід <i>Dependoparvovirus</i>
Матеріал для дослідження	Печінка, селезінка, нирки, головний мозок, парні сироватки крові
Експрес-методи	РІФ
Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> 1) гусячі ембріони 5–12 днів, зараження в алантоїсну порожнину, на ХАО або в жовтковий мішок. Через 2–7 днів загибель; гіперемія, крововиливи і карликовість зародка; 2) КК фібробластів гусячого ембріона. Через 3–5 днів ЦПД: округлення клітин. <i>Ідентифікація вірусу:</i> РН, РІФ
Ретроспективна діагностика	РН, РНІФ, РНГА, ІФА
Диференціальна діагностика	Грип, сальмонельоз, ешерихіоз, пастерельоз, кормові отруєння

10.7.7. Цирковірусні інфекції

Цирковірусна інфекція свиней (синдром мультисистемного виснаження відлучених поросят)	
Збудник	Цирковірус свиней 2, родина <i>Circoviridae</i> , рід <i>Circovirus</i>
Матеріал для дослідження	Лімфатичні вузли, печінка, серце, ексудат грудної та черевної порожнин, сироватки крові
Експрес-методи	РІФ, ІФА, метод ДНК-зондів
Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> КК нирок свині, SK-6, PK-15. <i>Ідентифікація вірусу:</i> РІФ, ІФА
Серологічна діагностика	ІФА
Диференціальна діагностика	Парвовірусна інфекція, респіраторно-репродуктивний синдром, класична чума, африканська чума, мікоплазмоз, гемофіліоз, пастерельоз, сальмонельоз, отруєння

10.7.8. Анелловірусні інфекції

Інфекційна анемія курчат	
Збудник	Вірус анемії курчат, родина <i>Anelloviridae</i> , рід <i>Gyrovirus</i>
Матеріал для дослідження	Кров, послід, тимус, печінка, селезінка, парні сироватки крові
Експрес-методи	РНІФ, ПЛР, внутрішньоядерні тільця-включення

Підрозділ 10.7.8 (закінчення таблиці)

Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> Курчата, зараження в/ч. Через 10 днів клінічні ознаки хвороби, загибель, патоморфологічні зміни. <i>Ідентифікація вірусу:</i> РНІФ, ПЛР
Ретроспективна діагностика	РН, РНІФ, ІФА
Диференціальна діагностика	Інфекційна бурсальна хвороба

10.7.9. Параміксовірусні інфекції

Парагрип ВРХ (парагрип-3 ВРХ, транспортна гарячка ВРХ)	
Збудник	Респіровірус ВРХ 3, родина <i>Paramyxoviridae</i> , підродина <i>Orthoparamyxovirinae</i> , рід <i>Respirovirus</i>
Матеріал для дослідження	Змиви з носової порожнини, слизова оболонка носа, трахея, бронхи, легені, бронхіальні й середостінні лімфатичні вузли, парні сироватки крові
Експрес-методи	РІФ, ІФА, ПЛР
Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> 1) КК нирок або легень ембріона корови, нирок чи сім'яників телят. Через 2–3 доби ЦПД: округлення клітин, синцитії, цитоплазматичні та внутрішньоядерні тільця-включення; РГАд, РГА; 2) КЕ 6–10 днів, зараження в амніотичну порожнину. Загибелі немає; РГА. <i>Ідентифікація вірусу:</i> РГГА, РГГАд, РН, РІФ, ІФА
Ретроспективна діагностика	РГГА, РН, РНГА, ІФА
Диференціальна діагностика	Інфекційний ринотрахеїт, вірусна діарея, аденовірусна інфекція, респіраторно-синцитіальна інфекція, мікоплазмоз, хламідіоз
Чума ВРХ	
Збудник	Морбіллівірус чуми ВРХ, родина <i>Paramyxoviridae</i> , підродина <i>Orthoparamyxovirinae</i> , рід <i>Morbillivirus</i>
Матеріал для дослідження	Кров, пунктат передлопаткових лімфатичних вузлів; змиви з носової та ротової порожнин, очей і прямої кишки; передлопаткові й мезентеріальні лімфатичні вузли, паренхіматозні органи; слизові оболонки носа, рота, сичуга і тонкого кишечника; парні сироватки крові
Експрес-методи	РІФ, РЗК, РДП, ЗІЕФ, РНГА, ІФА, ПЛР

Підрозділ 10.7.9 (продовження таблиці)

Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> КК нирок телят. Через 4–6 діб ЦПД: округлення і фрагментація клітин, симпласти, цитоплазматичні та внутрішньоядерні тільця-включення. <i>Ідентифікація вірусу:</i> РН, РІФ, РЗК, РДП
Ретроспективна діагностика	РН, РЗК, РГГА, РРГ, ІФА
Диференціальна діагностика	Злоякісна катаральна гарячка, вірусна діарея, ящур, пастерельоз, кокцидіоз, кровопаразитарні хвороби
Чума ДРХ (чума овець і кіз)	
Збудник	Морбіллівірус чуми дрібних жуйних, родина <i>Paramyxoviridae</i> , підродина <i>Orthoparamyxovirinae</i> , рід <i>Morbillivirus</i>
Матеріал для дослідження	Кров, змиви з носової та ротової порожнин, очей і прямої кишки; паренхіматозні органи, лімфатичні вузли; слизові оболонки носа, рота і тонкого кишечника; парні сироватки крові
Експрес-методи	РІФ, РЗК, РДП, ПЛР, цитоплазматичні та внутрішньоядерні тільця-включення
Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> КК нирок ембріона вівці або СНЕВ. Через 3–11 діб ЦПД: симпласти і внутрішньоядерні тільця-включення. <i>Ідентифікація вірусу:</i> РН, РІФ, РЗК, РДП
Ретроспективна діагностика	РН, РЗК
Диференціальна діагностика	Ящур, блутанг, хвороба Найробі
Синдром «блакитне око» свиней	
Збудник	Орторубулавірус свиней, родина <i>Paramyxoviridae</i> , підродина <i>Rubulavirinae</i> , рід <i>Orthorubulavirus</i>
Матеріал для дослідження	Головний мозок, печінка, селезінка, глоткові й мезентеріальні лімфатичні вузли, парні сироватки крові
Експрес-методи	РІФ, цитоплазматичні тільця-включення
Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> КК нирок поросят або РК-15. Через 2 доби ЦПД: округлення клітин, синцитії; РГАд, РГА. <i>Ідентифікація вірусу:</i> РГГА, РГГАд, РН, РІФ
Ретроспективна діагностика	РГГА, РН, ІФА
Диференціальна діагностика	Парвовірусна інфекція, грип, чума, ентеровірусна інфекція, набрякова хвороба, авітаміноз А

Підрозділ 10.7.9 (продовження таблиці)

Парагрип свиней (Сендай-інфекція)	
Збудник	Респіровірус свиней 1, родина <i>Paramyxoviridae</i> , підродина <i>Orthoparamyxovirinae</i> , рід <i>Respirovirus</i>
Матеріал для дослідження	Слизова оболонка носа, трахея, головний мозок, парні сироватки крові
Експрес-методи	—
Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> 1) Білі миші, зараження і/н. Геморагічна пневмонія, загибель; 2) КЕ 10–12 днів, зараження в алантоїсну або амніотичну порожнину. Загибелі немає; РГА; 3) КК фібробластів курячого ембріона. ЦПД: симпласти; РГА. <i>Ідентифікація вірусу:</i> РГГА, РН
Ретроспективна діагностика	РГГА, РН
Диференціальна діагностика	Грип, аденовірусна інфекція
Чума м'ясоїдних (чума собак)	
Збудник	Морбіллівірус чуми собак, родина <i>Paramyxoviridae</i> , підродина <i>Orthoparamyxovirinae</i> , рід <i>Morbillivirus</i>
Матеріал для дослідження	Кров, слина, кал, змиви і мазки-відбитки зі слизової оболонки носа та кон'юнктиви, паренхіматозні органи, трахея, головний мозок, сечовий міхур, парні сироватки крові
Експрес-методи	ІФА, ІХА, РНГА, РІФ, РЗК, РДП, ПЛР, цитоплазматичні та внутрішньоядерні тільця-включення Лентца
Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> 1) КК нирок собак, тхорів або кролів. Через 2–6 діб ЦПД: синцитії, цитоплазматичні та внутрішньоядерні тільця-включення; 2) КЕ 5–12 днів, зараження в жовтковий мішок, алантоїсну порожнину або на ХАО. Через 7–11 діб загибель, помутніння ХАО. <i>Ідентифікація вірусу:</i> РН, РІФ, РЗК, РДП, ІФА, РНГА
Ретроспективна діагностика	РНГА, ІФА
Диференціальна діагностика	Інфекційний гепатит, сказ, хвороба Ауескі, вірусний ентерит норок, алеутська хвороба норок, парвовірусна інфекція, сальмонельоз, пастерельоз, лептоспіроз, авітаміноз В ₁ , кормові отруєння

Підрозділ 10.7.9 (закінчення таблиці)

Ньюкаслська хвороба (хвороба Ньюкасла, псевдочума птахів)	
Збудник	Ортоавулавірус птахів 1, родина <i>Paramyxoviridae</i> , підродина <i>Avulavirinae</i> , рід <i>Orthoavulavirus</i>
Матеріал для дослідження	Змиви з трахеї та клоаки, слизові оболонки трахеї й кишечника, паренхіматозні органи, головний мозок, кістковий мозок, парні сироватки крові
Експрес-методи	РІФ, РНГА, ІФА, ПЛР
Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> 1) КЕ 9–11 днів, зараження в алантоїсну порожнину. Через 1–3 доби загибель, крововиливи на зародку; РГА; 2) КК фібробластів курячого ембріона. Через 2–3 доби ЦПД: симпласти, цитоплазматичні тільця-включення; РГАд, РГА. <i>Ідентифікація вірусу:</i> РГГА, РГГАд, ІФА
Ретроспективна діагностика	РГГА, РРГ, ІФА
Диференціальна діагностика	Грип, інфекційний бронхіт, інфекційний ларинготрахеїт, інфекційний енцефаломієліт, параміксовірусна хвороба-2, пастерельоз, респіраторний мікоплазмоз, авітамінози В і Е
Параміксовірусна хвороба птахів 2 (парагрип-2 птахів)	
Збудник	Метаавулавірус птахів 2, родина <i>Paramyxoviridae</i> , підродина <i>Avulavirinae</i> , рід <i>Metaavulavirus</i>
Матеріал для дослідження	Змиви з трахеї та клоаки, слизові оболонки трахеї й кишечника, легені парні сироватки крові
Експрес-методи	ІФА
Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> 1) КЕ 9–10 днів, зараження в алантоїсну порожнину. Через 3–4 доби загибель, РГА; 2) КК фібробластів курячого ембріона. ЦПД: синцитії, цитоплазматичні тільця-включення; РГА. <i>Ідентифікація вірусу:</i> РГГА, РН, ІФА
Ретроспективна діагностика	РГГА, РН
Диференціальна діагностика	Ньюкаслська хвороба, грип, інфекційний бронхіт, інфекційний ларинготрахеїт, респіраторний мікоплазмоз

10.7.10. Пневмовірусні інфекції

Респіраторно-синцитіальна інфекція ВРХ	
Збудник	Ортопневмовірус ВРХ, родина <i>Pneumoviridae</i> , рід <i>Orthopneumovirus</i>
Матеріал для дослідження	Змиви з носової порожнини, слизова оболонка носа, трахея, бронхи, легені, бронхіальні й середостінні лімфатичні вузли, парні сироватки крові
Експрес-методи	РІФ, ІФА, ПЛР, синцитії, цитоплазматичні тільця-включення
Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> КК нирок або легень ембріона корови, сім'яників телят. Через 5–6 діб ЦПД: синцитії, цитоплазматичні тільця-включення. <i>Ідентифікація вірусу:</i> РН, РІФ, РДП, РЗК
Ретроспективна діагностика	РН, РДП, РНГА, ІФА
Диференціальна діагностика	Парагрип, інфекційний ринотрахеїт, вірусна діарея, аденовірусна інфекція, мікоплазмоз, хламідіоз

10.7.11. Рабдовірусні інфекції

Сказ	
Збудник	Ліссавірус сказу, родина <i>Rhabdoviridae</i> , рід <i>Lissavirus</i>
Матеріал для дослідження	Голова з двома шийними хребцями від великих і середніх тварин, трупи дрібних тварин
Експрес-методи	РІФ, ІФА, РДП, ІХА, ПЛР, цитоплазматичні тільця-включення Бабеша – Негрі
Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> 1) білі мишенята, зараження і/ц і п/ш. Через 7–10 діб скуйовдження шерсті, горбатість спини, порушення координації рухів, параліч кінцівок і загибель; 2) КК нейробластами мишей КЛ-1300 або невриноми Гасероного вузла пацюків ЦПД не проявляється. <i>Ідентифікація вірусу:</i> РІФ, РДП, тільця Бабеша – Негрі
Ретроспективна діагностика	—
Диференціальна діагностика	Хвороба Ауескі, чума м'ясоїдних (нервова форма), енцефаломієліти коней (східний, західний, венесуельський)
Ефемерна гарячка ВРХ	
Збудник	Ефемеровірус гарячки ВРХ, родина <i>Rhabdoviridae</i> , рід <i>Ephemerovirus</i>
Матеріал для дослідження	Кров, парні сироватки крові
Експрес-методи	РІФ

Підрозділ 10.7.11 (закінчення таблиці)

Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> 1) білі мишенята, зараження і/ц. Через 5–7 діб збудження, пригнічення, атаксія, параліч задніх кінцівок, відставання в рості, загибель; 2) КК нирок телят або ВНК-21. ЦПД не проявляється. <i>Ідентифікація вірусу:</i> РІФ, РН, РЗК, РДП
Ретроспективна діагностика	РН, РЗК
Диференціальна діагностика	Чума, ящур, злаякісна катаральна гарячка, інфекційний ринотрахеїт, вірусна діарея, парагрип, аденовірусна інфекція
Везикулярний стоматит	
Збудник	Везикуловіруси Індіана, Алагоас, Кокал, Нью-Джерсі, родина <i>Rhabdoviridae</i> , рід <i>Vesiculovirus</i>
Матеріал для дослідження	Стінки і вміст везикул, слина, зскрібки зі слизової оболонки рота, парні сироватки крові
Експрес-методи	РЗК, РДП, ІФА, ПЛР
Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> 1) КК фібробластів курячого ембріона, нирок мурчака, або поросяти, L. Через 1–2 доби ЦПД: округлення клітин; 2) KE 7–8 днів, зараження на ХАО. Через 2–3 доби на ХАО віспини; 3) білі мишенята, зараження і/ц або в/ч. Через 2–3 доби скуйовдження шерсті, тремтіння, атаксія, параліч кінцівок і загибель; 4) мурчаки, зараження в/ш. Через 2–3 доби везикули на лапках і язиці. <i>Ідентифікація вірусу:</i> РН, РЗК, РДП, ІФА
Ретроспективна діагностика	РН, РЗК
Диференціальна діагностика	Ящур, віспа, інфекційний ринотрахеїт ВРХ, вірусна діарея ВРХ, злаякісна катаральна гарячка, везикулярна хвороба свиней, везикулярна екзантема свиней, некробактеріоз, грибові та неінфекційні стоматити

10.7.12. Ортоміксовірусні інфекції

Грип коней	
Збудник	Вірус грипу А, родина <i>Orthomyxoviridae</i> , рід <i>Alphainfluenzavirus</i>
Матеріал для дослідження	Змиви з носової порожнини і повітроносного мішка, бронхіальний ексудат, легені, парні сироватки крові
Експрес-методи	РІФ, ПЛР

Підрозділ 10.7.12 (продовження таблиці)

Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> KE 9–11 днів, зараження в алантоїсну або амніотичну порожнину. Через 2–4 доби РГА. <i>Ідентифікація вірусу:</i> РГГА
Ретроспективна діагностика	РГГА, РЗК, РРГ, ІФА
Диференціальна діагностика	Ринопневмонія, вірусний артеріїт, аденовірусна інфекція, контагіозна плевропневмонія
Грип свиней	
Збудник	Вірус грипу А, родина <i>Orthomyxoviridae</i> , рід <i>Alphainfluenzavirus</i>
Матеріал для дослідження	Змиви зі слизової оболонки носа, бронхіальний ексудат, трахея, легені, парні сироватки крові
Експрес-методи	РІФ, РГГА, ПЛР
Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> 1) KE 9–11 днів, зараження в алантоїсну або амніотичну порожнину. Через 2–3 доби крововиливи на зародку; РГА; 2) КК нирок поросят. Через 1–2 доби ЦПД, подібна до спонтанної дегенерації клітин; РГАд, РГА; 3) білі миші або білі пацюки, зараження і/н. Через 1–2 доби риніт, кон'юнктивіт, загибель; вогнищева пневмонія (в мишей). <i>Ідентифікація вірусу:</i> РГГА, РГГАд, РЗК, РІФ, РН, ІФА
Ретроспективна діагностика	РГГА, РНГА, РРГ, РН
Диференціальна діагностика	Парагрип, аденовірусна інфекція, мікоплазмозна і хламідіозна пневмонії, пастерельоз, гемофільозний полісерозит, гемофільозна плевропневмонія
Грип птахів (класична чума птахів)	
Збудник	Вірус грипу А, родина <i>Orthomyxoviridae</i> , рід <i>Alphainfluenzavirus</i>
Матеріал для дослідження	Змиви з носоглотки і клоаки, трахея, підочні синуси, повітроносні мішки, легені, печінка, селезінка, кишечник, головний мозок, парні сироватки крові
Експрес-методи	РІФ, ІФА, ПЛР, цитоплазматичні тільця-включення
Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> 1) KE 9–11 днів, зараження в алантоїсну або амніотичну порожнину. Через 2–3 доби загибель, крововиливи на зародку; РГА; 2) КК фібробластів курячого ембріона. Через 1–2 доби ЦПД, подібна до спонтанної дегенерації клітин; РГАд, РГА. <i>Ідентифікація вірусу:</i> РГГА, РГГАд, РН, РЗК

Підрозділ 10.7.12 (закінчення таблиці)

Ретроспективна діагностика	РГГА, РЗК, РРГ, ІФА
Диференціальна діагностика	Ньюкаслська хвороба, інфекційний бронхіт, інфекційний ларинготрахеїт, респіраторний мікоплазмоз
Грип качок (інфекційний синусит каченят)	
Збудник	Вірус грипу А, родина <i>Orthomyxoviridae</i> , рід <i>Alphainfluenzavirus</i>
Матеріал для дослідження	Змиви з носоглотки і підочних синусів, слизові оболонки носа і трахеї, підочні синуси, легені, печінка, селезінка, головний мозок, парні сироватки крові
Експрес-методи	РІФ, РГГА
Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> 1) КЕ 9–11 днів або качині ембріони 14–15 днів, зараження в алантоїсну порожнину. Через 2–3 доби загибель, гіперемія та крововиливи на зародку; РГА; 2) КК фіброblastів курячого ембріона. Через 1–2 доби ЦПД, подібна до спонтанної дегенерації клітин; РГАд, РГА. <i>Ідентифікація вірусу:</i> РГГА, РГГАд, РН, РІФ
Ретроспективна діагностика	РГГА, РН
Диференціальна діагностика	Ньюкаслська хвороба, вірусний гепатит, сальмонельоз, пастерельоз

10.7.13. Перібун'явірусні інфекції

Хвороба Акабане	
Збудник	Ортобуньявірус Акабане, родина <i>Peribunyaviridae</i> , рід <i>Orthobunyavirus</i>
Матеріал для дослідження	Кров, абортований або мертворожденний плід, парні сироватки крові
Експрес-методи	РІФ, ПЛР
Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> 1) білі мишенята, зараження і/ц. Утрата рефлексу ссання, паралічі, загибель; 2) КК CV-1. Через 2–3 доби ЦПД: зернистість і вакуолізація цитоплазми. <i>Ідентифікація вірусу:</i> РІФ, РН, РЗК, ІФА
Ретроспективна діагностика	РН, РГГА, ІФА
Диференціальна діагностика	Хвороба Шмалленберга

10.7.14. Найровірусні інфекції

Хвороба Найробі	
Збудник	Ортонайровірус хвороби овець Найробі, родина <i>Nairoviridae</i> , рід <i>Orthonaivirus</i>
Матеріал для дослідження	Кров, кал, сеча, паренхіматозні органи, лімфатичні вузли, парні сироватки крові
Експрес-методи	РІФ, РДП, ПЛР, цитоплазматичні тільця-включення
Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> 1) білі мишенята, зараження і/ц або в/ч. Через 3–4 доби ознаки енцефаліту, загибель, некроз і геморагії в головному мозку; 2) КК нирок ягнят або козенят, ВНК-21. Через 24 год ЦПД: деструкція ядер, цитоплазматичні тільця-включення. <i>Ідентифікація вірусу:</i> РН, РІФ, РЗК, РДП, ІФА
Ретроспективна діагностика	РН, РЗК, РДП, РНГА, РНІФ
Диференціальна діагностика	Гарячка долини Ріфт, чума, блутанг, гідроперикардит

10.7.15. Фенуївірусні інфекції

Гарячка долини Ріфт (ензоотичний гепатит)	
Збудник	Флебовірус гарячки долини Ріфт, родина <i>Phenuiviridae</i> , рід <i>Phlebovirus</i>
Матеріал для дослідження	Кров, печінка, селезінка, нирки, парні сироватки крові
Експрес-методи	РІФ, ІФА, ПЛР
Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> 1) білі мишенята, зараження в/ч або і/ц. Через 2–4 доби загибель, некроз печінки, внутрішньоядерні тільця – включення; РГА; 2) КЕ 2–3 дні, зараження в жовтковий мішок. Через 2–3 доби загибель; РГА; 3) КК фіброblastів курячого ембріона, нирок ягнят або хом'яків. Через 5 діб ЦПД; РГА. <i>Ідентифікація вірусу:</i> РН, РІФ, РГГА, РЗК, РДП, ЗІЕФ
Ретроспективна діагностика	РН, РГГА, РЗК, ІФА
Диференціальна діагностика	Блутанг, хвороба Найробі, хвороба Вессельборна, сальмонельоз, бразот, анаеробна ентеротоксемія

10.7.16. Коронавірусні інфекції

Коронавірусна інфекція ВРХ	
Збудник	Бетакоронавірус 1, родина <i>Coronaviridae</i> , підродина <i>Orthocoronavirinae</i> , рід <i>Betacoronavirus</i>
Матеріал для дослідження	Кал, носовий слиз, тонкий кишечник із вмістом, слизова оболонка носа, парні сироватки крові телят, сироватки крові корів, молозиво
Експрес-методи	ЕМ, ІЕМ, РІФ, ІФА, РГГА, ПЛР
Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> КК нирок ембріона корови або Vero. Через 3–4 доби ЦПД: округлення клітин, синцитії; РГА <i>Ідентифікація вірусу:</i> РІФ, ІФА, РГГА, РЗК
Ретроспективна діагностика	РГГА, РН, РЗК
Диференціальна діагностика	Ротавірусна інфекція, ешерихіоз
Трансмисивний гастроентерит свиней (інфекційний гастроентерит свиней)	
Збудник	Альфакокоронавірус 1, родина <i>Coronaviridae</i> , підродина <i>Orthocoronavirinae</i> , рід <i>Alphacoronavirus</i>
Матеріал для дослідження	Тонкий кишечник із вмістом, паренхіматозні органи, мезентеріальні лімфатичні вузли, головний мозок, парні сироватки крові
Експрес-методи	РІФ, ІФА, ЗІЕФ, ПЛР
Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> КК нирок, сім'яників або щитоподібної залози поросят, РК-15. Через 2–4 доби ЦПД: округлення клітин, синцитії. <i>Ідентифікація вірусу:</i> РН, РІФ, ІФА
Ретроспективна діагностика	РН, РНІФ, РГГА, РНГА, ІФА
Диференціальна діагностика	Ротавірусна інфекція, епідемічна діарея, класична чума, ешерихіоз, сальмонельоз, дизентерія, кормові отруєння
Епідемічна діарея свиней	
Збудник	Вірус епідемічної діареї свиней, родина <i>Coronaviridae</i> , підродина <i>Orthocoronavirinae</i> , рід <i>Alphacoronavirus</i>
Матеріал для дослідження	Кал, тонкий кишечник із вмістом, парні сироватки крові
Експрес-методи	РІФ, ІФА, ПЛР
Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> КК Vero. Через 24 год ЦПД: синцитії. <i>Ідентифікація вірусу:</i> РІФ, ІФА, РН
Ретроспективна діагностика	РНІФ, ІФА, РН

Підрозділ 10.7.16 (продовження таблиці)

Диференціальна діагностика	Трансмисивний гастроентерит, ротавірусна інфекція, ешерихіоз
Гемаглютинувальний енцефаломієліт свиней	
Збудник	Бетакоронавірус 1, родина <i>Coronaviridae</i> , підродина <i>Orthocoronavirinae</i> , рід <i>Betacoronavirus</i>
Матеріал для дослідження	Головний мозок, легені, глоткові лімфатичні вузли, парні сироватки крові
Експрес-методи	—
Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> КК нирок поросят. Через 24 год ЦПД: синцитії; РГАд, РГА. <i>Ідентифікація вірусу:</i> РН, РГГАд, РГГА
Ретроспективна діагностика	РН, РГГА
Диференціальна діагностика	Хвороба Тешена, хвороба Ауескі
Коронавірусна інфекція собак (коронавірусний ентерит собак)	
Збудник	Альфакокоронавірус 1, родина <i>Coronaviridae</i> , підродина <i>Coronavirinae</i> , рід <i>Alphacoronavirus</i>
Матеріал для дослідження	Кал або ректальні мазки, тонкий кишечник, серце, печінка, селезінка, нирки, парні сироватки крові
Експрес-методи	ІХА, ІФА, РІФ, РГГА, ЕМ, ІЕМ, ПЛР
Вірусологічні методи	—
Ретроспективна діагностика	ІФА
Диференціальна діагностика	Чума, інфекційний гепатит, парвовірусна інфекція, ротавірусна інфекція, лептоспіроз, сальмонельоз, аліментарний і паразитарний гастроентерити
Інфекційний перитоніт котів	
Збудник	Альфакокоронавірус 1, родина <i>Coronaviridae</i> , підродина <i>Coronavirinae</i> , рід <i>Alphacoronavirus</i>
Матеріал для дослідження	Кров, асцитна рідина, паренхіматозні органи, сечовий міхур, кишечник, сироватки крові
Експрес-методи	ІХА, ІФА, РІФ, ПЛР
Вірусологічні методи	—
Серологічна діагностика	ІХА, РНГА, ІФА
Диференціальна діагностика	Бактеріальний перитоніт, токсоплазмоз, асцити серцевого і ниркового проходження, пухлини, серцева недостатність, травми, лімфосаркоматоз, туберкульоз, токсоплазмоз

Підрозділ 10.7.16 (закінчення таблиці)

Інфекційний бронхіт курей	
Збудник	Коронавірус птахів, родина <i>Coronaviridae</i> , підродина <i>Orthocoronavirinae</i> , рід <i>Gammacoronavirus</i>
Матеріал для дослідження	Змиви з гортані й трахеї, слизова оболонка гортані, трахея, бронхи, легені, нирки, яйцепроводи, яйця, парні сироватки крові
Експрес-методи	РІФ, ІФА, РДП, ПЛР
Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> КЕ 9–11 днів, зараження в алантоїсну порожнину. Через 2–8 діб загибель; карликовість і муміфікація зародка; РГА. <i>Ідентифікація вірусу:</i> РН, РГГА, РДП, РІФ
Ретроспективна діагностика	РН, РНГА, ІФА
Диференціальна діагностика	Інфекційний ларинготрахеїт, ньюкаслська хвороба, грип, віспа, інфекційний риніт, респіраторний мікоплазмоз, гемофіліоз

10.7.17. Артерівірусні інфекції

Репродуктивно-респіраторний синдром свиней	
Збудник	Бетаартерівіруси свиней 1 і 2, родина <i>Arteriviridae</i> , підродина <i>Variarterivirinae</i> , рід <i>Betaarterivirus</i>
Матеріал для дослідження	Кров, легені, селезінка, плевральна і перикардіальна рідини, абортований плід, парні сироватки крові
Експрес-методи	РНІФ, ІФА, ПЛР
Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> КК альвеолярних макрофагів поросят. Через 1–5 діб ЦПД. <i>Ідентифікація вірусу:</i> РН, РНІФ, ІФА
Ретроспективна діагностика	РН, РНІФ, ІФА
Диференціальна діагностика	Африканська чума, класична чума, хвороба Ауескі, грип, енцефаломіокардит, парвовірусна інфекція, трансмісивний гастроентерит, лептоспіроз, бруцельоз, хламідіоз
Вірусний артеріт коней	
Збудник	Альфартерівірус коней, родина <i>Arteriviridae</i> , підродина <i>Equarterivirinae</i> , рід <i>Alphaarterivirus</i>
Матеріал для дослідження	Змиви з носової порожнини і кон'юнктиви, паренхіматозні органи, лімфатичні вузли, абортований плід, парні сироватки крові
Експрес-методи	РЗК, ПЛР

Підрозділ 10.7.17 (закінчення таблиці)

Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> КК РК-13. Через 4 доби ЦПД. <i>Ідентифікація вірусу:</i> РН, РЗК
Ретроспективна діагностика	РН, РЗК, ІФА
Диференціальна діагностика	Ринопневмонія, африканська чума

10.7.18. Тогавірусні інфекції

Західний енцефаломієліт коней (західний американський енцефаломієліт коней)	
Збудник	Вірус західного енцефаломієліту коней, родина <i>Togaviridae</i> , рід <i>Alphavirus</i>
Матеріал для дослідження	Кров, головний мозок, печінка, нирки, парні сироватки крові
Експрес-методи	РІФ, ІФА, ПЛР
Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> 1) білі мишенята, зараження і/ч або в поєднанні з п/ш чи в/ч. Через 2–5 діб судоми, паралічі, загибель; РГА; 2) КЕ 7–9 днів, зараження в жовтковий мішок або на ХАО. Через 24 год загибель; РГА; 3) КК фібробластів курячого ембріона, нирок хом'яків, кролів або телят. Через 1–2 доби ЦПД; РГА. <i>Ідентифікація вірусу:</i> РГГА, РН, РЗК, РІФ
Ретроспективна діагностика	РН, РГГА, РЗК
Диференціальна діагностика	Хвороба Борна, східний енцефаломієліт, венесуельський енцефаломієліт, японський енцефаліт, сказ, хвороба Ауескі, ботулізм, піроплазмоз, кормові отруєння
Східний енцефаломієліт коней (східний американський енцефаломієліт коней)	
Збудник	Вірус східного енцефаломієліту коней, родина <i>Togaviridae</i> , рід <i>Alphavirus</i>
Матеріал для дослідження	Кров, головний мозок, печінка, нирки, парні сироватки крові
Експрес-методи	РІФ, ІФА, ПЛР
Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> 1) білі мишенята, зараження і/ч або в поєднанні з п/ш чи в/ч. Через 2–5 діб судоми, паралічі, загибель; РГА; 2) КЕ 7–9 днів, зараження в жовтковий мішок або на ХАО. Через 2–3 доби загибель; РГА; 3) КК фібробластів курячого ембріона або нирок хом'яків. Через 24 год ЦПД; РГА. <i>Ідентифікація вірусу:</i> РГГА, РН, РЗК, РІФ

Підрозділ 10.7.18 (закінчення таблиці)

Ретроспективна діагностика	РН, РГГА, РЗК
Диференціальна діагностика	Хвороба Борна, західний енцефаломієліт, венесуельський енцефаломієліт, японський енцефаліт, сказ, хвороба Ауескі, ботулізм, піроплазмоз, кормові отруєння
Венесуельський енцефаломієліт коней	
Збудник	Вірус венесуельського енцефаломієліту коней, родина <i>Togaviridae</i> , рід <i>Alphavirus</i>
Матеріал для дослідження	Кров, головний мозок, нирки, парні сироватки крові
Експрес-методи	РІФ, ІФА, ПЛР
Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> 1) білі мишенята, зараження і/ц або в поєднанні з п/ш чи в/ч. Через 2–5 діб судоми, паралічі, загибель; РГА; 2) КЕ 7–9 днів, зараження в жовтковий мішок або на ХАО. Через 2–3 доби загибель; РГА; 3) КК фібробластів курячого ембріона або нирок хом'яків. Через 1–2 доби ЦПД; РГА. <i>Ідентифікація вірусу:</i> РГГА, РН, РЗК, РІФ
Ретроспективна діагностика	РН, РГГА, РЗК
Диференціальна діагностика	Хвороба Борна, західний енцефаломієліт, східний енцефаломієліт, японський енцефаліт, сказ, хвороба Ауескі, ботулізм, піроплазмоз, кормові отруєння

10.7.19. Флавівірусні інфекції

Вірусна діарея ВРХ (хвороба слизових оболонок ВРХ)	
Збудник	Пестівіруси А і В, родина <i>Flaviviridae</i> , рід <i>Pestivirus</i>
Матеріал для дослідження	Кров, кал, молоко, сперма, змиви з носової порожнини, зіскрібки зі слизових оболонок рота і носового дзеркала, абортований плід, плацента, амніотична рідина; слизові оболонки носа, рота, передшлунків, тонкого кишечника; легені, бронхи, селезінка, нирки, мигдалини, лімфатичні вузли (бронхіальні, середостінні, брижові), парні сироватки крові
Експрес-методи	РІФ, ІФА, метод ДНК-зондів, ПЛР
Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> КК нирок, легень або селезінки ембріона корови, сім'яників телят. Через 2–5 діб ЦПД: округлення клітин. <i>Ідентифікація вірусу:</i> РН, РІФ, ІФА, РДП
Ретроспективна діагностика	РН, РНГА, ІФА

Підрозділ 10.7.19 (продовження таблиці)

Диференціальна діагностика	Інфекційний ринотрахеїт, аденовірусна інфекція, респіраторно-синцитіальна інфекція, парагрип, чума, злюккісна катаральна гарячка, ящур, хламідіоз, паратуберкульоз
Шотландський енцефаломієліт овець (шотландський кліщовий енцефаліт)	
Збудник	Вірус хвороби Люпінга, родина <i>Flaviviridae</i> , рід <i>Flavivirus</i>
Матеріал для дослідження	Кров, головний мозок, парні сироватки крові
Експрес-методи	РДП
Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> 1) білі миші, зараження і/ц. Через 5–14 діб скуйовдження шерсті, в'ялість, збудження, тремор, порушення координації рухів, судоми, парези кінцівок, загибель; 2) КЕ 5–12 днів, зараження на ХАО або в жовтковий мішок. Через 24 год дрібновогнищеві помутніння ХАО, цитоплазматичні тільця-включення; в разі зараження в жовтковий мішок – загибель через 5–6 діб; набряк ХАО, амніотичної оболонки, зародка; ознаки жовтяниці, некроз печінки. <i>Ідентифікація вірусу:</i> РН, РДП
Ретроспективна діагностика	РН
Диференціальна діагностика	Сказ, хвороба Ауескі, лістеріоз, інфекційна ентеротоксемія, ценуроз
Класична чума свиней (свропейська чума свиней)	
Збудник	Пестівірус С, родина <i>Flaviviridae</i> , рід <i>Pestivirus</i>
Матеріал для дослідження	Кров, паренхіматозні органи, мигдалини, лімфатичні вузли, серце, грудна кістка, головний і спинний мозок, сироватки крові
Експрес-методи	РІФ, РНГА, ІФА, РДП, ЗІЕФ, ПЛР
Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> КК РК-15. ЦПД не проявляється. <i>Ідентифікація вірусу:</i> РІФ, ІФА, РНГА, ПЛР
Серологічна діагностика	РНІФ, РНФМ, РНГА, ІХА, ІФА
Диференціальна діагностика	Африканська чума, хвороба Ауескі, грип, парагрип, трансмісивний гастроентерит, бешиха, пастерельоз, сальмонельоз, сибірка
Японський енцефаліт	
Збудник	Вірус японського енцефаліту, родина <i>Flaviviridae</i> , рід <i>Flavivirus</i>

Підрозділ 10.7.19 (закінчення таблиці)

Матеріал для дослідження	Кров, абортований, муміфікований або мертвонароджений плід, плацента, головний мозок, печінка, селезінка, м'язи, парні сироватки крові
Експрес-методи	РІФ, ІФА, ПЛР
Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> 1) білі мишенята, зараження і/ц. Через 4–5 діб ознаки енцефаліту, загибель; РГА; 2) КК нирок ембріонів свині, вівці або нирок хом'яка. Через 2–3 доби ЦПД; РГА. <i>Ідентифікація вірусу:</i> РІФ, РГГА, РН
Ретроспективна діагностика	РН, РГГА, РЗК
Диференціальна діагностика	Хвороба Борна, західний енцефаломієліт, східний енцефаломієліт, венесуельський енцефаломієліт, сказ, хвороба Ауескі, ботулізм, піроплазмоз, кормові отруєння
Менінгоенцефаліт індиків	
Збудник	Вірус менінгоенцефаліту індиків Ізраїля, родина <i>Flaviviridae</i> , рід <i>Flavivirus</i>
Матеріал для дослідження	Кров, головний мозок, печінка, селезінка, парні сироватки крові
Експрес-методи	РІФ
Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> 1) КЕ 5–7 днів, зараження в жовтковий мішок. Через 3–7 діб загибель; РГА; 2) КК фібробластів курячого ембріона. ЦПД, РГА. <i>Ідентифікація вірусу:</i> РІФ, РН, РГГА
Ретроспективна діагностика	РН, РГГА
Диференціальна діагностика	Інфекційний енцефаломієліт, хвороба Марека, ньюкаслська хвороба

10.7.20. Пікорнавірусні інфекції

Ящур

Збудник	Вірус ящуру, родина <i>Picornaviridae</i> , рід <i>Aphthovirus</i>
Матеріал для дослідження	Стінки і вміст афт, зіскрібки зі слизової оболонки глотки і стравоходу; кров у період підвищення температури (за відсутності афт); від молодняка – лімфатичні вузли голови і заглоткового кільця, підшлункова залоза, серцевий м'яз; парні сироватки крові
Експрес-методи	РЗК, РНГА, ІФА, ПЛР

Підрозділ 10.7.20 (продовження таблиці)

Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> 1) білі мишенята, зараження п/ш або в/ч. Через 2–5 діб парези, паралічі та загибель; некроз скелетних м'язів і міокарда; 2) мурчаки, зараження в/ш. Через 2–5 діб афти на лапках і слизовій оболонці рота; 3) КК нирок телят, поросят або ягнят, щитоподібної залози ВРХ, ВНК-21. Через 24 год ЦПД: округлення і фрагментація клітин. <i>Ідентифікація вірусу:</i> РЗК, РНГА, ІФА
Ретроспективна діагностика	РНГА, РН, РРІД, РНІФ, ІФА, реакція серозахисту на білих мишенятах
Диференціальна діагностика	Везикулярний стоматит, віспа, зляксіса катаральна гарячка, чума ВРХ, вірусна діарея ВРХ, контагіозна ектима овець і кіз, блутанг, везикулярна хвороба свиней, везикулярна екзантема свиней, некробактеріоз, копитна гниль
Ентеровірусна інфекція ВРХ	
Збудник	Ентеровірус Е, родина <i>Picornaviridae</i> , рід <i>Enterovirus</i>
Матеріал для дослідження	Кал, носоглоткові змиви, слизова оболонка тонкого кишечника, парні сироватки крові
Експрес-методи	РАЛ
Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> КК нирок ембріона корови. Через 1–2 доби ЦПД. <i>Ідентифікація вірусу:</i> РН
Ретроспективна діагностика	РН
Диференціальна діагностика	Парагрип, аденовірусна інфекція
Риновірусна інфекція ВРХ	
Збудник	Віруси риніту ВРХ А і В, родина <i>Picornaviridae</i> , рід <i>Aphthovirus</i>
Матеріал для дослідження	Змиви з носової порожнини, слизова оболонка носа, трахея, парні сироватки крові
Експрес-методи	—
Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> Органна культура трахеї або носових раковин ВРХ, КК нирок ембріона корови. Через 7–14 діб ЦПД. <i>Ідентифікація вірусу:</i> РН
Ретроспективна діагностика	РН
Диференціальна діагностика	Парагрип, респіраторно-синцитіальна інфекція

Підрозділ 10.7.20 (продовження таблиці)

Хвороба Тешена (ензоотичний енцефаломієліт свиней)	
Збудник	Тешовіруси А і В, родина <i>Picornaviridae</i> , рід <i>Teschovirus</i>
Матеріал для дослідження	Кал, зміви з прямої кишки, головний і спинний мозок, слизова оболонка обідкової кишки, парні сироватки крові
Експрес-методи	РІФ, ПЛР
Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> КК нирок поросят або ембріона свині, СНЕВ. Через 3–5 діб ЦПД: округлення клітин. <i>Ідентифікація вірусу:</i> РІФ, ІФА
Ретроспективна діагностика	РН, ІФА
Диференціальна діагностика	Хвороба Ауескі, сказ, класична чума, лістеріоз, кормові отруєння
Везикулярна хвороба свиней	
Збудник	Ентеровірус G, родина <i>Picornaviridae</i> , рід <i>Enterovirus</i>
Матеріал для дослідження	Стінки і вміст везикул, парні сироватки крові
Експрес-методи	РЗК, РІФ, ІФА, ПЛР
Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> 1) білі мишенята, зараження і/ц. Через 1–3 доби тремор, порушення координації рухів, паралічі, загибель, патоморфологічні зміни; 2) КК нирок поросят, РК-15, ІВ-RS-2. Через 1–2 доби ЦПД: округлення клітин, скупчення у вигляді грона. <i>Ідентифікація вірусу:</i> РН, РЗК, РІФ, ІФА
Ретроспективна діагностика	РН, РЗК, РДП, ІФА
Диференціальна діагностика	Ящур, везикулярний стоматит, везикулярна екзантема
Енцефаломіокардит свиней	
Збудник	Кардіовірус А, родина <i>Picornaviridae</i> , рід <i>Cardiovirus</i>
Матеріал для дослідження	Серце, паренхіматозні органи, головний мозок; абортований, муміфікований або мертвонароджений плід; сироватки крові свиноматок і новонароджених поросят (до прийому молозива)
Експрес-методи	РІФ
Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> 1) білі миші, зараження і/ц, і/н або в/ч. Через 4–7 діб скуювдження шерсті, порушення координації рухів, судоми, параліч задніх кінцівок, загибель, патоморфологічні зміни; 2) КК ВНК-21, Vero, PS. ЦПД: округлення клітин. <i>Ідентифікація вірусу:</i> РН, РІФ

Підрозділ 10.7.20 (закінчення таблиці)

Серологічна діагностика	РН, РГГА, РДП, ІФА
Диференціальна діагностика	Ящур, хвороба Тешена, набрякова хвороба
Вірусний гепатит каченят	
Збудник	Авігепатовірус А, родина <i>Picornaviridae</i> , рід <i>Avihepatovirus</i>
Матеріал для дослідження	Печінка, селезінка, головний мозок, парні сироватки крові
Експрес-методи	РІФ, РДП, РНГА, ІФА, цитоплазматичні тільця-включення
Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> 1) КЕ 8–10 днів або качині ембріони 12–14 днів, зараження на ХАО чи в алантоїсну порожнину. Через 2–5 діб загибель; набряки, гіперемія та крововиливи на зародку; набряк ХАО й печінки; зміна кольору і некроз печінки; ознаки жовтяниці; 2) КК фібробластів курячого або качинового ембріонів. Через 3–7 діб ЦПД: симпласти. <i>Ідентифікація вірусу:</i> РІФ, РДП, РН, РНГА, ІФА
Ретроспективна діагностика	РН, РДП
Диференціальна діагностика	Чума, грип, інфекційний серозит, сальмонельоз, ботулізм
Інфекційний енцефаломієліт птахів (епідемічний тремор)	
Збудник	Тремовіруси А і В, родина <i>Picornaviridae</i> , рід <i>Tremovirus</i>
Матеріал для дослідження	Послід, яйця, головний мозок, підшлункова залоза, парні сироватки крові
Експрес-методи	РІФ, РДП, ІФА, ПЛР
Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> 1) КЕ 5–6 днів, зараження в жовтковий мішок. Протягом 10–12 діб загибель; атрофія м'язів, водянка головного мозку, дистрофія нейронів; 2) КК фібробластів курячого ембріона або нирок курчат. ЦПД. <i>Ідентифікація вірусу:</i> РІФ, РН, РДП, ІФА
Ретроспективна діагностика	РН, РДП, РНІФ, РНГА, ІФА
Диференціальна діагностика	Ньюкаслська хвороба, хвороба Марека, авітамінози В і Е

10.7.21. Каліцівірусні інфекції

Везикулярна екзантема свиней	
Збудник	Вірус везикулярної екзантеми свиней, родина <i>Caliciviridae</i> , рід <i>Vesivirus</i>
Матеріал для дослідження	Стінки і вміст везикул, парні сироватки крові
Експрес-методи	РЗК, РІФ, ІФА, ПЛР
Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> КК нирок поросят, РК-15. Через 14 год ЦПД: деструкція цитоплазми та ядер, цитоплазматичні тільця-включення. <i>Ідентифікація вірусу:</i> РН, РЗК, РІФ, ІФА
Ретроспективна діагностика	РН, РЗК
Диференціальна діагностика	Ящур, везикулярний стоматит, везикулярна хвороба
Каліцівірусна інфекція котів (каліцівіроз котів)	
Збудник	Каліцівірус котів, родина <i>Caliciviridae</i> , рід <i>Vesivirus</i>
Матеріал для дослідження	Змиви з носової порожнини, слизова оболонка носа, трахея, парні сироватки крові
Експрес-методи	РІФ, ІХА, ПЛР
Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> КК нирок кошенят, CRFK і FS. Через 1–2 доби ЦПД: цитоплазматичні тільця-включення. <i>Ідентифікація вірусу:</i> РН, РІФ
Ретроспективна діагностика	РН, ІФА
Диференціальна діагностика	Інфекційний ринотрахеїт, реовірусна інфекція, хламідіоз, мікоплазмоз
Вірусна геморагічна хвороба кролів	
Збудник	Вірус геморагічної хвороби кролів, родина <i>Caliciviridae</i> , рід <i>Lagovirus</i>
Матеріал для дослідження	Цілі трупи або паренхіматозні органи, сироватки крові
Експрес-методи	РГГА, РЗК, ІФА
Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> Кролі, зараження в/м або п/ш. Через 2–3 доби клінічні ознаки хвороби, загибель, патологоанатомічні зміни. <i>Ідентифікація вірусу:</i> РГГА, РЗК, ІФА
Серологічна діагностика	РГГА, РЗК, ІФА
Диференціальна діагностика	Віспа, міксоматоз, пастерельоз, сальмонельоз, ешерихіоз, еймеріоз, кормові отруєння, тепловий удар

10.7.22. Ретровірусні інфекції

Лейкоз ВРХ	
Збудник	Вірус лейкозу ВРХ, родина <i>Retroviridae</i> , підродина <i>Orthoretrovirinae</i> , рід <i>Deltaretrovirus</i>
Матеріал для дослідження	Кров, сироватки крові, паренхіматозні органи, лімфатичні вузли, грудна кістка, серце, сичуг, матка, скелетні м'язи
Експрес-методи	РІФ, ПЛР
Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> 1) короткострокові культури лейкоцитів крові інфікованих тварин. РБТЛ; 2) метод співкультивування лімфоцитів крові інфікованих тварин і клітин субкультури легень ембріона корови. Через 4–8 діб ЦПД: синцитії; 3) КК ВЕСР. Через 4–8 діб ЦПД: синцитії. <i>Ідентифікація вірусу:</i> ЕМ, РІФ, РІА
Серологічна діагностика	РІД, ІФА, РНІФ, РНГА, РАЛ, ЗІЕФ
Диференціальна діагностика	Актиномікоз, туберкульоз, паратуберкульоз, бруцельоз
Інфекційна анемія коней	
Збудник	Вірус інфекційної анемії коней, родина <i>Retroviridae</i> , підродина <i>Orthoretrovirinae</i> , рід <i>Lentivirus</i>
Матеріал для дослідження	Кров, паренхіматозні органи, лімфатичні вузли, серце, сироватки крові
Експрес-методи	РГГА, ПЛР
Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> Культура лейкоцитів крові інфікованих тварин. Через 12–15 діб ЦПД: цитоплазматичні тільця-включення. <i>Ідентифікація вірусу:</i> РНІФ, ІФА
Серологічна діагностика	РДП, РЗК, РГГА, ІФА
Диференціальна діагностика	Піроплазмоз, нуталіоз, трипаносомоз, лептоспіроз, грип, ринопневмонія, бабезіоз, параскаридоз
Лейкемія котів	
Збудник	Вірус лейкемії котів, родина <i>Retroviridae</i> , підродина <i>Orthoretrovirinae</i> , рід <i>Gammaretrovirus</i>
Матеріал для дослідження	Кров, слина, кістковий мозок, сироватки крові
Експрес-методи	ІХА, РІФ, ПЛР
Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> КК фібробластів ембріона кішки. ЦПД не проявляється. <i>Ідентифікація вірусу:</i> ЕМ.

Підрозділ 10.7.22 (продовження таблиці)

Серологічна діагностика	ІФА
Диференціальна діагностика	Вірусний імунодефіцит
Вірусний імунодефіцит котів	
Збудник	Вірус імунодефіциту котів, родина <i>Retroviridae</i> , підродина <i>Orthoretrovirinae</i> , рід <i>Lentivirus</i>
Матеріал для дослідження	Кров, слина, сироватки крові
Експрес-методи	ІХА, ПЛР
Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> 1) КК лейкоцитів крові інфікованих котів; 2) метод співкультивування лейкоцитів крові інфікованих котів із клітинами перешеплюваних ліній CrFK або MBM; Через кілька тижнів ЦПД: пухирчаста дегенерація клітин, синцитії. <i>Ідентифікація вірусу:</i> ІФА.
Серологічна діагностика	ІХА, ІФА
Диференціальна діагностика	Лейкемія
Лейкоз птахів	
Збудник	Вірус лейкозу птахів, родина <i>Retroviridae</i> , підродина <i>Orthoretrovirinae</i> , рід <i>Alpharetrovirus</i>
Матеріал для дослідження	Кров, ембріони курей-вірусоносіїв, паренхіматозні органи, яєчники, серце, шлунок, кишечник, підшлункова залоза, фабрицієва сумка, сироватки крові
Експрес-методи	РІФ, РЗК, РНГА, РІА, ІФА, ПЛР
Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> КК фібробластів курячого ембріона. ЦПД не проявляється. <i>Ідентифікація вірусу:</i> РІФ-тест (проба Рубіна), кофал-тест, РІФ
Серологічна діагностика	РНГА, ІФА
Диференціальна діагностика	Саркома Рауса, хвороба Марека, авітамінози В і Е
Саркома Рауса	
Збудник	Вірус саркоми Рауса, родина <i>Retroviridae</i> , підродина <i>Orthoretrovirinae</i> , рід <i>Alpharetrovirus</i>
Матеріал для дослідження	Пухлинна тканина, сироватки крові

Підрозділ 10.7.22 (закінчення таблиці)

Експрес-методи	РІФ, ІФА, ПЛР
Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> 1) КЕ 8–9 днів, зараження на ХАО. Через 10 діб вогнища проліферації на ХАО (бляшки); 2) КК фібробластів курячого ембріона. Через 4–7 діб фокуси трансформації. <i>Ідентифікація вірусу:</i> РЗК, РН, кофал-тест
Серологічна діагностика	РН, РНГА, ІФА
Диференціальна діагностика	Лейкоз, хвороба Марека, авітамінози В і Е

10.7.23. Реовірусні інфекції

Реовірусна інфекція ВРХ	
Збудник	Ортореовірус ссавців, родина <i>Reoviridae</i> , підродина <i>Spinareovirinae</i> , рід <i>Orthoreovirus</i>
Матеріал для дослідження	Змиви з носової порожнини і кон'юнктиви, кал, лімфатичні вузли, парні сироватки крові
Експрес-методи	—
Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> КК нирок ембріона корови. Через 6 діб ЦПД: округлення клітин, цитоплазматичні тільця-включення; РГА. <i>Ідентифікація вірусу:</i> РГГА, РЗК, РДП, РН
Ретроспективна діагностика	РГГА, РЗК, РН
Диференціальна діагностика	Парагрип, аденовірусна інфекція
Ротавірусна інфекція ВРХ	
Збудник	Ротавіруси А, В і С, родина <i>Reoviridae</i> , підродина <i>Sedoreovirinae</i> , рід <i>Rotavirus</i>
Матеріал для дослідження	Кал, тонкий кишечник із вмістом, парні сироватки крові телят, сироватки крові корів, молозиво
Експрес-методи	ЕМ, ІЕМ, РІФ, ІФА, РДП, РЗК, ЗІЕФ, РАЛ, ПЛР
Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> КК нирок ембріона корови або Vero. Через 24 год ЦПД: округлення і фрагментація клітин, серпоподібні клітини, цитоплазматичні тільця-включення. <i>Ідентифікація вірусу:</i> РІФ, ІФА, РДП, РЗК, ЗІЕФ
Ретроспективна діагностика	РЗК, РНІФ, РГГА, РН, ІФА
Диференціальна діагностика	Коронавірусна інфекція, ешерихіоз

Підрозділ 10.7.23 (продовження таблиці)

Ротавірусна інфекція свиней	
Збудник	Ротавіруси А, В, С і Е, родина <i>Reoviridae</i> , підродина <i>Sedoreovirinae</i> , рід <i>Rotavirus</i>
Матеріал для дослідження	Кал, тонкий кишечник із вмістом, парні сироватки крові
Експрес-методи	ЕМ, ІЕМ, РІФ, РДП, РЗК, ЗІЕФ, РАЛ, ІФА, ПЛР
Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> КК нирок поросят, РК-15 або МА-104. ЦПД: округлення клітин. <i>Ідентифікація вірусу:</i> РІФ, ІФА
Ретроспективна діагностика	РГГА, РНІФ, ІФА
Диференціальна діагностика	Трансмисивний гастроентерит, ешерихіоз, сальмонельоз
Африканська чума коней	
Збудник	Вірус африканської чуми коней, родина <i>Reoviridae</i> , підродина <i>Sedoreovirinae</i> , рід <i>Orbivirus</i>
Матеріал для дослідження	Кров, селезінка, печінка, лімфатичні вузли, парні сироватки крові
Експрес-методи	РІФ, РЗК, РДП, ІФА, ПЛР
Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> 1) білі мишенята, зараження і/ц. Через 4–16 дів парези, паралічі, загибель; 2) КК нирок ягнят або ембріона вівці, ВНК-21, MS. Через 4–5 дів ЦПД: зернистість клітин, цитоплазматичні тільця-включення. <i>Ідентифікація вірусу:</i> РН, РІФ, РЗК, РДП, ІФА
Ретроспективна діагностика	РН, РЗК, РДП, РГГА
Диференціальна діагностика	Сибірка, піроплазмоз, трипаносомоз, вірусний артеріїт
Блутанг (хвороба синього язика овець, інфекційна катаральна гарячка овець)	
Збудник	Вірус блутанга, родина <i>Reoviridae</i> , підродина <i>Sedoreovirinae</i> , рід <i>Orbivirus</i>
Матеріал для дослідження	Кров, сеча, сперма, абортований плід, паренхіматозні органи, лімфатичні вузли, парні сироватки крові
Експрес-методи	РІФ, РДП, ІФА, ПЛР, ЕМ, ІЕМ, цитоплазматичні тільця-включення

Підрозділ 10.7.23 (закінчення таблиці)

Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> 1) КЕ, зараження в жовтковий мішок (6–8 днів) або в кровоносні судини ХАО (11–13 днів). Через 3–6 дів загибель; зародок вишнево-червоного кольору з множинними крововиливами; 2) білі мишенята, зараження і/ц. Через 2 доби збудження, атаксія, коматозний стан, загибель; 3) КК нирок ягнят або ембріона корови, ВНК-21, HeLa. Через 2–3 доби ЦПД: округлення і фрагментація клітин, цитоплазматичні тільця-включення. <i>Ідентифікація вірусу:</i> РН, РІФ, РЗК, РДП, ІФА
Ретроспективна діагностика	РЗК, РДП, РН, РГГА, РРГ, РНІФ, ІФА
Диференціальна діагностика	Ящур, контагіозна ектима, везикулярний стоматит, віспа, зляккісна катаральна гарячка, хвороба Найробі, гарячка долини Ріфт, некробактеріоз
Реовірусна інфекція птахів (реовірусний тендосиновіт птахів, вірусний артрит птахів)	
Збудник	Орторевірус птахів, родина <i>Reoviridae</i> , підродина <i>Sedoreovirinae</i> , рід <i>Orthoreovirus</i>
Матеріал для дослідження	Послід, яйця, сухожилля, печінка, селезінка, нирки, парні сироватки крові
Експрес-методи	РДП, РІФ, ПЛР
Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> 1) КЕ, зараження в жовтковий мішок (5–7 днів) або на ХАО (11–13 днів). Через 5 дів загибель, крововиливи на зародку, некроз печінки і селезінки; 2) КК нирок курчат або фібробластів курячого ембріона. ЦПД: синцитії, цитоплазматичні тільця-включення. <i>Ідентифікація вірусу:</i> РН, РІФ, РДП
Ретроспективна діагностика	РН, РДП, ІФА
Диференціальна діагностика	Синдром поганого засвоєння корму

10.7.24. Бірнавірусні інфекції

Інфекційна бурсальна хвороба (хвороба Гамборо)	
Збудник	Вірус інфекційної бурсальної хвороби, родина <i>Birnaviridae</i> , рід <i>Avibirnavirus</i>
Матеріал для дослідження	Фабрицієва сумка, печінка, селезінка, нирки, парні сироватки крові

Підрозділ 10.7.24 (закінчення таблиці)

Експрес-методи	РІФ, РДП, ІФА, ПЛР, цитоплазматичні тільця-включення
Вірусологічні методи	<i>Ізоляція та індикація вірусу:</i> 1) КЕ 10–12 днів, зараження на ХАО. Через 3–7 дів загибель; гіперемія, крововиливи, набряки і карликовість зародка, некроз печінки, селезінки та нирок; 2) КК фібробластів або нирок курячого ембріона. Через 3–5 дів ЦПД: округлення клітин, цитоплазматичні тільця-включення. <i>Ідентифікація вірусу:</i> РН, РІФ, РДП
Ретроспективна діагностика	РН, РНГА, РДП, ІФА
Диференціальна діагностика	Хвороба Марека, ньюкаслська хвороба, грип, інфекційний бронхіт, лейкоз, саркома Рауса, аденовірусна апластична анемія, нефрозо-нефрит, синдром ожиріння печінки і нирок, простогоніоз, кокцидіоз, стрептококоз, авітаміноз А, отруєння

Контрольні запитання

1. Які загальні принципи лабораторної діагностики вірусних інфекцій тварин? **2.** Назвіть основні вимоги за відбору клінічного і патолого-анатомічного вірусомісного матеріалу. **3.** У чому полягає підготовка вірусомісного матеріалу для дослідження? **4.** Які ви знаєте методи експрес-діагностики вірусних інфекцій тварин? **5.** Розкажіть про культивування вірусів в організмі лабораторних тварин. **6.** Що ви знаєте про культивування вірусів у курячих ембріонах? **7.** Охарактеризуйте культуру клітин як найдосконаліший об'єкт для культивування вірусів. **8.** Розкажіть про титрування вірусів. **9.** Охарактеризуйте загальні принципи серологічних реакцій, що використовуються в лабораторній діагностиці вірусних інфекцій тварин. **10.** Розкажіть суть і методи постановки найбільш актуальних для вірусологічної практики серологічних реакцій. **11.** Охарактеризуйте збудники актуальних для ветеринарної практики вірусних інфекцій тварин і методи лабораторної діагностики.

Розділ 11

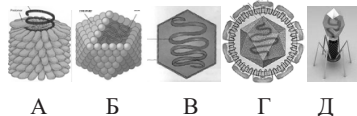
ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ
ДЛЯ КОНТРОЛЮ
ЗНАНЬ СТУДЕНТІВ

11.1. Загальна ветеринарна вірусологія

- Дайте найбільш вичерпне визначення вірусів:
 - облігатні (абсолютні) внутрішньоклітинні паразити;
 - облігатні внутрішньоклітинні паразити на генетичному рівні;
 - автономні генетичні структури, які репродукуються лише в чутливих клітинах евкаріотів і прокаріотів;
 - унікальна неклітинна форма життя, представлена в неактивному стані у вигляді віріонів;
 - неклітинна форма життя – віріони, які не мають власних органел і не розмножуються на штучних живильних середовищах.
- Назвіть кардинальну відмінність вірусів від клітинних форм життя:
 - неклітинна будова – віріони;
 - надзвичайна різноманітність генетичного матеріалу;
 - відсутність власних систем синтезу протеїнів;
 - диз'юнктивний спосіб розмноження;
 - облігатний внутрішньоклітинний паразитизм на генетичному рівні.
- Що є активною формою існування вірусів?
 - віріон;
 - вірусний геном;
 - капсид;
 - суперкапсид;
 - нуклеоїд.

4. Дайте характеристику структурній організації вірусів:

- 1) просто організований вірус;
- 2) складно організований вірус;
- 3) спіральний капсид;
- 4) кубічний (ікосаедральний) капсид;
- 5) складний (комбінований) тип симетрії.



5. Структура віріонів просто організованих вірусів:

- 1) нуклеїнова кислота з геномними протеїнами;
- 2) нуклеокапсид;
- 3) нуклеоїд (серцевина);
- 4) нуклеокапсид, оточений суперкапсидом;
- 5) нуклеоїд, оточений суперкапсидом.

6. Структура віріонів складно організованих вірусів:

- 1) нуклеїнова кислота з геномними протеїнами;
- 2) нуклеокапсид;
- 3) нуклеоїд (серцевина);
- 4) нуклеокапсид, оточений суперкапсидом;
- 5) нуклеоїд, оточений суперкапсидом.

7. Дайте визначення структурним компонентам віріонів вірусів:

1) капсид;	А) протеїнова волокниста оболонка в герпесвірусів;
2) суперкапсид;	Б) вірусний геном у комплексі з внутрішніми протеїнами або нуклеокапсид, оточений М-протеїном;
3) нуклеоїд (серцевина);	В) проміжна оболонка з М-протеїну, яка оточує нуклеокапсид;
4) протеїнова мембрана;	Г) зовнішня ліпопротеїнова оболонка віріона;
5) тегумент.	Д) протеїнова оболонка віріона, що оточує нуклеїнову кислоту.

8. Форми вірусних ДНК:

- 1) одно- і дволанцюгові;
- 2) лінійні, кільцеві;
- 3) фрагментовані;
- 4) роз'єднані;
- 5) плюс-ниткові, мінус-ниткові.

9. Форми вірусних РНК:

- 1) одно- і дволанцюгові;
- 2) лінійні, кільцеві;
- 3) фрагментовані;
- 4) роз'єднані;
- 5) плюс-ниткові, мінус-ниткові.

10. Назвіть основні критерії класифікації вірусів:

- 1) тип, структура і стратегія вірусного генома;
- 2) морфологія віріона;
- 3) антигенні властивості;
- 4) форми генетичних взаємодій;
- 5) патогенність, географічне поширення, спосіб передавання.

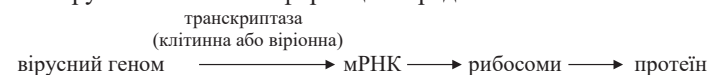
11. У чому полягає диз'юнктивна репродукція вірусів?

- 1) віруси паразитують у клітині на генетичному рівні;
- 2) віруси не ростуть і не діляться, а брунькуються через клітинні мембрани;
- 3) синтез структурних компонентів вірусів за рахунок сировинних та енергетичних ресурсів клітини;
- 4) синтез вірусних протеїнів за рахунок протеїносинтезувального апарату клітини;
- 5) роз'єднаний синтез вірусних структурних компонентів у клітині та формування віріонів шляхом самоскладання.

12. Охарактеризуйте стадії репродукції вірусів:

1) адсорбція;	А) переведення генетичної інформації з вірусоспецифічної мРНК на послідовність амінокислот у поліпептидному ланцюгу протеїну;
2) депротейнізація;	Б) переписування генетичної інформації з вірусного генома на мРНК;
3) транскрипція;	В) синтез вірусних нуклеїнових кислот;
4) трансляція;	Г) прикріплення віріона до специфічних рецепторів плазмолемі;
5) реплікація.	Д) розпад оболонок віріона і звільнення його внутрішнього компонента.

13. В яких вірусів генетична інформація передається за такою схемою:



- 1) ретровіруси;
- 2) РНК-вмісні плюс-ниткові;
- 3) РНК-вмісні мінус-ниткові;
- 4) з дволанцюговою РНК;
- 5) ДНК-вмісні.

14. В яких вірусів генетична інформація передається за такою схемою:

вірусний геном → рибосоми → протеїн

- 1) ретровіруси;
- 2) РНК-вмісні плюс-ниткові;
- 3) РНК-вмісні мінус-ниткові;
- 4) з дволанцюговою РНК;
- 5) ДНК-вмісні.

15. В яких вірусів генетична інформація передається за такою схемою:

вірусний геном $\xrightarrow{\text{транскриптаза}}$ мРНК → рибосоми → протеїн

- 1) ретровіруси;
- 2) РНК-вмісні плюс-ниткові;
- 3) РНК-вмісні мінус-ниткові;
- 4) з дволанцюговою РНК;
- 5) ДНК-вмісні.

16. В яких вірусів генетична інформація передається за такою схемою:

вірусний геном $\xrightarrow{\text{зворотна транскриптаза (ревертаза)}}$ ДНК $\xrightarrow{\text{інтеграза}}$ клітинний геном $\xrightarrow{\text{клітинна транскриптаза}}$ мРНК → рибосоми → протеїн

- 1) ретровіруси;
- 2) РНК-вмісні плюс-ниткові;
- 3) РНК-вмісні мінус-ниткові;
- 4) з дволанцюговою РНК;
- 5) ДНК-вмісні.

17. Назвіть шлях виходу з клітини віріонів потомства більшості складно організованих вірусів:

- 1) вибухоподібний шлях після деструкції клітини;
- 2) брунькування через плазмолему;
- 3) брунькування через ядерну мембрану з екзоцитозом;
- 4) брунькування через мембрани комплексу Гольджі з екзоцитозом;
- 5) брунькування через мембрани ендоплазматичної сітки з екзоцитозом.

18. Як називається вірус певного виду, що розмножується в біологічній системі, проходить значну кількість генерацій із генетичними та негенетичними взаємодіями між окремими віріонами?

- 1) дикий тип (природний ізолят);
- 2) вірусна популяція;
- 3) штам або серотип вірусу;
- 4) температурочутливий мутант (ts-мутант);
- 5) дефектна інтерферувальна частка (ДІ-частка).

19. Які мутанти характеризуються втратою значних ділянок вірусного генома (іноді до 90%)?

- 1) генні;
- 2) холододіві;
- 3) термостабільні;
- 4) температурочутливі (ts-мутанти);
- 5) дефектні інтерферувальні частки (ДІ-частки).

20. Назвіть методи селекції вірусів у процесі отримання генетично однорідної вірусної популяції:

- 1) зараження нечутливих біологічних об'єктів;
- 2) клонування з віспин на ХАО курячого ембріона;
- 3) клонування з бляшок у культурі клітин;
- 4) пасажі в культурі клітин за зміни умов культивування;
- 5) ультрацентрифугування.

21. Як називається здатність мутантів повертатися до дикого типу вірусу?

- 1) модифікація;
- 2) рекомбінація;
- 3) реверсія;
- 4) генетична реактивація;
- 5) утворення псевдотипу.

22. Назвіть форми негенетичних взаємодій вірусів:

- 1) рекомбінація;
- 2) комплементация;
- 3) фенотипове змішування;
- 4) гетерозиготність;
- 5) інтерференція.

23. За якої вірусної інфекції геном вірусу (або субгеномний фрагмент) включається в склад клітинної ДНК і реплікується разом з нею?

- 1) продуктивна;
- 2) абортівна;
- 3) хронічна;
- 4) автономна;
- 5) інтеграційна.

24. Яка вірусна інфекція характеризується реплікацією вірусного генома незалежно від клітинної ДНК?

- 1) продуктивна;
- 2) абортівна;
- 3) хронічна;
- 4) автономна;
- 5) інтеграційна.

25. Для яких вірусів інтеграційна інфекція є неодмінною умовою їхньої взаємодії з чутливими клітинами?
- 1) *Herpesviridae*, *Hepadnaviridae*;
 - 2) *Papillomaviridae*;
 - 3) *Polyomaviridae*;
 - 4) *Adenoviridae*;
 - 5) *Retroviridae*.
26. Які вірусні інфекції характеризується тривалим перебуванням збудника в організмі (персистенцією вірусу)?
- 1) латентна;
 - 2) інапарантна;
 - 3) гостра;
 - 4) хронічна;
 - 5) повільна.
27. Як називаються вірусні хвороби, що спільні для людини і тварин, а джерелом збудника інфекції є тварина?
- 1) вірози;
 - 2) зоонози;
 - 3) зооантропонози;
 - 4) антропозоонози;
 - 5) антропонози.
28. Назвіть шляхи горизонтального механізму передавання збудника вірусної інфекції:
- 1) аерогенний (повітряно-крапельний);
 - 2) аліментарний (фекально-оральний);
 - 3) внутрішньоутробний, генетичний;
 - 4) перинатальний, лактогенний;
 - 5) контактний, трансмісивний.
29. Назвіть шляхи вертикального механізму передавання збудника вірусної інфекції:
- 1) аерогенний (повітряно-крапельний);
 - 2) аліментарний (фекально-оральний);
 - 3) внутрішньоутробний, генетичний;
 - 4) перинатальний, лактогенний;
 - 5) контактний, трансмісивний.

30. Вкажіть відповідність між вірусами та їхнім тропізмом:

1) пневмотропні;	А) збудники віспи ссавців і птахів, ящуру, везикулярного стоматиту;
2) нейротропні;	Б) збудники інфекційного ринотрахеїту, вірусної діареї та аденовірусної інфекції ВРХ;
3) дерматропні (епітеліотропні);	В) збудники грипу свиней і коней, парагрипу-3 та респіраторно-синцитіальної інфекції ВРХ;
4) ентеротропні;	Г) збудники хвороби Ауескі, класичної та африканської чуми свиней, чуми ВРХ, чуми м'ясоїдних;
5) політропні;	Д) збудники ротавірусної та коронавірусної інфекцій ВРХ;
6) пантропні.	Е) збудники сказу, хвороби Тешена, американських енцефаломієлітів коней.

31. Яка кардинальна особливість противірусного імунітету?
- 1) нейтралізація антитілами інфекційної активності вірусу;
 - 2) захист клітин від вірусного генома та пригнічення репродукції вірусу;
 - 3) фагоцитоз віріонів, комплексів віріонів з антитілами і заражених клітин;
 - 4) цитотоксична дія Т-лімфоцитів на заражені клітини;
 - 5) лізис заражених клітин під дією антитіл і комплементу.
32. Як називаються вірусні антигени, що спричинюють утворення захисних (вірусонейтралізуювальних) антитіл?
- 1) повноцінні;
 - 2) специфічні;
 - 3) протективні;
 - 4) гетерогенні;
 - 5) автоантигени.
33. Назвіть функції Т-лімфоцитів у противірусному імунітеті:
- 1) розпізнавання, обробка і презентація вірусного антигену;
 - 2) забезпечення клітинного імунітету;
 - 3) регуляція імунної відповіді;
 - 4) забезпечення гуморального імунітету;
 - 5) бар'єрна функція (недопущення вірусу в кров і лімфу).
34. Назвіть функції В-лімфоцитів у противірусному імунітеті:
- 1) розпізнавання, обробка і презентація вірусного антигену;
 - 2) забезпечення клітинного імунітету;
 - 3) регуляція імунної відповіді;
 - 4) забезпечення гуморального імунітету;
 - 5) бар'єрна функція (недопущення вірусу в кров і лімфу).

35. Назвіть функції макрофагів у противірусному імунітеті:

- 1) розпізнавання, обробка і презентація вірусного антигену Т-лімфоцитам;
- 2) фагоцитоз віріонів, комплексів віріонів з антитілами і заражених клітин;
- 3) регуляція імунної відповіді;
- 4) забезпечення гуморального імунітету;
- 5) бар'єрна функція (недопущення вірусу в кров і лімфу).

36. Дайте визначення факторам противірусного імунітету:

1) антитіла;	А) біологічно активні протеїнові речовини, що синтезуються лімфоцитами і макрофагами у відповідь на введення антигену та виконують роль медіаторів імуногенезу;
2) інгібітори;	Б) складна система 20 протеїнів сироватки крові, що представлена в неактивній формі у вигляді 9 компонентів (С1–С9) та активізується під дією утворених комплексів антиген-антитіло;
3) комплемент;	В) протеїни, що знаходяться в сироватці крові, секретах слизових оболонок і різних тканинах здорового організму та нейтралізують інфекційну і гемаглютинувальну активність різних вірусів;
4) цитокіни;	Г) протеїни, що виробляються різними клітинами організму у відповідь на вірусну інфекцію та проявляють противірусну активність, зумовлюючи антивірусний стан клітин;
5) інтерферони.	Д) протеїни-імуноглобуліни, що синтезуються в організмі у відповідь на введення антигену і здатні специфічно взаємодіяти з ним.

37. Гуморальний противірусний імунітет забезпечують:

- 1) макрофаги;
- 2) Т-хелпери;
- 3) IgG, IgM, IgA;
- 4) IgD, IgE;
- 5) природні кілери (NK-клітини).

38. Дайте характеристику імуноглобулінам, які беруть участь у противірусному імунітеті:

1) IgG;	А) антитіла первинної імунної відповіді;
2) IgM;	Б) основний клас антитіл, що міститься в секретах слизових оболонок, молоці, слині та слюзах і забезпечує секреторний імунітет;
3) IgA;	В) основний клас антитіл, що міститься в сироватці крові й молозиві та виробляється на повторне введення антигену;
4) IgD;	Г) не беруть участі.
5) IgE.	

39. Назвіть механізм противірусної дії інтерферону:

- 1) нейтралізація інфекційної активності позаклітинного вірусу;
- 2) блокування специфічних клітинних рецепторів, які забезпечують адсорбцію віріонів на плазмолемі;
- 3) пригнічення внутрішньоклітинних стадій репродукції вірусу;
- 4) індукція в незаражених клітинах антивірусного стану, що зумовлює блокування трансляції вірусних іРНК та їхнє руйнування;
- 5) блокування виходу віріонів потомства з клітини.

40. Охарактеризуйте імунопатологічні реакції організму за вірусних інфекцій:

1) імунокомплексна патологія;	А) специфічна імунологічна ареаактивність стосовно конкретного вірусу, що виникає внаслідок попереднього контакту з ним (у період ембріонального розвитку);
2) автоімунні реакції;	Б) порушення імунологічної реактивності організму під дією вірусу, пов'язане з дефектами клітинної та гуморальної ланки імунної системи;
3) імунологічна толерантність;	В) утворення імунних комплексів, в яких вірус зберігає інфекційну активність, і відкладення цих комплексів у різних тканинах, що призводить до їхнього ураження;
4) гіперчутливість сповільненого типу;	Г) поява в організмі антитіл або цитотоксичних Т-лімфоцитів проти власних антигенів, змінених під дією вірусу;
5) імунологічна недостатність (імунодефіцит).	Д) підвищена чутливість організму до повторного контакту з вірусом, що зумовлена активованими макрофагами і Т-лімфоцитами, характеризується запальною реакцією тканин та досягає максимального розвитку через 24–48 год.

41. Вірусні вакцини – це імунобіологічні препарати, які містять:

- 1) вірулентний вірус;
- 2) атенуйований вірус;
- 3) інактивований вірус;
- 4) вірусні структурні компоненти;
- 5) імуноглобуліни.

42. Охарактеризуйте класифікацію вірусних вакцин:

1) технологія виготовлення;	А) гомологічні, гетерологічні;
2) здатність до репродукції вакцинного штаму;	Б) моновалентні, полівалентні, асоційовані, змішані;
3) біологічна система для культивування вакцинного штаму;	В) живі, інактивовані;
4) видова належність вакцинного штаму;	Г) цільновіріонні, субодичинні, генноінженерні, синтетичні;
5) склад вакцини.	Д) тканинні, авінізовані, культуральні.

43. Назвіть засоби пасивної імунопрофілактики вірусних інфекцій:

- 1) вакцини;
- 2) імунні сироватки;
- 3) імуноглобуліни;
- 4) сироватки реконвалесцентів;
- 5) імунолактон, штучне молоко.

Правильні відповіді

1) 3. 2) 3. 3) 2. 4) 1 – В, 2 – Г, 3 – А, 4 – Б, 5 – Д. 5) 2. 6) 4, 5. 7) 1 – Д, 2 – Г, 3 – Б, 4 – В, 5 – А. 8) 1, 2, 5. 9) 1, 2, 3, 4, 5. 10) 1, 2. 11) 5. 12) 1 – Г, 2 – Д, 3 – Б, 4 – А, 5 – В. 13) 5. 14) 2. 15) 3, 4. 16) 1. 17) 2. 18) 2, 5. 19) 5. 20) 2, 3, 4. 21) 3. 22) 2, 3, 5. 23) 5. 24) 4. 25) 5. 26) 1, 4, 5. 27) 2, 3. 28) 1, 2, 5. 29) 3, 4. 30) 1 – В, 2 – Е, 3 – А, 4 – Д, 5 – Б, 6 – Г. 31) 2. 32) 3. 33) 2, 3. 34) 4. 35) 1, 2, 5. 36) 1 – Д, 2 – В, 3 – Б, 4 – А, 5 – Г. 37) 3. 38) 1 – В, 2 – А, 3 – Б, 4 – Г, 5 – Г. 39) 4. 40) 1 – В, 2 – Г, 3 – А, 4 – Д, 5 – Б. 41) 2, 3, 4. 42) 1 – Г, 2 – В, 3 – Д, 4 – А, 5 – Б. 43) 2, 3, 4, 5.

11.2. Спеціальна ветеринарна вірусологія

1. Який тип симетрії капсиду властивий ДНК-геномним вірусам (за винятком поксвірусів)?

- 1) спіральний;
- 2) ікосаедральний (ізометричний, кубічний);
- 3) складний (комбінований);
- 4) складний (неканонічна будова);
- 5) усі перелічені.

2. Який тип симетрії властивий ДНК-геномним поксвірусам?

- 1) спіральний;
- 2) ікосаедральний (ізометричний, кубічний);
- 3) складний (комбінований);
- 4) складний (неканонічна будова);
- 5) усі перелічені.

3. Назвіть родини просто організованих ДНК-геномних вірусів:

- 1) *Poxviridae*, *Herpesviridae*, *Alloherpesviridae*;
- 2) *Papillomaviridae*, *Polyomaviridae*, *Adenoviridae*;
- 3) *Asfarviridae*, *Iridoviridae*, *Hepadnaviridae*;
- 4) *Parvoviridae*, *Circoviridae*, *Anelloviridae*;
- 5) *Smacoviridae*, *Genomoviridae*, *Redondoviridae*.

4. Назвіть родини складно організованих ДНК-геномних вірусів:

- 1) *Poxviridae*, *Herpesviridae*, *Alloherpesviridae*;
- 2) *Papillomaviridae*, *Polyomaviridae*, *Adenoviridae*;
- 3) *Asfarviridae*, *Iridoviridae*, *Hepadnaviridae*;
- 4) *Parvoviridae*, *Circoviridae*, *Anelloviridae*;
- 5) *Smacoviridae*, *Genomoviridae*, *Redondoviridae*.

5. Назвіть родини вірусів із 2-ланцюговою лінійною ДНК:

- 1) *Poxviridae*, *Herpesviridae*, *Alloherpesviridae*;
- 2) *Papillomaviridae*, *Polyomaviridae*, *Hepadnaviridae*;
- 3) *Asfarviridae*, *Iridoviridae*, *Adenoviridae*;
- 4) *Parvoviridae*, *Circoviridae*, *Anelloviridae*;
- 5) *Smacoviridae*, *Genomoviridae*, *Redondoviridae*.

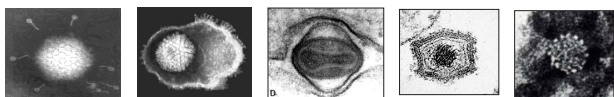
6. Назвіть родини вірусів із 2-ланцюговою кільцевою ДНК:

- 1) *Poxviridae*, *Herpesviridae*, *Alloherpesviridae*;
- 2) *Papillomaviridae*, *Polyomaviridae*, *Hepadnaviridae*;
- 3) *Asfarviridae*, *Iridoviridae*, *Adenoviridae*;
- 4) *Parvoviridae*, *Circoviridae*, *Anelloviridae*;
- 5) *Smacoviridae*, *Genomoviridae*, *Redondoviridae*.

7. Назвіть родини вірусів із 1-ланцюговою лінійною ДНК:

- 1) *Parvoviridae*;
- 2) *Circoviridae*;
- 3) *Anelloviridae*;
- 4) *Smacoviridae*;
- 5) *Genomoviridae*, *Redondoviridae*.

8. Назвіть родини вірусів із 1-ланцюговою кільцевою ДНК:
- 1) *Parvoviridae*;
 - 2) *Circoviridae*;
 - 3) *Anelloviridae*;
 - 4) *Smacoviridae*;
 - 5) *Genomoviridae*, *Redondoviridae*.
9. В яких вірусів 2-ланцюгова ДНК асоційована з клітинними гістомами, є кільцевою й надспіралізованою та за конфігурацією подібна до хромосоми клітини?
- 1) *Poxviridae*;
 - 2) *Papillomaviridae*;
 - 3) *Polyomaviridae*;
 - 4) *Hepadnaviridae*;
 - 5) *Asfarviridae*.
10. В яких вірусів 2-ланцюгова ДНК ковалентно замкнена на кінцях?
- 1) *Poxviridae*;
 - 2) *Papillomaviridae*;
 - 3) *Polyomaviridae*;
 - 4) *Hepadnaviridae*;
 - 5) *Asfarviridae*.
11. В яких вірусів 2-ланцюгова кільцева ДНК має дефектну плюс-нитку, коротшу за мінус-нитку на 20–50%?
- 1) *Poxviridae*;
 - 2) *Papillomaviridae*;
 - 3) *Polyomaviridae*;
 - 4) *Hepadnaviridae*;
 - 5) *Asfarviridae*.
12. Вкажіть родини ДНК-геномних вірусів, зображених на електроннограмах:
- 1) *Poxviridae*;
 - 2) *Asfarviridae*;
 - 3) *Herpesviridae*;
 - 4) *Papillomaviridae*;
 - 5) *Adenoviridae*.



А

Б

В

Г

Д

13. Вкажіть таксономічну належність ДНК-геномних вірусів:

Віруси	Родина	Рід
1) збудник хвороби Ауескі;	А) <i>Poxviridae</i> ;	а) <i>Varicellovirus</i> ;
2) збудник африканської чуми свиней;	Б) <i>Herpesviridae</i> ;	б) <i>Mastadenovirus</i> ;
3) збудник інфекційного ринотрахеїту ВРХ;	В) <i>Asfarviridae</i> ;	в) <i>Leporipoxvirus</i> ;
4) збудник аденовірусної інфекції ВРХ;	Г) <i>Parvoviridae</i> ;	г) <i>Asfivirus</i> ;
5) збудник алеутської хвороби норок.	Д) <i>Adenoviridae</i> .	д) <i>Amdoparvovirus</i> .

14. Вкажіть таксономічну належність ДНК-геномних вірусів:

Віруси	Родина	Рід
1) збудник ринопневмонії коней;	А) <i>Poxviridae</i> ;	а) <i>Varicellovirus</i> ;
2) збудник інфекційного гепатиту собак;	Б) <i>Herpesviridae</i> ;	б) <i>Mastadenovirus</i> ;
3) збудник міксоматозу;	В) <i>Asfarviridae</i> ;	в) <i>Leporipoxvirus</i> ;
4) збудник хвороби Марека;	Г) <i>Anelloviridae</i> ;	г) <i>Gyrovirus</i> ;
5) збудник інфекційної анемії курчат.	Д) <i>Adenoviridae</i> .	д) <i>Mardivirus</i> .

15. Охарактеризуйте структуру ДНК-геномних вірусів:

1) збудник хвороби Ауескі;	А) суперкапсид;
2) збудник африканської чуми свиней;	Б) спіральний капсид;
3) збудник інфекційного ринотрахеїту ВРХ;	В) ікосаедральний капсид;
4) збудник аденовірусної інфекції ВРХ;	Г) 2-ланцюгова ДНК;
5) збудник алеутської хвороби норок.	Д) 1-ланцюгова ДНК.

16. Охарактеризуйте структуру ДНК-геномних вірусів:

1) збудник ринопневмонії коней;	А) суперкапсид;
2) збудник інфекційного гепатиту собак;	Б) спіральний капсид;
3) збудник гепатиту В качок;	В) ікосаедральний капсид;
4) збудник хвороби Марека;	Г) 2-ланцюгова ДНК;
5) збудник інфекційної анемії курчат.	Д) 1-ланцюгова ДНК.

17. Охарактеризуйте структуру ДНК-геномних вірусів із родини *Poxviridae*:

Оболонки віріона	Вірусна ДНК	Структурні елементи віріона
1) зовнішня оболонка;	А) 2-ланцюгова лінійна;	а) серцевина (нуклеоїд);
2) складний (комбінований) тип симетрії капсиду;	Б) 2-ланцюгова кільцева;	б) латеральні тільця;
3) зовнішній шар циліндричних субодиниць;	В) 2-ланцюгова кільцева з дефектом плюс-нитки;	в) фібрили;
4) внутрішня гладка мембрана;	Г) 1-ланцюгова лінійна;	г) клітинні рибосоми;
5) тегумент.	Д) 1-ланцюгова кільцева.	д) клітинні тРНК.

18. Вкажіть особливості репродукції ДНК-геномних вірусів:

1) <i>Asfarviridae</i> ;	А) реплікація – в ядрі;
2) <i>Herpesviridae</i> ;	Б) реплікація – в цитоплазмі;
3) <i>Adenoviridae</i> ;	В) вихід віріонів – вибухоподібний;
4) <i>Parvoviridae</i> ;	Г) вихід віріонів – брунькування через плазмолему;
5) <i>Anelloviridae</i> .	Д) вихід віріонів – брунькування через ядерну мембрану з екзоцитозом.

19. Вкажіть особливості репродукції ДНК-геномних вірусів із родини *Poxviridae*:

- 1) реплікація – в ядрі;
- 2) реплікація – в цитоплазмі;
- 3) вихід віріонів – вибухоподібний;
- 4) вихід віріонів – після лізису клітини;
- 5) вихід віріонів – транспортування через комплекс Гольджі з екзоцитозом.

20. Який тип симетрії властивий РНК-геномним вірусам?

- 1) спіральний;
- 2) ікосаедральний (кубічний);
- 3) складний (комбінований);
- 4) складний (неканонічна будова);
- 5) усі перелічені.

21. Назвіть родини просто організованих РНК-геномних вірусів:

- 1) *Paramyxoviridae*, *Pneumoviridae*, *Rhabdoviridae*, *Filoviridae*, *Bornaviridae*, *Nyamiviridae*, *Sunviridae*, *Orthomyxoviridae*, *Amnoonviridae*;
- 2) *Picornaviridae*, *Caliciviridae*, *Astroviridae*, *Hepeviridae*, *Nodaviridae*;
- 3) *Arteriviridae*, *Togaviridae*, *Flaviviridae*, *Matonaviridae*, *Olifoviridae*, *Coronaviridae*, *Tobnaviridae*, *Retroviridae*;
- 4) *Reoviridae*, *Birnaviridae*, *Picobirnaviridae*;
- 5) *Arenaviridae*, *Peribunyaviridae*, *Hantaviridae*, *Nairoviridae*, *Phenuiviridae*.

22. Назвіть родини складно організованих РНК-геномних вірусів:

- 1) *Paramyxoviridae*, *Pneumoviridae*, *Rhabdoviridae*, *Filoviridae*, *Bornaviridae*, *Nyamiviridae*, *Sunviridae*, *Orthomyxoviridae*, *Amnoonviridae*;
- 2) *Picornaviridae*, *Caliciviridae*, *Astroviridae*, *Hepeviridae*, *Nodaviridae*;
- 3) *Arteriviridae*, *Togaviridae*, *Flaviviridae*, *Matonaviridae*, *Olifoviridae*, *Coronaviridae*, *Tobnaviridae*, *Retroviridae*;
- 4) *Reoviridae*, *Birnaviridae*, *Picobirnaviridae*;
- 5) *Arenaviridae*, *Peribunyaviridae*, *Hantaviridae*, *Nairoviridae*, *Phenuiviridae*.

23. Назвіть родини складно організованих РНК-геномних вірусів зі спіральним типом симетрії капсиду:

- 1) *Paramyxoviridae*, *Pneumoviridae*, *Rhabdoviridae*, *Filoviridae*;
- 2) *Bornaviridae*, *Nyamiviridae*, *Sunviridae*;
- 3) *Arteriviridae*, *Togaviridae*, *Flaviviridae*, *Matonaviridae*, *Olifoviridae*, *Amnoonviridae*, *Retroviridae*;
- 4) *Coronaviridae*, *Tobnaviridae*;
- 5) *Orthomyxoviridae*, *Arenaviridae*, *Peribunyaviridae*, *Hantaviridae*, *Nairoviridae*, *Phenuiviridae*.

24. Назвіть родини складно організованих РНК-геномних вірусів з ікосаедральним типом симетрії капсиду:

- 1) *Paramyxoviridae*, *Pneumoviridae*, *Rhabdoviridae*, *Filoviridae*;
- 2) *Bornaviridae*, *Nyamiviridae*, *Sunviridae*;
- 3) *Arteriviridae*, *Togaviridae*, *Flaviviridae*, *Matonaviridae*, *Olifoviridae*, *Amnoonviridae*, *Retroviridae*;
- 4) *Coronaviridae*, *Tobnaviridae*;
- 5) *Orthomyxoviridae*, *Arenaviridae*, *Peribunyaviridae*, *Hantaviridae*, *Nairoviridae*, *Phenuiviridae*.

25. Назвіть родини просто організованих РНК-геномних вірусів з ікосаедральним типом симетрії капсиду:
- 1) *Arteriviridae, Togaviridae, Flaviviridae*;
 - 2) *Matonaviridae, Olifoviridae*;
 - 3) *Picornaviridae, Caliciviridae*;
 - 4) *Astroviridae, Hepeviridae, Nodaviridae*;
 - 5) *Reoviridae, Birnaviridae, Picobirnaviridae*.
26. Назвіть родини просто організованих вірусів із 1-ланцюговою лінійною плюс-нитковою РНК:
- 1) *Coronaviridae, Tobaniviridae, Arteriviridae*;
 - 2) *Togaviridae, Flaviviridae, Matonaviridae, Olifoviridae*;
 - 3) *Picornaviridae, Caliciviridae*;
 - 4) *Astroviridae, Hepeviridae, Nodaviridae*;
 - 5) *Retroviridae*.
27. Назвіть родини складно організованих вірусів із 1-ланцюговою лінійною плюс-нитковою РНК:
- 1) *Coronaviridae, Tobaniviridae, Arteriviridae*;
 - 2) *Togaviridae, Flaviviridae, Matonaviridae, Olifoviridae*;
 - 3) *Picornaviridae, Caliciviridae*;
 - 4) *Astroviridae, Hepeviridae, Nodaviridae*;
 - 5) *Retroviridae*.
28. Назвіть родини складно організованих вірусів із 1-ланцюговою лінійною мінус-нитковою РНК:
- 1) *Paramyxoviridae, Pneumoviridae, Rhabdoviridae*;
 - 2) *Filoviridae, Bornaviridae, Nyamiviridae, Sunviridae*;
 - 3) *Arteriviridae, Togaviridae, Flaviviridae, Matonaviridae, Olifoviridae*;
 - 4) *Orthomyxoviridae, Amnoonviridae, Arenaviridae*;
 - 5) *Peribunyaviridae, Hantaviridae, Nairoviridae, Phenuiviridae*.
29. Назвіть родини складно організованих вірусів із 1-ланцюговою фрагментованою мінус-нитковою РНК:
- 1) *Paramyxoviridae, Pneumoviridae, Rhabdoviridae*;
 - 2) *Filoviridae, Bornaviridae, Nyamiviridae, Sunviridae*;
 - 3) *Arteriviridae, Togaviridae, Flaviviridae, Matonaviridae, Olifoviridae*;
 - 4) *Orthomyxoviridae, Amnoonviridae, Arenaviridae*;
 - 5) *Peribunyaviridae, Hantaviridae, Nairoviridae, Phenuiviridae*.

30. Назвіть родини складно організованих вірусів із 1-ланцюговою фрагментованою кільцевою мінус-нитковою РНК:
- 1) *Paramyxoviridae, Pneumoviridae, Rhabdoviridae*;
 - 2) *Filoviridae, Bornaviridae, Nyamiviridae, Sunviridae*;
 - 3) *Arteriviridae, Togaviridae, Flaviviridae, Matonaviridae, Olifoviridae*;
 - 4) *Orthomyxoviridae, Amnoonviridae, Arenaviridae*;
 - 5) *Peribunyaviridae, Hantaviridae, Nairoviridae, Phenuiviridae*.
31. Назвіть родини просто організованих вірусів із 2-ланцюговою фрагментованою РНК:
- 1) *Orthomyxoviridae, Amnoonviridae, Arenaviridae*;
 - 2) *Peribunyaviridae, Hantaviridae, Nairoviridae, Phenuiviridae*;
 - 3) *Picornaviridae, Caliciviridae*;
 - 4) *Astroviridae, Hepeviridae, Nodaviridae*;
 - 5) *Reoviridae, Birnaviridae, Picobirnaviridae*.
32. Які РНК-геномні віруси мають складний (комбінований) тип симетрії: ікосаедральний капсид і спіральний нуклеопротеїновий комплекс?
- 1) *Togaviridae*;
 - 2) *Flaviviridae*;
 - 3) *Picornaviridae*;
 - 4) *Reoviridae*;
 - 5) *Retroviridae*.
33. Які РНК-геномні віруси мають два ікосаедральні капсиди?
- 1) *Togaviridae*;
 - 2) *Flaviviridae*;
 - 3) *Picornaviridae*;
 - 4) *Reoviridae*;
 - 5) *Retroviridae*.
34. В яких вірусів геномна РНК виконує функцію мРНК?
- 1) віруси з 1-ланцюговою РНК;
 - 2) віруси з 2-ланцюговою РНК;
 - 3) плюс-ниткові віруси;
 - 4) мінус-ниткові віруси;
 - 5) ретровіруси.
35. В яких вірусів геномна РНК не виконує функцію мРНК?
- 1) віруси з 1-ланцюговою РНК;
 - 2) віруси з 2-ланцюговою РНК;
 - 3) плюс-ниткові віруси;
 - 4) мінус-ниткові віруси;
 - 5) ретровіруси.

36. Які РНК-геномні віруси мають ензим зворотну транскриптазу (ревертазу)?

- 1) віруси з 1-ланцюговою РНК;
- 2) віруси з 2-ланцюговою РНК;
- 3) плюс-ниткові віруси;
- 4) мінус-ниткові віруси;
- 5) ретровіруси.

37. Які РНК-геномні віруси містять у своєму складі клітинні рибосоми?

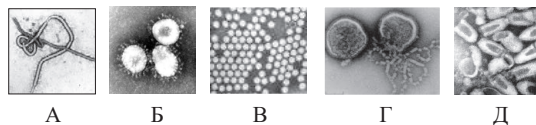
- 1) *Arenaviridae*;
- 2) *Flaviviridae*;
- 3) *Picornaviridae*;
- 4) *Reoviridae*;
- 5) *Retroviridae*.

38. Які РНК-геномні віруси містять у своєму складі клітинні тРНК?

- 1) *Arenaviridae*;
- 2) *Flaviviridae*;
- 3) *Picornaviridae*;
- 4) *Reoviridae*;
- 5) *Retroviridae*.

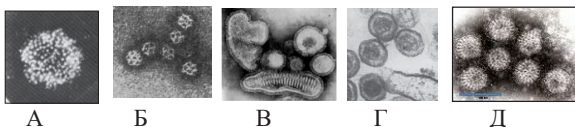
39. Вкажіть родини РНК-геномних вірусів, зображених на електроннограмах:

- 1) *Paramyxoviridae*;
- 2) *Rhabdoviridae*;
- 3) *Filoviridae*;
- 4) *Coronaviridae*;
- 5) *Picornaviridae*.



40. Вкажіть родини РНК-геномних вірусів, зображених на електроннограмах:

- 1) *Orthomyxoviridae*;
- 2) *Arenaviridae*;
- 3) *Caliciviridae*;
- 4) *Reoviridae*;
- 5) *Retroviridae*.



41. Вкажіть таксономічну належність РНК-геномних вірусів:

Віруси	Родина	Рід
1) збудник сказу;	А) <i>Paramyxoviridae</i> ;	а) <i>Aphthovirus</i> ;
2) збудник ящуру;	Б) <i>Rhabdoviridae</i> ;	б) <i>Deltaretrovirus</i> ;
3) збудник лейкозу ВРХ;	В) <i>Flaviviridae</i> ;	в) <i>Respirovirus</i> ;
4) збудник парагрипу-3 ВРХ;	Г) <i>Picornaviridae</i> ;	г) <i>Lissavirus</i> ;
5) збудник вірусної діареї ВРХ.	Д) <i>Retroviridae</i> .	д) <i>Pestivirus</i> .

42. Вкажіть таксономічну належність РНК-геномних вірусів:

Віруси	Родина	Рід
1) збудник ротавірусної інфекції ВРХ;	А) <i>Paramyxoviridae</i> ;	а) <i>Teschovirus</i> ;
2) збудник коронавірусної інфекції ВРХ;	Б) <i>Flaviviridae</i> ;	б) <i>Morbillivirus</i> ;
3) збудник класичної чуми свиней;	В) <i>Picornaviridae</i> ;	в) <i>Alphacoronavirus</i> ;
4) збудник хвороби Тешена;	Г) <i>Coronaviridae</i> ;	г) <i>Rotavirus</i> ;
5) збудник трансмісивного гастроентериту свиней.	Д) <i>Reoviridae</i> .	д) <i>Pestivirus</i> .

43. Вкажіть таксономічну належність РНК-геномних вірусів:

Віруси	Родина	Рід
1) збудник чуми м'ясоїдних;	А) <i>Paramyxoviridae</i> ;	а) <i>Rubulavirus</i> ;
2) збудник грипу птахів;	Б) <i>Picornaviridae</i> ;	б) <i>Morbillivirus</i> ;
3) збудник ньюкаслської хвороби;	В) <i>Orthomyxoviridae</i> ;	в) <i>Gammacoronavirus</i> ;
4) збудник інфекційного бронхіту курей;	Г) <i>Coronaviridae</i> ;	г) <i>Influenzavirus A</i> ;
5) збудник вірусного гепатиту каченят.	Д) <i>Reoviridae</i> .	д) <i>Avihepatovirus</i> .

44. Охарактеризуйте структуру РНК-геномних вірусів:

1) збудник сказу;	А) суперкапсид;
2) збудник ящуру;	Б) спіральний капсид;
3) збудник лейкозу ВРХ;	В) ікосаедральний капсид;
4) збудник парагрипу-3 ВРХ;	Г) 1-ланцюгова плюс-нитка РНК;
5) збудник вірусної діареї ВРХ.	Д) 1-ланцюгова мінус-нитка РНК.

45. Охарактеризуйте структуру РНК-геномних вірусів:

1) збудник ротавірусної інфекції ВРХ;	А) суперкапсид;
2) збудник коронавірусної інфекції ВРХ;	Б) спіральний капсид;
3) збудник класичної чуми свиней;	В) ікосаедральний капсид;
4) збудник хвороби Тешена;	Г) 1-ланцюгова плюс-нитка РНК;
5) збудник трансмісивного гастроентериту свиней.	Д) 2-ланцюгова фрагментована РНК.

46. Охарактеризуйте структуру РНК-геномних вірусів:

1) збудник чуми м'ясоїдних;	А) суперкапсид;
2) збудник грипу птахів;	Б) спіральний капсид;
3) збудник ньюкаслської хвороби;	В) ікосаедральний капсид;
4) збудник інфекційного бронхіту курей;	Г) 1-ланцюгова плюс-нитка РНК;
5) збудник вірусного гепатиту каченят.	Д) 1-ланцюгова мінус-нитка РНК.

47. Вкажіть особливості репродукції РНК-геномних вірусів:

1) <i>Paramyxoviridae</i> ;	А) реплікація – в ядрі;
2) <i>Rhabdoviridae</i> ;	Б) реплікація – в цитоплазмі;
3) <i>Orthomyxoviridae</i> ;	В) вихід віріонів – вибухоподібний;
4) <i>Coronaviridae</i> ;	Г) вихід віріонів – брунькування через плазмолему;
5) <i>Togaviridae</i> .	Д) вихід віріонів – брунькування через мембрани ендоплазматичної сітки і комплексу Гольджі з екзоцитозом.

48. Вкажіть особливості репродукції РНК-геномних вірусів:

1) <i>Flaviviridae</i> ;	А) реплікація – в ядрі;
2) <i>Picornaviridae</i> ;	Б) реплікація – в цитоплазмі;
3) <i>Caliciviridae</i> ;	В) вихід віріонів – вибухоподібний;
4) <i>Retroviridae</i> ;	Г) вихід віріонів – брунькування через плазмолему;
5) <i>Reoviridae</i> .	Д) вихід віріонів – брунькування через мембрани ендоплазматичної сітки з екзоцитозом.

Правильні відповіді

1) 2. 2) 4. 3) 2, 4, 5. 4) 1, 3. 5) 1, 3. 6) 2. 7) 1. 8) 2, 3, 4, 5. 9) 2, 3. 10) 1, 5. 11) 4. 12) 1 – В; 2 – Г; 3 – Б; 4 – Д; 5 – А. 13) 1 – Б, а; 2 – В, г; 3 – Б, а; 4 – Д, б; 5 – Г, д. 14) 1 – Б, а; 2 – Д, б; 3 – А, в; 4 – Б, д; 5 – Г, г. 15) 1 – А, В, Г; 2 – А, В, Г; 3 – А, В, Г; 4 – В, Г; 5 – В, Д. 16) 1 – А, В, Г; 2 – В, Г; 3 – А, В, Г; 4 – А, В, Г; 5 – В, Д. 17) 1, 3, 4, А, а, б. 18) 1 – Б, Г;

2 – А, Д; 3 – А, В; 4 – А, В; 5 – А, В. 19) 2, 4, 5. 20) 1, 2, 3. 21) 2. 22) 1, 3, 5. 23) 1, 2, 4, 5. 24) 3. 25) 3, 4, 5. 26) 3, 4, 5. 27) 1, 2, 5. 28) 1, 2, 3. 29) 4, 5. 30) 5. 31) 5. 32) 5. 33) 4. 34) 3. 35) 4. 36) 5. 37) 1. 38) 5. 39) 1 – Г; 2 – Д; 3 – А; 4 – Б; 5 – В. 40) 1 – В; 2 – А; 3 – Б; 4 – Д; 5 – А. 41) 1 – Б, г; 2 – Г, а; 3 – Д, б; 4 – А, в; 5 – В, д. 42) 1 – Д, г; 2 – Г, в; 3 – Б, д; 4 – В, а; 5 – Г, в. 43) 1 – А, б; 2 – В, г; 3 – А, а; 4 – Г, в; 5 – Б, д. 44) 1 – А, Б, Д; 2 – В, Г; 3 – А, Б, В, Г; 4 – А, Б, Д; 5 – А, В, Г. 45) 1 – В, Д; 2 – А, Б, Г; 3 – А, Б, В, Г; 4 – В, Г; 5 – А, Б, Г. 46) 1 – А, Б; 2 – А, Б, Д; 3 – А, Б, Д; 4 – А, Б, Г; 5 – В, Г. 47) 1 – Б, Г; 2 – Б, Г; 3 – А, Г; 4 – Б, Д; 5 – Б, Д. 48) 1 – Б, Д; 2 – Б, В; 3 – Б, В; 4 – А, Г; 5 – Б, В.

11.3. Лабораторна діагностика вірусних інфекцій тварин

- Експрес-методи лабораторної діагностики вірусних інфекцій тварин – це виявлення:
 - віріонів методами електронної, імуоелектронної та світлової мікроскопії;
 - внутрішньоклітинних тілець-включень вірусів методом світлової мікроскопії;
 - вірусних антигенів у серологічних реакціях;
 - антитіл у серологічних реакціях;
 - вірусних геномів методом ДНК-зондів та у ПЛР.
- Вірусоскопія – це виявлення:
 - віріонів методом електронної мікроскопії;
 - віріонів методом світлової мікроскопії;
 - внутрішньоклітинних тілець-включень вірусів;
 - вірусних антигенів;
 - вірусних геномів.
- Природа тілець Бабеша – Негрі:
 - скупчення зрілих віріонів потомства;
 - скупчення віріонів потомства на стадії формування;
 - накопичення вірусних протеїнів;
 - накопичення вірусних нуклеїнових кислот;
 - клітинний матеріал, змінений унаслідок репродукції вірусу.

4. Час появи і частота виявлення тілець Бабеша – Негрі в головному мозку заражених тварин:
- 1) на початку інкубаційного періоду;
 - 2) за 3–4 доби до появи перших клінічних ознак;
 - 3) у період клінічного прояву хвороби;
 - 4) 65–85 % випадків;
 - 5) 90–95 % випадків.

5. Вкажіть методи обробки препаратів із патологічного матеріалу для експрес-діагностики вірусних інфекцій тварин:

1) фарбування за Морозовим;	А) виявлення віріонів методом електронної мікроскопії;
2) фарбування за Муромцевим;	Б) виявлення віріонів методом імунної електронної мікроскопії;
3) фарбування за Селлером;	В) виявлення віріонів вірусів віспи методом світлової мікроскопії;
4) метод позитивного контрастування;	Г) виявлення тілець Бабеша – Негрі.
5) метод негативного контрастування.	

6. Який метод ґрунтується на виявленні в патологічному матеріалі вірусних геномів за допомогою плазмідної ДНК, в яку вбудовують фрагмент вірусної ДНК (або ДНК-копії РНК-генома)?
- 1) молекулярно-генетичний метод;
 - 2) полімеразна ланцюгова реакція;
 - 3) метод ДНК-зондів;
 - 4) метод секвенування;
 - 5) рестрикційний аналіз.
7. Який метод полягає у багатократному збільшенні *in vitro* копій специфічної ділянки ДНК вірусу, який треба ідентифікувати в патологічному матеріалі?
- 1) молекулярно-генетичний метод;
 - 2) полімеразна ланцюгова реакція;
 - 3) метод ДНК-зондів;
 - 4) метод секвенування;
 - 5) рестрикційний аналіз.

8. Назвіть вірусологічні методи лабораторної діагностики вірусних інфекцій тварин:
- 1) виявлення в патологічному матеріалі вірусних антигенів і геномів;
 - 2) виділення вірусу в організмі лабораторних тварин;
 - 3) виділення вірусу в курячих ембріонах;
 - 4) виділення вірусу в культурах клітин;
 - 5) серологічна ідентифікація вірусу.
9. Назвіть послідовність етапів приготування 10%-ї вірусовмісної суспензії з патологічного матеріалу:
- 1) розтирання подрібненої тканини в ступці з кварцовим піском;
 - 2) обробка антибіотиками або фільтрування через дрібнопористі фільтри;
 - 3) додавання ФБР або розчину Хенкса 1 : 10;
 - 4) бактеріологічний контроль;
 - 5) центрифугування.
10. З якою метою використовують біологічні об'єкти (культури клітин, курячі ембріони, лабораторні тварини) у вірусологічній практиці?
- 1) виділення вірусів із патологічного матеріалу;
 - 2) підтримання і накопичення вірусних штамів у лабораторії;
 - 3) титрування вірусів, як тест-об'єкти у реакції нейтралізації;
 - 4) постановка біопроби з типовими клінічними ознаками;
 - 5) отримання імунних сироваток.
11. Пасаж – це зараження лабораторних об'єктів із метою:
- 1) ізоляції вірусу з патологічного матеріалу;
 - 2) отримання вірусовмісного матеріалу для ідентифікації вірусу;
 - 3) титрування вірусу за виготовлення вакцин;
 - 4) після прояву інфекційної дії вірусу відбір вірусовмісного матеріалу і зараження нових тест-об'єктів;
 - 5) за відсутності реакції відбір вірусовмісного матеріалу і зараження нових тест-об'єктів.
12. Як досягається стандартна чутливість лабораторних тварин до вірусів?
- 1) умови утримання і годівлі тварин;
 - 2) підбір тварин за принципом аналогів (одного віку, статі, маси);
 - 3) використання тварин інбредних ліній;
 - 4) використання тварин-гнотобіотів;
 - 5) зараження кожною пробою досліджуваного матеріалу по 4 тварини.

13. Який вірус спричинює за п/ш або в/м зараження кролів такі клінічні симптоми: збудження, свербіння, розчухи, паралічі та загибель?
- 1) збудник сказу;
 - 2) збудник хвороби Ауескі;
 - 3) збудник японського енцефаліту;
 - 4) збудники американських енцефаломієлітів коней;
 - 5) збудник шотландського енцефаломієліту овець.
14. Який вірус спричинює за і/ц або п/ш зараження білих мишей симптоми ураження ЦНС і загибель?
- 1) збудник сказу;
 - 2) збудник хвороби Ауескі;
 - 3) збудник японського енцефаліту;
 - 4) збудники американських енцефаломієлітів коней;
 - 5) збудник шотландського енцефаломієліту овець.
15. Який вірус спричинює за в/ш зараження мурчаків утворення везикул (афт) на лапках і слизовій оболонці ротової порожнини?
- 1) збудник ящуру;
 - 2) збудник везикулярної екзантеми свиней;
 - 3) збудник везикулярної хвороби свиней;
 - 4) збудник везикулярного стоматиту;
 - 5) збудник виразкового маміліту ВРХ.
16. Який вірус спричинює за і/н зараження білих мишей симптоми ураження дихальних шляхів, пневмонію та загибель?
- 1) збудник грипу свиней;
 - 2) збудник грипу коней;
 - 3) збудник грипу птахів;
 - 4) збудник ринопневмонії коней;
 - 5) збудник парагрипу свиней.
17. Який вірус спричинює папульозно-пустульозні ураження шкіри за зараження кролів в/ш або в скарифіковану шкіру?
- 1) збудник вісповакцини;
 - 2) збудник віспи корів;
 - 3) збудник віспи кролів;
 - 4) збудник контагіозної ектими овець і кіз;
 - 5) збудник фіброми Шоупа.

18. Овоскопію курячих ембріонів проводять із метою встановлення:
- 1) дефектів шкаралупи;
 - 2) межі повітряної камери;
 - 3) місцезнаходження зародка;
 - 4) життєздатності ембріона перед зараженням;
 - 5) загибелі ембріона внаслідок репродукції вірусу.
19. Які методи експериментального зараження курячих ембріонів найчастіше застосовують у вірусологічній практиці?
- 1) у зародок;
 - 2) на ХАО;
 - 3) у кровоносні судини ХАО;
 - 4) в алантоїсну та амніотичну порожнину;
 - 5) у жовтковий мішок.
20. Вкажіть відповідність між вірусами і патологоанатомічними змінами в заражених курячих ембріонах:
- | | |
|--|--|
| 1) віспини на ХАО; | А) збудник вірусного гепатиту каченят; |
| 2) бляшки на ХАО; | Б) збудник інфекційного бронхіту курей; |
| 3) карликовість і муміфікація зародка; | В) збудники ньюкаслської хвороби і грипу птахів; |
| 4) крововиливи на зародку; | Г) збудники віспи ссавців і птахів; |
| 5) некротичні вогнища і зміна кольору печінки зародка. | Д) збудники хвороби Марека і саркоми Рауса. |
21. Як називаються некротичні вузлики на ХАО курячого ембріона, що утворюються внаслідок репродукції вірусу?
- 1) симпласти;
 - 2) синцитії;
 - 3) полікаріоцити;
 - 4) віспини;
 - 5) бляшки.
22. Як називаються вогнища клітинної проліферації на ХАО курячого ембріона, що утворюються внаслідок репродукції онкогенного вірусу?
- 1) симпласти;
 - 2) синцитії;
 - 3) полікаріоцити;
 - 4) віспини;
 - 5) бляшки.

23. Які віруси виявляють у курячих ембріонах за допомогою РГА?
- 1) збудники хвороби Ауескі та хвороби Марека;
 - 2) збудники парагрипу-3 ВРХ, грипу свиней, коней і птахів;
 - 3) збудники ринопневмонії коней і міксоматозу кролів;
 - 4) збудники ньюкаслської хвороби та інфекційного бронхіту курей;
 - 5) збудники вірусного гепатиту каченят та інфекційного бурсальної хвороби.
24. Як називається система *in vitro*, в якій фрагменти тканин, цілі органи або їхні частини зберігають життєздатність, структуру і функції?
- 1) культура тканин;
 - 2) органна культура;
 - 3) первинна культура клітин;
 - 4) диплоїдна культура клітин;
 - 5) перещеплювана культура клітин.
25. Як називаються клітини, отримані безпосередньо з тканин організму шляхом ензимної дезагрегації, які живуть і розмножуються *in vitro* з утворенням моношару?
- 1) культура тканин;
 - 2) органна культура;
 - 3) первинна культура клітин;
 - 4) диплоїдна культура клітин;
 - 5) перещеплювана культура клітин.
26. Як називаються клітини *in vitro*, що отримують із первинних культур шляхом тривалих пересів (не менше ніж 70 разів із триденними інтервалами), які мають гетероплоїдний набір хромосом, необмежений строк життя та онкогенні властивості?
- 1) культура тканин;
 - 2) субкультура;
 - 3) суспензійна культура клітин;
 - 4) диплоїдна культура клітин;
 - 5) перещеплювана культура клітин.
27. Як називаються клітини *in vitro*, що отримують із первинних культур шляхом тривалих пересів, які зберігають каріотип вихідної тканини, мають обмежений строк життя (40–60 пасажів), вільні від контамінантів та позбавлені онкогенних властивостей?
- 1) культура тканин;
 - 2) субкультура;
 - 3) суспензійна культура клітин;
 - 4) диплоїдна культура клітин;
 - 5) перещеплювана культура клітин.

28. Що таке неспецифічна дегенерація культури клітин?
- 1) припинення розмноження клітин за контакту;
 - 2) округлення і відривання клітин від скла за старіння;
 - 3) морфологічні зміни клітин унаслідок репродукції вірусу;
 - 4) лізис клітин унаслідок репродукції вірусу;
 - 5) безперервний поділ клітин унаслідок репродукції онкогенного вірусу.
29. Назвіть основну ознаку розмноження вірусів у культурі клітин:
- 1) цитопатогенна дія (цитопатичний ефект);
 - 2) цитопроліферативний (трансформувальний) ефект;
 - 3) гемадсорбція;
 - 4) бляшки;
 - 5) кольорова (метаболічна) проба.
30. Охарактеризуйте ознаки розмноження вірусів у культурі клітин:
- | | |
|---|--|
| 1) цитопатогенна дія (цитопатичний ефект); | А) прикріплення еритроцитів до поверхні культури клітин, що заражена гемаглютинувальним вірусом; |
| 2) цитопроліферативний (трансформувальний) ефект; | Б) зміна кольору культуральної рідини внаслідок підкислення продуктами метаболізму клітин; |
| 3) гемадсорбція; | В) здатність онкогенних вірусів стимулювати розмноження заражених клітин; |
| 4) бляшки; | Г) морфологічні зміни в культурі клітин унаслідок репродукції вірусу; |
| 5) кольорова проба. | Д) обмежені вогнища загиблих під дією вірусу клітин у суцільному моношарі культури. |
31. Назвіть форми прояву цитопатогенної дії вірусу в культурі клітин:
- 1) округлення і фрагментація клітин;
 - 2) бляшки;
 - 3) фокуси трансформації;
 - 4) симпласти (синцитії, полікаріоцити);
 - 5) тільця-включення.
32. Як називаються гігантські багатоядерні клітини, що утворюються в зараженій культурі внаслідок злиття плазмолем сусідніх клітин?
- 1) бляшки;
 - 2) фокуси трансформації;
 - 3) симпласти (синцитії);
 - 4) полікаріоцити;
 - 5) тільця-включення.

33. Як називаються в зараженій культурі скупчення з кількох шарів округлих клітин, що під дією онкогенного вірусу втратили властивість контактної інгібіції та набули здатності до необмеженого поділу?

- 1) бляшки;
- 2) фокуси трансформації;
- 3) симпласти (синцитії);
- 4) полікаріоцити;
- 5) тільця-включення.

34. Який метод використовують для індикації в культурі клітин нецитопатогенних вірусів?

- 1) метод бляшок;
- 2) явище інтерференції вірусів;
- 3) явище екзальтації вірусів;
- 4) метод співкультивування;
- 5) метод культивування уражених тканин.

35. Який метод використовують для виділення в культурі клітин латентних вірусів?

- 1) метод бляшок;
- 2) явище інтерференції вірусів;
- 3) явище екзальтації вірусів;
- 4) метод співкультивування;
- 5) метод культивування уражених тканин.

36. Дайте визначення одиницям інфекційного титру вірусів:

1) ЛД ₅₀ ;	А) доза вірусу, що спричинює патологоанатомічні зміни в 50% заражених курячих ембріонів;
2) ІД ₅₀ ;	Б) доза вірусу, що спричинює загибель 50% заражених курячих ембріонів;
3) ЕЛД ₅₀ ;	В) доза вірусу, що спричинює цитопатичний ефект у 50% пробірок із зараженою культурою клітин;
4) ЕІД ₅₀ ;	Г) доза вірусу, що спричинює клінічні ознаки або патологоанатомічні зміни в 50% заражених лабораторних тварин;
5) ТЦД ₅₀ .	Д) доза вірусу, що спричинює загибель 50% заражених лабораторних тварин.

37. Як називається доза вірусу, що спричинює утворення однієї бляшки в культурі клітин?

- 1) ЕД₅₀;
- 2) ТЦД₅₀;
- 3) БУО;
- 4) ВУО;
- 5) ГАО.

38. Як називається доза вірусу, що спричинює утворення однієї віспини на ХАО курячого ембріона?

- 1) ЕД₅₀;
- 2) ТЦД₅₀;
- 3) БУО;
- 4) ВУО;
- 5) ГАО.

39. З якою метою використовують серологічні реакції в лабораторній діагностиці вірусних інфекцій тварин?

- 1) експрес-діагностика;
- 2) серологічна (ретроспективна) діагностика;
- 3) ідентифікація вірусу, виділеного в організмі лабораторних тварин;
- 4) ідентифікація вірусу, виділеного в курячих ембріонах;
- 5) ідентифікація вірусу, виділеного в культурі клітин.

40. Назвіть методи серологічної (ретроспективної) діагностики вірусних інфекцій тварин:

- 1) виявлення вірусних антигенів у патологічному матеріалі;
- 2) виявлення вірусних геномів у патологічному матеріалі;
- 3) виділення вірусу на лабораторних об'єктах;
- 4) серологічна ідентифікація вірусу, виділеного на лабораторних об'єктах;
- 5) встановлення зростання титру антитіл у парних сироватках крові реконвалесцентів.

41. Яка серологічна реакція базується на взаємодії вірусних антигенів із міченими флуорохромом антитілами, внаслідок чого виникає світіння за люмінесцентної мікроскопії?

- 1) ІФА;
- 2) РІФ;
- 3) РІА;
- 4) РАЛ;
- 5) ІХА.

42. Яка серологічна реакція базується на взаємодії вірусних антигенів із міченими ензимом антитілами, внаслідок чого утворюється кольоровий продукт ензимної реакції за додавання індикаторного субстрату?

- 1) ІФА;
- 2) РІФ;
- 3) РІА;
- 4) РАЛ;
- 5) ІХА.

43. Назвіть серологічну реакцію: вірусні антигени або антитіла, мічені ізотопом ^{125}I , взаємодіють із гомологічними імунними компонентами, а утворені імунні комплекси виявляють за допомогою гамма-лічильника:
- 1) ІФА;
 - 2) РІФ;
 - 3) РІА;
 - 4) РАЛ;
 - 5) ІХА.
44. Назвіть серологічну реакцію: на імуностріпі з відомими антитілами або вірусними антигенами наносять досліджуваний матеріал; за утворення комплексу антиген-антитіло з'являється фіолетова смуга:
- 1) ІФА;
 - 2) РІФ;
 - 3) РІА;
 - 4) РАЛ;
 - 5) ІХА.
45. Назвіть серологічну реакцію: антитіла блокують інфекційну активність вірусу за рахунок взаємодії з вірусними прикріплювальними протеїнами, внаслідок чого вірус утрачає здатність репродукуватися в чутливих тест-об'єктах:
- 1) РАЛ;
 - 2) РНГА;
 - 3) РН;
 - 4) РГГА;
 - 5) РГГАд.
46. Яка серологічна реакція ґрунтується на здатності антитіл гальмувати гемаглютинувальну активність вірусу за рахунок блокування гемаглютиніну на поверхні віріона?
- 1) РАЛ;
 - 2) РНГА;
 - 3) РН;
 - 4) РГГА;
 - 5) РГГАд.

47. Назвіть серологічну реакцію: антитіла взаємодіють із модифікованою поверхнею клітин культури, зараженої гемаглютинувальним вірусом, унаслідок чого клітини втрачають здатність адсорбувати еритроцити:
- 1) РАЛ;
 - 2) РНГА;
 - 3) РН;
 - 4) РГГА;
 - 5) РГГАд.
48. Назвіть серологічну реакцію: антигенні або антитільні еритроцитарні діагностичуми аглютинуються в присутності гомологічних імунних компонентів:
- 1) РАЛ;
 - 2) РНГА;
 - 3) РН;
 - 4) РГГА;
 - 5) РГГАд.
49. Назвіть серологічну реакцію: антигенні або антитільні латексні діагностичуми аглютинуються в присутності гомологічних імунних компонентів:
- 1) РАЛ;
 - 2) РНГА;
 - 3) РН;
 - 4) РГГА;
 - 5) РГГАд.
50. Назвіть серологічну реакцію: вірусні антигени взаємодіють з антитілами в присутності комплементу, внаслідок чого затримується гемоліз за додавання гемолітичної системи:
- 1) РДП;
 - 2) РНГА;
 - 3) РЗК;
 - 4) РГГА;
 - 5) ЗІЕФ.
51. Яка серологічна реакція ґрунтується на здатності вірусних антигенів та антитіл дифундувати в агаровому гелі й за взаємодії утворювати лінії преципітації?
- 1) РДП;
 - 2) РНГА;
 - 3) РЗК;
 - 4) РГГА;
 - 5) ЗІЕФ.

52. Яка серологічна реакція ґрунтується на поєднанні імунодифузії в гелі з електрофорезом: вірусні антигени та антитіла переміщуються в електричному полі назустріч один одному і за взаємодії утворюють лінії преципітації?
- 1) РДП;
 - 2) РНГА;
 - 3) РЗК;
 - 4) РГГА;
 - 5) ЗІЕФ.
53. Назвіть метод ІФА: лунки планшетів сенсibiliзують специфічними антитілами, додають досліджуваний вірусний антиген, потім – мічені ензимом антитіла та індикаторний субстрат, унаслідок чого утворюється кольоровий продукт ензимної реакції:
- 1) прямий імунопероксидазний метод;
 - 2) непрямий імунопероксидазний метод;
 - 3) твердофазний ІФА;
 - 4) «сендвіч»-метод твердофазного ІФА;
 - 5) непрямий метод твердофазного ІФА.
54. Назвіть метод ІФА: лунки планшетів сенсibiliзують вірусним антигеном, додають досліджувані сироватки, потім – імуноензимний антивидовий кон'югат та індикаторний субстрат, унаслідок чого утворюється кольоровий продукт ензимної реакції:
- 1) прямий імунопероксидазний метод;
 - 2) непрямий імунопероксидазний метод;
 - 3) твердофазний ІФА;
 - 4) «сендвіч»-метод твердофазного ІФА;
 - 5) непрямий метод твердофазного ІФА.
55. Як оцінюють позитивний результат РН?
- 1) захворювання і загибель лабораторних тварин;
 - 2) загибель і патологоанатомічні зміни в курячих ембріонах;
 - 3) ЦПД і гемадсорбція в культурі клітин;
 - 4) бляшки в культурі клітин;
 - 5) відсутність інфекційного ефекту в тест-об'єктах.
56. Як оцінюють позитивний результат РГГА?
- 1) гемаглютинація;
 - 2) гальмування гемаглютинації;
 - 3) непряма гемаглютинація;
 - 4) гемоліз;
 - 5) затримка гемолізу.

57. Як оцінюють позитивний результат РЗК?
- 1) гемаглютинація;
 - 2) гальмування гемаглютинації;
 - 3) непряма гемаглютинація;
 - 4) гемоліз;
 - 5) затримка гемолізу.
58. РДП вважається позитивною за утворення ліній преципітації в агарі між лунками:
- 1) з досліджуваним вірусним антигеном і специфічною сироваткою;
 - 2) з досліджуваним вірусним антигеном і нормальною сироваткою;
 - 3) з досліджуваними сироватками і вірусним антигеном;
 - 4) з досліджуваними сироватками і нормальним антигеном;
 - 5) зі специфічною сироваткою і нормальним антигеном.

Правильні відповіді

- 1) 1, 2, 3, 5. 2) 2. 3) 2, 5. 4) 2, 4. 5) 1 – В; 2 – Г; 3 – Г; 4 – А, Б; 5 – А, Б. 6) 3. 7) 2. 8) 2, 3, 4, 5. 9) 1, 3, 5, 2, 4. 10) 1, 2, 3. 11) 4. 12) 2, 3, 5. 13) 2. 14) 1, 2, 3, 4, 5. 15) 1, 4. 16) 1, 2, 3, 5. 17) 1, 2, 4. 18) 2, 3, 4, 5. 19) 2, 4, 5. 20) 1 – Г; 2 – Д; 3 – Б; 4 – В; 5 – А. 21) 4. 22) 5. 23) 2, 4. 24) 2. 25) 3. 26) 5. 27) 4. 28) 2. 29) 1. 30) 1 – Г; 2 – В; 3 – А; 4 – Д; 5 – Б. 31) 1, 4, 5. 32) 3, 4. 33) 2. 34) 2, 3. 35) 5. 36) 1 – Д; 2 – Г; 3 – Б; 4 – А; 5 – В. 37) 3. 38) 4. 39) 1, 2, 3, 4, 5. 40) 5. 41) 2. 42) 1. 43) 3. 44) 5. 45) 3. 46) 4. 47) 5. 48) 2. 49) 1. 50) 3. 51) 1. 52) 5. 53) 4. 54) 5. 55) 5. 56) 2. 57) 5. 58) 1, 3.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Белоусова Р. В., Преображенская Э. А., Третьякова И. В. Ветеринарная вирусология : учебник / под ред. проф. Р. В. Белоусовой. Москва : КолосС, 2007. 424 с.
2. Бизунок Н. А., Гайдук А. В. Противовирусные средства : учеб.-метод. пособие. Минск : БГМУ, 2016. 52 с.
3. Гудзь С. П., Перетятко Т. Б., Галушка А. А. Вірусологія : підручник. Львів : ЛНУ імені Івана Франка, 2018. 526 с.
4. ДНК- и РНК-вакцины: современное состояние, требования к качеству и особенности проведения доклинических исследований / А. А. Горяев и др. БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение, 2019. Том 19, № 2. С. 72–80.
5. Емерджентні і ре-емерджентні вірусні інфекції: глобальна проблема ХХІ століття / Л. О. Панченко та ін. Інфекційні хвороби, 2015. 4 (82). С. 59–66.
6. Исмаилов А. Ш. Арбовирусы и арбовирусные инфекции – патология и экология. Биомедицина, 2008. № 4. С. 3–8.
7. Калініна О. С. Новітня таксономія вірусів хребетних. Науковий вісник ЛНУВМБ імені С. З. Гжицького. Серія: Ветеринарні науки, 2020. Т. 22, № 98. С. 13–18.
8. Медична мікробіологія, вірусологія та імунологія : підручник для студ. вищ. мед. навч. заклад. 2-ге вид. / за ред. В. П. Широкобокова. Вінниця : Нова книга, 2011. 952 с.
9. Пиневиц А. В., Сироткин А. К., Гаврилова А. В., Потехин А. А. Вирусология : учебник. СПб : Изд-во С.-Петербур. ун-та, 2012. 432 с.
10. Практикум з ветеринарної вірусології : навч. посіб. / В. Г. Скибіцький та ін. Київ : Вища освіта, 2005. 208 с.
11. Руководство по вирусологии: Вирусы и вирусные инфекции человека и животных / под ред. академика РАН Д. К. Львова. Москва : ООО «Изд-во «Медицинское информационное агентство», 2013. 1200 с.
12. Сергеев В. А., Непоклонов Е. А., Алипер Т. И. Вирусы и вирусные вакцины. Москва : Библионика, 2007. 524 с.
13. Скибіцький В. Г., Калініна О. С., Козловська Г. В. Ветеринарно-санітарна вірусологія : підручник. Херсон : ОЛДІ-ПЛЮС, 2020. 414 с.
14. Скибіцький В. Г., Калініна О. С., Козловська Г. В. Спеціальна ветеринарна вірусологія : навч. посіб. Київ : ЦП Компрінт, 2017. 451 с.
15. Скибіцький В. Г., Ташута С. Г., Козловська Г. В., Калініна О. С. Інфекціологія вірозів тварин : навч. посіб. Київ : «ФОП Нагорна І. Л.», 2014. 378 с.
16. Сюрин В. Н., Самуйленко А. Я., Соловьев Б. В., Фомина Н. В. Вирусные болезни животных. Москва : ВНИТИБП, 1998. 928 с.
17. Virus Taxonomy: 2020 Release International Committee on Taxonomy of Viruses [Electronic resource]. Mode of acces: <https://talk.ictvonline.org/taxonomy/>

Навчальне видання

КАЛІНІНА Ольга Сергіївна

ПАНІКАР Ігор Іванович

СКИБІЦЬКИЙ Володимир Гурійович

ВЕТЕРИНАРНА ВІРУСОЛОГІЯ

Підручник

3-тє видання, перероблене і доповнене

Технічне редагування – Т. В. Шутова

Дизайн обкладинки – В. В. Савельєва

Верстка – О. С. Данильченко



Підписано до друку 30.06.2021 р.
Формат 60x84/16. Папір офсетний.
Цифровий друк. Гарнітура Times.
Ум. друк. арк. 24.18.
Наклад 300. Замовлення № 0122-003.

Видавництво та друк: ОЛДІ-ПЛЮС
вул. Паровозна, 46а, м. Херсон, 73034
Свідоцтво ДК № 6532 від 13.12.2018 р.

Тел.: +38 (0552) 399-580, +38 (098) 559-45-45,
+38 (095) 559-45-45, +38 (093) 559-45-45
Для листування: а/с 20, м. Херсон, Україна, 73021
E-mail: office@oldiplus.ua

