

МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА  
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего профессионального образования  
«КУБАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Кафедра микробиологии, эпизоотологии и вирусологии

**КУРС ЛЕКЦИЙ**

по дисциплине: **Б1.В.ДВ.1 Ветеринарная вирусология** для аспирантов 2 курса по направлению подготовки 36.06.01 Ветеринария и зоотехния, направленность: «Ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология», квалификация – Исследователь. Преподаватель исследователь

Краснодар 2014

Курс лекций для аспирантов подготовил

Заведующий кафедрой микробиологии,  
эпизоотологии и вирусологии,  
д.в.н., профессор Шевченко А.А.

Курс лекций рассмотрен и утвержден на заседании  
методической комиссии факультета ветеринарной медицины  
протокол № 10 от «23» июня 2014 г.

Председатель методической комиссии факультета ветеринарной медицины  
профессор Шевченко А.А.

© Шевченко А.А.

© ФГБОУ ВПО «Кубанский государственный аграрный университет», 2014

## Лекция №1 Вирусология – как наука

### ВОПРОСЫ:

- I. Предмет и значение вирусологии. История развития вирусологии.
- II. Природа вирусов. Происхождение и распространение вирусов.
- III. Роль вирусов в инфекционной патологии животных и человека.
- IV. Морфология вирусов: внешний вид, размеры, молекулярная масса.
- V. Химический состав вирусов. Особенности и функции вирусных белков и нуклеиновых кислот вирусов.
- VI. Структура вирусов. Типы симметрии вирусов.
- VII. Классификация и номенклатура вирусов. Субвирусные агенты: вироиды, сателлиты, прионы.

### **I. Предмет и значение вирусологии. История развития вирусологии.**

**Вирусология** (от латинского *Virus* – яд, *logos* - учение) – биологическая наука, занимающаяся изучением мельчайших микроорганизмов – вирусов и заболеваний, вызываемых вирусами у всех живых существ.

Вирусология включает в себя ряд самостоятельных дисциплин: общую, фито-, медицинскую, ветеринарную вирусологию.

Ветеринарную вирусологию условно делят на общую и частную.

**О значении вирусологии** красноречиво говорят цифры.

В 1986 году было известно 1000 вирусов, в настоящее время – более 4000 исследованных и охарактеризованных вирусов, отнесенных к 164 родам и объединенных в 71 семейство, а количество штаммов и разновидностей вирусов, имеющих определенное значение для ветеринарии – 30 000. Зоопатогенные вирусы отнесены к 2 порядкам, 75 родам, 26 семействам.

Из всех инфекций животных более 70% приходится на болезни вирусной этиологии, поэтому для подготовки высококвалифицированного ветеринарного врача изучение вирусных болезней животных, методов их диагностики и профилактики (при отсутствии методов специфической терапии) имеет особое значение.

Вирусология как самостоятельная наука сформировалась сравнительно недавно. **Историю развития вирусологии** условно делят на три периода.

**Первый период** – с древних времен до 1892 года. В этот период вирусологии как самостоятельной науки еще не существовало. Изучение особой группы заразных болезней с

неизвестной этиологией производили эпизоотологи, эпидемиологи, бактериологи, иммунологи и другие ученые.

**Второй период** – с 1892 года по 1950 год. Это период формирования вирусологии как самостоятельной науки. Он характеризуется интенсивным изучением возбудителей различных вирусных болезней, что стало возможным после открытия русским ученым – ботаником **Дмитрием Иосифовичем Ивановским** возбудителя одной из форм мозаичной болезни табака (возбудителем второго заболевания – рябухи был грибок).

**Третий период** – с 1950г по настоящее время. В этот период стали широко применяться методы культур клеток, электронная микроскопия, позволившие обнаружить много ранее неизвестных вирусов, изучать их взаимодействия с живой системой на клеточном и молекулярном уровнях.

### **II. Природа вирусов. Происхождение и распространение вирусов.**

Природа вирусов двойственна. С одной стороны вирусам свойственны все основные признаки живого: универсальный генетический код, общий для бактерий, грибов, простейших, животных, растений и вирусов, наследственность и изменчивость, отбор в популяции, мутационный процесс. Отсюда и взгляд на вирусы как на полноценные живые объекты.











## Первая фаза репродукции вирусов.

**1. Адсорбция вирионов на поверхности клетки** В основе адсорбции лежат два механизма: неспецифический и специфический. Неспецифический определяется силами электростатического взаимодействия, возникающими между положительно заряженными аминными группами вирусного белка и отрицательно заряженными кислотными фосфатными, сульфатными и карбоксильными группами клеточной поверхности.

Второй и главный механизм адсорбции – специфический. Специфичность связи между клеткой и вирусом обусловлена комплементарными клеточными и вирусными рецепторами. Количество специфических рецепторов на поверхности клетки составляет  $10^4$  –  $10^5$  на одну клетку. Вирусные рецепторы (прикрепительные белки) у просто организованных вирусов животных находятся в составе капсида. У сложно организованных вирусов эти белки входят в состав суперкапсида и представлены множественными молекулами. ...

### 2. Проникновение вирусов в клетку.

Существуют два альтернативных механизма проникновения в клетку вирусов животных:

#### 1. Виропексис (эндоцитоз)

#### 2. Слияние вирусной и клеточной мембран.

Однако чаще всего оба эти механизма не исключают, а дополняют друг друга.

### 3. Раздевание вирусов в клетке.

Конечными продуктами раздевания (депротеинизации) являются сердцевины, нуклеокапсиды или нуклеиновые кислоты. Депротеинизация вирусов осуществляется в большинстве случаев предшествующими клеточными ферментами.

## IV. Вторая фаза репродукции вирусов.

### 1. Транскрипция.

**Транскрипция** – это переписывание информации с ДНК на РНК по законам генетического кода. Транскрипция осуществляется с помощью специального фермента ДНК-зависимой РНК – полимеразы, которая связывает нуклеотиды путем образования  $3'$  –  $5'$  фосфодиэфирных мостиков. Такое связывание происходит лишь в присутствии ДНК – матрицы.

Продуктами транскрипции в клетке являются иРНК. Сама клеточная ДНК, являющаяся носителем генетической информации, не может непосредственно программировать синтез белка. Передачу генетической информации от ДНК к рибосоме осуществляет РНК – посредник (иРНК). На этом основана центральная догма молекулярной биологии, которая выражается формулой:



Стрелки показывают направление переноса генетической информации.

### Реализация генетической информации у вирусов.

Стратегия вирусного генома в отношении синтеза иРНК у разных вирусов различна.

**У ДНК – содержащих вирусов** иРНК синтезируется на матрице одной из нитей ДНК. Формула переноса генетической информации у них такая же, как и в клетке:



**У РНК – содержащих плюс – нитевых вирусов:** Corona-, Arteri-, Calici-, Picorna-, Astro-, Toga-, Flaviviridae функции иРНК выполняет сам геном. Передача генетической информации осуществляется по наиболее простой формуле:



тельская нить ДНК. Позднее синтезируются иРНК, кодирующие структурные вирусные белки.

Синтез всех вирусных белков происходит на клеточных рибосомах. Для их построения используется аминокислотный фонд клетки. Аминокислоты активируются ферментами и с помощью тРНК переносятся в рибосомы, где они располагаются в синтезируемой молекуле белка в определенном порядке, в соответствии с информацией, полученной иРНК от вирусной ДНК (рис.1).

**Рис. 1**  
репли-  
двуспи-  
молекул  
ных  
при пе-  
генети-  
инфор-  
рибосо-

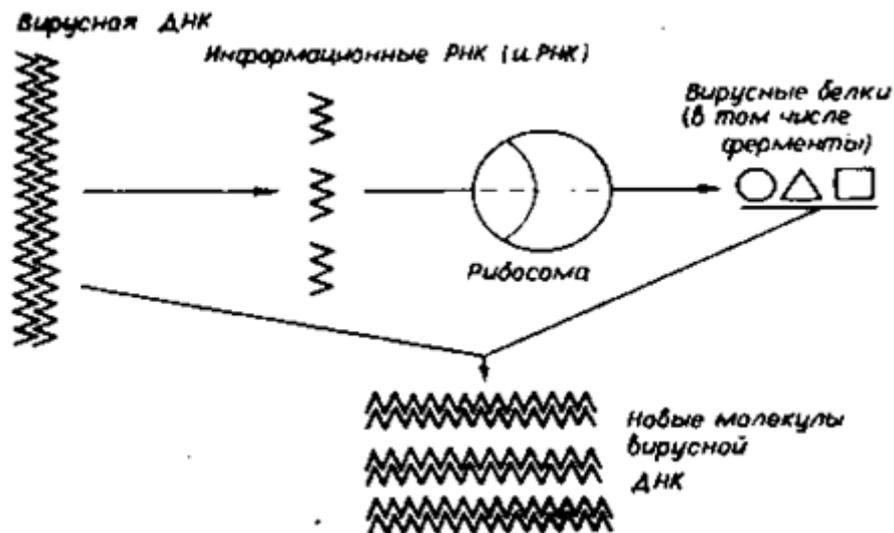
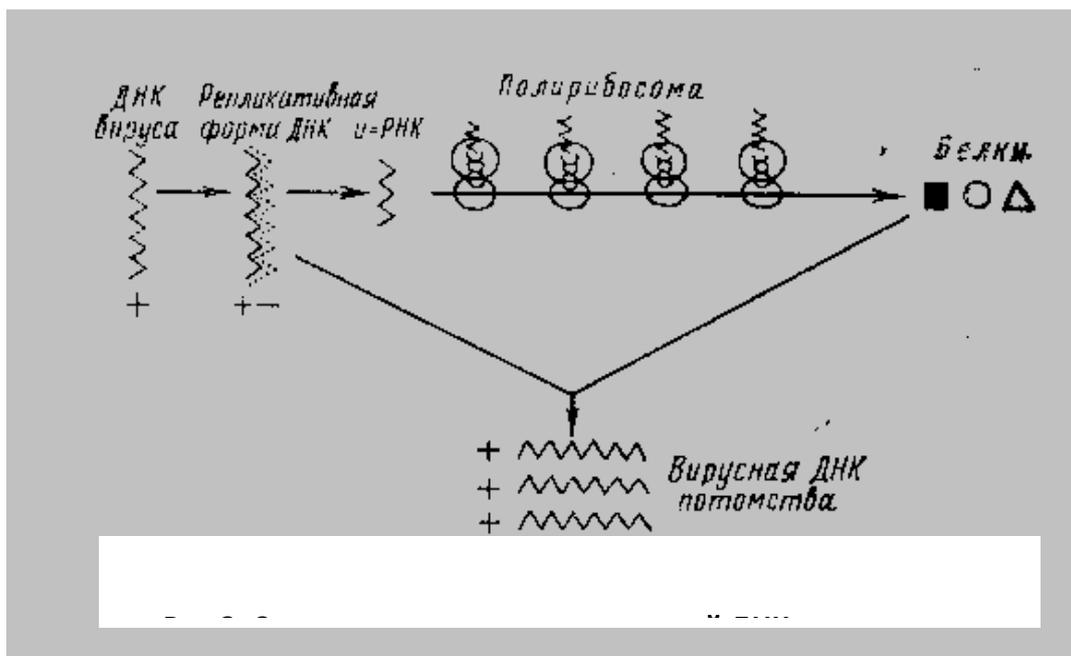


Схема  
кации  
ральных  
вирус-  
ДНК  
редаче  
ческой  
мации в  
мы

## 2. Репликация вирусов, геном которых представлен одноцепочечной ДНК.

На вирусной односпиральной ДНК (плюс – нити) по принципу комплементарности образуется одна комплементарная ей минус – нить с помощью фермента ДНК зависимой ДНК – полимеразы, входящей в состав вирионов. В результате образуется репликативная форма ДНК, состоящая из одной родительской плюс – нити и комплементарной ей вновь синтезированной минус – цепочки. Минус цепочки репликативной формы ДНК служат матрицами для синтеза иРНК и новых "плюс" цепочек ДНК потомства. Синтезированные "плюс" цепочки ДНК включаются в состав зрелого вируса.(рис.2)



### 3. Репликация односпиральных вирусных РНК с позитивным геномом.

После проникновения этих вирусов в клетку геномная РНК, она же информационная РНК, поступает непосредственно в рибосомы клетки и индуцирует синтез вирусных белков, в том числе РНК – репликазы, обеспечивающей репликацию самих вирусных РНК. С помощью этого фермента на исходной родительской молекуле РНК (плюс – нити) синтезируется вторая комплементарная минус – нить РНК. В результате этого образуется двуспиральная репликативная форма РНК (РФ РНК). Минус – нити РФ РНК служат матрицами для синтеза плюс – нитей нового вирусного потомства. Минус – нити образуются на ранней стадии репликации и максимальный уровень их синтеза предшествует появлению плюс – нитей.

В процессе репликации принимают участие две разновидности РНК – полимеразы:

1) **вирионная РНК – транскриптаза**, ответственная за преимущественный синтез минус – нитей в ранний период инфекции;

2) **РНК – репликаза** – за преимущественный синтез плюс – нитей на более поздних этапах репродукции.

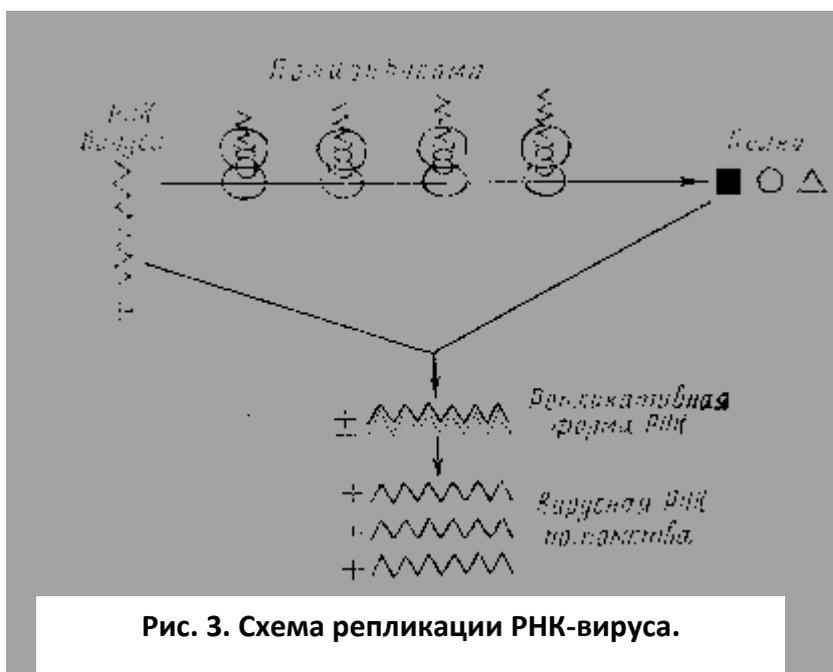
В зараженных вирусом клетках была обнаружена еще одна форма вирусспецифической РНК – репликативный предшественник (РП) или репликативно – промежуточная форма (РПФ) – молекулы этой формы содержат двуспиральную «сердцевину» и односпиральные «хвосты».

Синтез РНК может осуществляться по одному из двух механизмов:

1. **Консервативному**, при котором полинуклеотидные цепи, входящие в состав РФ РНК, сохраняются (консервируются) и не переходят в односпиральную форму.

2. **Ассиметрическому, полуконсервативному** – когда вновь строящаяся плюс – нить вытесняет ранее синтезированную плюс – нить из РФ РНК.

При использовании обоих механизмов возникают промежуточные структуры типа РПФ. Конечным продуктом синтеза в обоих случаях является односпиральная вирусная РНК. Значительная часть ее принимает участие в трансляции в составе репликативного комплекса (рис.3).



**Рис. 3. Схема репликации РНК-вируса.**

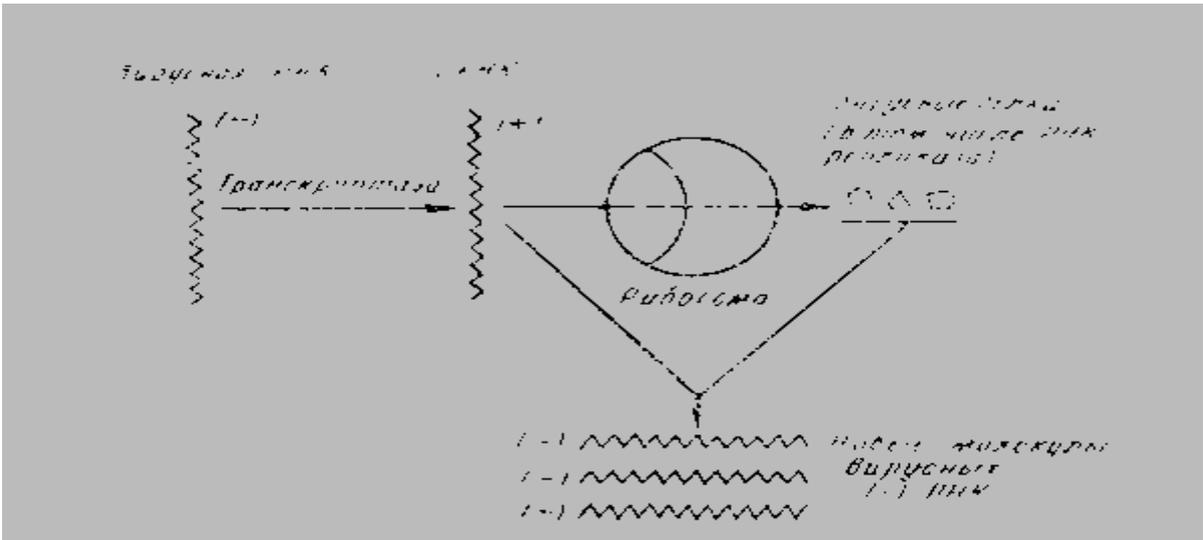
### 4. Репликация односпиральных вирусных РНК с негативным геномом.

На минус – нити РНК с помощью РНК/РНК- полимеразы (транскриптазы), входящей в состав всех вирусов, кроме вируса бешенства, синтезируется комплементарная ей плюс – нить РНК в виде отдельных фрагментов двух типов:

первые поступают в рибосомы и служат матрицами для синтеза структурных белков и ферментов РНК – репликазы 1 и 2 (они имеют поли (А) – последовательности на 3'

конце);

вторые служат матрицами для синтеза нитей вирионной РНК (они не имеют такой последовательности), то есть минус – нитей, которые войдут в состав новых частиц вирусного потомства с помощью вновь синтезированной РНК – репликазы 2. (рис.4)



**Рис. 4** Схема репликации вирусных минус-РНК и передача генетической информации в рибосомы

#### **4. Сборка вирионов.**

В основе самосборки лежит специфическое белок – нуклеиновое и белок – белковое узнавание, которое может происходить в результате гидрофобных ионных и водородных связей, а также стерического соответствия. Белок – нуклеиновое узнавание ограничено небольшим участком молекулы нуклеиновой кислоты и определяется уникальными последовательностями нуклеотидов в некодирующей части вирусного генома. С этого узнавания участка генома вирусными капсидными белками начинается процесс сборки вирусной частицы. Присоединение остальных белковых молекул осуществляется за счет специфических белок – белковых взаимодействий или неспецифических белок – нуклеиновых взаимодействий.

Объединение белка с вирусными нуклеиновыми кислотами в клетке происходит спонтанно как чисто физико – химическая реакция агрегации, требующая участия дополнительных факторов (рН, ионной силы, ионов металлов, осмоса...).

#### **5. Выход вирусных частиц из клетки.**

Различают 3 типа выхода вируса из клетки:

1. **Литический или взрывной).**
2. **Выход вируса из клетки путем почкования или постепенный выход.**
3. **Передача вируса от клетки к клетке без выхода его во внешнюю среду.**

#### **V. Дефектные интерферирующие частицы.**

Дефектный вирус – вирус, который вследствие повреждения или отсутствия части генетического материала индуцирует в клетке лишь часть специфических макромолекул, необходимых для созревания инфекционного потомства, то есть осуществляет в клетке лишь часть своих генетических функций.

Любая дефектная вирусная частица должна обладать следующими свойствами:

1. **Содержать нормальный структурный вирусный белок.**
2. **Содержать часть вирусного генома.**
3. **Обладать способностью к репродукции с помощью вируса – помощника.**
4. **Специфически интерферировать с внутриклеточной репликацией недефектного (полного) гомологичного вируса.**

**Неполные вирионы** – вирионы, лишённые нуклеиновой кислоты, но сохранившие антигенные свойства.

#### **VI. Реакция клетки на вирусную инфекцию.**

Клеточные реакции на вирусную инфекцию могут быть четырех типов.

К первому из них относятся разнообразные патологические изменения, проявляющиеся угнетением синтетических процессов, нарушением функциональной активности, повреждением структуры самой клетки и её гибелью. Такие изменения обозначаются как *цитопатическая реакция* на вирусную инфекцию, а способность вирусов вызывать такую реакцию – *цитопатическое действие* (ЦПД).

Второй тип клеточных реакций – синтез закодированных в клеточном геноме белков - интерферонов, обладающих антивирусной активностью.

Третий тип реакций – размножение вируса без видимых патологических изменений клеток (*латенция*). Это своеобразное состояние равновесия между вирусом и клеткой, когда инфекция не проявляется какими либо внешними признаками. Этот вид взаимодействия очень распространен и возможно является наиболее частой формой взаимоотношения вируса и клетки в природе. При латентной инфекции наблюдается незначительная продукция вируса без повреждения клеток.

Четвертый тип клеточных реакций – пролиферация клетки при наличии в ней вируса. Клетки в очагах бурного размножения приобретают новые наследственные свойства и отличаются от исходных изменением кариотипа, метаболизма и утратой свойства контактной ингибиции. С утратой последнего клетки начинают непрерывно и беспорядочно делиться, что приводит к беспорядочному нагромождению их друг на друга и возникновению злокачественных опухолей в организме животного.

## Лекция №2 Основные свойства вирусов

### ВОПРОСЫ:

I. Культивирование вирусов в организме естественно восприимчивых и лабораторных животных.

II. Выращивание вирусов в куриных эмбрионах.

III. Культура тканей. Понятие, классификация, характеристика.

1. Органные и плазменные культуры.

2. Культуры клеток:

2.1. Суспензионные культуры клеток;

2.2. Однослойные культуры клеток:

а) первичные культуры клеток;

б) диплоидные культуры клеток;

в) перевиваемые культуры клеток.

3. Условия культивирования клеточных культур.

4. Индикация вируса в культуре клеток.

IV. Действие на вирусы физических факторов и химических веществ.

Методы уничтожения и консервации вирусов.

I. Понятие о гене, генотипе, фенотипе вируса.

II. Изменчивость вирусов. Виды мутаций. Молекулярные механизмы мутаций.

III. Негенетические и генетические взаимодействия вирусов.

IV. Селекция вирусов, методы селекции.

### I. Культивирование вирусов в организме естественно восприимчивых и лабораторных животных.

Для культивирования (выращивания) вирусов в лабораторных условиях используют четыре биологические системы:

**1 – Естественно восприимчивые животные:** лошади, КРС, МРС, свиньи, кролики, плотоядные, птица...

**2 – Лабораторные животные:** белые мыши, крысы, морские свинки, золотистые хомячки, кролики, цыплята, голуби, котята, щенята, ежата, подсвинки, ягнята...

**3 – Эмбрионы:** утиные, гусиные, индюшьи, перепелиные..., но чаще всего куриные.

#### **4 – Культура тканей.**

Культивирование вирусов **в организме естественно восприимчивых животных** проводят редко и только в тех случаях:

1. Когда для изучаемого вируса нет более удобной лабораторной биологической системы, на которой бы данный вирус успешно размножился с первого пассажа, минуя стадию адаптации.

2. Для сохранения у выделенного вируса всех исходных свойств, главным образом патогенности и антигенных свойств.

Культивирование вирусов **в организме лабораторных животных** проводят для:

- обнаружения вируса в патматериале;
- первичного выделения вируса из патматериала;
- накопления вирусной массы;
- поддержания вируса в лаборатории в активном состоянии;
- титрования вируса;
- получения гипериммунных сывороток;
- в качестве тест – объекта в реакции нейтрализации.

### **II. Выращивание вирусов в куриных эмбрионах.**

**Куриные эмбрионы** как живая система вошли в вирусологическую практику в 30-х годах XX века. В куриных эмбрионах способны размножаться многие вирусы, так как эта система содержит четыре различных субстрата для вируса с различным тропизмом – амнион, аллантоис, хорионаллантоисная мембрана и желточный мешок .

Преимущества куриных эмбрионов перед лабораторными животными:

1.Скорлупа и подскорлупная оболочка надежно защищают эмбрион от бактериального заражения со стороны внешней среды.

2.Высокая чувствительность куриных эмбрионов к широкому спектру вирусов, особенно вызывающих заболевания у птиц.

Это объясняется недостаточным развитием защитных механизмов у куриных эмбрионов и наличием четырех субстратов для вируса.

3.Куриные эмбрионы – легкодоступный объект в связи с развитием широкой сети птицефабрик, инкубаториев.

4.Куриные эмбрионы экономичны, не требуют ухода и кормления.

Недостатки куриных эмбрионов.

Куриные эмбрионы могут быть контаминированы патогенными агентами – микоплазмами, хламидиями, вирусами: инфекционного бронхита кур, Ньюкаслской болезни, гриппа, ИЛТ птиц, лейкоза...

Куриные эмбрионы в вирусологии используют в основном для тех же целей, что и лабораторных животных. На них не получают только гипериммунные сыворотки.

Для культивирования вирусов используют эмбрионы в возрасте 5 – 12 дней. Заражение в ту или другую часть эмбриона проводится в период ее максимального развития, когда количество чувствительных клеток будет наибольшим.

Признаками размножения вируса в курином эмбрионе являются: гибель эмбриона в характерные для данного вируса сроки, способность вируса агглютинировать эритроциты кур, патологоанатомические изменения, появляющиеся в различных структурах эмбриона.

### **III. Культура тканей. Понятие, классификация, характеристика.**

**Культура тканей** – широкое (сборное) понятие, обозначающее систему, в которой клетки, ткани или органы сохраняют жизнеспособность в искусственных условиях *in vitro* (вне организма) более 24 часов. Культура тканей включает в себя:

1.Органнe культуры.

2. Плазменные культуры.

3. Культуры клеток.

**Органные культуры** – системы, в которых различные по структуре и функции клеточные элементы одного органа живут и размножаются в искусственных условиях *in vitro*.

**Плазменные культуры** – системы, в которых кусочки органов функционируют и пролиферируют *in vitro* в плазме.

**Культура клеток** – это клетки многоклеточного организма, живущие и размножающиеся в искусственных условиях *in vitro*.

Культуры клеток в вирусологии используют в основном для:

1. Первичного обнаружения вирусов.
2. Выделения вируса из патматериала.
3. Накопления вируса при изготовлении вакцин и диагностикумов.
4. Поддержания вирусных штаммов в лаборатории.
5. Титрования вирусов.

Применяемые в вирусологической практике культуры клеток делят на:

1. Однослойные культуры клеток.
2. Суспензионные культуры клеток.

**Однослойные культуры клеток** – культуры клеток, в которых клетки живут и размножаются, плотно прикрепившись к твердой поверхности субстрата (стенке матраса или пробирки) и располагаясь слоем толщиной в одну клетку.

**В суспензионных культурах** [Оуэнс с сотр. 1953] клетки живут и размножаются, находясь во взвешенном состоянии в жидкой питательной среде.

Однослойные культуры клеток подразделяются на:

1. Первичные культуры клеток.
2. Диплоидные культуры клеток.
3. Перевиваемые культуры клеток.

**Первично – трипсинизированные культуры клеток** – клетки, полученные непосредственно из органов или тканей организма, растущие *in vitro* в один слой.

Первичные культуры клеток состоят из морфологически неоднородных клеток, имеющих диплоидный набор хромосом и не способных к длительным пересевам.

**Субкультуры** – культуры клеток, полученные из первичных клеток путем снятия их со стекла субстрата диспергирующим раствором (раствором версена или трипси-на), ресуспендирования в новой питательной среде и пересева на новый субстрат. Практически субкультуру можно получить из всех первичных культур клеток. Субкультуры по чувствительности к вирусам не уступают первичным культурам клеток. Кроме того, они более экономичны и есть возможность выявления контаминации клеток вирусами.

**Диплоидные культуры клеток** по определению Международного комитета по клеточным культурам – морфологически однородная популяция клеток, стабилизированная в процессе культивирования *in vitro*, имеющая ограниченный срок жизни  $-50\pm 10$  пассажей, характеризующаяся тремя фазами роста, сохраняющая в процессе пассирования кариотип, свойственный исходной ткани, свободная от контаминантов и не обладающая туморогенной активностью при трансплантации хомячкам.

**Перевиваемые культуры клеток** – клетки, способные к размножению вне организма неопределенно длительное время. В лабораториях их поддерживают путем пересева из одного сосуда в другой, заменяя питательную среду. Получают перевиваемые клетки из первичных культур клеток с повышенной активностью роста путем длительных пересевов (несколько месяцев) в определенном режиме культивирования.

3. Условия культивирования клеточных культур представляют собой комплекс физико – химических факторов, важнейшими из которых являются: температура культивирования, осмотическое давление среды, концентрация водородных ионов, содержание не-





**Мутация** – наследуемые изменения гена или генов, контролирующими определенные наследственные признаки, ведущие к фенотипически выраженному изменению свойства вируса.

**По протяженности** мутации вирусов делят на точечные и абберационные:

**1. Точечные мутации** обусловлены заменой одного нуклеотида для РНК-содержащих вирусов или одной пары комплементарных нуклеотидов для ДНК-содержащих вирусов.

**2. Абберационные мутации** – изменения, затрагивающие значительный участок генома, то есть несколько нуклеотидов.

**По направлению** мутации вирусов делят на:

**1. Прямые мутации.** Они меняют фенотип вируса.

**2. Обратные мутации** (реверсии). Они восстанавливают фенотип вируса.

**По происхождению** мутации вирусов делят на:

**1. Спонтанные мутации.**

**2. Индуцированные мутации.**

В основе **молекулярных изменений** вирусной нуклеиновой кислоты, приводящих к мутации, лежат 2 основных процесса:

**1-ый – замена основания**, которая подразделяется на: простую (транзигция) – пуриновое основание аденин заменяется на пуриновое основание гуанин и наоборот; пиримидиновое основание – на пиримидиновое: тимин, цитозин, урацил; сложную (трансверсия) замену. Вместо пуринового основания появляется пиримидиновое и наоборот.

**2-ой – выпадение (делеция)** или **вставка** оснований ведет к более глубоким изменениям генетического кода, чем простая замена оснований.

В обоих случаях происходит смещение рамки считывания генетической информации. При одновременном добавлении и выпадении (плюс и минус) основания, считывание информации снова входит в фазу.

### **III. Негенетические и генетические взаимодействия вирусов.**

При совместной репродукции в клетке двух и более вирусов между ними происходят взаимодействия, подразделяющиеся на генетические и негенетические.

**Негенетические взаимодействия** – явления, при которых генетического взаимодействия между нуклеиновыми кислотами вирусов не происходит. Они включают: фенотипическое смешивание, негенетическую реактивацию, комплементацию, стимуляцию, интерференцию.

**Фенотипическое смешивание** свойственно только вирусам. При одновременной репродукции в клетке двух генетически различных вирусов могут образовываться вирионы с генотипом одного из исходных штаммов, но обладающие антигенными свойствами обоих вирусов. Фенотипически смешанные формы нейтрализуются сыворотками против обоих исходных штаммов вирусов, так как в оболочке полученных вирусов появляются структурные белки обоих родительских штаммов. Такие вирионы воспроизводят в первом поколении признаки того штамма, нуклеиновую кислоту которого они содержат. Из них, как правило, уже в 1-ом пассаже выделяются исходные штаммы.

**Негенетическая реактивация** свойственна только вирусам. При данном явлении инактивированный вирус (А) в результате денатурации структурных белков приобретает способность размножаться благодаря активности фермента («раздевающего» энзима) другого родственного вируса (Б). Реактиватором может быть не только жизнеспособный вирус Б, но и вирус В, ДНК которого повреждена и лишена репликативной функции. Введение «раздевающего» белка (депротеинизирующего фермента) в культуру клеток, инфицированную инактивированным вирусом, ведет к полному освобождению ДНК вирионов инактивированного вируса и запускает полноценный цикл репродукции.

**Комплементация** наблюдается в тех случаях, когда при мутации в геноме вируса возникают повреждения и он лишается способности самостоятельной репродукции. Но если в клетку проникают два дефектных штамма, у одного из которых повреждения лока-

лизованы в гене, ответственном за синтез, например раннего белка (РНК – полимеразы), а у другого – в гене, программирующем синтез структурного белка, то каждый из них может взаимно использовать фермент, синтез которого индуцируется другим штаммом. В результате такого синергизма два дефектных вируса, не способных репродуцироваться по одиночке, при двойной инфекции проходят полный цикл репродукции. При такой взаимной комплементации генотипы взаимодействующих вирусов не изменяются, заимствуется лишь фермент, синтез которого индуцируется другим вирусом).

**Интерференция вирусов** – подавление репродукции одного вируса другим. Она возможна на внеклеточной и внутриклеточной стадии существования вирусов.

Вне клетки интерференция одного вируса другим совершается на стадии адсорбции вирусов на клетке при наличии у них общих рецепторов. В результате адсорбции одного вируса клеточные рецепторы насыщаются этим вирусом и препятствуют адсорбции и проникновению другого вируса.

На внутриклеточной стадии интерференция происходит при участии клеточного белка, индуцированного вирусом – интерферона. Он подавляет одну из стадий репродукции другого вируса.

**Стимуляция или односторонняя комплементация** – явление, при котором «вирус-помощник» (репродукция которого обеспечивает полную репликацию других вирусов) стимулирует репродукцию «вируса-сателлита» (может репродуцироваться только в присутствии «вируса-помощника», то есть он не имеет всего необходимого для своей репродукции). «Вирусы-помощники»: парагриппозный вирус типа 3 по отношению к вирусу б. Ньюкасла в культуре клеток почек обезьян; вирус Сендай (парагриппозный вирус типа I) по отношению к полиовирусу в культуре клеток фибробластов эмбрионов кур и эмбрионов хомячка.

**Генетические взаимодействия** – явления, при которых происходит генетическое взаимодействие между нуклеиновыми кислотами вирусов. Все эти явления приводят к изменению наследственности у вирусов и их объединяют одним понятием – рекомбинация. Они включают явления: множественной реактивации, гибридизации, транскриптации, гетерозиготности.

**Множественная реактивация** – обмен (рекомбинация) неповрежденными участками вирусной нуклеиновой кислоты между инактивированными вирионами, приводящий к образованию исходных неповрежденных вирусов. Она свойственна только вирусам. Она характерна для бактериофагов, вируса гриппа, при облучении их УФ-лучами.

**Транскриптация** – стабильное объединение геномов двух вирусов в капсид одного из них. Она свойственна только вирусам. Данное явление характерно для совместного культивирования аденовирусов и вируса обезьян SV-40.

**Гибридизация** – стойкое объединение в одном вирусном геноме генетического материала разных родительских вирусов (двух жизнеспособных вирусов или живого и инактивированного вирусом).

**Гетерозиготность** – нестойкое объединение в геноме одного вириона генетической информации обоих вирусов. Гетерозиготные вирионы способны давать потомство с признаками обоих вирусов, но в отличие от истинных (стабильных) гибридов они при дальнейшем пассировании (как правило, в первом пассаже) расщепляются на исходные штаммы.

#### **IV. Селекция вирусов, методы селекции.**

**Селекция вирусов** – создание таких условий, при которых происходит преимущественное размножение вирусных частиц с измененной наследственностью, в результате чего вся вирусная популяция будет состоять из генетически однородных мутантов.

Для получения генетически однородной вирусной популяции используют методы селекции:

##### **1. Выделение клонов из одиночных пустул на хорионалантоисной оболочке (ХАО) куриного эмбриона.**

2. Селекция клонов из бляшек на культуре клеток.
3. Селекция пассажирами предельных разведений.
4. Селекция методом избирательной адсорбции и элюции.
5. Селекция методом пассажей в измененных условиях культивирования.

### **Лекция №3 Понятие об иммунитете, классификация иммунитета**

#### **ВОПРОСЫ:**

- I. Предмет и задачи иммунологии. Основные вехи в развитии иммунологии.
- II. Понятие об иммунитете. Виды иммунитета.
- III. Неспецифические факторы противовирусного иммунитета: неспецифические ингибиторы вирусов – сывороточные и секреторные, фагоцитоз, температура тела, гормоны, секреторно-выделительная функция клеток.
- IV. Интерферон. Свойства, индукция, механизм образования и противовирусного действия, практическое применение интерферона.

#### **I. Предмет и задачи иммунологии. Основные вехи в развитии иммунологии**

**Иммунология** – наука об иммунитете. Она изучает проявление, механизмы и способы управления иммунитетом, а также разрабатывает иммунологические методы диагностики, лечения и профилактики болезней человека и животных.

Принято считать, что начало новой науки положили знаменитые опыты английского врача Э. Дженнера (1749-1823). Он заметил, что во время эпидемии человеческой оспы чаще всего не заболевают доярки.

Основоположником современной научной иммунологии признан Луи Пастер. В 1881 году он сообщил, что куры при заражении ослабленным возбудителем холеры кур становятся невосприимчивыми к заражению вирулентными культурами. Сопоставив свои опыты с наблюдениями Дженнера, Пастер сформулировал основной принцип защиты от возбудителя любой инфекционной болезни, который состоит в том, что организм после встречи с ослабленным возбудителем становится невосприимчивым (иммунным) к вирулентным микробам того же вида.

В дальнейшем предохранение от инфекционных болезней путем введения прививочного материала получило название «вакцинация» (от лат. *vaccina* - корова). Этот термин предложен Л. Пастером как дань уважения Э. Дженнеру. Благодаря работам Л. Пастера учение об иммунитете получило научное обоснование.

К концу XIX и в начале XX столетий были сделаны многие открытия, создавшие научный фундамент иммунологии. В 1883 году И. Мечников открыл фагоцитоз и ввел понятие «клеточный иммунитет». В эти годы развивалась и гуморальная теория иммунитета, сторонником которой был П. Эрлих. Длительная полемика между сторонниками клеточной и гуморальной теорий иммунитета способствовала формированию иммунологии как науки. В 1908 году Мечникову и Эрлиху была присуждена Нобелевская премия за выдающиеся открытия по иммунитету.

Ж. Борде (бельгийский иммунолог) и Ф. Я. Чистович (русский ученый) установили (1898), что антитела образуются на введение не только микроорганизмов, но и клеток крови (эритроцитов барана), а также других антигенов белкового происхождения. За открытие в области иммунитета Ж. Борде в 1919 году был удостоен Нобелевской премии по физиологии и медицине. Полученные результаты исследований послужили затем предпосылкой для разработки других вопросов неинфекционного иммунитета.

В 1900 году К. Ландштайнер открыл группу крови (А, В, О) у человека; в 1902 году Ш. Рише установил феномен анафилаксии; в 1905 году К. Пирке ввел понятие «аллергия»; в 1953 году П. Медовар и М. Гашек независимо друг от друга открыли феномен иммунологической толерантности; в 1958 году Ф. Бернет предложил клонально-



Рис.1 Виды иммунитета (схема)

### **III. Неспецифические факторы противовирусного иммунитета:**

неспецифические ингибиторы вирусов – сывороточные и секреторные, фагоцитоз, температура тела, гормоны, секреторно-выделительная функция клеток.

Ингибиторы сывороток крови. Сывороточные ингибиторы обладают широким диапазоном действия: одни подавляют гемагглютинирующие свойства вирусов, другие – их цитопатогенное действие, третьи – их инфекционную активность.

Специфические антитела по сравнению с ингибиторами имеют большую avidность к вирусным рецепторам и, вступая в комплекс вирус-ингибиторы, вследствие большего avidитета вытесняют ингибиторы. Вирусные частицы способны освободиться от блокирующего действия ингибиторов и восстанавливать вновь свою гемагглютинирующую активность.

Неспецифические ингибиторы секретов верхних дыхательных путей активны в отношении многих вирусов и прежде всего вирусов гриппа и эпидемического паротита. Помимо сывороточных ингибиторов описаны ингибиторы тканей, секретов и экскретов животных.

Защитные факторы секрета имеют специфическую и неспецифическую природу. Специфический компонент секретов респираторного тракта представлен секреторным иммуноглобулином  $A(IgA)$ . Неспецифическая активность секреторных ингибиторов связана с действием местных ингибиторов, которые обладают антигеммагглютинирующей и вируснейтрализующей активностью. Ингибирующая активность секретов зависит от концентрации в них общего белка. Секреторные ингибиторы сходны с сывороточными  $\alpha$ -ингибиторами Фрэнсиса. Активный вирус отщепляет сиаловую кислоту от молекулы ингибитора, что ведет к разрушению его антигеммагглютинирующей активности.

Ингибиторы респираторных секретов клеток, также как и сывороточные ингибиторы, обладают широким спектром активности. Иммунизация одним типом вируса сопровождается нарастанием активности секретов не только в отношении гомологичного, но и гетерологичных типов.

#### **Роль фагоцитоза в противовирусном иммунитете.**

В защите организма от вирусных инфекций фагоцитоз играет важную роль, но проявляется фагоцитозом не вирионов, а инфицированных ими чувствительных клеток, эритроцитов, тромбоцитов и других частиц, доступных для фагоцитоза.

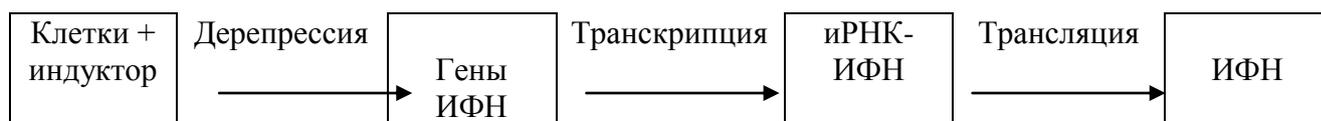
Устойчивость вирусов к фагоцитозу не абсолютна. По этому свойству между ними установлены существенные различия. Крупные вирусы экстремелии, осповакцины, простого герпеса и везикулярного стоматита выводятся из крови быстрее, чем мелкие энтеровирусы. Специфические противовирусные антитела вызывают агрегацию вирионов и их опсонизацию. Такие нейтрализованные антителами агрегаты вирионов захватывают макрофаги и переваривают их. Комплемент повышает прочность связи антител с вирусами, способствует укрупнению агрегатов вирионов, их опсонизации, клиренсу крови и фагоцитозу. Однако в отличие от бактерий вирусы более устойчивы к ферментам фагоцитов, поэтому процесс переваривания их фагоцитами происходит не во всех случаях.

#### **Защитная роль температуры тела.**

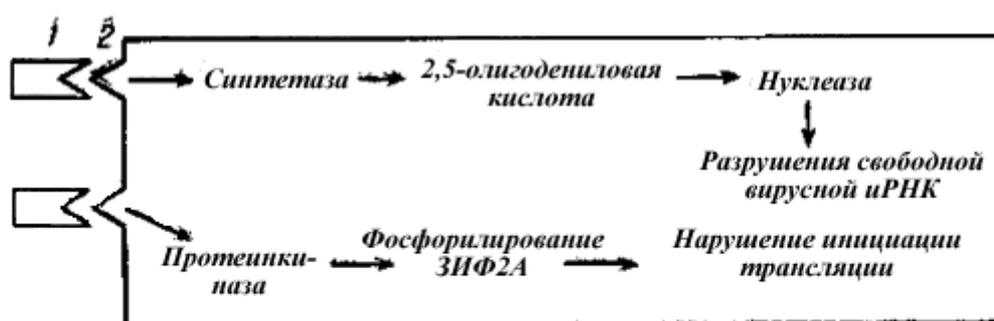
Повреждающее воздействие на вирусы повышенной температуры проявляется инактивацией их под влиянием нормальной температуры тела животного ( $36-38,5^{\circ}C$ ). Лихорадка является главным фактором, содействующим выздоровлению от вирусной инфекции. Однако повышение температуры не всегда необходимо для выздоровления. Например, вы-



Схематически механизм продукции интерферона может быть представлен следующим образом:



**Механизм противовирусного действия интерферона.** Интерферон не влияет на адсорбцию вируса, виropексис, депротейнизацию вирионов, освобождение вирусной нуклеиновой кислоты, композицию вирионов и выход их из клетки. Он не действует на внеклеточный (экстрацеллюлярный) вирус. Интерферон подавляет его репродукцию, то есть действует на вирус опосредованно через чувствительные клетки, в которых не нарушен синтез клеточной РНК и клеточных белков. Интерферон связывается с клеточными рецепторами, находящимися на плазматической мембране, что служит сигналом для депрессии соответствующих генов. В результате синтезируются два фермента: синтетаза, осуществляющая после активации эндонуклеазы деградацию вирусных иРНК и протеинкиназа, ингибирующая начальные этапы синтеза вируса (инициацию трансляции).



**Рис.2 Механизм действия интерферона:  
1 - интерферон; 2 - клеточный рецептор**

Интерферон не обладает видоспецифическим противовирусным действием. Однако для него характерна видотканевая специфичность, то есть более активен в той биологической системе, в которой репродуцирован. Противовирусная резистентность клеток под влиянием интерферона развивается в определенной последовательности. Невосприимчивость клеток к вирусам наступает через 30 минут после контакта с интерфероном α и через 2 часа после контакта с интерфероном γ. Далее резистентность повышается и достигает наивысшего значения через 7-9 часов, после чего сохраняется на постоянном уровне.

К интерферону чувствительны все известные в настоящее время вирусы, однако их чувствительность неодинакова. Наиболее чувствительны вирусы, имеющие внешнюю оболочку и содержащие липиды (миксовирусы, группа оспы, арбовирусы), тогда как пикорна- и аденовирусы, лишённые внешней оболочки, более устойчивы к действию интерферона. Имеется исключение: вирусы герпеса с хорошо развитой оболочкой устойчивы к действию интерферона.

**Практическое применение интерферона.** В настоящее время намечаются два пути использования препарата: применение готового **экзогенного** гомологичного интерферона и индукция в организме **эндогенного** интерферона. Однако, учитывая выраженную видовую специфичность интерферона для профилактики и лечения вирусных инфекций, практически может быть использован только эндогенный интерферон.







гены, с другой стороны предотвращают развитие аутоиммунных реакций. В частности, Т-клетки – супрессоры тормозят включение В-лимфоцитов в пролиферацию и дифференцировку и, следовательно, тормозят выработку антител, развитие гиперчувствительности замедленного типа, формирование Т-эффекторов, обеспечивают становление и поддержание иммунологической толерантности.

#### **V. Особенности иммунитета при вирусных инфекциях**

Иммунитет при вирусных инфекциях обеспечивается антителами и сенсibilизированными Т-лимфоцитами.

Вирусы, распространяющиеся гематогенно, могут быть обезврежены и удалены механизмами гуморального иммунитета. К группе защитных антител принадлежат только вируснейтрализующие антитела, подавляющие способность вирусов к репродукции благодаря блокированию первых этапов взаимодействия вируса с чувствительными клетками (адсорбция и проникновение). Эти антитела нейтрализуют и токсические свойства вируса. В результате вирус утрачивает инфекционную активность, способность агглютинировать эритроциты, индуцировать образование интерферона, превращаясь в безвредную для организма макромолекулу, быстро разрушающуюся под действием температуры тела и ферментов тканей организма. Стабильность комплекса вирус- антитело зависит от различной чувствительности вируса к антителам, avidности их, температуры и времени контакта и др. Часто соединение вируса с антителами носит обратимый характер, то есть вирус после контакта с антителом сохраняет свои биологические свойства.

С учетом современных данных установлена прямая зависимость между титром антител в крови переболевших или вакцинированных животных и резистентностью их к вирусу. При таких инфекциях, как ньюкаслская болезнь, чума крупного рогатого скота, чума свиней, паротит, полиомиелит, желтая лихорадка и др., напряженность иммунитета определяется титром специфических антител. Концентрация иммуноглобулинов в сыворотке крови носовых секретов коррелирует с заболеваемостью пневмонией и диареей в течение первых трех месяцев жизни телят. В ветеринарной практике так называемая «служба иммунитета» или определение среднего титра антител, обуславливающих резистентность к эпизоотическому вирусу, является одним из важных противоэпизоотических мероприятий.

При ряде вирусных инфекций отмечено совпадение сроков выздоровления с появлением специфических противовирусных антител (при гриппе, кори, ящуре, чуме крупного рогатого скота, ньюкаслской болезни и др.). Однако наблюдаются и несоответствия между напряженностью иммунитета и серологическими показателями. Например, степень защиты при бешенстве не всегда коррелирует с уровнем антител, так как при бешенстве важную роль играет клеточный иммунитет.

Антитела не оказывают влияния на вирус, находящийся внутри зараженной клетки. В этом случае в организме на вирусы, находящиеся в зараженной клетке, образуются цитотоксические Т-лимфоциты, способные лизировать только клетки, зараженные вирусом. Следовательно, из-за внутриклеточного размножения вирусов особая роль принадлежит клеточному иммунитету. На роль механизмов клеточного иммунитета в защите от вирусных инфекций указывает и тот факт, что при большинстве вирусных инфекций возникает гиперчувствительность замедленного типа. Кроме сенсibilизированных Т-лимфоцитов при внедрении вируса в клетку включаются К-киллеры и природные киллеры, особенно при вирусных болезнях, отличающихся коротким инкубационным периодом (грипп, парагрипп).

Существуют вирусы, которые несмотря на иммунный ответ, пожизненно персистируют в организме хозяина (вирус ИНАН, простого герпеса и др.). Они могут интегрироваться в геном клетки хозяина без проявления клинических симптомов.









**Реакция торможения (задержки) гемагглютинации (РТГА, РЗГА)** основана на нейтрализации антителами при встрече с гомологичным вирусом (антигеном) не только его инфекционной, но и гемагглютинирующей активности в результате блокирования рецепторов вирионов, ответственных за гемагглютинацию и образования с ними комплекса антиген + антитело.

Принцип РТГА состоит в том, что в пробирке смешивают равные объемы сыворотки крови и суспензии вируса и после экспозиции определяют, сохранился ли в смеси вирус путем добавления суспензии эритроцитов. Агглютинация эритроцитов указывает на наличие, а отсутствие гемагглютинации – на отсутствие вируса в смеси. Исчезновение вируса из смеси вирус + сыворотка – признак взаимодействия антител сыворотки и вируса.

**Реакция гемадсорбции и ее задержка (РГА<sub>д</sub> и РЗГА<sub>д</sub>).** Гемадсорбция – соединение эритроцитов с поверхностью пораженных вирусом клеток. В основе этого явления лежит родство рецепторов вируса, находящихся на поверхности пораженной клетки, с рецепторами эритроцита, что приводит к их взаимному сцеплению аналогично реакции гемагглютинации.

**Реакция диффузионной преципитации в геле (РДП)** (синонимы: реакция гелепреципитации, реакция двойной диффузии в геле) основана на способности к диффузии в гелях антител и растворимых антигенов и отсутствии такой способности у комплекса антиген + антитело. Комплекс антиген + антитело образуется при контакте диффундирующих навстречу друг другу гомологичных антигена и антитела. Он осаждается на месте образования в толще геля в виде беловатой полосы преципитации, хорошо заметной на фоне прозрачного геля.

**Реакция связывания комплемента (РСК)** – одна из традиционных серологических реакций, применяемых для диагностики многих вирусных болезней: ящура, КЛЮ, АЧЛ, вирусной диареи КРС, аденовирусной инфекции, гриппа...

В основе реакции лежит связывание комплемента специфическим комплексом антиген + антитело и выявление этого феномена с помощью индикаторной (гемолитической) системы – смеси бараньих эритроцитов и антисыворотки к ним – гемолизина. Если исследуемый антиген гомологичен антителам, то образуется комплекс антиген + антитело и комплемент ими связан. В силу этого лизиса эритроцитов не происходит – положительная РСК (эритроциты находятся во взвеси – жидкость мутная, красного цвета). Если антиген не гомологичен антителам, комплекс не образуется, свободный комплемент лизирует эритроциты – отрицательная РСК (лизис эритроцитов – жидкость прозрачная, красного цвета). Между этими двумя крайними результатами может быть задержка гемолиза разной степени выраженности.

**Метод флуоресцирующих антител (МФА), или реакция иммунофлуоресценции (РИФ).** Принцип данного метода заключается в том, что антитела, соединенные с флуорохромом (конъюгат), сохраняют способность вступать в специфическую связь с гомологичным антигеном. Образующийся комплекс антиген + антитело обнаруживают под люминисцентным микроскопом по характерному свечению благодаря присутствию в нем флуорохрома.

**Метод иммуноферментного анализа (ИФА).** Для идентификации вирусспецифического антигена иммуноферментный тест применяют в двух вариантах: гистохимическом и твердофазном.

**Гистохимический вариант ИФА, или иммунопероксидазная реакция**

Имунопероксидазная реакция аналогична методу иммунофлуоресценции, но отличается тем, что для постановки реакции используют антитела, меченные не флуорохромом, а ферментом – пероксидазой, и учет результатов реакции проводят не под люминисцентным микроскопом, а под обычным микроскопом.

Имунопероксидазную реакцию ставят в прямом и непрямом вариантах.

Методы твердофазного иммуноферментного анализа.









Иммуноглобулины (гамма-глобулины) представляют собой водный раствор глобулиновой фракции белка сыворотки крови животных, который содержит гамма- и бета-глобулины. Иммуноглобулины изготавливают из гипериммунных сывороток, применяют с лечебной и профилактической целью.

## Лекция № 6 Вирусы, вызывающие инфекционные болезни

### Вирус бешенства

#### *О вирусе бешенства:*

1. Он нейротропный. От места внедрения (обычно укуса) продвигается к головному мозгу по нервным стволам. Это движение занимает от 10 дней до нескольких месяцев в зависимости от места внедрения, чем и определяется большой инкубационный период.

2. Размножается в головном мозге теплокровных животных и человека. Повреждение вирусом мозга (нейронов) и вызывает клиническую картину бешенства.

3. Передается от больных животных здоровым главным образом через укус, так как из мозга вирус проникает в слюнные железы (тоже по нервам) и появляется в слюне уже за 10 дней до клинического проявления болезни.

4. Устойчив к гниению, но инактивируется при температуре 80-100°C, а также 5%-ными растворами формалина или фенола за 5-10 мин.

#### *О бешенстве надо знать:*

- им болеют теплокровные животные и человек;
- заболевание почти всегда кончается смертью;
- распространено по всем континентам;
- домашние животные (крупный рогатый скот, собаки, кошки) чаще всего заражаются при покусах больными дикими животными (лисами, волками, шакалами, барсуками и др.);
- клинические симптомы бешенства у всех животных сходные и характеризуются поражением центральной нервной системы (у собак бывает буйная и тихая паралитическая формы);
- патологоанатомические изменения при бешенстве неспецифичны.

#### *Диагностика бешенства:*

1. Заподозрить бешенство можно по ненормальному поведению животного, заканчивающемуся смертью (клинические данные), при вероятности наличия бешенства на данной территории (эпизоотологические данные).

2. Окончательный диагноз на бешенство может быть поставлен только на основании лабораторных исследований материала от больного животного (посмертно).

3. В лабораторию надо направлять голову павшего животного, а мелких животных - труп целиком.

4. При работе с материалом от животного, подозреваемого в заболевании бешенством, необходимо соблюдать строжайшие меры безопасности, помня, что вирус бешенства смертельно опасен для людей и домашних млекопитающих.

5. Лабораторные исследования на бешенство состоят в поисках вирусного антигена в мозге павших животных с помощью РИФ и РДП, а также телца Бабеша-Негри. При отрицательных результатах этих поисков ставят биопробу на молодых мышатах (заражают интрацеребрально не менее 12 мышей), результат учитывают путем исследования мозга павших мышат в РИФ, РДП и на телца Бабеша-Негри.

#### *О профилактике:*

Надо знать, что для специфической профилактики бешенства используют инактивированные вакцины, которые можно применять даже сразу после заражения, учитывая большой инкубационный период.

## **Вирусы гриппа**

. В природе находят вирусы гриппа трех типов, обозначаемых как А, В и С. Они различаются антигенно (в РСК) по внутривирионным белкам. Все три типа встречаются у людей, а у животных (включая птиц) - только тип А.

На поверхности вирионов у вирусов гриппа всех типов расположены выросты (гемпломеры) двух видов: гемагглютинин и нейраминидаза, которые выполняют функции рецепторов при взаимодействии с клетками, определяют антигенные свойства вирионов. В природе встречается 12 разновидностей гемагглютинина и 9 нейраминидазы. Их различные комбинации в одном вирионе приводят к образованию многих вариантов вируса гриппа, различающихся антигенно.

Кроме людей вирусы гриппа поражают свиней, лошадей и птиц (кур, уток, индеек, гусей, фазанов и др.). Распространен грипп на всех континентах, передается от больных здоровым воздушно-капельным путем. Межвидовая передача вируса признается не всеми. Заболевание проявляется чаще в холодное время года и при плохих условиях содержания. Болезнь характеризуется лихорадкой и поражением органов дыхания, заканчивается обычно выздоровлением, если не произошло бактериальное осложнение, но у кур смертность достигает 80%. Грипп кур типа А 1 ранее называли чумой кур.

Предварительный диагноз на грипп у всех поражаемых видов животных ставят на основании анализа эпизоотологических данных и клинических симптомов (патанатомические изменения при гриппе не характерны). Для окончательного диагноза от больных животных берут патматериал и заражают им куриные эмбрионы, у которых вирус накапливается в аллантоисной и амниотической жидкостях. Наличие в них вируса устанавливают в реакции гемагглютинации с эритроцитами кур, отличают от других сходных инфекций в РТГА.

Специфическая профилактика гриппа свиней не разработана, а для профилактики гриппа у лошадей и кур применяют живые и инактивированные вакцины.

## **Вирус болезни Ауески**

*Наиболее важные свойства вируса болезни Ауески:*

1. Вирус относят к семейству герпесвирусов, ДНК-содержащий, патогенный.
2. Антигенных вариантов не установлено.
3. Инактивируется УФЛ. При 1-4°C сохраняется до 3-4 лет, а в насыщенном растворе NaCl - до 3 мес.

*О болезни Ауески:*

1. Могут болеть все домашние млекопитающие, но в основном - поросята.
2. Заражение происходит через корм и воду, но возможно через слизистые оболочки дыхательных путей и поврежденную кожу.
3. Клинические симптомы: а) зуд у всех животных, кроме свиней; б) поражения ЦНС (возбуждение или паралич как при бешенстве); в) у поросят, кроме того, часто наблюдают ринит, конъюнктивит, кашель.
4. Дифференцировать болезнь Ауески надо от бешенства, чумы свиней, гриппа, рожи, отравления поваренной солью.

*Профилактика болезни Ауески:*

В России применяют живые вакцины ВГНКИ и из штамма БУК-628, инактивированную.

## **Вирус ящура**

1. РНК-содержащий, из семейства пикорнавирусов









Вирус болезни Ньюкасла РНК-содержащий и относится к семейству парамиксовирусов, агглютинирует эритроциты кур (поэтому в лаборатории при диагностике могут пользоваться РГА и РТГА - наиболее простыми реакциями).

По клиническим симптомам, патологоанатомическим изменениям и эпизоотологическим особенностям болезнь Ньюкасла очень сходна с гриппом кур (по-старому чумой кур). Но эти болезни можно легко различить, если исследовать вирус, выделенный в лаборатории от больных кур, в РТГА с сыворотками к вирусам гриппа и болезни Ньюкасла.

В лабораторию направляют трахею, легкие, селезенку, печень, головной мозг (или голову) от свежего трупа курицы Парные сыворотки получают от нескольких кур из одного птичника и обнаруживают в них с помощью РТГА нарастание титров антител к вирусу болезни Ньюкасла. Основой лабораторной диагностики является выделение из патматериала вируса на 9-10-дневных куриных эмбрионах и его идентификация в РТГА.

Для специфической профилактики болезни Ньюкасла применяют живые вакцины из штаммов В<sub>1</sub>, Ла-Сота, Н и Бор-74.

### **Вирус инфекционного бронхита птиц**

Наиболее выражены клинические признаки инфекционного бронхита у цыплят до 3-4-недельного возраста: отмечают ринит, затрудненное дыхание, хрипы, кашель; летальность достигает 25%. У некоторых переболевших кур яйценоскость не восстанавливается.

На вскрытии отмечают скопление серозного экссудата в трахее и бронхах, помутнение мембраны воздухоносных мешков и выпадение на них фибрина. У 20-25% кур-несушек, переболевших инфекционным бронхитом в раннем возрасте, отмечают недоразвитость яичевых фолликул.

Возбудитель болезни РНК-содержащий вирус, относящийся к семейству коронавирусов.

В лабораторию направляют живых больных цыплят или смывы с гортани, трахеи, легких.

Лабораторная диагностика инфекционного бронхита основана на выявлении вирусного антигена в патматериале при помощи РИФ и РДП, а активного вируса - биопробой на 10 -25-дневных цыплятах.

Выделяют вирус на эмбрионах кур. При наличии вируса в исследуемом материале у эмбрионов появляются характерные для инфекционного бронхита признаки (карликовость, муфификация). Устанавливают вид вируса в РН, РДП, РИФ.

Ретроспективная диагностика при инфекционном бронхите птиц основана на обнаружении прироста титра антител в парных сыворотках с помощью ИФА, РНГА, РН, РДП. Для профилактики заболевания в нашей стране применяют инактивированную вакцину.

### **Вирус инфекционного ларинготрахеита птиц**

Инфекционный ларинготрахеит - энзоотическое контагиозное заболевание кур и фазанов, протекающее с симптомами кашля, удушья и часто конъюнктивита.

Преобладает аэрогенный путь передачи инфекции, участие диких птиц и грызунов в распространении данной болезни, длительное (часто пожизненное) вирусовыделение. Различают ларинготрахеальную и конъюнктивальную формы болезни. Первая обычно сопровождается кашлем, хрипами, удушьем, связанным с образованием в гортани казеозных пробок. При конъюнктивальной форме отмечают гиперемии и отек слизистой оболочки глаз.

Возбудитель болезни РНК-содержащий вирус, относящийся к семейству герпесвирусов, имеет оболочку, слабо устойчив к различным физико-химическим воздействиям.

