

1. Рекомбинация вирусов-

обмен генетическим материалом между двумя близкими, но отличающимися по наследственным свойствам вирусам.

Рекомбинация — обмен генетическим материалом между вирусами — возможна в виде обмена генами (межгенная рекомбинация) или участками одного и того же гена (внутригенная рекомбинация). У вирусов рекомбинация происходит в процессе заражения двумя или более типами вирусов, отличающимися друг от друга по генетическим признакам. Вариантом рекомбинации является перекрестная реактивация, или кросс-реактивация, происходящая в том случае, когда у одного из штаммов вируса часть генома повреждена, а другой геном нормальный. При смешанной инфекции двумя такими вирусами в результате рекомбинации появляются штаммы вируса со свойствами родительских микроорганизмов. Рекомбинации могут быть: межгенные – обмен полными генами, внутригенная – обмен участками генов. Образующийся рекомбинантный вирус приобретает свойства обоих вирусов. В экспериментальных условиях гибридные (рекомбинантные) формы можно получить при совместном введении в клетку:

- 1) двух жизнеспособных вирусов ;
- 2) живого и инактивированного вируса
- 3) живого вируса и вирусной нуклеиновой кислоты , выделенной из другого штамма;
- 4) одновременно двух нуклеиновых кислот от разных вирусов.

2. Получение первично трипсинизированных культур клеток.

ПТКК – клетки, полученные непосредственно из органов или тканей организма, растущие *in vitro* в один слой. КК можно получить практически из любого органа или ткани человека или животного. Лучше это удастся сделать из эмбриональных органов, т.к. клетки эмбрионов обладают более высокой потенциальной способностью к росту. Чаще всего для получения их используют почки, легкие, кожу, тимус, тестикулы. Для получения первичных клеток от здорового животного не позднее 2-3 часов после убоя берут соответствующие органы или ткани, измельчают, обрабатывают трипсином, панкреатином, коллагеназой. Ферменты разрушают межклеточные вещества, полученные при этом отдельные клетки суспендируют в питательной среде и культивируют на внутренней поверхности пробирок или матрасов в термостате при 37С. Клетки прикрепляются к стеклу и начинают делиться. На стекле формируется слой толщиной в одну клетку, обычно через 3-5 дней. Питательную среду меняют по мере загрязнения ее продуктами жизнедеятельности клеток. Монослой сохраняют жизнеспособность в течение 7-21 дня. При культивировании вирусов в КК удастся получать препараты с высоким титром вируса, что важно при получении АГ и вакцин. С помощью метода КК были решены некоторые теоретические вопросы – о взаимодействии вируса с клеткой, месте репродукции вирусов, механизме антивирусной иммунизации. В настоящее время КК применяют для выделения вирусов из патматериала, их индикации, идентификации, для постановки реакции нейтрализации, определения титра вирусов, для приготовления диагностических АГ и вакцин, в качестве тест – объектов в реакции нейтрализации.

3. Проведение биопробы на развивающихся эмбрионах птиц.

.Подготовка куриных эмбрионов к заражению

Эмбрионы доставляют из инкубатория, не допуская их охлаждения в пути. В лаборатории эмбрионы инкубируют в термостате при температуре 37° С и влажности 60-70 %, что достигается установлением в термостате открытых широкогорлых сосудов с водой. Вентиляционные отверстия термостата должны быть открыты. Эмбрионы размещают воздушной камерой вверх в специальных штативах. Подготовка куриных эмбрионов к заражению включает овоскопирование и дезинфекцию скорлупы, а также соответствующую подготовку рабочего места. Овоскопирование представляет собой просмотр яиц против достаточно яркого источника света (овоскоп), в результате чего на неосвещенной стороне скорлупы образуются тени от внутренних структур. Овоскопирование проводят в затемненном помещении. При этом на скорлупе графитным карандашом отмечают границу воздушной камеры, место расположения зародыша и участок бессосудистой зоны размером 0,5х0,5 см. Эти отметки служат ориентиром при выборе места введения вирусосодержащего материала. При овоскопировании также определяют, жив зародыш или погиб. В предбокснике скорлупу эмбрионов обрабатывают йодированным спиртом, затем уже в боксе повторно протирают, а иногда еще и фламбируют – обрабатывают пламенем смоченного спиртом тампона. Эмбрионы фиксируют в специальных подставках, установленных в эмалированной кювете на 3-4-слойной марлевой салфетке, смоченной дезинфицирующим раствором. В работе используют инструменты, стерилизованные кипячением. Их ставят в баночку со спиртом и обжигают пламенем горелки перед каждым повторным использованием.

1. Заражение в аллантоисную полость
2. Заражение на хорионаллантоисную оболочку.
3. Заражение в желточный мешок.
4. Заражение в амниотическую полость.
5. в тело зародыша.
6. Заражение в кровеносные сосуды ХАО

Показателем заражения эмбриона вирусом может служить его гибель в характерные для данного вируса сроки. Другой признак размножения вируса – патологоанатомические изменения, появляющиеся в различных структурах эмбриона. Так, ХАО может быть отеочной, иметь кровоизлияния, узелки, или, как их называют, оспины. Сам зародыш может отставать в росте и развитии от незараженных, т. е. проявлять феномен карликовости. Тело его может быть в разной степени обезвожено или мумифицировано, шея характерно перекручена. Кожа зародыша может быть гиперемирована, с кровоизлияниями. Внутренние органы также могут иметь признаки размножения вируса.

4. Классификация вирусов, что положено в ее основу?

Современная классификация вирусов универсальна для вирусов позвоночных, беспозвоночных, растений и простейших. Она основана на фундаментальных свойствах вирионов, из которых ведущими являются признаки характеризующие нуклеиновую кислоту, морфологию, стратегию генома, АГ свойства. Фундаментальные свойства поставлены на 1 место, поскольку вирусы со сходными АГ свойствами обладают и сходным типом нуклеиновой кислоты, сходными морфологическими и биофизическими свойствами. Важным признаком для классификации, который учитывается наряду со структурными признаками, является стратегия вирусного генома, под которой понимают используемый вирусом способ репродукции, обусловленный особенностями его генетического материала. АГ и другие биологические свойства являются признаками, лежащими в основе формирования вида и имеющими значение в пределах рода. В основу современной классификации положены следующие основные критерии: 1) тип нуклеиновой кислоты (РНК или ДНК), ее структура (количество нитей); 2) наличие липопротеидной оболочки; 3) стратегия вирусного генома; 4) размер и морфология вириона, тип симметрии, число капсомеров; 5) феномены генетических взаимодействий; 6) круг восприимчивых хозяев; 7) патогенность, в том числе патологические изменения в клетках и образование

внутриклеточных включений; 8) географическое распространение; 9) способ передачи; 10) АГ свойства. На основании перечисленных признаков вирусы делятся на семейства, подсемейства, роды и типы. Для упорядочения наименований вирусов выработан ряд правил. Название семейств оканчивается на «viridae» «virinae» «virus». В названии допускаются привычные латинизированные обозначения, цифры и обозначения типов, сокращения, буквы и их сочетания.

Классификация и таксономия вирусов. Вирусы составляют царство *Vira*, которое подразделено по типу нуклеиновой кислоты на два подцарства — рибовирусы и дезоксирибовирусы. Подцарства делятся на семейства, которые в свою очередь подразделяются на роды. Понятие о виде вирусов пока еще четко не сформулировано, так же как и обозначение разных видов. В качестве таксономических характеристик первостепенное значение придается типу нуклеиновой кислоты и ее молекулярно-биологическим признакам: двунитевая, одонитевая, сегментированная, несегментированная, с повторяющимися и инвертированными последовательностями и др. Однако в практической работе прежде всего используются характеристики вирусов, полученные в результате электронно-микроскопических и иммунологических исследований: морфология, структура и размеры вириона, наличие или отсутствие внешней оболочки (суперкапсида), антигены, внутриядерная или цитоплазматическая локализация и др. Наряду с упомянутыми признаками учитываются резистентность к температуре, pH, детергентам и т.д. В настоящее время вирусы человека и животных включены в состав 18 семейств. Принадлежность вирусов к определенным семействам определяется типом нуклеиновой кислоты, ее структурой, а также наличием или отсутствием внешней оболочки. При определении принадлежности к семейству ретровирусов обязательно учитывается наличие обратной транскриптазы.

5. Принцип работы и устройство люминесцентного микроскопа.

По своей сути флюоресцентный микроскоп – этот обычный световой микроскоп. Свои свойства он приобретает лишь благодаря нескольким особенностям. В качестве осветителей в нем используется ртутно-кварцевая или галогеновая кварцевая лампа. Она излучает ультрафиолетовый или синий свет, необходимый для возникновения люминесценции. На люминесцентный микроскоп всегда установлены светофильтры: пропускающий, теплозащитный и запирающий. Первый установлен перед источником света и необходим для пропуска возбуждающих люминесценцию ультрафиолетовых лучей и отсеечения остального спектра. Второй служит для защиты оптики и препаратов от перегрева. Третий располагается на окуляре, поглощает ультрафиолетовое излучение и пропускает только свет люминесценции.

В основе метода лежит явление люминесценции, сущность которого в том, что поглощая различные виды энергии (световую, электрическую) атомы некоторых веществ переходят в возбужденное состояние, а затем, возвращаясь в исходное состояние, выделяют поглощенную энергию в виде светового излучения. Люминесценция наблюдается в виде флуоресценции - свечение, возникающее в момент облучения возбуждающим светом и прекращающееся сразу после его окончания. Фосфоресценция – свечение продолжающееся длительное время и по окончании процесса возбуждения.

6. Специфическая профилактика и мероприятия по борьбе с вирусными респираторными заболеваниями в животноводческих комплексах.

7. В практике эпизоотологии увеличение размеров и плотности поголовья животных возрастает риск появления эпизоотий. Главным принципом в борьбе с ними является разрыв инфекционной цепи во всех участках или прекращение перехода эпизоотического процесса в скрытое состояние. Одним из главных инструментов разрыва цепи является своевременная профилактика. Для животноводства, развивающегося на промышленной основе борьба со всеми факторами, в т.ч. с патогенными МО и вирусами является одним из важнейших условий благополучного поголовья. ИП (иммунопрофилактика) при ее правильном включении в стратегию борьбы с инфекционными болезнями значительно уменьшает опасность.

Целью ИП являются не только искоренение инфекционных болезней, но и сохранение продуктивности, поэтому необходимо стремиться к созданию таких вакцин, которые способны обеспечить высокую степень защиты всего поголовья сразу после вакцинации, не зависимо от возраста животных.

ИП имеет ряд преимуществ:

1. Принцип действия ИП основан на специфическом изменении организма животного в сторону максимального снижения возможности для возбудителя вызвать инфекционное заболевание.
2. ИП действует непрерывно и долго, иногда всю жизнь.
3. ИП не только изменяет реактивность организма животного, но и повышает способность к иммунной защите у всего поголовья.
4. Действие ИП на эпизоотический процесс может быть точно рассчитано.
5. При соответствующем выборе моментов прививки ИП обеспечивают максимальную защиту в самые опасные для заражения периоды жизни.
6. ИП можно увязать с технологическим процессом в животноводстве.
7. Используемые для ИП препараты можно дозировать, применять в разных сочетаниях и стандартизировать.
8. В отличие от АБ и химических препаратов ИП не вызывает явления резистентности у МО.
9. ИП требует меньших экономических затрат, затрат сырья.
10. ИП не оказывает никакого влияния на качество продукции животных.

Отрицательные стороны:

1. Переоценка возможностей ИП. Владелец животного часто убежден, что с проведением вакцинации уже все сделано для защиты, что приводит к ослаблению санитарно-гигиенических мер.
2. Слишком большое возрастание конечной стоимости продукции.
3. После прививочные реакции, которые в течение определенного времени снижает продуктивность, если используется недостаточно отработанная вакцина.
4. Слишком частое беспокойство животных, ведущее к снижению продуктивности.
5. Возникновение диагностических проблем и возрастание трудности в борьбе с заболеваниями, если вакцинные и патогенные штаммы в обычных условиях не различаются или различаются с большим трудом.

Нецелесообразное применение вакцин может принести вред, поэтому для каждой конкретной инфекционной болезни и эпизоотической ситуации надо продуманно выбрать вакцину и вариант

ее применения с учетом экономических затрат и эффективности, чтобы обеспечить наивысший результат массовых прививок.

Иммунопрофилактика сложилась на основе давнего опыта человечества, согласно которому люди, перенесшие инфекционные заболевания вторично ими не заболевали. Раньше, когда в Афинах была чума человека. Фукидид сообщал, что больные оставались без помощи если бы за ними не ухаживали выздоравливающие люди. В Китае в 16 веке при оспе человека был обычай: вдыхать через нос высушенные растертые оспенные корочки. Дженер изобрел вакцину от оспы. Пастер предложил способ вакцинации против бешенства.

Профилактика вирусных болезней строится на тех же принципах, что и профилактика других инфекционных болезней:

1. Проведение организационных мероприятий.

2. ИП

3. Химиопрофилактика.

Специфическая профилактика вирусных болезней обеспечивается применением живых, инактивированных, поли- и моновалентных сывороток.

Классификация и характеристика иммунопрепаратов:

Биопрепараты – продукты биологического происхождения, используемые для активной и пассивной ИП.

Препараты для пассивной ИП – для парентерального и перорального введения АТ или Ig. С целью проведения ИП применяют иммунные, гипериммунные сыворотки, реконвалесцентную и аллогенную сыворотки.

Реконвалесцентная сыворотка – сыворотка доноров переболевших или инфицированных животных. Ее используют, когда нет более эффективных средств в дозе 1мл\кг массы тела.

Гипериммунные сыворотки – сыворотки доноров, которые получают в результате однократного введения по определенной схеме массивных доз АГ. Подбирают здорового донора, не болевшего ранее этим заболеванием. Его вакцинируют и через 2-3 недели начинают вводить по определенной схеме в нарастающих дозах, доводят до пика нарастания АТ. Пик определяют путем постановки серологической реакцией на титр АТ (сыворотку проверяют на стерильность, активность и безвредность. Доза 2 мл\кг (лечебная), 1-1,5 мл\кг (профилактика). Вводят дробно. Сначала вводят сенсибилизированную дозу, а через 2-3 часа – разрешающую дозу, чтобы избежать анафилактического шока.

Гамма-глобулины получают из гипериммунных сывороток путем освобождения от балластных белков. Их вводят п\к или в\м в дозе 0,5-2 мл\кг. Сначала вводится сенсибилизация, затем разрешающая доза.

Аллогенная сыворотка – сборная сыворотка, которую получают от разных животных в условиях одного хозяйства. Она содержит большой набор АТ и различных АГ.

Препараты для активной иммунизации – вакцины. Существуют живые и инактивированные вакцины.

Вакцины также классифицируют по: 1) Исходному вируссодержащему материалу – тканевые, эмбрион-вирус вакцины, культуральные вирусвакцины; 2) по методу аттенуации – лапинизированные (против ящура, чумы КРС и другого, используют кроликов), капринизированные (через организм козы, против оспы овец пассажированием через несколько коз, против КРС), овинизированные (через овец – против чумы КРС, ящура).

Методы введения вакцин:

1. Подкожно

2. Внутримышечно

3. Аэрозольное

4. Ректальный метод

5. Интраназально

7. **Цель и методы получения крови и отдельных ее компонентов у лабораторных животных.**

Небольшое количество крови получают у кроликов и морских свинок из вен уха, у мышей и крыс—из вен хвоста, а большие количества — из сердца. В особых случаях прибегают к полному, или тотальному, обескровливанию, после которого животное погибает.

Для пункции сердца животных фиксируют к доске брюшком вверх. Шерсть в области груди тщательно выстригают, кожу обрабатывают спиртовым раствором йода и после этого приступают к проколу.

Тотальное обескровливание. Вскрывают одну из сонных артерий, расположенных по обеим сторонам трахеи.

Взятие крови из вены уха. Для получения крови из краевой вены нужно, прежде всего, вызвать гиперемия уха, потирая его ладонями рук и слегка ударя кончиками пальцев. Затем вдоль наружного края уха удаляют пушок и протирают ватой, увлажненной 70% спиртом. Если в результате всех перечисленных процедур сосуды не инъецируются, ухо смазывают ксилолом или толуолом. После того как сосуды набухнут и четко обозначатся на поверхности ушной раковины, наружную поверхность ее покрывают тонким слоем жидкого парафина (во избежание быстрого свертывания крови) и делают прокол вены.

Кровь должна стекать по стенке пробирки во избежание разрушения эритроцитов и при необходимости немедленно смешиваться с достаточным количеством антикоагулянта.

В зависимости от задач исследования анализу подвергают цельную кровь, плазму или сыворотку.

В цельной крови определяют морфологические показатели, а также содержание глюкозы, кетоновых тел, меди, цинка, кобальта, марганца, селена и др., т.е. веществ, равномерно распределенных между плазмой и эритроцитами. Для исследования веществ, неравномерно распределенных между клетками и жидкой частью крови, следует использовать сыворотку или плазму. В сыворотке, например, исследуют общий белок и его фракции, остаточный азот, мочевины, свободные аминокислоты, липиды, холестерин, билирубин, кальций, неорганический фосфор, магний, йод, связанный с белком (СБЙ), каротин, витамины, ферменты и др. В плазме - резервную щелочность, содержание натрия, калия, неорганического фосфора, магния, каротина, витаминов А, С и др.

Для получения пробы цельной крови или плазмы ее стабилизируют, т.е. в пробирку вносят противосвертывающее вещество - антикоагулянт. Антикоагулянты лучше применять в виде растворов.

Для получения сыворотки пробирки с кровью рекомендуется в процессе взятия крови помещать в термостат с температурой до 38°C.

При массовых обследованиях животных таким импровизированным термостатом может быть достаточная емкость с водой указанной температуры. После завершения работ по взятию крови, свернувшиеся пробы обводят тонкой спицей из нержавеющей стали для лучшего отделения сыворотки и ставят в термостат при 37-38°C на 1-2 часа для окончательного отделения сыворотки. Сыворотку сливают и центрифугируют 20 минут при 2000-3000 об/мин.

Для получения плазмы кровь с антикоагулянтом центрифугируют 20-30 минут при 2000-3000 об/мин. Плазма крови отличается от сыворотки наличием фибриногена.

8. **Правила взятия вируссодержащего материала, его транспортировка и обработка.**

Для вирусологических исследований желательнее направлять пробы от животных в трех стадиях болезни:

- от свежих трупов (кровь, кость, лимфоузел и пораженные органы);
- от убитых в агонии животных (кровь, кость, лимфоузлы и пораженные органы);
- от выздоравливающих животных (кровь).

Пробы необходимо брать асептически, не допуская их загрязнения, в стерильные флаконы (обычно из-под антибиотиков). Каждую пробу необходимо брать в отдельный флакон. Масса каждой пробы должна быть достаточной для исследования — не менее 5—10

мл, или грамм. Все флаконы должны герметически закрываться пробками (обычно резиновыми), продезинфицированы снаружи, высушены и маркированы. Надписи необходимо делать простым карандашом с указанием вида и номера животного, названия органа и даты взятия материала. Дополнительные данные, относящиеся к анамнезу, заболеваемости, размеру очага или вспышки, симптоматике, применявшимся вакцинам, препаратам и т. п., отражают в специальной карте или сопроводительном письме. Лучшие условия для сохранения проб материалов — замораживание. Для пересылки образцы должны быть помещены в термосы со льдом или изотермические ящики, приспособленные для пересылки. Если образцы можно доставить в лабораторию в течение суток после отбора, то их не замораживают и не консервируют. Образцы, которые не могут быть доставлены в лабораторию в течение суток или в замороженном виде, необходимо консервировать глицерином. Он должен полностью покрывать кусочки взятых органов. Даже консервированные образцы желательно хранить в холодильнике. Успешная и точная диагностика зависит от быстроты доставки материалов в лабораторию. При вспышках заболеваний со значительной массовостью или смертностью из близко расположенных к лаборатории районов кроме образцов материала желательно присылать больных животных или свежие трупы. Их также необходимо доставлять с предосторожностями (упаковывать в ящики или коробки) во избежание разноса инфекции. Образцы материалов от трупов должны быть отобраны в возможно короткие сроки после смерти животного, чтобы сохранить возможности для выделения возбудителя, вызывающего заболевание. В тропическом и субтропическом климате при повышенных температуре и относительной влажности воздуха время от гибели до отбора проб не должно быть более 12 ч.

Все транспортируемые образцы должны быть упакованы в тройную упаковку, содержащую три упаковочных слоя. Упаковка должна быть выполнена с учётом предотвращения любой утечки содержимого, выдерживать удары и нагрузки, имеющие место при транспортировке. Между первичной ёмкостью и вторичной упаковкой должен находиться мягкий абсорбирующий материал, в количестве достаточном для впитывания всего содержимого первичных ёмкостей. При транспортировке нескольких клинических образцов — каждый упаковывается в первичную упаковку, исключается любой контакт между ними. Каждая проба представляется с сопроводительным документом.

9. Мутация у вирусов. Процесс адаптации вирусов к гетерологичным условиям.

Мутация — это изменение последовательности нуклеотидов в определенном участке генома вируса.

В основе мутаций лежат следующие процессы:

- 1) Инверсия — изменение последовательности расположения одного или нескольких нуклеотидов (КОТ — ТОК) . Аналогично тому как меняется смысл вновь полученного слова, так и меняется состав гена, а значит при синтезе получится другой белок и другие свойства у вируса.
- 2) Замена одной или нескольких пар нуклеотидов другими (КОТ-КОМ).
- 3) Вставки — в цепь встраивается один или несколько нуклеотидов (ОКО-ОКНО).
- 4) Делеция — выпадение из цепи одного или нескольких нуклеотидов (ОКНО-ОКО)
- 5) Дупликация- дублирование одного или нескольких нуклеотидов

По обратимости необратимые при которых изменяется фенотип вируса и такие мутанты быстро вытесняют друг друга популяции вируса.

Обратимые мутации при которых происходит обратная мутация в месте первичной

По протяженности мутации могут быть точечными, захватывать лишь один триплет. Такие мутации могут не проявляться за счет того, что одна аминокислота кодируется несколькими кодонами. Могут быть абберационными, которые захватывают значительный участок гена. Такие мутации проявляются всегда.

По природе мутации бывают спонтанные и индуцированные.

Спонтанные — самопроизвольные, возникают в природе при воздействии на геном вируса различных естественных мутагенных факторов или ошибок действия ферментов ДНК-полимеразы или РНК-полимеразы

Одной из важных причин, приводящих к изменению вирусов в естественных условиях, является коллективный иммунитет, который препятствует дальнейшему размножению вируса, вызвавшего инфекцию — (спад эпизоотии). В иммунном организме могут репродуцироваться антигенные варианты этого вируса, которые не обезвреживаются специфическими антителами. Следовательно, в процессе эпизоотии выживают вирионы с измененной антигенной структурой, которые в последствии после селекции образуют новую популяцию вируса, способную инфицировать иммунный организм.

Хорошо известна естественная изменчивость вируса гриппа, который проявляется появлением различных антигенных вариантов вируса. Способствующим фактором является фрагментированная РНК. В результате мутации и рекомбинации между вирусами гриппа человека и животных, образуются новые варианты вируса.

Вирус ящура имеет 7 типов, а внутри десятки вариантов и в ходе эпидемии происходит смена типов и вариантов, что затрудняет специфическую профилактику болезни.

Помимо антигенной изменчивости может наблюдаться изменчивость патогенных свойств — повышение или понижение вирулентности. Например вирус ньюкаслской болезни сначала вызывал смертельное заболевание птицы. В настоящее время регистрируют легкое течение данной болезни. Такой вирус называется природно-ослабленный штамм и используется для приготовления вакцины. К сожалению, бывают и противоположные факты: усиление вирулентности вируса в природных условиях (так произошло с вирусом бешенства и вируса миксоматоза кроликов).

Индукцированные (искусственные) мутации — возникают в результате направленных воздействий экспериментатора на вирус различными физическими и химическими мутагенами а также при адаптации вируса к необычной биосистеме. Такое воздействие на вирус вызывают мутаций в десятки и сотни раз эффективнее, чем природные факторы. Действие мутагенов имеет определённую направленность, что позволяет заранее предвидеть, куда действует мутаген и какие последствия вызовет.

Виды мутагенов:

- 1) Физические мутагены: повышенная температура способствует удалению пуринов из ДНК и замена другими; УФО — поглощается нуклеиновой кислотой, изменяет структуру пиримидинов
- 2) Химические мутагены могут действовать на нуклеиновую кислоту во время её репликации (аналоги пуриновых и пиримидиновых оснований) или вступать в реакцию с покоящейся молекулой нуклеиновой кислотой, но требующие для выявления (формирования) мутаций, последующей её репликации (азотистая к-та, гидроксилмин) и т.д.
- 3) Процесс адаптации вирусов к нечувствительной живой системе. Происходит это таким образом. Вирусом заражается нечувствительная живая система. В первых пассажах вируса на такой живой системе большинство вирионов погибает. Остаются и размножаются только те вирионы, у которых есть изменение в генах, эти изменения позволяют им репродуцироваться в новой для них системе. Так как вируса очень мало, то какие-либо признаки размножения вируса не проявляются. После нескольких «слепых»

пассажей количество вирионов, способных размножаться в необычных условиях, увеличивается до такой степени, что появляются признаки размножения вируса.

10. Последовательность этапов репродукции ДНК-содержащих вирусов

характеризуется сменой стадий: Транскрипция - переписывание ДНК на РНК – осуществляется с помощью фермента РНК-полимеразы, продуктами является биосинтез и-РНК. ДНК-содержащие вирусы, репродукция которых происходит в ядре, используют для транскрипции клеточную полимеразу.

Этапы: 1.Адсорбция – физико-химический процесс, является следствием разности зарядов. Эта стадия обратима на ее исход оказывает влияние кислотность среды, температура и другие процессы. Основную роль в адсорбции вируса играет взаимодействие вируса с комплементарными рецепторами клетки. По химической природе они относятся к мукополипротейдам. На степень скорости адсорбции влияют гормоны действующие на рецепторы. Адсорбция вируса может и не наступить, что связано с различной чувствительностью клеток к вирусам. Чувствительность, в свою очередь определяется:

- наличием в клеточной оболочке и цитоплазме ферментов, способных разрушить оболочку и освободить нуклеиновую кислоту.
- наличием ферментов, материала, обеспечивающих синтез вирусных компонентов.

2.Проникновение вируса в клетку: Вирус проникает 3 путями – путем непосредственного впрыскивания (характерно для фагов); путем разрушения клеточной оболочки (путь сплавления – характерно для вирусов растений); путем пиноцитоза (характерен для вирусов позвоночных).

3.Репродукция ДНК-содержащих вирусов. Под воздействием ферментов у ДНК-содержащих вирусов осуществляется синтез и-РНК, и-РНК посылаются на рибосомы чувствительной клетки. На рибосомах клетки начинается синтез ранних вирионных белков (наделены свойствами – ферментами, блокируют клеточный метаболизм). Ранние вирионные белки дают начало образованию ранних вирионных кислот. По мере накопления ранних вирионных белков они блокируют себя и процесс перестраивается на рибосомном аппарате. Идет сборка вирионов и вновь сформировавшиеся вирионы покидают клетку-мать.

4.Выход вириона из клетки: Пути: Просачиваются через оболочку клетки и одеваются суперкапсидом, в состав в состав которого включаются компоненты клетки: липиды, полисахариды. В данном случае клетка сохраняет свою жизнедеятельность затем погибает. В некоторых случаях в процессе репродукции процессы могут происходить в течение нескольких лет, но жизнедеятельность сохраняется. При этом способе зрелые вирионы из клетки выходят постепенно и относительно длительно. Этот путь характерен для сложных вирусов, имеющих двойную оболочку.

11. Перевиваемые культуры клеток

Перевиваемые КК – клетки, способные к размножению вне организма неопределенно длительное время. В лаборатории их поддерживают путем пересевов из одного сосуда в другой (при условии замены питательной среды). Получают их из первичных КК с повышенной активностью роста путем длительных пересевов в определенном режиме культивирования. Клетки перевиваемых культур имеют одинаковую форму, гетероплоидный набор хромосом, стабильны в условиях роста *in vitro*, некоторые из них обладают онкогенной активностью. «+» перед первичными – проще готовить, заранее можно проверить на наличие латентных вирусов и микрофлоры; клональные линии обеспечивают более стандартные условия для размножения вирусов, чем первичные. Независимость от источников тканей, так как клетки пересеваются бесконечно, не влияют большие концентрации антибиотиков, соответствуют стандартному состоянию. Большинство перевиваемых клеток обладает более широким спектром чувствительности к вирусам, чем соответствующие первичные культуры. Но они склонны к злокачественному перерождению. Бесконечное деление.

12. Цитопатическое действие вирусов, его проявление и практическое использование

деструктивные изменения отдельных клеток и клеточного монослоя, возникающие в результате продуктивной вирусной инфекции клеток и цитотоксического действия вирионов. В клеточном монослое ЦПД проявляется в форме сплошной или очаговой круглой или полиморфноклеточной дегенерации, образовании многоядерных клеток или клеточных симпластов, а также в пролиферативном разрастании клеток. В пораженных вирусом клетках ЦПД проявляется в пикнозе ядра, маргинации и зернистости хроматина, появлении включений, телец, кристаллов; в цитоплазме появляются вакуоли, наступает ее сморщивание и дегенерация. ЦПД используют для индикации и идентификации вирусов.

13. Генетическое взаимодействие вирусов

при смешанной инфекции наблюдаются две различные формы взаимодействия:

- между геномами вирусов (генетические взаимодействия) — рекомбинация, множественная реактивация, пересортировка генов, кросс-реактивация, гетерозиготность;
- между продуктами генов (негенетические взаимодействия) — комплементация, интерференция, фенотипическое смешивание.

Генетические взаимодействия вирусов. Рекомбинация, или обмен генами между организмами, может быть межгенная, т. е. обмен целыми генами, и внутригенная, т. е. обмен участками внутри одного гена.

Рекомбинация с высокой частотой наблюдается у РНК-содержащих вирусов и у ДНК-содержащих вирусов, геном которых представлен двуспиральной ДНК.

В экспериментальных условиях гибридные формы можно получить одним из четырех способов:

- 1) при совместном культивировании двух жизнеспособных вирусов и введении их в чувствительную систему одновременно или в разное время.
- 2) при введении в чувствительную систему живого и инактивированного (УФ-лучи, нагревание) вируса.
- 3) при совместном культивировании вируса и вирусной нуклеиновой кислоты, выделенной из другого штамма;
- 4) в случаях одновременного введения в культуру клеток разных нуклеиновых кислот, соответствующих двум разновидностям вирусов.

Кросс-реактивация. Реактивация при скрещивании — это феномен, сходный с множественной реактивацией, но отличный тем, что один из вирусов используют в нативном (неизмененном) виде, другой — инактивируют путем частичного разрушения генетического материала (действие УФ, температуры и др.). При этом наблюдаются два различных явления:

- реактивация (восстановление активности) инактивированного генома неповрежденным геномом вируса, т. е. сохраняются неповрежденные участки нуклеиновой кислоты инактивированного вируса;
- взаимная реактивация двух инактивированных геномов.

В результате могут возникать рекомбинанты со свойствами обоих использованных в опыте штаммов. Кросс-реактивация имеет место в тех случаях, когда инактивированный геном вводится в клетку до введения неповрежденного генома вируса или при их одновременном введении.

Пересортировка генов. Вид генетического взаимодействия, который наблюдается среди вирусов с фрагментированным геном. Образуются определенные группировки генов, которые в данной системе клеток более стойкие, и вирус более жизнеспособен. Образующиеся при этом гибридные формы вирусов называют реассортантами.

Чаще всего и интенсивнее пересортировка генов происходит с вирусами гриппа А (ортомиксовирусы). Гибридные формы вирусов гриппа получают при совместном культивировании вирусов с разными генами гемагглютинина и нейраминидазы, после чего из общего потомства путем нейтрализации соответствующих антигенов можно выделить интересные варианты.

Гетерозиготность. Феномен, наблюдаемый при репродукции в клетке нескольких частиц вирусов, отличающихся наследственными признаками. В результате в клетке могут образовываться вирионы, содержащие полный геном одного родительского штамма и часть генома (или полный геном) другого вируса (диплоидные или полиплоидные вирионы). Образующиеся при этом гибридные формы вирусов называются гетерозиготы. В отличие от обычных гомозиготных частиц все потомство обладает одинаковыми свойствами.

Транскапсидация. Феномен, наблюдаемый при репродукции в клетке нескольких неродственных вирусов. При этом часть чужеродного генетического материала, заключенного внутри капсида одного неродственного вируса, способна переноситься (в стабильной форме) в чувствительные к основному вирусу клетки.

14. Диплоидные культуры клеток и их использование

Диплоидные КК – морфологически однородная популяция клеток, стабилизированная в процессе культивирования *in vitro*, имеющая ограниченный срок жизни, характеризующаяся 3 фазами роста, сохраняющая в процессе пассирования кариотип свойственный исходной ткани, свободная от контаминантов и не обладающая опухолевой активностью при трансплантации хомячкам. Их тоже получают из первичных клеток. В отличие от них имеют ограниченные возможности пассирования. Максимальное число пассажей 50 -\+ 10, затем количество делящихся клеток резко уменьшается и они гибнут. Преимущества перед перевиваемыми КК – 10-12 дней могут быть в жизнеспособном состоянии без смены питательной среды; при смене среды один раз в неделю остаются жизнеспособны в течение 4 недель; особенно пригодны для длительного культивирования вирусов, у них сохранена чувствительность исходной ткани к вирусам. Особенности : стабильность в процессе культивирования *in vitro*; ограниченный срок жизни; наличие фаз стабилизации, активного роста и старения; сохранение в процессе пассирования содержание каротина на уровне исходной ткани.

15. Вирус чумы плотоядных

1. Сем. парамиксовирусы. РНК.

2. Вирус в естественных условиях слабоустойчив. При температуре -60 – разрушается за 30 минут, 100 моментально. В организме больных животных вирус в высоких титрах находят в экскрете из носовой полости, в крови, селезенке, костном мозге, лимфоузлах, в экссудатах грудной и брюшной полостей. Вирус обладает гемагглютинирующим свойством. Размер вирионов - 115-160 нм специфической формы или нитевидный. Вирус имеет преципитирующий, гемагглютинирующий и комплементсвязывающий антигены.

3. Чума плотоядных (болезнь Карре) - остропротекающая контагиозная болезнь собак, волков, лисиц, шакалов, норок, соболей, енотов, хорьков и других плотоядных, характеризующаяся лихорадкой, острым катаром слизистых оболочек, пневмониями, кожной экзантемой и поражением нервной системы. Распространена повсеместно. Инкубационный период - от нескольких дней до 3 нед. Симптомы: повышается температура тела до 39-40 С: при легочной форме развивается ринит; при кишечной форме чумы наблюдают рвоту, запоры, сменяющиеся поносом, при кожной форме на бесшерстных участках кожи живота и бедер появляется пустулезная сыпь; при нервной форме наблюдается угнетение, пугливость, раздражительность, клонические судороги мышц, могут быть и параличи.

При вскрытии наблюдают мелкие кровоизлияния в сердечной мышце. Слизистая оболочка дыхательных путей гиперемирована, покрыта слизисто-гнойным экссудатом, легкие имеют уплотненные участки. Слизистая оболочка желудка и кишечника катарально воспалена, с кровоизлияниями и язвочками. Увеличены брыжеечные лимфатические узлы. Селезенка - без изменений или слегка увеличена. Наблюдают точечные кровоизлияния на слизистой оболочке мочевого пузыря, Вещество головного мозга отечно, количество субдуральной жидкости повышено.

4. Диагноз на чуму плотоядных ставят комплексно: на основании эпизоотологических, клинических и патологоанатомических данных и лабораторных исследований. В лабораторию направляют кровь для ретроспективной диагностики, секреты: носовые, конъюнктиву, слюну, фекалии для вирусологических исследований. Посмертно: мозг, кусочки селезенки, печени, их применяют в качестве антигена в серологических реакциях.

Экспресс-методы - РИФ, РСК, РГА, РЗГА, тельца-включения.

Вирусологические методы: выделение вируса (культура клеток, КЭ, лабораторные животные); идентификация вируса (РН, РДП, РСК). Ретроспективные методы - РСК, РЗГА.

5. У переболевших животных наступает практически пожизненный иммунитет. Щенята от иммунных матерей, а также подсосные щенята невосприимчивы в течение 2-3 мес. Для профилактики чумы плотоядных применяют сухие культуральные вирус-вакцины из аттенуированных штаммов 668-КФ, ЭПМ, ВАКЧУМ.

16. Задачи ветеринарной вирусологии в решении проблем обеспечения населения продовольствием

17. Понятие о генотипе и фенотипе вирусов. Генетические признаки вирусов

Генотип – это постоянное свойство вируса, которое меняется только в результате мутации. Наследственная информация, содержащаяся в геноме, обеспечивает воспроизводство вируса, а генетическое разнообразие, представленное в генофонде, позволяет вирусам приспосабливаться и выживать в изменяющихся внешних условиях.

Фенотип – это совокупность всех внешних и внутренних признаков, а также функций данного вируса. Фенотип не является постоянным свойством, а может изменяться в процессе развития под влияние внешних условий.

Все признаки вирусов, информация о которых закодирована в генах, называются генетическими. При этом многие признаки обычно обуславливаются несколькими генами.

Генетические признаки у штаммов определяют после предварительного их клонирования. Все их условно разделяют на основные группы:

- групповые и видовые: тип и морфология нуклеиновой кислоты; тип капсида и количество капсомеров; антигенная специфичность; устойчивость к органическим растворителям и детергентам; наличие фермента нейраминидазы и антигенов хозяина; гемагглютинирующие свойства; патогенность для определенного вида живых чувствительных систем;
- внутриштаммовые: гемагглютинирующая активность; терморезистентность; отношение к УФ-лучам, ингибиторам; характер бляшек и др.

18. Вирус бешенства.

Бешенство – острая инфекционная болезнь, протекающая с тяжелым поражением ЦНС, как правило, с летальным исходом. Восприимчивы человек и все млекопитающие животные. Бешенство распространено повсеместно. Возбудителя передают собаки, кошки, дикие грызуны и хищники, а также кровососущие летучие мыши-вампиры. Продолжительность инкубационного периода зависит от места, силы укуса, количества и вирулентности попавшего в рану вируса, резистентности покусанного животного. Инкубационный период длится от 1-3 недель до года и более. Болезнь протекает остро. Клинические признаки при атипичном течение – потеря аппетита, атония рубца, паралич глотки, слюнотечение. Также может быть буйное и тихое течение болезни. Вирус бешенства (ВБ) обладает выраженной нейротропностью. Проникая с периферии по нервным стволам в центральную ЦНС центростремительно, он распространяется в организме центробежно по периферическим нервам и попадает в разные органы, включая слюнные железы.

Вирус относится к семейству Rhabdoviridae, роду Lyssavirus. Вирионы имеют форму стержня с обрубленным концом. Вирион вируса – РНК-содержащий со спиральным типом симметрии, имеет липопротеидную оболочку. Низкие температуры консервируют вирус. Вирион ВБ содержит гликопротеидный и нуклеокапсидный АГ. Первый индуцирует образование вируснейтрализующих АТ, а второй – комплементсвязывающих и преципитирующих АТ. В организме вирус локализуется главным образом в ЦНС, в слюнных железах, слюне. Культивируется на мышах, кроликах, морских свинках, в первичных культурах клеток. Размножение вируса в КК не всегда проявляется ЦПД. Источников инфекции являются больные животные. Они передают вирус во время укуса. Диагноз на бешенство ставят на основании эпизоотологических, клинических данных и результатов лабораторных исследований, имеющих решающее значение. Для исследования направляют в лабораторию свежие трупы мелких животных целиком, а от крупных и средних животных – голову с 2 шейными позвонками. Трупы мелких животных перед отправкой на исследование обрабатывают инсектицидами. Лабораторная диагностика включает: обнаружение вирусного АГ в РИФ и РДП, телец Бабеша-Негри и биопробы на белых мышатах.

19. Специфические факторы иммунитета. Классы антител.

1. Неспецифический, направленный против любого чужеродного вещества (антигена). Он проявляется в виде гуморального, за счет продукции бактерицидных веществ, и клеточного, в результате которого осуществляется фагоцитоз и цитотоксический эффект.

2. Специфический иммунитет, направленный против определенного чужеродного вещества. Специфический иммунитет тоже реализуется в двух формах - гуморальный (продукция антител В-лимфоцитами и плазматическими клетками) и клеточный, который реализуется главным образом с участием Т-лимфоцитов.

Специфическая система иммунитета имеет свои центральные (костный мозг, тимус, фабрициева сумка у птиц, печень у млекопитающих) и периферические органы (селезенка, лимфатические узлы, лимфоидные ткани желудочно-кишечного тракта, а также кровь и лимфа, в которые поступают и непрерывно в них циркулируют все иммунокомпетентные клетки).

Лимфоциты представлены двумя большими популяциями — В — и Т-клетками. Т-лимфоциты обеспечивают клеточный тип иммунных реакций, а В-лимфоциты — гуморальный тип иммунного ответа.

Активированные В-лимфоциты размножаются и дифференцируются в плазматические клетки, которые синтезируют и секретируют антитела соответствующего класса (IgM, IgG, IgA, IgD, IgE).

Координированное взаимодействие макрофагов, Т- и В-лимфоцитов при встрече с антигеном обеспечивает как гуморальный, так и клеточный иммунный ответ. Для всех форм иммунного ответа требуется согласованное взаимодействие основных факторов иммунной системы: макрофагов, Т-, В-лимфоцитов, НК-клеток, системы интерферонов, комплемента, главной системы гистосовместимости. Взаимодействие между ними осуществляется с помощью разнообразных синтезируемых и секретируемых медиаторов.

Медиаторы, вырабатываемые клетками иммунной системы и участвующие в регуляции ее активности, получили общее название цитокинов (от греч. *cytos* — клетка и *kineo* — приводить в движение). Их подразделяют на монокины — медиаторы, продуцируемые моноцитами и макрофагами; лимфокины — медиаторы, секретируемые активированными лимфоцитами; лимфокины, которые химически идентифицированы и получены в чистом виде.

Существует пять классов иммуноглобулинов.

1. Иммуноглобулины G играют основополагающую роль в гуморальном иммунитете при инфекционных заболеваниях; проникают через плаценту и формируют антиинфекционный иммунитет у новорожденных; способны нейтрализовать бактериальные экзотоксины, связывать комплемент, участвовать в реакции преципитации.

2. Иммуноглобулины M способны агглютинировать бактерии, нейтрализовать вирусы, активировать комплемент; играют важную роль в элиминации возбудителя из кровеносного русла, активации фагоцитоза; образуются на ранних сроках инфекционного процесса;

3. Иммуноглобулины A содержатся в молоке, молозиве, слюне, слезном, бронхиальном и желудочно-кишечном секрете, желчи, моче; участвуют в местном иммунитете; препятствуют прикреплению бактерий к слизи; нейтрализуют энтеротоксин, активируют фагоцитоз и комплемент.

4. Иммуноглобулины E Уровень IgE значительно повышается у людей, страдающих аллергией и зараженных гельминтами.

5. Иммуноглобулины D — участвуют в развитии местного иммунитета; обладают противовирусной активностью; активируют комплемент (в редких случаях); участвуют в дифференцировке В-клеток, способствуют развитию антидиотипического ответа; участвуют в аутоиммунных процессах.

20. Антигенная варибельность и антигенная структура вируса ящура.

Ящур — остропротекающая высококонтагиозная болезнь парнокопытных, проявляющаяся лихорадкой, везикулярным поражением слизистых оболочек рта, кожи венчика и вымени, у молодых животных — поражением миокарда и скелетных мышц. Ящур регистрируется во многих странах мира.

РНК-содержащий вирус относится к семейству Picomaviridae, роду Aphthovirus. Геном представлен единой односпиральной линейной плюс-РНК.

Антигенная структура. Основные структурные белки вируса ящура — VP1, VP2, VP3 и VP4. Белок VP1 расположен поверхностно и обуславливает индукцию вируснейтрализующих антител, которые защищают животное от вирулентного вируса.

Антигенная варибельность. В настоящее время известны 7 антигенных типов вируса ящура: А, О, С, Sat-1, Sat-2, Sat-3 и Азия-1. Внутри основных типов существуют варианты, или подтипы, отличающиеся друг от друга. Тип А имеет 32 варианта, тип О — 11 вариантов, тип С — 5, тип Sat-1 — 7 вариантов, тип Sat-2 — 3 варианта, тип Sat-3 — 4 варианта и тип Азия-1 — 2 варианта. Антигенные типы и варианты, установленные в РСК, различаются и иммунологически. Переболевшие животные приобретают

выраженный иммунитет к гомологичному вирусу. Следовательно, для специфической профилактики ящура на каждый тип вируса должна быть вакцина.

21. Прямой (26.непрямой) методы иммунофлуоресценции.

Реакция иммунофлюоресценции- РИФ (метод Кунса).

Реакция Кунса является методом экспресс-диагностики для выявления антигенов микробов или определения антител.

Прямой метод РИФоснован на том, что антигены тканей или микробы, обработанные иммунными сыворотками с антителами, меченными флюорохромами, способны светиться в УФ-лучах люминесцентного микроскопа. Бактерии в мазке, обработанные такой люминесцирующей сывороткой, светятся по периферии клетки в виде каймы зеленого цвета.

Непрямой метод РИФ заключается в выявлении комплекса антиген - антитело с помощьюантиглобулиновой (против антитела) сыворотки, меченной флюорохромом. Для этого мазки из взвеси микробов обрабатывают антителами антимикробной кроличьей диагностической сыворотки. Затем антитела, не связавшиеся антигенами микробов, отмывают, а оставшиеся на микробах антитела выявляют, обрабатывая мазок антиглобулиновой (антикроличьей) сывороткой, меченной флюорохромом. В результате образуется комплекс микроб + антимикробные кроличьи антитела +антикроличьи антитела, меченные флюорохромом. Этот комплекс наблюдают в люминесцентноммикроскопе, как и при прямом методе.

22. Вирусные инфекции молодняка (возбудители парагриппа, ринотрахеита, диареи, аденовирусная инфекция, хламидиоз)

Парагрипп крупного рогатого скота (*Paragrippus bovim*)

— контагиозная, остропротекающая болезнь преимущественно молодых животных, характеризующаяся лихорадкой и катаральным воспалением верхних дыхательных путей, а в тяжелых случаях и поражением легких.

Парагрипп крупного рогатого скота (*Paragrippus bovim*) — контагиозная, остропротекающая болезнь преимущественно молодых животных, характеризующаяся лихорадкой и катаральным воспалением верхних дыхательных путей, а в тяжелых случаях и поражением легких.

Парагриппом обычно заболевают| телята в возрасте от 10 дней до_года реже—молодняк старше года. Восприимчивы взрослые животные, но у них болезнь проявляется бессимптомно. Широкому перезаражению молодняка крупного рогатого скота способствуют перегруппировка и перевозка поголовья при формировании комплексов, которые приводят к нарушению относительного равновесия между макро- и микроорганизмами на фоне снижения резистентности животных.

Источник возбудителя инфекции — больное животное, выделяющие вирус с выдыхаемым воздухом, носовой слизью, а также с вагинальными истечениями и спермой. Наиболее интенсивно возбу-дитель выделяется в первые дни болезни, в период выраженных клинических симптомов.

Животные чаще заражаются аэрогенно, но возможны алиментарный и половой пути инфицирования. На развитие и проявление болезни большое влияние оказывают иммунологическое состояние макроорганизма, условия содержания и уровень кормления живо-тных, вирулентность и доза возбудителя.

Патогенез. Вирус с выдыхаемым воздухом, попав на слизистые оболочки дыхательных путей, активно за счет фермента нейраминидазы и геммагглютинина преодолевает слизистый барьер, взаимодействует с мукопротеиновыми клеточными рецепторами и прони-кает в цитоплазму клетки. Репродукция вируса в клетках приводит к десквамации их, в результате чего обнажаются более глубокие слои слизистой оболочки. Последнее способствует проникновению в пораженные участки и размножению там различных микробов, на-ходящихся в дыхательных путях.

Степень поражения и характер воспалительной реакции в ре-спираторных органах во многом определяются видом микробов, вы-завших осложнение. При осложнении пастереллами чаще развива-ется крупозная пневмония, кокковой микрофлорой — катарально-гнойная-бронхопневмония. В зависимости от состояния резистентности организма, вирулен-тности возбудителя и сопутствующей микрофлоры развиваются различное течение и проявление болезни. Течение и симптомы. Инкубационный период 45дней. Бо-лезнь протекает сверхостро, остро, подостро и хронически.

Лечение. Для повышения общей сопротивляемости организма животных обеспечивают полноценным кормлением и создают им оптимальные условия содержания. Лечение проводят комплексное с использованием специфических, этиопатогенетических и симптоматических средств. Специфические средства (гипериммунная сыворотка, сыворотка реконвалесцентов или цитрированная кровь) вводят больным телятам подкожно, внутривенно. Развитие бактериальных осложнений предупреждают применением антибиотиков широкого спектра действия и сульфаниламидных препаратов с учетом чувствительности к ним микрофлоры дыхательных путей. Более эф-фективны комбинации из двух и более препаратов или готовых комбинированных антибиотиков (олеандоветина, тетраолеана, тетраолеандомицина).

Иммунитет. Переболевшие животные, как правило, повторно не заболевают. У телят колостральный иммунитет сохраняется до 2— 4 месячного возраста. Однако не всегда даже высокий уровень анти-тел обеспечивает защиту организма от заражения полевым виру-сом. Большую роль в защите от парагриппозной инфекции, видимо, играют секреторные иммуноглобулины (IgA) и интерферон.

Инфекционный ринотрахеит (*Rhinotracheitis infectiosa bovim*)

— остропротекающая контагиозная болезнь, характеризую-щаяся лихорадкой, катарально-некротическим воспалением верх-них дыхательных путей, поражением глаз, половых органов, цент-ральной нервной системы, абортами.

Возбудитель — *Herpesvirus bovis I* — относится к семейству герпесвирусов; ДНК-содержащий, диаметр вирионов 120—140 нм.

Эпизоотологические данные. В естественных условиях заболе-вает только крупный рогатый скот, независимо от породы и возра-ста. Источник возбудителя —больные и переболевшие животные, выделяющие вирус с носовым секретом иетаениями из глаз и по-ловых органов, с молоком, мочой, калом, спермой. Особенно опас-ны быки-производители, переболевшие генитальной формой ИРТ. Со спермой вирус способен выделяться в течение 6—19 мес. У пе-реболевших животных возможна длительная (несколько лет) персистенция вируса ИРТ, активизация которого может быть вызвана различными стрессовыми факторами. Факторами передачи возбудителя считаются инфицированный воздух, корма, сперма, предметы ухода, транспортные средства, а также птицы, насекомые, люди, контактирующие с больными жи-вотными. Не исключена вероятность вовлечения в эпизоотический процесс при ИРТ животных, которые в естественных условиях не болеют, но в их сыворотках крови обнаруживают специфические антитела к возбудителю болезни (овцы, козы, свиньи, олени, буй-волы).

Состояние вирусемии проявляется общим угнетением животного и лихорадкой, развивающейся в результате интоксикации. У телят первых недель жизни, в отличие от взрослых, вирус, попадая с кровью в паренхиматозные органы, может репродуцироваться, вы-зывая в них дегенеративные изменения. При прохождении вируса через гематозэнцефалический и плацентарный барьеры патологиче-ские изменения развиваются в мозге (энцефалит), плаценте, мат-ке, плоде. У стельных коров плод погибает в последнюю треть бе-ременности. В сыворотке крови абортировавших коров обычно вы-являют противовирусные антитела, вирус же чаще

выделяют из тканей плода. Течение и симптомы. Инкубационный период (2—4 дня, реже больше). Клиническое проявление ринотрахеита зависит от путей проникновения возбудителя в организм, физиологического состояния и возраста животного. Болезнь чаще протекает остро. В зависимости от преобладающих симптомов и локализации патологического процесса различают респираторную, генитальную, глазную и менингоэнцефалитную формы. Преобладают в основном респираторная и генитальная формы, глазная и менингоэнцефалитная формы проявляются обычно на фоне поражения респираторных органов.

Длительность проявления болезни в хозяйствах бывает неодинаковой: в одних случаях за 2—3 недели переболевают 80—90% животных, в других — болезнь регистрируют многие недели, при этом заболевают лишь отдельные группы животных. При выраженной респираторной форме ИРТ слизистые оболочки половых органов, как правило, в процесс не вовлекаются.

Переболевшие животные приобретают активный иммунитет. В их сыворотке крови обнаруживают вируснейтрализующие, комплементсвязывающие и преципитирующие антитела, уровень которых не всегда находится в прямой зависимости с невосприимчивостью животных к заражению. У животных, переболевших респираторной формой ринотрахеита, иммунитет более продолжительный (не менее 1,5—2 лет), чем у перенесших пустулезный вульвовагинит.

Вирусная диарея крупного рогатого скота (*Diarrhea viralis bovum*) — контагиозная болезнь, характеризующаяся лихорадкой, эрозивно-язвенным воспалением слизистых оболочек пищеварительного тракта и дыхательных путей, сопровождающаяся диареей, ринитом, конъюнктивитом. У коров возможны аборт.

Эпизоотологические данные. Вирусной диарее и болеет крупный рогатый скот обычно с 2-месячного возраста (чаще 5—6 мес) до 2 лет. Могут болеть и телята в возрасте 1—4 сут и 3—7-летние коровы. Описаны случаи заболевания буйволов, оленей, косуль; выявлены антитела к вирусу диареи у овец и свиней. При искусственном заражении болеют поросята, овцы, козы, крольчата.

Источник возбудителя — больные животные и вирусоносители, выделяющие вирус в течение 4 мес и более после заболевания. Известны случаи латентной инфекции, сопровождающиеся длительной персистенцией возбудителя. Обнаружение специфических антител у клинически здорового крупного рогатого скота, свиней, овец, лосей, оленей свидетельствует о довольно широкой циркуляции вируса в природе. Животные выделяют вирус с калом, слюной, носовыми истечениями, секретом глаз, молоком, мочой. Болезнь чаще регистрируют среди молодняка крупных хозяйств (комплексы). Животные заражаются различными путями: алиментарным, аэрогенным, внутривторбно. Факторами передачи возбудителя могут быть инфицированные корма, воздух помещений, предметы ухода, вода.

Чаще вирус поражает клетки эпителия слизистых оболочек, которые подвергаются дегенерации и очаговому некрозу, на поверхности слизистой образуются многочисленные эрозии. Воспаление слизистых оболочек желудочно-кишечного тракта приводит к нарушению пищеварения, в результате развивается понос, наступает обезвоживание организма, интоксикация, резко нарушается водно-минеральный обмен. У беременных животных возбудитель проникает через плаценту в плод, вызывая его гибель в результате интоксикации.

Течение и симптомы. Инкубационный периода — 2—14 дней. Проявление болезни зависит от вирулентности и доз. Вируса, сопротивляемости организма, в частности от уровня специфических антител. Различают острое, подострое, хроническое и латентное течение вирусной диареи.

Иммунитет. Длительность его после переболевания колеблется от 4—5 мес до 2—5 лет. При наличии у коров специфических антител новорожденные телята получают их с молозивом, что может предохранить их от заболевания в течение нескольких недель.

Хламидиоз

Хламидиоз — контагиозное, хронически протекающее инфекционное заболевание сельскохозяйственных животных, птиц и человека. Характеристика возбудителя: хламидии (*Chlamydiales ordonov.*) — большая группа патогенных организмов, отличающихся от других микроорганизмов циклом развития и механизмом адаптации к внутриклеточным условиям, их невозможно отнести к бактериям, т.к. это облигатный внутриклеточный организм, ни к вирусам, в виду того, что имеют оболочку и содержат в своем составе, как РНК, так и ДНК, подобно бактериям. Поэтому микроорганизм было предложено назвать *Chlamydosoon*, от греческого слова мантия — *Chlamus*, которая обнаруживается вокруг элементарных телец при окраски по Гимза. Хламидии не производят собственную АТФ. Зависят от энергии клетки. В результате подавления хламидиями синтеза клеточной ДНК энергия клетки превращается и перекладывается на синтез ДНК и протеина хламидий. Поражающие животных хламидии обладают тканевым тропизмом, но не обладают хозяиноспецифичностью, что способствует их распространению среди разных видов.

В отличие от вирусов хламидии обладают чувствительностью к антибиотикам и сульфамиламидам. В число эффективно действующих против хламидий антибиотиков включены: тилозин, тетрациклин, доксициклин, окситетрациклин, хлортетрациклин, дибиомицин, дитетрациклин, омандомицин, карбомицин, новобиоцин, левомецитин, рафампицилин и др.

Поражает животных всех возрастов. Телята заболевают с первых дней жизни до 6-ти месячного возраста. В одних хозяйствах болезнь протекает в форме бронхопневмоний и энтеритов, в других — пневмоний и энцефалита, в третьих, энтерита, бронхопневмоний, полиартрита и кератоконъюнктивита.

Аденовирусная инфекция (англ. — *Bovine adenovirae infection*) — остро протекающая болезнь телят, характеризующая поражением органов дыхания, пищеварения, лимфоидной ткани и конъюнктивитом.

Возбудитель относится к семейству *Adenoviridae* ДНК-содержащих вирусов, которое включает аденовирусы человека, животных, в том числе птиц, и состоит из двух родов: *Mastadenovirus* (М) — аденовирусы млекопитающих и *Aviadenovirus* (А) — аденовирусы птиц. Диаметр вириона в среднем составляет 70—90 нм.

Различают антигены вируса трех видов: А, В, С.

Вирус размножается в культуре ткани клеток крупного рогатого скота, вызывая цитопатогенное действие (ЦПД), которое характеризуется специфической дегенерацией клеток зараженного монослоя, начиная с периферии. Монослой разбухает, утрачивает правильную форму, затем округляется и собирается в конгломераты, похожие на гроздь винограда. Цитопатический эффект сопровождается образованием внутриядерных включений и никогда не приводит к полному разрушению клеток, характерному для ряда других цитопатогенных вирусов.

Эпизоотология. Источник возбудителя инфекции — больные и переболевшие животные, выделяющие вирус с истечениями из носа и фекалиями. Вирус изолируют от 50—80% больных телят из проб конъюнктивы, носовой полости, миндалин, фекалий.

Факторы передачи возбудителя — корма, вода, подстилка, предметы ухода, загрязненные выделениями больных животных. Заражение происходит воздушно-капельным и алиментарным путями, а также через конъюнктиву. Заболеваемость телят составляет 50—80%, летальность — 15—60%. Болезнь широко распространена в районах интенсивного животноводства. Наблюдается латентное вирусоносительство.

Чаще болеют телята от 2-недельного до 4-месячного возраста. Болезнь регистрируется в зимне-весенние месяцы при комплектовании хозяйств.

Аденовирусная инфекция чаще проявляется небольшими вспышками, поражая отдельные группы животных, быстро распространяется на все стадо.

Патогенез. В организме аденовирус первично локализуется, в органах респираторного тракта, размножается в лимфоидных органах, затем проникает в кровь, легкие, органы пищеварения, центральную нервную систему и поражает их. Вирусные респираторные болезни телят сопровождаются иммунодефицитными состояниями.

Течение и клиническое проявление. Инкубационный период болезни 4-7 дней. Течение болезни зависит от условий содержания животных. Сначала появляются слезотечение и слизистые носовые истечения, которые переходят в течение 3-5 дней в гнойные. У телят снижается аппетит, учащаются пульс и дыхание, появляются депрессия, сухой кашель. Со 2-3-х суток заболевания у телят развиваются тимпания и диарея. На 3-4-й день повышается температура тела до 41,5 °С и удерживается до 6-9 дней. Диарея длится несколько дней. Фекальные массы жидкие серо-коричневого цвета, с примесью кусочков слизистой оболочки, иногда с кровью. Возможны колики. Летальность составляет 40-60 %. Больное животное выздоравливает, если аденовирусная инфекция не осложнена пастереллами, микоплазмами или другими возбудителями. У телят до 10-дневного возраста при наличии колострального иммунитета болезнь не проявляется, однако они могут быть инфицированными. У отдельных телят, переболевших при остром течении, через 1...2 нед может развиваться гнойная бронхопневмония, сопровождающаяся глубоким влажным кашлем, выраженной инспираторной одышкой, гнойным истечениями из носовой полости.

Патологоанатомические признаки. Отмечают гастроэнтерит катарально геморрагического типа, увеличение печени, изменения в органах дыхания (ателектаз, уплотнение, эмфизема, пневмония), дегенерацию лимфатической системы (лимфатические узлы увеличены, отечны, анемичны). При гистологическом исследовании в эндотелиальных клетках сосудов селезенки, печени, почек, слизистой оболочки желудка и кишечника, лимфатических узлов и сердца обнаруживают внутриядерные включения.

Лабораторная диагностика включает: 1) обнаружение антигена в патологическом материале (мазках-отпечатках, срезах) в реакциях иммунофлюоресценции (РИФ) и связывания комплемента (РСК); 2) выделение возбудителя в культуре ткани и его групповую идентификацию в РСК, РИФ, реакции диффузной преципитации (РДП); 3) выявление антител в сыворотке крови больных и переболевших животных (ретроспективная диагностика) в РСК, РДП, ELISA, реакциях непрямой гемагглютинации (РИГА), торможения гемагглютинации (РТГА).

Иммунитет, специфическая профилактика. У переболевших животных иммунитет сохраняется до 5 мес. Иммунные животные остаются вирусоносителями, при различных стрессовых воздействиях или обработке гормональными препаратами они становятся источником возбудителя аденовирусной инфекции и могут заболеть повторно смешанной респираторно-кишечной инфекцией.

Для активной иммунизации молодняка и стельных коров применяют инактивированную и живую бивалентную вакцину против аденовирусной инфекции и парагриппа, а также другие ассоциированные вакцины, содержащие антигены инфекционного ринотрахеита, парагриппа-3, реовирусной и хламидийной инфекций крупного рогатого скота.

23. Цель и методы использования лаб. Жив. В вирусологии.

Используют: 1) для обнаружения вируса в ПМ 2) первичного выделения вируса из ПМ 3) накопления вирусной массы 4) поддержания вируса в лаборатории в активном сост. 5) титрования вируса 6) в качестве тест-объекта в РН 6) получение гипериммунных сывороток. Используемые животные: белые мыши (бешенство, ящур), белые крысы (грипп свиней, б. Ауески), морские свинки (бешенство, ящур, чума плотоядных). Кролики (бешенство, миксомы кроликов).

Требования к лабораторным животным - животное должно быть чувствительным к данному вирусу; возраст его имеет большое значение для культивирования многих вирусов. Большинство вирусов лучше размножается в организме молодых и даже новорожденных животных; стандартная чувствительность достигается подбором животных определенного возраста и одинаковых по массе. По чувствительности наибольшей стандартностью обладают так называемые линейные животные, полученные в результате близкородственного скрещивания в течении ряда поколений; лабораторные животные должны быть здоровы. Животные, поступающие в виварий вирусологической лаборатории, должны быть привезены из благополучного по инфекционным заболеваниям хозяйства. Их содержат на карантине и ведут клиническое наблюдение. При наличии заболевания их уничтожают.

24. Вирус везикулярной болезни свиней.

Контагиозное остропротекающее вирусное заболевание. В естественных условиях ему подвержены только домашние и дикие свиньи. Болезнь регистрируют в любое время года.

Возбудитель – РНК-содержащий вирус – относится к семейству пикорнавирусов, роду энтеровирусов. Вирионы шарообразной формы, размером 30-32 нм, с кубическим типом укладки капсомеров, количество которых пока не известно. Устойчивы к органическим растворителям и к колебаниям рН в широком диапазоне от 2 до 12,5.

Антигенная вариабельность и активность вируса. Имеет 4 подтиповых варианта: Испания (1972), Англия (1972), Австралия (1973) и Польша (1973), между которыми существуют антигенные различия.

В организме свиней вирус вызывает образование вируснейтрализующих, комплементсвязывающих и преципитирующих антител. Гемагглютинирующими свойствами не обладает.

Патогенез. Источником инфекции являются больные животные, которые выделяют вирус с фекалиями, мочой. Заражение происходит при прямом контакте больных со здоровыми или через инфицированные корма и субпродукты. После местного проникновения в организм вирус размножается в клетках кожного покрова, затем он проникает в кровь, лимфу, вызывает состояние виремии. В этот период его обнаруживают в слизи ротовой полости, в легких, печени, сердечной мышце, лимфатических узлах, в головном и продолговатом мозге. В зависимости от формы течения болезни происходит образование пузырьков (везикулярная форма) или развитие нервных симптомов (нервная форма). При везикулярной форме болезни гибель животных достигает 10-60 %, при нервной форме – 60-90 %.

При хроническом течении обеих форм болезни она сопровождается маловыраженными признаками без осложнений и летальность минимальная.

Болезнь характеризуется острым течением, высокой температурой и образованием везикул на пяточке рыла, в области венчика, межкопытной щели и мякишей. В начале заболевания наблюдают лихорадку, угнетение, слюноотделение. Везикулы с серозным экссудатом лопаются, и кожа покрывается желтоватой фибринозной пленкой. При образовании везикул температура повышается до 42 °С. Больные животные отказываются от корма, хромают.

Специфическая профилактика. После естественного переболевания свиньи приобретают иммунитет продолжительностью до двух лет. Поросята приобретают иммунитет через молозиво до 6 месяцев.

Ветеринарно-санитарная оценка и мероприятия. Туши и органы, полученные от убоя больных, подозрительных по заболеванию и подозреваемых в заражении свиней, а также убитых по истечении 6 месяцев после снятия карантина, используют для приготовления вареных, варено-копченых и копчено-запеченных колбасных изделий и консервов по установленным режимам.

25. Принцип и практическое использование в вирусологии РДП(реакция диффузной преципитации).

Принцип реакции диффузной преципитации (РДП) в агаре заключается в том, что одноименные специфические антиген и антитело, помещенные на определенном расстоянии друг от друга в агаровом геле, диффундируют и образуют при встрече друг с другом преципитат в виде белых полос. В случае несоответствия антигена и антитела полосы преципитации не появляются. Для воспроизводства феномена диффузной преципитации всегда необходимы следующие ингредиенты: антигены, сыворотки, агаровый гель. Методика постановки РДП в геле состоит в том, что в слое агарового геля делают несколько углублений (лунок) и в них наливают антигены и сыворотки, так, чтобы разные компоненты были в соседних лунках. Из лунок антигены и антисыворотки начинают диффундировать в слой геля. Реакция может быть поставлена в чашках Петри или на предметных стеклах во влажной камере. Предварительный учет результатов РДП производят через 8-10ч., основной- через 24ч. И окончательный- через 48-72ч. Высушить и окрасить, что позволяет их сохранять неопределенно долго и улучшает возможность фотографировать полосы преципитации. Данная реакция характеризуется простой техникой постановки, быстрым получением ответа, нетребовательностью к чистоте компонентов и стерильной работе, минимальной потребностью в компонентах, пригодностью для работы с любыми растворимыми антигенами и возможностью документирования результата путем фотографирования. К недостаткам следует отнести ее низкую чувствительность.

26. Непрямой метод иммунофлуорисценции. В 21 вопросе

27. Вирус гепатита собак.

Инфекционный гепатит собак (ИГС, болезнь Рубарта, вирусным гепатит) — высококонтагиозное заболевание, характеризующееся лихорадкой, конъюнктивитом, гастроэнтеритом, воспалительными процессами в печени и желчном пузыре; иногда наблюдаются признаки нарушения деятельности ЦНС.

ИГС — одно из проявлений аденовирусной инфекции собак.

Характеристика возбудителя. Вирус относится к семейству Adenoviridae, роду Mastadenovirus, виду аденовирус собак серотипа I (CAV-1). Вирионы CAV-1, как и все аденовирусы, представляют собой изометрические частицы кубического типа симметрии с диаметром вириона 70—90 нм. На вершинах икосаэдра имеются отростки (фиберы). Капсид вириона включает 252 капсомера без супаркапсидной оболочки. Капсид содержит 12 структурных белков. Имеется также белок сердцевины, связанный с вирионной ДНК. Нуклеиновая кислота вириона представлена двуспиральной линейной ДНК.

Культивирование вируса. Вирус ИГС успешно культивируется и культуре клеток почки щенков собак, песцов, лисиц. (почка собаки) — цитопатогенное действие достигает максимума через 48 ч и характеризуется округлением клеток и образованием конгломератов, напоминающих гроздь винограда. В клетках обнаруживаются внутриядерные тельца-включения.

Гемагглютинирующие свойства. Большинство эпизоотических штаммов вируса ИГС обладают гемагглютинирующей активностью в отношении эритроцитов морской свинки и человека.

Клинические признаки. Инкубационный период болезни составляет 3—9 дней. Течение болезни может быть сверхострым, острым, хроническим и инапаратным (бессимптомным).

Сверхострое течение. Наблюдают чаще у молодых собак. Смерть животных наступает без каких-либо клинических проявлений, за исключением иногда судорог перед гибелью.

Острое течение. Начинается угнетением, снижением аппетита при нормальной температуре. Появляется конъюнктивит, слезотечение, светобоязнь. Признаками гепатита служит рвота с примесью желчи, жажда, болезненность при пальпации в области мечевидного отростка, кал беловатого цвета, понос, моча цвета темного пива. При желтушной форме болезни слизистые и кожные покровы имеют желтоватый оттенок.

Дополнительный признак инфекционного гепатита — наличие кератита с помутнением роговицы («голубой глаз»). Появившись на второй-третий день болезни, этот признак через несколько дней исчезает. При осмотре зева видны ярко-красные увеличенные миндалины, которые мешают собаке глотать. В первые дни болезни температура тела обычно в норме, а затем повышается до 41—41,7 °С и на таком уровне держится, как правило, до гибели животного. Болезнь длится 5—8 дней, иногда 2—3 нед и 40—50 % животных выздоравливает.

Хроническое течение. Не имеет выраженных признаков болезни. Наблюдают временное снижение аппетита, исхудание, поносы, запоры, кратковременные подъемы температуры тела. Хронически больные самки часто abortируют.

У взрослых животных клинические признаки имеют более стертый характер: рвота, чередование запоров и поносов, желтушность видимых слизистых оболочек, временами судороги отдельных мышц, конечностей и шеи.

28. Организм человека и животных обладает неспецифической и специфической защитой от вирусов, которая включает как гуморальные, так и клеточные факторы иммунитета. Отличие вирусов от клеточных форм патогенных микроорганизмов отразилось и на природе защитных реакций организма.

Основные механизмы неспецифической и специфической защиты организма от вирусных инфекций направлены на ограничение и по давлению вирусной репродукции в чувствительных к ним клетках, а не на разрушение возбудителя, как это имеет место при антибактериальном иммунитете и других его видах. Организм человека : обладает врожденной, или естественной, резистентностью ко многим вирусам — возбудителям заболеваний животных (чума собак, свиней и др.). В то же время животные невосприимчивы ко многим вирусам человека. Об этом свидетельствует и тот факт, что наряду с вирусами, вызывающими клинически выраженные формы заболеваний, существуют вирусы, которые являются возбудителями бессимптомных инфекций. Так, например, многие случаи полиомиелита, энцефалитов и других вирусных инфекций протекают бессимптомно, что объясняется высоким уровнем естественной резистентности организма.

Нарушение вирусами постоянства внутренней среды организма мобилизует прежде всего врожденные неспецифические факторы противовирусной защиты наряду с непрерывно возрастающей активностью специфического иммунитета.

К неспецифическим факторам противовирусного иммунитета относятся клеточная ареактивность, сывороточные ингибиторы, лихорадочная реакция организма, фагоцитоз и интерферон. Тяжесть вирусной инфекции зависит от инфекционных свойств вируса, количества пораженных клеток, возраста и состояния макроорганизма, окружающей среды.

Клеточная ареактивность объясняется отсутствием клеток, способных поддерживать репродукцию вирусов. Полагают, что это связано с подавлением первоначальных этапов взаимодействия вириона с клеткой хозяина (адсорбции или депротенизации вириона).

Термолабильные вируснейтрализующие Р-ингибиторы представляют собой липопротеиды сыворотки крови и других жидкостей организма, способные связывать вирус. Образующийся при этом комплекс вирус— (3 -ингибитор является непрочным. Он распадается в течение 2 ч под действием трипсина. Однако в присутствии кофакторов образование данного комплекса сопровождается необратимой инактивацией вируса. Активность р-ингибиторов находится в обратной зависимости от инфекционных свойств вируса. Их содержание в крови людей непостоянно: оно колеблется в зависимости от возраста, состояния макроорганизма и т. д.

Температура тела является одним из важных факторов регуляции репродукции вируса в чувствительных к нему клетках. Повышение температуры способствует задержке и подавлению репродукции вирионов, но в то же время стимулирует продукцию интерферона и специфический иммунный ответ.

Вирусы вследствие своих структурных особенностей и химического состава слабо фагоцитируются макрофагами и не разрушаются их ферментами. Это указывает на соподчиненную роль макрофагов в непосредственном подавлении вирусной репродукции. Лейкоциты также не имеют существенного значения в защитных реакциях против вирусных инфекций. Однако макрофаги начинают довольно интенсивно фагоцитировать клетки, пораженные вирусами, по мере усиления их кооперации с Т-лимфоцитами. От фагоцитоза следует отличать пиноцитоз вирусов, который не носит защитного характера.

Под интерференцией вирусов понимают способность одного вируса подавлять репродукцию другого вируса в клетке-хозяине. Так, описана интерференция между вирусом гриппа и вирусом энцефаломиелита лошадей, вирусом осповакцины и вирусом ящура и бешенства и т. д. Однако не всегда при смешанном заражении клетки двумя вирусами наблюдается интерференция. Некоторые вирусы могут репродуцироваться в одной клетке независимо друг от друга и даже один вирус (вирус-помощник) может стимулировать репродукцию другого. В механизме интерференции основную роль играет образование клетками интерферона — мощного ингибитора репродукции вирусов.

Интерферон первоначально был получен Л. Айзексом и И. Линденманом в 1957 г. в виде экстракта из хорионаллантоисной ткани куриных эмбрионов, зараженных вирусом гриппа. Такие экстракты частично или полностью блокировали репродукцию вируса гриппа в курином эмбрионе. Интерферон является белком с молекулярной массой около 30 000. Он содержится в незначительном количестве в здоровом организме. Под влиянием вирусов количество интерферона резко увеличивается в различных клетках организма человека и животных. Наибольшая продукция интерферона обеспечивается лимфоцитами. Интерферон не является специфическим агентом, поскольку блокирует репродукцию разнообразных вирусов. Вместе с тем он обладает тканевой специфичностью, так как клетки разных тканей образуют неодинаковый интерферон. В естественных условиях при вирусных инфекциях образование интерферона индуцируется вирусной нуклеиновой кислотой. Искусственными индикаторами интерферона (интерферогенами) могут быть не только вирусы, но и другие микробы, их токсины, синтетические полимеры и разные вещества. Механизм противовирусного действия интерферона заключается в нарушении трансляции вирусной иРНК рибосомами клетки хозяина и прекращении синтеза белка. Существует предположение, что репродукция вируса подавляется не самим интерфероном, а индуцируемым им клеточным белком. Интерферон препятствует также распространению вируса на соседние клетки, ограничивая тем самым вирусную инфекцию.

Получают интерферон из лейкоцитов человека, клеток костного мозга. В настоящее время разрабатываются методы получения высокоактивного интерферона путем его очистки и концентрации. При помощи методов генной инженерии удалось пересадить гены интерферона из лейкоцитов в клетки культуры *E.coli*, в результате чего был получен штамм кишечной палочки, продуцирующей интерферон. На этой основе разрабатывается промышленное получение интерферона.

Интерферон применяется для лечения и профилактики вирусных заболеваний, особенно гриппа. В конце 70-х годов было установлено, что интерферон обладает способностью ингибировать клеточную пролиферацию. Использование его для лечения некоторых злокачественных новообразований (лимфомы, остеосаркомы, острый лейкоз людей) дало обнадеживающие результаты.

29. Классификация ДНК-содержащих вирусов.

ДНК-содержащие вирусы	Наличие суперкапсида	Размер вириона в нанометрах	Типовые представители
Аденовирусы	Отсутствует	70-90	Аденовирусы человека 42 типов
Гепаднавирусы	Имеется	45-50	Вирус гепатита В
Герпесвирусы	Имеется	200	Вирусы простого герпеса, цитомегалии, Эпштейна-Барр
Паповавирусы	Отсутствует	45-55	Вирусы папилломы, полиомы
Парвовирусы	Отсутствует	18-26	Аденоассоциированный вирус
Поксвирусы	Имеется	130-240	Вирусы осповакцины

30. Вирусная диарея (ВД) крупного рогатого скота — контагиозная болезнь преимущественно молодых животных, характеризующаяся эрозивными и язвенными поражениями слизистых пищеварительного тракта, ринитом, увеличением лимфатических узлов, лейкопенией, постоянной или перемежающейся диареей. У коров возможны аборт.

Впервые вирусную природу болезни установил в 1946 г. американский исследователь П. Олофсон.

Болезнь широко распространена во многих странах мира, в том числе и в России.

Восприимчив крупный рогатый скот, буйволы, олени, косули. Чаще заболевают животные в возрасте от 2 мес до 2 лет, иногда болеют коровы, особенно первого отела. У свиней описана бессимптомная естественная инфекция.

Характеристика возбудителя. Вирус относится к семейству *Flaviviridae*, роду *Pestivirus*. Вирионы вируса представляют собой сферические частицы диаметром 40—60 нм, состоящие из нуклеокапсида кубической симметрии и наружной оболочки. Геном вируса содержит единую односпиральную линейную молекулу плюс-РНК.

Устойчивость к физико-химическим воздействиям. Последовательное замораживание и оттаивание ведет к инактивации вируса. В культуральной жидкости при минус 15 °С он активен более года, в патологическом материале сохраняется более 6 мес. Быстро инактивируется при рН — 3,0, при 37 °С погибает за 5 дней, при 56 °С — за 1 ч. Вирус чувствителен к эфиру, хлороформу, трипсину.

Антигенная структура. В состав вириона входит четыре структурных протеина: основной нуклеокапсидный белок и три оболочечных гликопротеина. За индукцию вируснейтрализующих антител ответственны два гликопротеина оболочки вируса (Е0 и Е2).

Антигенная вариабельность. Различные штаммы вируса различаются по вирулентности, тропизму и цитопатическому действию, но они идентичны в антигенном отношении. Обнаружена тесная антигенная связь вируса диареи с вирусом классической чумы свиней и вирусом пограничной болезни овец.

Антигенная активность. В организме животных вирус индуцирует образование вируснейтрализующих, комплементсвязывающих и преципитирующих антител. Ракетным ИЭФ показано различие IgG в сыворотке плодов и телят, что указывает на то, что антитела плода не материнского, а фетального происхождения, индуцированные вирусным антигеном.

Культивирование вирусов. Все штаммы вирусов по цитопатической активности подразделяют на две группы: цитопатогенные и нецитопатогенные. Вирусы диареи размножаются в первичных культурах клеток ПЭК, тестикул быка, макрофагах и лейкоцитах, а также в перевиваемых линиях клеток МДВК, ПСЭК. В последние годы для культивирования вируса чаще используют перевиваемую линию клеток эпителия коронарных сосудов теленка (КСТ). В этой культуре клеток вирус вызывает ЦПД через 48 ч и накапливается с высоким инфекционным титром (107,5—108,0 ТЦД50/мл). Нечитопатогенные вирусы в культуре клеток обнаруживают в РИФ. Некоторые штаммы вируса удалось адаптировать к КЭ после нескольких пассажей через желточный мешок.

Гемагглютинирующие свойства. У вируса не установлены.

Экспериментальная инфекция. Воспроизводится с характерной клинической картиной болезни на 2—6-месячных телятах при внутривенном, интраназальном, внутрибрюшинном и подкожном введении вирусосодержащего материала.

При заражении per os, внутривенно и подкожно коров в разные сроки стельности вирус проникает в плод, вызывая его гибель (мумификация), аборт или рождение телят с поражением глаз, нервной системы. Заражение на 40—120-й день стельности приводит к рождению инфицированных и иммуноотolerантных телят, которые не продуцируют антител и длительно выделяют вирус во внешнюю среду. Нередко позднее (в 6—18-месячном возрасте) у них развивается ярко выраженная клиническая картина с гибелью животных через 1—3 нед. Имеются сообщения о возможности экспериментального заражения овец, коз, поросят и крольчат.

Клинические признаки. На основании различий в клинических проявлениях вирусную диарею и болезнь слизистых оболочек крупного рогатого скота вначале рассматривали как разные болезни. Позднее была установлена идентичность возбудителей этих болезней, поэтому их считают одной инфекцией с разными клиническими проявлениями, с преимущественным развитием респираторного или диарейного синдрома. Клинические признаки болезни, тяжесть переболевания, широта распространения и летальность зависят от вирулентности вируса, чувствительности животных, наличия неблагоприятных факторов.

Заболевание может протекать остро, подостро, хронически и латентно.

При остром течении симптомы появляются внезапно. Наблюдаются высокая температура тела (до 42 °С), учащенное дыхание, кашель, гиперемия и отечность конъюнктивы, слизистых оболочек носа и рта. Отмечаются обильное слезотечение, слюноотделение и выделение из носа, лейкопения; через 1—5 дней после начала болезни появляется понос. Затем на слизистых оболочках, в том числе и во влагалище, появляются эрозии и язвы. Аналогичные изменения часто обнаруживают в области межкопытной щели. Животные быстро худеют. У коров снижается молочная продуктивность, отмечаются аборты. Телята от больных коров рождаются с признаками вирусной диареи: некроз легких, кожи, мозга, лихорадка, лейкопения, поражение ротовой и носовой полостей. Через 18—36 ч они гибнут при явлениях дегидратации.

Хроническое течение чаще наблюдают после острой вспышки болезни. Оно характеризуется длительной диареей и кахексией, иногда абортами и появлением слабого потомства.

При латентном течении симптомы болезни не выражены и о переболевании судят по наличию в организме специфических антител. Необходимо отметить, что вирус диареи оказывает сильное иммунодепрессивное действие, поражая иммунокомпетентные клетки, это резко снижает устойчивость телят и повышает тяжесть болезни, поэтому ВД часто осложняется бактериальными инфекциями.

Патологоанатомические изменения. Характерные изменения обнаруживают на слизистых желудочно-кишечного тракта и верхних дыхательных путей. Эрозии и язвы находят на слизистых губ, щек, десен, на боковых поверхностях языка, на нёбе, у основания гортани, в сычуге и рубце. В тонком кишечнике отмечают изменения, характерные для катарального, фибринозно-некротического или геморрагического энтерита. У некоторых животных отмечают поражение глаз.

Локализация вируса. Попад в организм, вирус диареи поступает в кровеносную и лимфатическую системы и размножается во многих органах. У больных естественно-восприимчивых животных вирусный антиген обнаруживали практически во всех органах, в клетках эпителия, моноцитов и макрофагов. Переболевшие животные длительное время остаются вирусносителями (до 200 дней).

Источники инфекции — больные и персистентно-инфицированные животные, которые выделяют вирус в окружающую среду с истечениями из носа, глаз и фекалиями, а также со слюной, мочой и спермой. У персистентно-инфицированных коров потомство всегда бывает инфицировано. Вирус обнаруживали в кишечнике новорожденных телят, которые могли заразиться внутриутробно и постнатально. Такое заражение клинически может не проявляться. Вирус выделяется со спермой как у персистентно, так и у клинически инфицированных быков. Наличие персистентно инфицированных животных поддерживает постоянные вспышки в стаде, где процент серопозитивных животных достигает более 80. Дикие животные, инфицированные вирусом, также могут быть резервуаром возбудителя.

Заражение происходит воздушно-капельным, алиментарным, а также половым путем. От коров потомству возбудитель передается путем проникновения через плацентарный барьер. В результате возникает внутриутробная инфекция плода — это один из наиболее важных путей распространения ВД.

Диагностика. Диагноз ставят, исходя из анализа эпизоотологических, клинических данных, патологоанатомических изменений и результатов лабораторных исследований. Решающее значение при этом имеют лабораторные исследования, так как сходную патологию могут вызвать вирусы парагриппа-3, инфекционного ринотрахеита, аденовирусной и респираторно-синтициальной инфекции, а также хламидии и другие агенты. Поэтому материал, поступивший в лабораторию, исследуют параллельно на все вышеуказанные инфекции, используя диагностические наборы, выпускаемые биологической промышленностью.

Взятие и подготовка материала. В лабораторию отправляют патологический материал от больных животных, взятый в первые 2—3 дня болезни при выраженной клинической картине или от животных, убитых с диагностической целью в острой стадии заболевания. От больных животных берут смывы со слизистых оболочек носа, глаз и прямой кишки с помощью стерильного ватно-марлевого или поролонового тампона; соскобы с изъязвленных и эрозированных участков слизистых ротовой полости и носового зеркала; кровь в первые три дня заболевания (не менее чем от 10 животных) и через три недели от тех же животных (для получения парных сывороток).

От животных, убитых с диагностической целью, берут кусочки легких, селезенки, слизистые носовой и ротовой полости, трахеи, кишечника, регионарные лимфатические узлы и пробы крови для вирусыведения.

Лабораторная диагностика. Индикацию вируса в патологическом материале проводят путем обнаружения вирусного антигена в мазках-отпечатках (органов и смывов). Для этой цели в РИФ используют флуоресцирующие антитела (из диагностических наборов) к вирусам: ПГ-3, ВД, ИРТ, РС, аденовирусам подгрупп 1 и 2. Иммунофлуоресценция биопсийного материала слизистых ротовой и носовой полостей пригодна для ранней прижизненной диагностики ВД.

Для обнаружения вирусной нуклеиновой кислоты в смывах и фекалиях используют ДНК-зонд, ПЦР. Эти методы очень важны для выявления персистентной инфекции ВД у крупного рогатого скота. ПЦР успешно применяют для выявления вируса в пробах молока. Она оказалась в 14,6 раза чувствительнее других методов.

Обнаружение вируса методом биопробы на естественно-восприимчивых животных проводят очень редко — в отдельных особенных случаях. Обычно используют проверенных на отсутствие антител к ВД телят 2—6-месячного или 4—6-дневного возраста из благополучных хозяйств.

Изоляция вируса. Лабораторных животных и куриные эмбрионы для этой цели не используют. Выделяют вирус в первично-трипсинизированных культурах клеток эмбрионов крупного рогатого скота (почки, легкие, селезенка) и тестикул бычка, в которых вирус вызывает характерные цитопатические изменения: мелкозернистую инфильтрацию клеток, их округление и отторжение от стекла через 2—5 дней после заражения. Из перевиваемых культур клеток более эффективно использовать перевиваемую линию эпителия коронарных сосудов теленка (КСТ), в которой цитопатические изменения появляются почти одновременно во всех клетках монослоя.

Изолят считается выделенным в том случае, если он вызывает стабильное, однотипное ЦПД не менее чем в трех последовательных пассажах. Для обнаружения не цитопатогенных штаммов ВД проводят четвертый пассаж на культуре клеток, выращенной на покровных стеклах, с последующей постановкой РИФ. Некоторые исследователи рекомендуют для выявления таких штаммов использовать феномен экзальтации вируса ньюкаслской болезни в присутствии вируса диареи крупного рогатого скота. Сущность метода сводится к появлению цитопатических изменений в культуре клеток крупного рогатого скота при совместном культивировании вирусов ньюкаслской болезни и диареи. В контрольных культурах, где культивируют только вирус ньюкаслской болезни, изменений нет. При наличии ЦПД в культурах клеток, зараженных смешанным изолятом, и положительной РИФ проводят окончательную идентификацию вируса.

Идентификацию вируса проводят в серологических реакциях: РИФ, ИФА, РДП (менее чувствительна), РН. Кроме того, рекомендуют применять ПЦР. Новые изоляты возбудителя ВД, не обладающие цитопатогенной активностью, могут быть идентифицированы при помощи специфической сыворотки к вирусу диареи, используемой для индикации подобных штаммов, по подавлению феномена экзальтации вируса НБ.

Ретроспективная диагностика. Проводят ее с целью обнаружения специфических антител в сыворотке крови переболевших ВД животных в РНГА, ИФА, РН, (РСК и РДП — не нашли широкого применения). При этом используют парные сыворотки крови, взятые в первые 2—3 сут болезни и через 3—4 нед. Диагностическое значение имеют обнаружение четырехкратного и большего нарастания титра антител во второй сыворотке переболевшего животного и увеличение количества серопозитивных проб. Исследуют сыворотки не менее чем от 10—15 животных.

Дифференциальная диагностика. На основании эпизоотологических, клинических данных и патологоанатомических изменений точный диагноз поставить трудно из-за сходства вирусной диареи с парагриппом-3, аденовирусной инфекцией, инфекционным ринотрахеитом, респираторно-синтициальной инфекцией, хламидиозом, ящуром, паратуберкулезным энтеритом, злокачественной катаральной горячкой и другими заболеваниями, поражающими респираторно-кишечный тракт животных. Необходимо отметить, что ВД ассоциирует с другими инфекционными болезнями, такими как ПГ-3, аденоинфекция, хламидиоз, пастереллез и др.

Иммунитет и специфическая профилактика. Вопросы иммунитета при ВД изучены недостаточно. Показано, что переболевшие животные сохраняют невосприимчивость к повторному заражению 2—3 года. Однако у них образуется нестерильный иммунитет. Такие животные длительное время являются вирусносителями. Телята пассивный иммунитет к ВД приобретают через молозиво матери; продолжительность колострального иммунитета составляет 4—6 нед. Образование иммунитета сопровождается повышением уровня вируснейтрализующих и других антител. Вируснейтрализующие антитела образуются и у плода при заражении матери во второй половине стельности.

В нашей стране применяют инактивированную и живую вакцины. Существуют различные рекомендации их применения. Сроки и кратность прививок определяют в зависимости от вакцин, направления хозяйства, возраста животных и других условий.

Для первичной иммунизации стад, в которых вакцины раньше не применяли, желательно использовать инактивированные, безвредные для стельных коров и молодняка вакцины. В отношении живых вакцин имеются весьма разноречивые данные. Они обладают иммунодепрессивными свойствами, потенциально могут вызвать поствакцинальную болезнь, неблагоприятно воздействовать на плод. У коров, вакцинированных живой вакциной на ранней стадии беременности, могут родиться персистентно инфицированные телята. Все это создает опасность реверсии вируса и препятствует проведению диагностических мероприятий. Применение живых вакцин, видимо, целесообразно в крупных откормочных комплексах.

Как живые, так и инактивированные вакцины для профилактики ВД постоянно совершенствуются. Большие перспективы представляют генно-инженерные субъединичные вакцины.

В большинстве стран, в том числе и в России, вакцины против ВД используют в 2-, 3- и поливалентных сочетаниях с препаратами против ПГ-3, ИРТ, РЕО, адено — и РС-инфекции, хламидиоза, лептоспироза, пастереллеза.

Профилактика инфекции заключается в индикации возбудителя болезни, удалении животных с персистирующей инфекцией и вакцинации иммунокомпетентного поголовья.

31. Культура клеток — это клетки многоклеточного организма, живущие и размножающиеся в искусственных условиях вне организма (*in vitro*).

Методика культивирования клеток особенно успешно стала развиваться после 40-х годов текущего столетия. Этому способствовали следующие обстоятельства: открытие антибиотиков, предотвращающих бактериальное заражение культур клеток, открытие Хуангом (1943) и Эндерсом (1949) способности вирусов вызывать специфическую деструкцию клеток (цитопатический эффект) — удобный метод индикации вирусов в культурах клеток, и, наконец, Дульбекко и Фогт (1952) предложили методику трипсинизации тканей и получения однослойных культур клеток.

В вирусологической практике применяют следующие культуры клеток.

Первично-трипсинизированные культуры клеток — клетки, полученные непосредственно из органов или тканей организма, растущие *in vitro* в один слой (рис. 27). Культуру клеток можно получить практически из любого органа или ткани человека или

животного (взрослого или эмбриона). Однако лучше это удастся сделать из эмбриональных органов, так как клетки эмбрионов обладают более высокой потенциальной способностью к росту. Чаще всего для этих целей используют почки, легкие, кожу, тимус, тестикулы эмбрионов или молодых животных.

Для получения первичных клеток от здорового животного не позднее 2-3 ч после убоя берут соответствующие органы или ткани, измельчают их на кусочки (1-4 мм) и обрабатывают ферментами: трипсином, панкреатином, коллагеназой и другими (чаще трипсином). Ферменты разрушают межклеточные вещества, полученные при этом отдельные клетки суспендируют в питательной среде и культивируют на внутренней поверхности пробирок или матрасов в термостате при 37 °С.

Клетки прикрепляются к стеклу и начинают делиться. В развитии культур клеток различают несколько фаз: адаптации, логарифмического роста, стационарную и старения (гибель клеток). Размножаясь, клетки размещаются на поверхности стекла и при полном покрытии его в один слой контактируют друг с другом и прекращают делиться (контактная ингибиция). На стекле формируется слой толщиной в одну клетку (поэтому эти культуры клеток называют однослойными или монослойными).

Обычно монослой формируется через 3-5 дней. Скорость его формирования зависит от вида ткани, возраста животного, качества питательной среды, посевной концентрации клеток и других факторов.

Питательную среду меняют по мере загрязнения ее продуктами жизнедеятельности клеток. Монослой сохраняет жизнеспособность в течение 7-21 дня (в зависимости от вида клеток и состава питательной среды).

Интенсивность размножения клеток и состояние монослоя контролируют визуально под малым увеличением микроскопа (объектив х10). Лучше для этой цели использовать инвертированный микроскоп.

Для культивирования вирусов используют молодые культуры клеток (как только сформировался монослой).

Субкультуры. В вирусологической практике часто используют субкультуры, которые получают из первичных клеток, выращенных в матрасах, путем снятия их со стекла раствором версена или трипсина, ресуспендирования в новой питательной среде и пересева на новые матрасы или пробирки. Через 2-3 сут формируется монослой.

Практически субкультуру можно получить из всех первичных культур клеток. (Хуже субкультивируются куриные фибробласты.) Субкультуры по чувствительности к вирусам не уступают первичным культурам клеток, кроме того, они более экономичны, и есть возможность выявления контаминации клеток вирусами. Субкультуры получают от 2-5 пассажей (перевивок) и очень редко до 8-10. Последующие пассажи приводят к изменению морфологии клеток и их гибели.

Если клеточные культуры прошли более 10 пассажей, они уже на стадии перехода к перевиваемым культурам клеток.

32. Морфология фага.

Размеры – 20 – 200 нм. Большинство фагов имеют форму головастиков. Наиболее сложно устроенные фаги состоят из многогранной головки, в которой располагается нуклеиновая кислота, шейка и отростки. На конце отростка располагается базальная пластинка, с отходящими от нее нитями и зубцами. Эти нити и зубцы служат для прикрепления фага к оболочке бактерии. У наиболее сложноорганизованных фагов в дистальной части отростка, содержится фермент – **лизоцим**. Этот фермент способствует растворению оболочки бактерий при проникновении фаговой НК в цитоплазму. У многих фагов отросток окружен чехлом, который у некоторых фагов может сокращаться.

Различают 5 морфологических групп

1. Бактериофаги с длинным отростком и сокращающимся чехлом
2. Фаги с длинным отростком, но не сокращающимся чехлом
3. Фаги с коротким отростком
4. Фаги с аналогом отростка
5. Нитевидные фаги

Химический состав.

Фаги состоят из нуклеиновой кислоты и белков. Большинство из них содержит 2хнитевую ДНК, замкнутую в кольцо. Некоторые фаги содержат одну нить ДНК или РНК.

Оболочка фагов – **капсид**, состоит из упорядоченных белковых субъединиц – капсомеров.

У наиболее сложноорганизованных фагов в дистальной части отростка, содержится фермент – **лизоцим**. Этот фермент способствует растворению оболочки бактерий при проникновении фаговой НК в цитоплазму.

Фаги хорошо переносят замораживание, нагревание до 70, высушивание. Чувствительны к кислотам, УФ и кипячению. Фаги инфицируют строго определенные бактерии, взаимодействуют со специфическими рецепторами клеток.

33. Специфическая профилактика. Применяют сухие вирус-вакцины из лапинизированных и культуральных аттенуированных штаммов вируса чумы свиней. Для пассивной иммунизации используют противочумную гипериммунную сыворотку крови.

34. То же, что и в 31.

35. Реакция нейтрализации основана на способности специфических вируснейтрализующих антител блокировать инфекционные, гемагглютинирующие, гемадсорбирующие, цитопатические, бляшкообразующие и др. свойства вирусов.

Она применяется в двух направлениях: 1) для идентификации вирусов; 2) для серодиагностики вирусных инфекций, т.е. для определения нарастания титра вируснейтрализующих антител в «парных» сыворотках.

Компоненты: 1. Исследуемый вирус (при идентификации выделенного вируса) или исследуемая сыворотка (при серодиагностике инфекции). 2. Диагностическая (группе-, видо-, типоспецифическая) сыворотка (при идентификации вируса) или известный вирус — диагностикум (при серодиагностике). 3. Индикаторный объект: животные, куриные эмбрионы, культуры тканей или эритроциты.

Реакции нейтрализации ставят в культурах клеток, куриных эмбрионах и на лабораторных животных.

Принцип. Смесью вирус (исследуемый или известный) + сыворотка (диагностическая или исследуемая), выдержанной в течение определенного времени, заражают культуру клеток, куриный эмбрион или лабораторное животное. При (+) реакции, т.е. при нейтрализации вируса антителами индикаторные объекты продолжают нормально существовать, а в контроле — гибель или характерные изменения.

36. Вирус оспы овец и коз. 41. Вирус оспы свиней.

Оспа млекопитающих и птиц – острая контагиозная болезнь, протекающая с характерными стадийными поражениями кожи различных участков тела и слизистых оболочек.

Особенностью патологических изменений при оспе является их стадийность: розеола (локальное покраснение участка кожи), папула (уплотнение участка кожи за счет клеточной инфильтрации), везикула (наполнение его везикулярной серозной жидкостью), пустула (переход серозного воспаления в гнойное) и короста (появление корочек на месте поражения).

Возбудителями оспы животных являются вирусы из семейства *Poxviridae*, подсемейства *Chordopoxvirinae* различных родов: *Saripoxvirus* – овец и коз, *Swiropoxvirus* – свиней. Все оспенные вирусы являются ДНК-геномными и содержат в составе вириона фермент для собственной транскрипции, реплицируются в цитоплазме клеток. Вирион оспы кирпичеобразную форму, до 450 нм. В окружающей среде устойчив, чувствителен к выс. температуре, УФ, кислоты, кипячение моментально. В антигенном отношении различные вирусы оспы млекопитающих идентичны в пределах родов. В основном вирусы оспы млекопитающих гемагглютинирующими свойствами не обладают.

Клин. Признаки: Abortивная форма – на теле небольшое количество оспин, быстро исчезают. Сливная – отдельные везикулы сливаются, образуя большие пузыри дальше струпья, под ними гной. Геморрагическая – множественный кровоизлияния внутри пустул и в коже, кровь из носа, кровавая рвота, понос. Патмат: легкие, л/у увеличены и гиперемированы, печень, сердце, почки.

Лаб. Диагностика: обнаружение элементарных частиц по Морозову, РГА, РИФ, электронная микроскопия. Выделение вируса на кк, кэ и молодняк животных. Исключить : ящур, везикулярную болезнь, паршу. Иммуитет – после переболевания стойкий и продолжительный. Лечение гамма-глобулины. Профилактика вакцина гидроксидалюминевуюформолвакцину и сухую культуральную вирусвакцину.

37. Классификация РНК- содержащих вирусов.

В основу классификации положен тип нуклеиновой кислоты, размер и тип симметрии вирусного нуклеокапсида, наличие или отсутствие внешней оболочки.

· вирусы, содержащие двуцепочечную РНК

Как и большинство РНК-вирусов, представители класса III реплицируют геномную РНК в цитоплазме и используют полимеразы хозяина в меньшей степени, чем ДНК-вирусы. Класс III включает в себя два крупных семейства *Reoviridae* и *Bimnaviridae*. Репликация моноцистронная, геном сегментирован, каждый ген кодирует один белок.

· вирусы, содержащие одноцепочечную РНК

Классы включают вирусы двух типов, репликация которых не зависит от стадии клеточного цикла. Наряду с вирусами, содержащими двуцепочечную ДНК.

· вирусы, содержащие одноцепочечную (+)РНК(IV класс)

Непосредственно на (+) геномной РНК вирусов IV класса может идти синтез белка на рибосомах клетки хозяина. Вирусы классифицируют на две группы, в зависимости от особенностей РНК:

1. у вирусов с полицистронной мРНК трансляция приводит к образованию полипротеина, который затем разрезается на зрелые белки. С одной цепи РНК может синтезироваться несколько разных белков, что снижает длину генов.

2. вирусы со сложной транскрипцией содержат субгеномные мРНК, синтез белка идет со сдвигом рамки считывания, также используется протеолитический процессинг полипротеинов. Эти механизмы обеспечивают синтез разных белков с одной цепи РНК. Примеры вирусов данного класса включают представителей семейств *Astroviridae*, *Caliciviridae*, *Coronaviridae*, *Flaviviridae*, *Picornaviridae*, *Arteriviridae* и *Togaviridae*.

· вирусы, содержащие одноцепочечную (-)РНК (V класс)

Геномные РНК вирусов класса V не могут быть транслированы на рибосомах клетки хозяина, предварительно требуется транскрипция вирусными РНК-полимеразами в (+)РНК. Вирусы пятого класса классификации по Балтимору классифицируют на две группы:

1. вирусы, содержащие несегментированный геном, на первом этапе репликации происходит транскрипция (-)РНК вирусной РНК-зависимой РНК-полимеразной в моноцистронную РНК, и далее синтезируются дополнительные копии (+)РНК, служащие матрицами для синтеза геномных (-)РНК. Репликация геномных РНК таких вирусов осуществляется в цитоплазме.

2. вирусы с сегментированными геномами, репликация геномных РНК которых происходит в клеточном ядре, вирусная РНК-зависимая РНК-полимераза синтезирует моноцистронные РНК с каждого сегмента генома. Наибольшим отличием данной группы вирусов от другой группы пятого класса состоит в том, что репликация осуществляется в двух местах. Представители данного класса входят в состав семейств: *Arenaviridae*, *Orthomyxoviridae*, *Paramyxoviridae*, *Bunyaviridae*, *Filoviridae* и *Rhabdoviridae*.

· вирусы, содержащие одноцепочечную (+)РНК, реплицирующиеся через стадию ДНК

Наиболее хорошо изученным семейством данного класса вирусов, являются ретровирусы. Вирусы класса VI используют фермент обратную транскриптазу для превращения (+)РНК в ДНК. Вместо использования РНК в качестве матрицы для синтеза белков, вирусы этого класса используют матрицу ДНК, которая встраивается в геном хозяина ферментом интегразой. Дальнейшая репликация происходит при помощи полимераз клетки хозяина.

· вирусы, содержащие двуцепочечную ДНК, реплицирующиеся через стадию одноцепочечной РНК

Небольшая группа вирусов, в состав которой входит вирус гепатита В, представитель семейства *Hepadnaviridae*, имеют двуцепочечную геномную ДНК, которая ковалентно замкнута в форме кольца и является матрицей для синтеза мРНК вируса, а также субгеномных РНК. Субгеномная РНК служит матрицей для синтеза ДНК-генома ферментом обратной транскриптазой вируса.

38. Вирус болезни Ауески.

Болезнь Ауески (псевдобешенство, зудящая чума, бешеная чесотка, инфекционный бульбарный паралич) – остро протекающая болезнь всех видов сельскохозяйственных животных, пушных зверей и грызунов. Характеризуется признаками поражения головного и спинного мозга, сильным зудом и расчесами.

Возбудитель: сем. Герпесвирус. ДНК содер. Вирион шаровидной формы 180-190 нм. Суперкапсидная оболочка, кубического типа укладки. Репродукция в ядре клетки. Устойчив к рН 5-9, чувствителен к эфиру, хлороформу, желчь, высокие температуры, 3% р-р щелочи и 5% хлорной извести. Культивируется на взрослых кроликах, 10-12 сут. кэ на хао или желчный мешок.

Тропизм: нервная ткань. Клиника. Инкубационный период – 1,5 суток – 10-12 дней в зависимости от метода заражения, вирулентности вируса и устойчивости животного. У свиней клиника протекает без признаков зуда.

Материал для исследования: смывы из носовой полости и кровь (лучше парные сыворотки), от трупов - кусочки головного мозга, легких, печени, селезенки.

Экспресс-метод - обнаружение вирусного антигена в РИФ. Вирусологический метод: а) выделение вируса на культуре клеток почек поросят; б) биопроба на кроликах (характерны зуд и расчесы в месте заражения). Идентификация: РИФ, РН. Ретроспективная диагностика: по простому титра антител в парных выворотках.

Следует дифференцировать болезнь Ауески от бешенства, чумы свиней, гриппа, рожи, отравления поваренной солью. Применяется живая вирусвакцина ВГНКИ, инактивированная культурная вакцина – иммунитет на 6-10 месяцев. За рубежом используются субъединичные и рекомбинантные вакцины.

39. Индуцированные мутации. Физический мутагенез.

Индуцированные мутации - это процесс возникновения мутаций под направленным действием физических, химических или биологических факторов. Такие факторы получили название мутагены или мутагенные факторы.

1. физический мутагенез. Физические мутагены:

- ионизирующие излучения – волновые (рентген, космические лучи) и корпускулярные (β -частицы, протоны, нейтроны, α -частицы) Проходя через живое вещество, γ и рентгеновские лучи вырывают электроны из внешней оболочки атома или молекулы. Поэтому заряженные частицы – электроны присоединяются к нейтрально заряженным частицам. В результате нейтральная молекула приобретает заряд, что ведет к дальнейшим превращениям веществ. частота индуцируемых мутаций зависит от дозы радиации. При этом не имеет значение дана доза однократно или порциями, хотя эффект более выражен при однократном введении дозы.

Ионизирующее излучение в большей степени увеличивает частоту перестроения хромосом, чем частоту генетических мутаций. не все повреждения генетического аппарата, вызванные облучением реализуются в виде мутаций. множество из них исправляются за счет репаративных ферментных систем.

1. Если вся доза дается сразу, то в клетках одновременно присутствуют митотические концы разорвавшихся хромосом. Концы могут соединяться в любых сочетаниях – инверсии, транслокации и делеции.

2. Если доза дается в несколько приемов, то часть ранее возникших перестроек успевает восстановиться до воздействия новой порции.

- Сильное ионизирующее излучение (ультрафиолет) – большая длина волны и меньшая энергия.

УФ-лучи не ионизируют атомы, таким образом возбуждение их оболочки, следовательно, различные химические реакции в этих клетках и, => мутации.

Мутагенные свойства УФ-лучей зависят от длины волны. Наиболее мутагенные с длиной волны = 260 нм. И чем меньше длина волны, тем меньше мутагенные свойства. Это связано с тем, что ДНК поглощает УФ-лучи с длиной волны 260 нм. Проникающая способность УФ мала, => нет действия на половые клетки, и мутагенные свойства проявляются у низших организмов. У человека действует на кожу.

40. Методы идентификации вирусов на куриных эмбрионах

Используют КЭ в вирусологии в основном для тех же целей, что и ЛЖ: обнаружения в патматериале активного вируса биопробой; первичного выделения вируса; поддержания вирусов в лаборатории; титрования вирусов; накопления вируса для лабораторных исследований и получения вакцин; как тест-объект в реакции нейтрализации.

Строение: 1.Скорлупа 2.Подскорлупная оболочка 3.Воздушная камера 4.Аллантоисная полость 5.Желточный мешок 6.Альбуминный мешок 7.ХАО – хорион-аллантаисная оболочка 8.Амниотическая полость 9.Эмбрион 10.Канатик (соединение желточного мешка с пуповиной). С 5-12день КЭ могут использоваться для заражения

6 методов заражения КЭ: 1)Заражение в аллантаисную полость (грипп, болезнь Ньюкасла). КЭ фиксируют вертикально тупым концом вверх, на стороне зародыша на 5-6мм выше границы воздушной камеры делают отверстие 1мм. 2)на ХАО (оспа, чума плотоядных): а)Ч/з естественную воздушную камеру. КЭ в штатив тупым концом вверх, в скорлупе против центра воздушной камеры окно 15-20мм. Снимают подскорлупную оболочку. На ХАО наносят 0,2 мм суспензии. Отверст. лейкопластырем. б)Ч/з искусственную воздушную камеру. Штатив горизонтально зародышем вверх. Делают 2 отверстия: над центром воздушной камеры, другое 0,2-0,5см сбоку, со стороны зародыша. Из первого зародыша отсасывают воздух, образуется искусственная воздушная камера, дном которого является ХАО, на него наносят инфекционную жидкость, заклеивают лейкопластырем. 3)В желточный мешок (хламидий, б. Марека): а)КЭ помещают в штатив вертикально. Отверстие над центром воздушной камеры, иглу на 3,5-4см под углом 45, противоположно месту нахождения зародыша. б)аналогичный путь заражения осуществляется на горизонтально укрепленном штативе КЭ; при этом зародыш находится внизу, а желток над ним. 4)В амниотическую полость (грипп, болезнь Ньюкасла): закрыт способ – зародыш. вверх. Иглу вводят затупленным концом по направлению к зародышу откр. способ – над воздушной полостью отверстие 1,5-2,5см. Удаляют подскорлупную оболочку. Пинцет продавливают ХАО по направлению к зародышу. Затем амниотическую оболочку вместе с ХАО и подтягивают к окну, вводят туда суспензию. Отпускают. Лейкопластырь. 5)Заражение в тело зародыша. б)в кровеносные сосуды.

42. Использование метода иммунофлуоресценции в вирусологии.

В основе метода лежит явление люминесценции, сущность которого в том, что поглощая различные виды энергии (световую, электрическую) атомы некоторых веществ переходят в возбужденное состояние, а затем, возвращаясь в исходное состояние, выделяют поглощенную энергию в виде светового излучения. Люминесценция наблюдается в виде флуоресценции - свечение, возникающее в момент облучения возбуждающим светом и прекращающееся сразу после его окончания. Фосфоресценция – свечение продолжающееся длительное время и по окончании процесса возбуждения

43. Титр вируса и его определение.

Титр – это кол-во вируса, содержащееся в ед объема материала.

Вир можно титровать по инфекционному действию. Эф-ть д-ия вир выражается в эффект-х дозах(ЭД). В зависимости от эффекта : 1)Гибель: ЛД50 (летальная доза)-лаб жив, ЭЛД50(эмбр лет доза)-кур эмбр, кк-нет гиб

Берем несколько пробирок(напр 5). В каждую пробирку по 9мл физ р-ра. Затем в 1 проб из бутылки с вир переносим 1мл вир(пипетку в физ р-р),размешать. Затем из сод-го 1й во 2 1мл смеси,из 2й в 3ю и тд...из последний не выливаем.

Каждым разведением мы заражаем четное число биол систем(не менее 4х)-4 кур эмбриона. Ставим в термостат, затем учитываем.

Положит-й эф-т(+)-гибель

1(1:10)++++ 2(1:100)++++ 3(1:1000)+++ 50% эф-т =>в этом развед сод-ся 1ЭД50 =1 ЭЛД50

4(1:10000)---- 5(1:100000)----

Титр вир=числу(во сколько раз надо развести исх-й вир,чтобы пол-сь 1ЭД50)

Если эф-т не виден, то подсчет инфекц титра проводят по методу Кербера или методу Рида и Менча.

Формула Кербера: $\lg \text{ЛД}50 = \lg D + \lg d / 2 - \lg \sum r/n$

Вир имеют белок- гемагглютинин. Они склеивают эр. Титр опред-ют по эф-ту гемагглютинации.

1)Готовят последовательное 2х кратное развед вир(1:2,1:4,1:8...)

2)В каждое развед доб-ют равный V 1% взвеси эритр-в опред-го вида и оставл-ют на контакт

3)Уч-т рез-т РГА в крестах:

ГА(100-75%эр)-«+++» - полный зонтик

ГА(50%эр)-«++» - неполн зонтик (пол эр обр-ют взвьс,а др пол осела на дно)

ГА(25%)-«+»- маленький зонтик

ГА-«-»-пуговка(все эр оседают)

45. вирус оспы верблюда

Оспа верблюдов ОСПА ВЕРБЛЮДОВ VARIOLA CAMELINA - контагиозная болезнь, протекающая с образованием характерной узелково-пустулезной оспенной сыпи на коже и слизистых оболочках.

Возбудители - крупные эпителиотропные вирусы из группы покс-вирусов. Оригинальный вирус представляет собой довольно большие вирионы со средними размерами 220×280 нм. Болезнь распространяется только среди верблюдов, относительная невысокой устойчивости вируса вне организма. При кипячении он погибает мгновенно, при температуре 60°С в течение 15 минут. В загнивающем патологическом материале быстро инактивируется, а солнечные лучи либо действие искусственного УФ облучения уничтожают возбудителя болезни в течение 2–3 часов.

Обычные дезинфицирующие вещества в принятых концентрациях приводят к гибели вируса в течение 5–20 минут. Вместе с тем в сухих кормах, сене вирионы сохраняют патогенность до 8 месяцев, а в почве до 4–5 месяцев. Сохранность вируса в почве напрямую связана с условиями внешней среды и временем года. Биотермическое обеззараживание навоза убивает вирус в течение 1–2 недель.

Формы и клинические признаки болезни Оспа верблюдов поражает все половозрастные группы животных. Однако быстрее всего заражается молодняк, у которого болезнь впоследствии протекает значительно тяжелее. Инкубационный период продолжается от 3 дней до 2 недель. Как правило, у молодняка данный период составляет от 3 до 7 дней, более длительные сроки инкубации отмечаются у животных старшей группы.

Различают 3 формы течения болезни: Острую. Подострую. Хроническую.

Патологический процесс обусловлен эпителиотропностью вируса. Изменения, присущие оспе верблюдов, отмечаются на коже головы (область губ и носа); безволосых кожных покровах паха и подмышечных впадин; вымени; мошонке; слизистых оболочках.

Лечение при оспе верблюдов преимущественно симптоматическое, направленное на облегчение общего состояния животных. Места поражения обрабатывают раствором калия перманганата, смазывают настойкой йода в чистом виде либо в смеси с глицерином. Для обработки вскрывшихся оспин применяют мази: ихтиоловую; борную; цинковую и другие.

Основой лечения является предупреждение развития вторичных инфекций в местах оспенных поражений. Присоединение секундарной микрофлоры является показанием для назначения антибиотикотерапии. При общем тяжелом состоянии животных применяют средства для поддержания сердечной деятельности. Кроме того больных верблюдов обеспечивают достаточным количеством мягких кормов и чистой питьевой воды.

46. химический состав и биохимические свойства вируса.

Химический состав. В общем виде зрелая вирусная частица (вирион) состоит из нуклеиновой кислоты, белков и липидов – сложные вирусы (с оболочкой), либо в его состав входят только нуклеиновые кислоты и белки - простые вирусы (безоболочки).

Вирусы содержат только один вид нуклеиновой кислоты — либо ДНК, либо РНК. Вирусные нуклеиновые кислоты бывают одно- и двухцепочечными, а вирусный геном может состоять из одной или нескольких молекул нуклеиновой кислоты, и, если он состоит из одной молекулы, она может быть линейной или кольцевой.

Белок, основная роль которого состоит в формировании защитного чехла для нуклеиновой кислоты. Исходя из того, что количество генетической информации у вирусов ограничено, белковые чехлы простых вирусов состоят из повторяющихся субъединиц. Иногда вирусный белок представлен полипептидом одного типа, но чаще их два или три. Белки на поверхности вириона имеют особое сродство к комплементарным рецепторам на поверхности чувствительных клеток.

Липиды обнаружены у сложно организованных вирусов и в основном находятся в составе липопротеидной оболочки (суперкапсида), формируя ее липидной бислой, в который вставлены суперкапсидные белки.

Все сложно организованные РНК-содержащие вирусы имеют в своем составе значительное количество липидов. Из ДНК-содержащих вирусов липиды содержат вирусы оспы, герпеса и гепатита В. Липидный компонент стабилизирует структуру вирусной частицы.

Углеводный компонент вирусов находится в составе гликопротеидов. Химическая специфичность их полностью определяется клеточными ферментами, обеспечивающими перенос и присоединение соответствующих сахарных остатков. Обычными сахарными остатками, обнаруживаемыми в вирусных белках, являются фруктоза, сахароза, манноза, галактоза, нейраминавая кислота, глюкозамин. Таким образом, подобно липидам, углеводный компонент определяется клеткой-хозяином, благодаря чему один и тот же вирус, возвращенный в клетках разных видов, может значительно различаться по составу сахаров.

Биохимические свойства...

47. правило работы и техника безопасности с вирусологическими препаратами

Весь персонал лаборатории проходит инструктаж и обучение безопасным методам труда, обеспечивается спецодеждой, спецобувью, средствами санитарной защиты и защитными приспособлениями в соответствии с действующими нормами.

Основные правила работы, следующие:

- 1) вход в производственные помещения посторонних лиц, а также вход сотрудников в лабораторию без халата и сменной обуви категорически запрещен;
- 2) запрещено выходить за пределы лаборатории в халатах и спецобуви или надевать верхнюю одежду на халат, курить, есть и хранить в лаборатории продукты питания. В боксе работают в стерильном халате, маске, шапочке, при необходимости надевают резиновые перчатки и очки. Обязательно меняют обувь.
- 3) весь материал, поступающий в лабораторию на исследование, должен рассматриваться как инфицированный. С ним надо обращаться очень осторожно, при распаковке его банки следует обтирать снаружи дезинфицирующим раствором и ставить их на поднос или в кюветы. Рабочее место на столе покрывают несколькими слоями марли, увлажненной 5%-ным раствором хлорамина. При работе с пипетками пользуются резиновыми грушами. Пипетки, предметные и покровные стекла и другую посуду, бывшую в употреблении, обеззараживают, погружая в 5% хлорамин, фенол, лизол, серную кислоту.
- 4) по окончании работы рабочее место приводят в порядок и тщательно дезинфицируют. Вирусосодержащий материал, необходимый для дальнейшей работы, ставят на хранение в холодильник и опечатывают.
- 5) руки тщательно промывают 5% хлорамином, перчатки снимают обеззараживают вторично, дезинфицируют и моют. При работе в вирусологической лаборатории сотрудники должны строго соблюдать методы и правила асептики и антисептики. Асептика – система мероприятий и приемов работы, предупреждающих попадание МО и вирусов из окружающей среды в организм человека, а также исследуемый материал. Она предусматривает использование стерильных инструментов и материалов, обработку рук сотрудников,

соблюдение особых санитарно-гигиенических правил и приемов работы. Антисептика – комплекс мероприятий, направленных на уничтожение МО и вирусов, способных вызвать инфекционный процесс при попадании на поврежденные или интактные участки кожи и слизистых оболочек. В качестве антисептиков используют этиловый спирт (70%), спиртовой раствор йода, зеленка и другие. Дезинфекция – обеззараживание объектов окружающей среды путем уничтожения патогенных для человека и животных МО и вирусов физическими способами и с помощью химических веществ. Стерилизация – обеспложивание, полное уничтожение МО и вирусов в различных материалах. Ее проводят физическими и химическими методами.

48. Вирус Инфекционный ринотрахеит КРС - остро протекающая, контагиозная болезнь, которая характеризуется преимущественно катарально-некротическими процессами верхних дыхательных путей, лихорадкой, общим угнетением и конъюнктивитом.

Эпизоотология. вируса герпеса КРС 1 (Bovine alphaherpesvirus 1) — больные и переболевшие животные, в течение 6—19 месяцев выделяющие вирус с носовым секретом, истечениями из глаз и половых органов, с молоком, мочой, калом, спермой. Переболевшие животные приобретают иммунитет до пяти лет. Источник инфекции: больные и переболевшие животные. Пути передачи: аэрогенный. Инкубационный период: 4—6 суток. Носительство возбудителя: 2—4 недели.

Симптомы: ринит, трахеит, ларингит, вульвовагинит. Для острого течения характерны высокая температура, истечения из носа, кашель, одышка, истощение; для атипичной формы — менингоэнцефалит и аборт.

Патологоанатомические изменения. Катарально-фибринозное воспаление слизистых оболочек носовой полости, гортани, трахеи, бронхов, эмфизема легких. При генитальной форме — гиперемия слизистой преддверия и вагины у коров, препуция и пениса у быков, появление на них пустул, эрозий и язв.

Диагностика. В лабораторию направляют истечения, соскобы и смывы из носовой полости, влагалища, препуция. Берут кусочки слизистой оболочки носа, гортани, трахеи, легких, головного мозга, пораженные участки желудочно-кишечного тракта, органы абортировавшего плода. Проводят выделение вируса и идентификацию его в культуре клеток, РН, РДП, РИГА, иммунофлюоресценцию, биопробу.

Лечение: больных животных лечат гипериммунной сывороткой или сывороткой реконвалесцентов. Из средств специфической профилактики применяют вирус-вакцину против инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота, а также сухую культуральную ассоциированную вакцину против па-рагриппа-3 и инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота, инактивированную вакцину против инфекционного ринотрахеита. Профилактика и меры борьбы: хозяйство карантинируют. Больных животных изолируют, здоровых — иммунизируют. Ограничения с хозяйства снимают через 30 суток после последнего случая выздоровления животного и проведения заключительных ветеринарно-санитарных мероприятий. Вывоз животных для племенных целей, использование спермы для осеменения разрешается через 2 месяца после снятия ограничений.

49. происхождение и эволюция вирусов

Теории происхождения:

1. вирус является потомком доклеточной формы жизни с которых началась биологическая эволюция.
2. является потомком бактерии претерпевший обратную эволюцию (регрессия)
3. «взбесившийся ген» возникновение новых саморефлектирующих форм
4. разные семейство вирусов произошли по-разному.

Вирусы развиваются путем изменения старых или приобретения новых последовательностей в их РНК (или ДНК), некоторые довольно быстро, и самые адаптированные мутанты быстро превосходят числом их менее подходящих аналогов. Путь по которому вирусы воспроизводятся в клетках-хозяевах делают их особенно восприимчивыми к генетическим изменениям, которые помогают ускорить их эволюцию.

50. культивирование вирусов в лабораторных условиях.

Основные методы культивирования вирусов:

- 1) биологический – заражение лабораторных животных. При заражении вирусом животное заболевает. Если болезнь не развивается, то патологические изменения можно обнаружить при вскрытии. У животных наблюдаются иммунологические сдвиги. Однако далеко не все вирусы можно культивировать в организме животных;
- 2) культивирование вирусов в развивающихся куриных эмбрионах. Куриные эмбрионы выращивают в инкубаторе 7—10 дней, а затем используют для культивирования. В этой модели все типы зачатков тканей подвержены заражению. Но не все вирусы могут размножаться и развиваться в куриных эмбрионах.

В результате заражения могут происходить и появляться:

- 1) гибель эмбриона;
- 2) дефекты развития: на поверхности оболочек появляются образования – бляшки, представляющие собой скопления погибших клеток, содержащих вирионы;
- 3) накопление вирусов в аллантоисной жидкости (обнаруживают путем титрования);
- 4) размножение в культуре ткани (это основной метод культивирования вирусов).

Различают следующие типы культур тканей:

- 1) перевиваемые – культуры опухолевых клеток; обладают большой митотической активностью;
- 2) первично трипсинизированные – подвергшиеся первичной обработке трипсином; эта обработка нарушает межклеточные связи, в результате чего выделяются отдельные клетки. Источником являются любые органы и ткани, чаще всего – эмбриональные (обладают высокой митотической активностью).

Для поддержания клеток культуры ткани используют специальные среды. Это жидкие питательные среды сложного состава, содержащие аминокислоты, углеводы, факторы роста, источники белка, антибиотики и индикаторы для оценки развития клеток культуры ткани.

О репродукции вирусов в культуре ткани судят по их цитопатическому действию, которое носит разный характер в зависимости от вида вируса.

51. Аденовирусная инфекция крупного рогатого скота, острая вирусная болезнь, характеризующаяся поражением слизистых оболочек дыхательных путей, глаз, кишок, а также лимфоидной ткани. Распространена во многих странах Европы, в Японии и США, зарегистрирована в России.

Возбудитель болезни — ДНК содержащий вирус семейства Adenoviridae. Изучены 9 серотипов.

Эпизоотологическая характеристика. Особенно часто болеют телята 2—3 мес. возраста. Новорождённые телята болеют реже и менее чувствительны к аденовирусу. У взрослых животных болезнь часто протекает без клинических признаков. Основные пути заражения: аэрогенный и алиментарный. Болезнь проявляется в виде спорадических случаев и иногда как эпизоотия. Иммунитет.

После переболевания в организме образуются комплементсвязывающие и вируснейтрализующие антитела, оказывающие защитное влияние против повторного действия возбудителей инфекции.

Клинические признаки и течение. Инкубационный период 3—4 суток. Течение болезни острое, редко хроническое. Характеризуется повышением температуры до 41,0°C, респираторными явлениями (выделения из носовой полости, кашель), конъюнктивитом (слезотечение) и поражением кишечного тракта (понос), то есть картиной пневмоэнтерита. При хроническом течении характерно исхудание животного. В большинстве случаев через 2 недели наступает выздоровление. Нередко через 2—3 недели после этого отмечается рецидив; возможно заболевание, вызванное вирусом другого серотипа.

Патологоанатомические изменения. При вскрытии павших животных обнаруживают поражения в лёгких (эмфизема, ограниченные ателектазы, бронхопневмония), а также катаральный энтерит. После длительного переболевания — в лёгких изменения, вызванные вторичной инфекцией.

Диагноз базируется на клинико-эпизоотологических данных и результатах лабораторных исследований (выделение вируса и серологические реакции). Вирус выделяют из истечений из глаз и носовой полости, из содержимого кишечника. Выделенным материалом заражают культуру клеток почек и семенников телёнка и почки эмбриона коровы. Из серологических реакций применяют РСК, используя сыворотки морских свинок для идентификации аденовируса, а для установления типа аденовируса — реакцию нейтрализации, используя сыворотки телят или кроликов. Большое значение для постановки окончательного диагноза имеет исследование парных сывороток, взятых в первые 2—3 сут болезни и через 2—3 недели после начала заболевания. Выделение вируса без серологического исследования не может служить доказательством его роли в возникновении болезни.

Лечение симптоматическое. **Профилактика и меры борьбы.** Методы специфической профилактики не разработаны. Проводят общие ветеринарно-санитарные мероприятия.

52. нуклеиновые кислоты и их функция.

В отличие от клеток, вирионы содержат только один вид нуклеиновой кислоты — ДНК или РНК. И та и другая являются хранителями наследственной информации и выполняют функции генома.

Функция: 1. Наследственная; 2. определяет инфекционные свойства- сферические вирионы занимают центральное положение, спиральные плотно упакованы в капсомеры.

53. Патогенез вирусных инфекций.

Патогенез определяется: 1.Тропизмом вируса 2.Количеством инфекционных частиц 3.Реакцией клетки на инфекцию. 4.Реакция организма на изменение клеток и тканей. 5.Скоростью репродукции.

Тропизм – склонность вируса к тому или иному входу инфекции.

Патогенез на клеточном уровне – сюда входит ЦПД (видимые морфологические изменения клеток под воздействием того или иного вирусного агента). Характер ЦПД различен и зависит от: 1.Вида клетки 2.Биохимических свойств вируса 3.Заражающей дозы

Патогенез на организменном уровне. Состояние инфекции как всякого биологического процесса динамично, динамику взаимодействия обычно называют инфекционным процессом. С одной стороны инфекционный процесс включает: внедрение, размножение и распространение возбудителя в организме, а также патогенное действие, а с другой стороны реакцию организма на это действие. Патогенное действие возбудителя может быть неодинаковым. Оно проявляется в форме инфекционной болезни различной тяжести, в другом без ярко выраженных клинических признаков в третьих проявляется лишь изменениями, выявленными вирусологическими, биохимическими, иммунологическими методами. Это зависит от: количества и качества возбудителя, проникшего в восприимчивый организм, условий внутренней и внешней среды, определяющих резистентность животного и характеризуются взаимодействием микро и макроорганизмов.

Различают три вида воздействий, оказываемых вирусами животных на клетки. Легче всего выявляется деструктивный, или цитолитический, эффект, для которого характерно обширное повреждение множества различных клеточных органелл. вирус - специфические макромолекулы вызывают первичное повреждение, влекущее за собой цепь вторичных деструктивных процессов, в которых участвуют уже продукты метаболизма самой клетки. На другом конце спектра возможных последствий находится явление трансформации, когда зараженная вирусом клетка приобретает способность к неограниченному делению. это результат устойчивой интеграции вирусного генома или его части с геномом клетки, которая не приводит к ее гибели. Трансформированная клетка часто выходит из-под контроля механизмов, регулирующих клеточное деление. Возможна еще одна категория реакции клеток, при которой можно говорить об индуктивном действии вируса. Многие вирусы способны индуцировать образование в зараженной клетке белков, кодируемых не вирусным, а клеточным геномом, но синтезируемых клетками в ответ на вирусную инфекцию. Этот тип реакции не обязательно связан с тем или иным конечным результатом взаимодействия вируса с клеткой. деструктивные изменения в последовательности: 1.различные вирусы подавляют синтез клеточных белков, используя разные механизмы. 2. вирус блокирует накопление клеточной РНК, приостанавливая процессинг пре-р РНК, но никак не влияя на ее синтез. Образование клеточной т РНК часто не снижается. 3. Нередко бывает подавлена инициация синтеза клеточной ДНК, однако при некоторых вирусных инфекциях клетки, уже вошедшие в фазу S, могут завершить цикл синтеза ДНК, а клетки, прошедшие через фазу S, могут пройти и через митоз. Ингибирование синтеза клеточной ДНК- это вероятно, вторичное следствие прекращения синтеза белка, так как синтез ДНК идет лишь в том случае, если одновременно продолжается синтез белка.

54. Вирус болезни Ньюкасла

Сем.: парамиксовирусы. Возбудитель болезни Ньюкасла является РНК-содержащим вирусом, его размер -100-300 нм, форма вириона может быть сферической, овальной или нитевидной, репродуцируется в цитоплазме. Вирус локализуется в паренхиматозных органах, костном и головном мозге, мышцах, трахеальной слизи, толстом и тонком кишечниках. Установлен тропизм вируса к нервной, легочной и висцеральным тканям. Вирус обладает гемагглютинирующей активностью. Вирусы чувствительны к эфиру, хлороформу, кислой среде, сравнительно быстро инактивируются при температуре 20-37°C. Устойчив при pH 2-10. Кутивируют, кв, убивают через 30-120 ч. Накапливаются в аллантоидной и амниотической жидкости.

Болезнь Ньюкасла - широко распространенная, остропротекающая, высококонтагиозная болезнь кур, индеек и некоторых видов диких птиц. В типичных случаях болезнь проявляется слабостью, затрудненным дыханием, кашлем, часто отмечают понос, поражение ЦНС (круговые движения, шаткость походки, парезы и параличи ног, крыльев, шеи). У 60-70 % взрослых кур, павших от этой болезни, обнаруживают точечные кровоизлияния при переходе железистого желудка в мышечный, некротическое воспаление кишечника (бубоны), имеет место атипичное и даже бессимптомное течение болезни.

Диагноз основан на анализе эпизоотологических, клинических данных, патоморфологических изменений и результатов лабораторных исследований. В лабораторию направляют свежий труп птицы или трахею, легкие, селезенку, печень, головной мозг (или голову). Основой лабораторной диагностики является выделение вируса на 9-10-дневных КЭ, культуре клеток, постановка РГА

и идентификация вируса в РТГА, РН, РСК, РИФ и др. Ретроспективный диагноз и определение напряженности иммунитета проводят в РТГА, РН и др.

Птица, переболевшая в естественных условиях, приобретает пожизненный иммунитет. Для специфической профилактики болезни Ньюкасла применяют живые вакцины из штаммов В1, Ла-Сота, Н и БОР-74.

54. Методы идентификации вирусов с помощью лабораторных животных. Используют: 1) для обнаружения вируса в ПМ 2) первичного выделения вируса из ПМ 3) накопления вирусной массы 4) поддержания вируса в лаборатории в активном сост. 5) титровании вируса 6) в качестве тест-объекта в РН 6) получение гипериммунных сывороток. Используемые животные: белые мыши (бешенство, ящур), белые крысы (грипп свиней, б. Ауески), морские свинки (бешенство, ящур, чума плотоядных). Кролики (бешенство, миксомы кроликов).

Требования к лабораторным животным – животное должно быть чувствительным к данному вирусу; возраст его имеет большое значение для культивирования многих вирусов. Большинство вирусов лучше размножается в организме молодых и даже новорожденных животных; стандартная чувствительность достигается подбором животных определенного возраста и одинаковых по массе. По чувствительности наибольшей стандартностью обладают так называемые линейные животные, полученные в результате близкородственного скрещивания в течении ряда поколений; лабораторные животные должны быть здоровы. Животные, поступающие в виварий вирусологической лаборатории, должны быть привезены из благополучного по инфекционным заболеваниям хозяйства. Их содержат на карантине и ведут клиническое наблюдение. При наличии заболевания их уничтожают.

Животных размещают так, чтобы с одной стороны, было обеспечено функционирование всех систем организма в пределах физиологической нормы, с другой – исключено взаимное перезаражение и распространение инфекции за пределы вивария. Для животных разных видов применяют разные способы индивидуальной метки. Для крупных животных и кур используют металлические бирки со штампованным номером. При использовании в эксперименте небольшой группы животных и при непродолжительном сроке его можно выстригать шерсть знаками на спине, бедрах. Метка белых мышей, белых крыс может быть проведена ампутацией отдельных пальцев на передних или задних конечностях. Часто пользуются методом нанесения цветных пятен на непигментированную шерсть. Заражение лабораторных животных: 1. подкожно 2. Внутрикожно 3. Внутримышечно 4. Внутривенно 5. Интраназально 6. Интероцеребрально

56. Тельца включения при вирусных инфекциях и их значение.

Обнаружение специфических телец-включений. Это вспомогательный метод идентификации вируса. Внутрядерные тельца-включения обнаруживают в препаратах из зараженной культуры клеток, окрашенных гематоксилин-эозином, а также при электронной микроскопии, в случае типичного ЦПД, культуры клеток куриного эмбриона и почки свиньи.

Вирусные тельца-включения – образования, состоящие или из скоплений вирусных частиц (вирионов), или из клеточного материала. Они встречаются при многих вирусных инфекциях и представляют собой овальные оксифильные тельца величиной 1-10 мкм, периферически окруженные светлой зоной – мантией. Их классифицируют по локализации в клетке (внутриядерные, цитоплазматические), составу нуклеиновой кислоты (ДНК-, РНК-содержащие), тинкториальным свойствам (базофильные, оксифильные), гомогенности (аморфные, зернистые и т.д.). Тельца включения локализуются избирательно. При оспе всех видов животных, в том числе птиц, бешенстве, гриппе, парагриппе, чуме крупного рогатого скота, пситтакозе и других болезнях, как правило, развиваются цитоплазматические тельца-включения; при болезни Борна, ринотрахеите крупного рогатого скота, ринопневмонии лошадей, везикулярном стоматите, ларинготрахеите птиц, аденовирусной инфекции и других – ядерные.

Цитоплазматические тельца – включения развиваются при болезнях, вызываемых сравнительно крупными вирусами (оспа, бешенство). Чаще они представлены в виде округлых, овальных, или неправильной формы образований. В пораженной клетке может быть несколько телец – включений различных размеров и форм. Обычно они прилегают к ядру, отодвигая его к периферии или окружая его, и обнаруживаются в хорошо сохранившихся клетках. Для каждого тельца-включения характерна внутренняя структура. Так, тельца Гварниери при оспе имеют вид рыхлых, зернистых образований, при бешенстве тельца Бабеша – Негри кажутся плотными,

При одной и той же болезни характер вирусных включений различен. Так при кори накопление цитоплазматических включений коррелирует с накоплением вируса, а внутриядерных – с реакцией клетки на вирус.

Ядерные включения встречаются при инфекциях, вызываемых как относительно крупными вирусами (герпес, болезнь Ауески, ИРТ, ринопневмония лошадей и др.) так и вирусами, имеющими очень мелкие размеры (ящур, гепатит собак). Ядерные включения лучше выявляются в гистологических препаратах, морфологические детали включений видны только при контрастной окраске срезов; форма и размеры их зависят от штаммовых особенностей вируса, а также от методов гистологической обработки материала. Различают два типа внутриядерных включений: А и В. Включения типа А – аморфные или округлой формы оксифильные образования, четко отграниченные от базофильной массы ядра; нуклеоплазма находится в состоянии глубокой деструкции; хроматин расположен глыбками на деформированной оболочке ядра. Включения типа В встречаются при ринопневмонии лошадей, ИРТ КРС, ларинготрахеите птиц, болезни Ауески. Включения типа В имеют вид ацидофильных гиалиновых зерен, нуклеоплазма относительно мало изменена. Они преимущественно при болезни Тешена, Аденоинфекции.

При ряде вирусных болезней обнаружение телец – включений имеет диагностическое значение. Многие из них настолько патогномичны, что обнаружение их, стало основным из экспресс методов диагностики бешенства, оспы, ринопневмонии лошадей, аденовирусной инфекции и ИРТ КРС. В диагностике гриппа животных, болезни Ауески, ларинготрахеита птиц и других болезней выявление телец включений – вспомогательный метод. На частоту выявления телец – включений, кроме штаммовых различий влияет и возраст животного (у молодых они появляются с большим постоянством) и физиологическое состояние организма.

57. Вирус оспы коров.

Оспа (*Variola*) – инфекционная контагиозная болезнь, характеризующаяся лихорадкой и папулезно-пустулезной сыпью на коже и слизистых оболочках. Возбудитель принадлежит к семейству *Poxviridae*, роду *Capripoxvirus*, ДНК-содержащий вирус размером 170-350 нм, эпителиотропный, образует элементарные округлой формы тельца Пашена, видимые в световом микроскопе после окраски по Морозову (рисунок 9). Основные эпизоотологические данные. Источником возбудителя служат больные овцы и вирусоносители в инкубационном периоде. Вирус выделяется из организма с истечениями из носа, глаз, со слюной, оспенными корочками. Факторами передачи являются предметы ухода, корма. Возможна передача кровососущими насекомыми, а также через молоко и трансплацентарно. Основные способы передачи возбудителя – через дыхательные пути (респираторно) и наружные покровы. Оспа овец возникает в любое время года в виде эпизоотии, поражает животных всех возрастов. Заболеваемость может достигать 100%. Течение и симптомы. Инкубационный период -3-14 дней. Болезнь начинается угнетением, анорексией, лихорадкой (41-42°C). Появляются отеки кожи век, серозно-слизистые или серозно-гнойные истечения из носа и глаз. Дыхание затрудненное, пульс

ущащенный. Оспенную сыпь обнаруживают в коже области глаз, внутренней поверхности грудных и тазовых конечностей, головы, губ, крыльев носа. Вначале сыпь имеет вид округлых красных пятен-розеол, которые через 1-2 дня превращаются в плотные узелки-папулы, окруженные красным ободком. Папулы достигают размеров 12-15 мм, через 1-3 дня они размягчаются и в них появляется серозная жидкость. Наступает коагуляционный некроз кожи, покрывающий папулу, образуются струнья, которые отпадают. При тяжелом течении отмечают пневмонию, энтерит, кератит, артриты. В большинстве случаев животное погибает от сепсиса. Культивирование. Удастся оно на овцах по методу Борреля. Некоторые штаммы, адаптируясь в ХАО куриного эмбриона, утрачивали патогенные и иммуногенные свойства. Вирус культивируется в первичной и субкультуре клеток почек и тестикулов ягнят, козлят и телят, вызывая цитопатические изменения через 48-96 ч. Гемагглютинирующие и гемадсорбирующие свойства не установлены. Лабораторная диагностика. Диагноз ставят с учетом эпизоотологических данных, результатов клинического обследования, биопробы и вирусоскопии мазков из свежеразвившихся первичных очагов поражения или мест инокуляции вируса при постановке биопробы. В этих случаях необходимо найти животных с характерными оспинами гнездно-сетчатого строения с кратерообразными в них углублениями, чего при других экземах, как правило, не бывает. Лечение. Больных животных изолируют в сухие, теплые помещения и обеспечивают полноценным, легко усваиваемым кормом. В питьевую воду добавляют йодистый калий. Применяют химиотерапевтические препараты и антибиотики для предупреждения и ликвидации осложнений, вызываемых вторичной микрофлорой. Тяжелобольных животных убивают. Иммунитет и специфическая профилактика. Естественно переболевшие животные приобретают иммунитет не менее чем на 2 года. С 1944 года используют ГОА-формолвакцину, а также поливалентную концентрированную вакцину, предохраняющую овец от оспы, браздота и энтеротоксемии. С 1978 года применяют живую культуральную противоспепную вакцину, приготовленную из аттенуированного штамма. Овцы приобретают невосприимчивость к экспериментальному заражению уже через 3-5 дней после вакцинации и сохраняют иммунитет в течение 9-12 мес. Живая вакцина зарекомендовала себя как иммуногенный и безвредный препарат.

58. Методы экспериментальной селекции вирусов.

В экспериментальных условиях гибридные (рекомбинантные) формы можно получить при совместном введении в клетку:

- 1) двух жизнеспособных вирусов ;
- 2) живого и инактивированного вируса
- 3) живого вируса и вирусной нуклеиновой кислоты , выделенной из другого штамма;
- 4) одновременно двух нуклеиновых кислот от разных вирусов.

Другой инфы не наша.

59. Серологические реакции при вирусных инфекциях.

В целях определения вида данного вируса при изучении защитных процессов в организме больного человека или зараженного животного применяются серологические методы. Серология (от лат. Serum - сыворотка, жидкая составная часть крови) - это раздел иммунологии, изучающий реакции антигена специфическими защитными веществами, антителами, которые находятся в сыворотке крови. Антитела нейтрализуют действие вируса. Они связываются с определенными антигенными веществами, находящимися на поверхности вирусных частиц. В результате связывания молекул антител с поверхностной структурой вируса последний теряет свои патогенные свойства. Для установления уровня (количества) антител в сыворотке или определения

типа данного вируса проводится реакция нейтрализации вируса. Ее можно проводить как на животных, так и на культуре клеток.

Минимальную концентрацию сыворотки, содержащей антитела, достаточную для того, чтобы нейтрализовать вирус, не дать ему проявить ЦПД, называют титром сыворотки, нейтрализующей вирус. Эта концентрация может быть выявлена и с помощью метода бляшек.

Для обнаружения антител используется метод торможения гемагглютинации (склеивания эритроцитов под воздействием вируса) и метод связывания комплемента. Из методов, применяемых в вирусологии для различных исследовательских целей, можно еще упомянуть методы, при помощи которых вирусологический материал подготавливается для физических и химических анализов, которые облегчают изучение тонкого строения и состава вирусов. Эти анализы требуют большого количества совершенно чистого вируса. Очистка вируса - процесс, при котором из суспензии с вирусом устраняются все посторонние, загрязняющие ее частицы. В основном это кусочки и «обломки» клеток - хозяев. Одновременно с очисткой происходит обычно ступение суспензии, повышение концентрации вируса. Так получается исходный материал для многих исследований.

С помощью серологической реакции можно: определять титр АТ к гемагглютинирующему вирусу в сыворотке; идентифицировать неизвестный гемагглютинирующий вирус по известным сывороткам; установить степень АГ родства 2 вирусов, определять титр вируснейтрализующих АТ в сыворотке, или индекс нейтрализации, идентифицировать неизвестный вирус путем испытания его с различными заведомо известными сыворотками.

Серологические реакции.

1. РИФ – реакция иммунофлюорисценции.

АГ + АТ меченные флюорохромом. Дают контакт 30 минут при 37 С, затем производят тщательный отмыв в физрастворе. Метод обнаружения – флюоресцентное свечение под микроскопом.

2. ИФА – иммуно-ферментный анализ.

АГ + АТ с ферментом. Контакт, отмыв, затем добавляют субстрат, который при контакте с АТ-ферментным комплексом дает цветную реакцию.

3. РСК – реакция связывания комплемента.

АГ + АТ + комплемент. Контакт. Затем добавляют гем-систему (гемолизин + эритроциты барана). Контакт. Если гемолиза не происходит, значит АГ и АТ связали комплемент. Задержка гемолиза – реакция положительная. Если произошел гемолиз, значит комплемент связан гем-системой – реакция отрицательная.

4. РДП - реакция диффузной преципитации.

АГ + АТ (диффузия в агаровом геле). Метод обнаружения – образование контура преципитации.

5. РНГА – реакция непрямой гемагглютинации.

Эритроциты нагружают АГ и при образовании комплекса АГ-АТ происходит агглютинация эритроцитов.

6. РТГА – реакция торможения гемагглютинации

7. РТГАд – реакция торможения гемадсорбции

8. РН – реакция нейтрализации.

Вирус + АТ. Контакт. Ввод в чувствительную к вирусу систему. Метод обнаружения – нейтрализация инфекционной активности вируса.

60. Лабораторная диагностика болезни Ньюкасла.

Ньюкаслская болезнь (НБ), псевдочума птиц - высоко контагиозная вирусная инфекция, главным образом куриных, характеризующаяся пневмонией, энцефалитом, множественными точечными кровоизлияниями и поражением внутренних органов. Возбудителем является РНК-содержащий вирус (NDV) из семейства Paramyxoviridae. Зарегистрирована на всех континентах. Наносит громадный экономический ущерб и относится к особо опасным инфекциям. При характерном течении болезни постановка диагноза не представляет сложности. При вспышке болезни на фоне пассивного или поствакцинального иммунитета, а тем более в стационарно неблагополучном хозяйстве поставить диагноз бывает чрезвычайно трудно. В этих случаях тщательно изучают эпизоотическую ситуацию, клиническую и патологоанатомическую картину. Решающее значение имеют лабораторные исследования - выделение вируса на КЭ, его индикация и идентификация в РГА - РТГА, определение вирулентности вируса на КЭ и цыплятах, а также выявление АГ в сыворотке переболевших или вакцинированных птиц в РТГА.

Выделение вируса. Вирус, в зависимости от его тропизма можно выделить из головного и костного мозга, трахеи, кишечника, селезенки, легких, печени. Для исследования рекомендуется брать голову, легкие, трахею и селезенку от только что павших или вынужденно убитых птиц. Вирус удается выделить только в период вспышки болезни. Через 15 дней выделить его обычными методами, как правило, не удастся. Поэтому патологический материал необходимо брать в начале вспышки (в первые 3-5 дней) и направлять в лабораторию в термосе со льдом. Внутренние органы можно помещать в стерильный 50%-ный р-р глицерина на дистиллированной воде. Смывы из трахеи и клоаки лучше консервировать на холоде или при температуре не выше 4°C. Мазки-отпечатки исследуют методом ФА, срезы - с помощью ЭМ или ИЭМ, а суспензию - в РГА. Это позволит выявить специфический АГ (вирус) и ГА-агент в течение 3-5 ч, определить направленность дальнейших исследований.

Заражение КЭ. Эмбрионы 9-11-дневного возраста заражают по 0,2 мл, не менее 10 КЭ на каждый материал, в аллантаическую полость общепринятым методом и инкубируют 72 ч при 37,5°C (погибших в первые 24 ч эмбрионов не учитывают). Если через 72 ч нет погибших КЭ, то 5 из партии зараженных убивают, оставляя их при 4°C на ночь. Остальные 5 КЭ инкубируют до 120 ч и затем убивают.

Неудачным оказался метод выделения вируса от зараженных иммунных кур: чем выше иммунитет у несушек, тем меньше вероятности выделения вируса из их эмбрионов. При исследовании большого количества полевых образцов на выделение вируса НБ можно использовать фрагменты ХАО, связанные с яичной скорлупой. Для этого фрагменты ХАО размером 0,6-1,0 см² культивируют в среде Игла. Эффективность выделения вируса 97%. При внесении вируса в среду культивирования или непосредственно на ХАО КЭ получены совпадающие результаты.

Заражение культуры клеток. Выделение вируса в культуре клеток осуществляется редко, так как культуральный вирус по ГА-активности значительно уступает эмбриональному. Однако в тех случаях, когда в лаборатории можно получить культуру фибробластов КЭ и специалисты владеют этим методом, его можно применять для выделения и идентификации вируса. Приготовление вирусной суспензии, выращивание и заражение культуры клеток куриных фибробластов производят общепринятым методом. Можно использовать перевиваемые линии ВНК-21 и Нер-2.

В зараженной культуре фибробластов КЭ вирус НБ через 48-60 ч вызывает ЦПИ, специфичность которых подтверждается реакцией гемадсорбции с эритроцитами кур. С вирусосодержащей культуральной жидкостью может быть поставлена РГА в отношении эритроцитов крови кур. Обычно при первичном выделении ГА-титр культурального вируса не превышает 1:32 - 1:128. Отсутствие или низкие титры ГА вируса в первом пассаже на культуре ткани не дают основания исключить НБ.

Заражение птиц. Если КЭ под руками нет, вирус можно выделить на неиммунной к НБ птице. Для этого испытуемый материал 1:10 (0,5 мл) внутримышечно инокулируют цыплятам в возрасте 2-4 мес. За инфицированной птицей наблюдают 10-12 дней. При появлении характерных для болезни симптомов птиц в атональном состоянии убивают и берут пробы головного мозга и селезенки, которые можно использовать для заражения КЭ и иммунологической пробы (для одновременного заражения птиц иммунной и неиммунной групп).

Титрование вируса. Обычно проводят на КЭ, культурах клеток по общепринятой методике и на 6-10 недельных цыплятах. Доза инокуляции вируса для цыплят 0,5 мл (внутримышечно или внутривенно). Срок наблюдения 15 дней.

61. Методы генетического взаимодействия вирусов. Негенетическое взаимодействие.

Взаимодействие вирусов между собой может происходить только при заражении одной клетки несколькими вирусами (смешанная инфекция). При этом характер взаимодействия в условиях смешанной инфекции может быть генетический и негенетический.

Генетические взаимодействия: 1. **Кросс-реактивация** - это тип рекомбинации между двумя вирусами, один из которых является неизменным (интактным), а другой - мутантным инактивированным. При этом в ходе рекомбинации происходит восстановление активности инактивированного вируса в следствие замены дефектных генов нормальными от интактного вируса. 2. **Множественная реактивация**. Представляет собой также тип рекомбинации, происходящий между двумя мутантными инактивированными вирусами. При этом, вирусы, взаимодействуя, передают друг другу недефектные гены с формированием полноценного генома. В обоих случаях реактивации образующиеся в процессе рекомбинации вирусные частицы называются вирусами-реактивантами. 3. **Пересортировка генов**. Это отдельный тип рекомбинации, происходящий между двумя родственными вирусами с сегментированными молекулами РНК. При этом происходит обмен либо целыми фрагментами РНК, либо отдельными генами, либо отдельными участками генов, однако в любом случае при рекомбинации участвует недефектный генетический материал. Образующиеся в процессе рекомбинации вирусы называют вирусами-реассортантами. 4. **Гетерозиготность** - нестойкое объединение нуклеиновых кислот двух вирусов под одним капсидом. Образующиеся при этом вирусные частицы называют вирусами-гетерозиготы.

Негенетические взаимодействия. 1. **Комплементация**. При этом дефектный (мутантный) по функциональному белку вирус не способен к собственной репродукции и требует помощника. В этом случае вирусом - помощником может являться как родственный недефектный вирус, так и биологически неродственный вирус (лейкоз птиц и вирус саркомы Рауса). 2. **Негенетическая реактивация**. В случае проникновения в клетку вместе с полноценным живым вирусом дефектного по структурному белку инактивированного вируса возможна репродукция последнего. При этом живой вирус, используя собственные ферменты, раздевает инактивированный вирус, после чего начинается репликация его нуклеиновой кислоты. 3. **Фенотипическое смешивание (транскарпсидация)**. Является разновидностью гибридизации, при которой полноценный геном одного вируса в процессе сборки заключаются в белковую оболочку (капсид) другого вируса. В этом случае образующиеся вирусы-гибриды являются генетически полноценными, то есть содержат неизмененный геном исходного вируса. При всех способах взаимодействия вирусов между собой явления, при которых происходит подавление активности одного вируса другим, условно называют интерференцией. Взаимодействия вирусов, при которых происходит повышение активности участвующих вирусов, называют экзальтацией.

62. Принцип работы электронного микроскопа, разрешающая способность, приготовление препаратов.

1. В электронном микроскопе образец облучается пучком электронов. Длина же электронной волны значительно меньше, чем световой. Соответственно, волна “чувствует” меньшие препятствия: разрешающая способность микроскопа оказывается выше. 2. Конструктивная особенность состоит в том, что в электронном микроскопе в качестве линз используются электромагнитные катушки. **Типы электронных микроскопов** трансмиссионные (просвечивающие) и сканирующие (растровые). **1. При трансмиссионной микроскопии** пучок электронов проходит через изучаемый объект, и в результате получается плоскостное изображение объекта. **2. При сканирующей микроскопии** на поверхность объекта вначале наносится металлическое напыление, а в ходе микроскопии электронный пучок последовательно “пробегаёт” по всем точкам поверхности объекта (сканирует поверхность), выбивая из напылённого вещества вторичные электроны (бета-лучи). Последние формируют пространственное изображение поверхности. **3. Особенности приготовления препарата. 1. Взятие материала и фиксация** Материал берут очень маленькими кусочками (порядка 1 мм³), а фиксацию осуществляют обычно в 2 стадии: вначале глутаральдегидом (стабилизация белков), затем - четырёхокисью осмия (стабилизация фосфолипидов и контрастирование ткани). **2. Уплотнение материала** 1. Образцы, как обычно, обезвоживают, а для их дальнейшего уплотнения используют эпоксидные смолы. 2. а) Заливку производят в специальных формах, б) затвердевание смеси происходит путём её полимеризации в термостате, в) и затвердевшие блоки имеют вид маленьких свечей. **3. Приготовление срезов** 1. Срез делают с помощью ультратома; их толщина - 30-50 нм (ср. с микротомными срезами - 10.000 – 20.000 нм). 2. Затем их переносят на сеточки (играющие роль предметного стекла). **4. Окрашивание срезов** 1. а) Окрашивание срезов сводится к их контрастированию с помощью солей тяжёлых металлов (свинца, вольфрама, урана). б) Эти соли осаждаются на фосфолипидах мембран и поглощают электроны. 2. Поэтому соответствующие места клетки выглядят более тёмными.

63. Вирус парагриппа КРС.

Остро протекающая контагиозная болезнь, характеризующаяся поражением органов дыхания различной тяжести - от легких ринитов и бронхитов до тяжелой бронхопневмонии. Наблюдают бессимптомную латентную инфекцию без признаков поражения дыхательной системы. У стельных коров инфекция может привести к внутриутробному заражению плода, абортam или мертворождениям. **Возбудителем** является вирус семейства *Paramyxoviridae*, рода *Paramyxovirus*. Геном возбудителя представлен минус-нитью РНК. На поверхности вириона присутствует гликопротеин, обладающий одновременно гемагглютинирующей и нейраминидазной активностью (NH). Внутренний белковый компонент вириона – рибонуклеопротеид. Все штаммы вируса ПГ в антигенном отношении однородные, поэтому антигенной вариабельности среди вирусов ПГ не выявлено. **Лабораторную диагностику** проводят параллельно с исследованием материала на аденовирусную инфекцию, респираторно-синцитиальную инфекцию, инфекционный ринотрахеит и вирусную диарею из-за сходства их клинических признаков (группа заболеваний, называемых пневмоэнтеритами). **Отбор патматериала.** В лабораторию направляют материал, взятый в течение первых 2-3 дней болезни, берут 15-20 проб следующего материала: - смывы со слизистой оболочки носовой полости путем введения - **смывы с конъюнктивы; - смывы со слизистой оболочки прямой кишки. От животных, убитых с диагностической целью, берут кусочки легких и бронхов** (на границе пораженных и здоровых участков), **селезенки, лимфоузлов.** Подготовку материала для исследования проводят по общей схеме. Она включает **центрифугирование жидкого материала при 1000 об/мин в течение 10-15 минут, обработку надосадочной жидкости антибиотиками.** В дальнейшем надосадочную жидкость используют для выделения вируса., **Лабораторная диагностика ПГ**-может проводиться по следующим направлениям: - **обнаружение вируса в патологическом материале методом РИФ; - выделение возбудителя на культурах клеток и его идентификация; - выявление специфических антител в крови животных. Обнаружение вируса**-путем постановки **РИФ. В положительном случае вирус** обнаруживают в **цитоплазме пораженных клеток. Выделение вируса.** для выделения используют первичные субкультуры: **ПЭК, ЛЭК, ПТ, ТБ. Идентификацию** вируса проводят серологическими реакциями - **РТГАд, РТГА.** Последнюю применяют для типирования выделенного на культуре клеток гемадсорбирующего вируса. В реакции возможно использование только эритроцитов морских свинок, гусей и индюков. При этом гемагглютинация наступает через 60-90 минут, 1-3 минуты и 2-5 минут соответственно. **Выявление антител** проводят в серологических **реакциях РТГА, РТГАд.** Положительным результатом считают 4-кратное и более увеличение титра антител при исследовании парных проб сывороток крови или носовых секретов.

64. Природа вирусов. Признаки живого и неживого.

Вирусы =НК(нуклеиновая кислота) + белок. **Вирусы** – ультрамикроскопические организмы, обладающие только одним типом нуклеиновых кислот, лишённые собственных систем синтеза белка и мобилизации энергии. Вирусы являются **облигатными паразитами**, так как не способны **размножаться** вне клетки. Вне клетки вирусные частицы не проявляют признаки **живого** и ведут себя как частицы **биополимеров.** **Основные отличия вирусов от других форм жизни:** Ультрамикроскопические размеры; Содержат только один тип нуклеиновой кислоты (либо РНК, либо ДНК); Отсутствуют собственные белоксинтезирующие системы, автономный метаболизм; Не способны к росту и бинарному делению; Репродуцируются дизъюнктивным способом - разобщенность в пространстве и во времени синтеза вирусных компонентов; Облигатные внутриклеточные паразиты на молекулярно-генетическом уровне; Присуща изменчивость, что ведет к появлению новых инфекционных агентов; **Признаки живого.** Способны размножаться, используя клетку; Присуща наследственность, изменчивость; Способны эволюционировать. **Признаки неживого:** Неклеточная организация; Отсутствие метаболизма; Дизъюнктивный (разобщенный) способ размножения; Способны кристаллизоваться. **Формы существования вирусных агентов** Внеклеточная – вирион; Внутриклеточная – вирус.

65. Методы получения противовирусных вакцин.

Вакцина представляет собой биологический препарат, приготовленный из возбудителей инфекции, лишённых патогенных свойств, но сохранивших иммуногенные свойства. При изготовлении вакцин для получения вирусосодержащего материала используют живые биологические системы, чувствительные к вирусам: животных, куриные эмбрионы, культуры клеток. В зависимости от биологической системы, используемой для культивирования вакцинного штамма вируса, различают тканевые, авинизированные, культуральные вакцины. **Тканевые вакцины** в своей основе содержат какую-либо ткань животных, в которой размножился и накапливался вакцинный вирус. Например, вакцину против бешенства готовили из мозговой ткани овец, зараженных пастеровским вирусом-фикс бешенства, лапинизированную вакцину против ящура — из тканей крольчат, зараженных адаптированным к ним вакцинным штаммом. Количество тканевых вакцин постепенно сокращается. **Авинизированные вакцины** готовят из эмбриональных жидкостей и тканей развивающихся эмбрионов птиц, зараженных вакцинным штаммом. Наиболее часто для этих целей используют эмбрионы кур, реже уток и японских перепелов, например, для получения вакцин против гриппа птиц, болезни Ньюкасла, гепатита утят и др. **Культуральные вакцины** готовят из зараженных культур клеток или переживающих тканей, при этом применяют роллерный (используют вращающиеся бутылки) или суспензионный (глубинный — используют реакторы) методы культивирования клеток и тканей. Это наиболее перспективный и прогрессивный метод получения вакцин. Таким методом готовят, например, вакцины против инфекционного ринотрахеита, парагриппа-3 крупного рогатого скота, ящура, чумы крупного рогатого скота и др. В зависимости от видовой принадлежности вакцинного штамма различают гомологические и гетерологические противовирусные

вакцины. **Гомологические вакцины** готовят из того вида вируса, против которого предполагается создать иммунитет, например, вакцины против вирусной диареи, чумы крупного рогатого скота, бешенства и др. Большинство вирусных вакцин — гомологические. **Гетерологические вакцины** готовят из вирусов другого вида, но имеющих в своем составе сходные антигены и обладающих перекрестной иммуногенностью. Например, вакцину против оспы кур готовят из вируса оспы голубей, вирус герпеса индеек используют для защиты кур от болезни Марека, вирус кори — для защиты собак от чумы плотоядных и т. д. В зависимости от количества типов или видов возбудителей, включенных в состав вакцины, различают моновалентные, поливалентные, ассоциированные и смешанные вакцины. **Моновалентные вакцины** содержат антигены одного типа (вида) вируса. **Поливалентные вакцины** (бивалентные, трехвалентные и т. д.) готовят из нескольких типов одного вируса. Например, трехвалентную противоящурную вакцину получают из трех типов вируса ящура — А, О и С. **Ассоциированные вакцины** содержат антигены возбудителей разных видов, например, вакцина «Бивак» — против инфекционного ринотрахеита и парагриппа-3 крупного рогатого скота, «Тетрапак» — против чумы, аденовируса, инфекционного гепатита и парвовирусного энтерита собак. **Смешанные вакцины** представляют собой смесь вирусных и бактериальных антигенов, например, вакцина против чумы плотоядных, ботулизма и вирусного энтерита собак.

В зависимости от жизнеспособности (способности к репродукции) вируса, входящего в состав вакцины, все противовирусные вакцины подразделяют на живые и инактивированные. **Живые вакцины это** биологические препараты, содержащие штаммы вирусов, утратившие способность вызывать клинически выраженное заболевание, но сохранившие способность репродуцироваться в организме восприимчивого животного и стимулировать выработку специфических факторов противовирусного иммунитета (антител). Для изготовления живых вакцин используют селекционированные естественные, аттенуированные и гетерологические штаммы вирусов. **Естественные** (выделенные из природы) авирулентные или слабовирулентные штаммы - это спонтанные мутанты, утратившие способность вызывать заболевание, но сохранившие иммуногенные свойства. **Аттенуированные**, т. е. ослабленные экспериментатором штаммы это индуцированные мутанты. Их получают в лабораториях путем целенаправленного воздействия на эпизоотические штаммы различными физическими и химическими мутагенами или чаще путем пассажей вирулентного вируса через гетерологические (маловосприимчивые) биологические системы. **Инактивированными вакцинами** являются все вакцины, содержащие убитый неактивный вирус. В инактивированных вакцинах вирусный геном должен быть инактивирован полностью, поэтому основное требование в технологии получения инактивированных вакцин — *необратимая инактивация генома* при максимальном сохранении антигенов. Применяемый с этой целью инактивирующий фактор должен повреждать нуклеиновую кислоту и в минимальной степени затрагивать белки и полисахариды. Для этого используют формальдегид, гидроксилламин, β-пропионлактон, УФЛ, температура. Технология получения инактивированных вакцин требует большего по сравнению с живыми вакцинами количества вируса

66. Лабораторная диагностика бешенства.

Лабораторная диагностика бешенства включает: - обнаружение специфических телец-включений Бабеша-Негри при гистологическом исследовании; - выявление вирусного антигена в реакции иммунофлуоресценции; - выявление вирусного антигена в реакции иммунодиффузии; - постановку биопробы на белых мышах. **Обнаружение специфических телец-включений** проводят после окраски зафиксированных препаратов из левой и правой сторон головного мозга (аммоновы рога, мозжечок, кора полушарий, продолговатый мозг) по Селлерсу или Муромцеву. При этом тельца Бабеша-Негри по окраске по Селлерсу выглядят как четко очерченные овальные или продолговатые гранулярные образования розовокрасного цвета в цитоплазме, при окраске по Муромцеву — в виде темно-синих гранулярных образований, чаще расположенных вне нервных клеток. **Постановка РИФ.** Одновременно с исследованием на обнаружение телецвключений вторую часть мазков исследуют в реакции иммунофлуоресценции. В диагностической практике проводят прямой метод РИФ с применением антирабического флуоресцирующего иммуноглобулина. Фиксацию препарата осуществляют в охлажденном (8-10°C) ацетоне на срок не менее 4 часов. Антиген вируса бешенства выявляется в виде ярких желто-зеленых или зеленых гранул различной формы и величины в клетках или (чаще) вне клеток. Диагноз на бешенство считается установленным при обнаружении в нескольких полях зрения достаточного количества (не менее 10) типичных гранул с характерным свечением или множества мельчайших точек. В случае получения отрицательных результатов гистологического и серологического (в РИФ) исследований проводят постановку РИД с целью выявления антигена и постановку биопробы. **Постановку РИД** проводят микрометодом на предметных стеклах, используя 1-1,5%-ный агаровый гель по общепринятой методике. Антигеном для реакции служат измельченные пинцетом в гомогенную пастообразную массу кусочки головного мозга. При этом антиген помещают в 4 отдельные центральные лунки: материал с аммоновых рогов, коры полушарий, мозжечка и продолговатого мозга. При получении отрицательного результата окончательный диагноз ставят по результатам биопробы. **Биопробу** проводят на 6-10 молодых мышатах массой 16-20 г или мышатах-сосунах массой 6-8 г, причем последние являются более чувствительными к вирусу. Перед постановкой биопробы из оставшегося материала готовят 10%-ную суспензию по общепринятой методике. Половину из используемых в эксперименте мышей заражают интрацеребрально в дозе 0,015 – 0,03 мл, а остальных — подкожно в верхнюю губу в дозе 0,1-0,2 мл. Ежедневное наблюдение за мышами ведут в течение 30 дней, причем гибель в первые 48 часов после заражения не учитывается. Экспериментальная инфекция у мышей характеризуется появлением симптомов, включающих взъерошенность шерсти, горбатость спины, нарушение координации движения, параличи задних, а затем и передних конечностей, после чего наступает гибель животного. У павших животных исследуют головной мозг на наличие телец Бабеша-Негри, в РИД и РИФ. По результатам биопробы ставят окончательный диагноз. **Ретроспективную серодиагностику** бешенства не применяют вследствие значительной сероконверсии вируса и высокой смертностью больных животных, а характер изменения титра антител исследуют только для оценки поствакцинального иммунитета. В мировой практике при осуществлении международной торговли животными проводят диагностику инфекции реакцией нейтрализации в культуре клеток или твердофазным ИФА

67. Методы идентификации вирусов в культуре клеток.

При выделении вирусов из различных инфекционных материалов от больного (кровь, моча, фекалии, слизистые отделяемые, смывы из органов) применяют культуры клеток, обладающие наибольшей чувствительностью к предполагаемому вирусу. Для заражения используют культуры в пробирках с хорошо развитым монослоем клеток. Перед заражением клеток питательную среду удаляют и в каждую пробирку вносят по 0,1–0,2 мл взвеси испытуемого материала, предварительно обработанного антибиотиками для уничтожения бактерий и грибов. После 30–60 мин. контакта вируса с монослоем клеток удаляют избыток материала, в культуру клеток вносят поддерживающую среду и пробы оставляют в термостате до выявления признаков размножения вируса.

Индикатором наличия вируса в зараженных таким образом культурах клеток может служить:

1. развитие специфической дегенерации клеток — цитопатическое действие вируса (ЦПД), имеющее три основных типа: кругло- или мелкоклеточная дегенерация; образование многоядерных гигантских клеток (симпластов); развитие очагов клеточной пролиферации, состоящих из нескольких слоев клеток;
2. обнаружение внутриклеточных включений, располагающихся в цитоплазме и/или в ядрах пораженных клеток;
3. положительная реакция гамагглютинации (РГА) или гемадсорбции (РГАдс);
4. феномен бляшкообразования: монослой зараженных вирусом клеток покрывается тонким слоем агара с добавлением индикатора нейтрального красного (фон — розовый). При наличии вируса в клетках образуются бесцветные зоны («бляшки») на розовом фоне агара.
5. при отсутствии ЦПД, ГА или ГАдс. можно использовать реакцию интерференции: исследуемая культура повторно заражается вирусом, вызывающим ЦПД. В положительном случае ЦПД будет отсутствовать (реакция интерференции положительная). Если в исследуемом материале вируса не было, наблюдается ЦПД.

68. Принцип и практическое использование РТГА

Одной из простейших серологических реакции является **реакция торможения гемагглютинации**. Она основана на том, что АТ при встрече с гомологичным АГ нейтрализуют не только его инфекционную, но и гемагглютинирующую активность, т.к. блокируют рецепторы вирионов, ответственные за гемагглютинацию, образуя с ними комплекс «АГ+АТ». **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 расценивается как признак взаимодействия АТ сыворотки и вируса. РТГА позволяет решать следующие задачи: определять титр АТ к гемагглютинирующему вирусу в сыворотке; идентифицировать неизвестный гемагглютинирующий вирус по известным сывороткам; установить степень АГ родства двух вирусов. **Достоинства РТГА**: простота техники, быстрота, не требуется стерильной работы, специфичность, дешевизна. **Недостаток РТГА**: возможна только с гемагглютинирующими вирусами. Принцип титрования АТ в РТГА состоит в следующем: готовят ряд последовательных (обычно 2-х кратных) разведений исследуемой сыворотки в одинаковых объемах (чаще по 0,25 или 0,2 мл); к каждому разведению добавляют такие же объемы гомологичного вируса в титре 4 ГАЕ; смеси выдерживают определенное время при определенной температуре, ко всем смесям добавляют равные объемы 1-% суспензии отмытых эритроцитов; после экспозиции оценивают гемагглютинацию в каждой смеси в крестах.

69. Вирус европейской(классической) чумы свиней.

Классическая чума свиней - инфекционная болезнь, характеризующаяся поражением кровеносной и кроветворной систем, крупозным воспалением легких и крупозно-дифтеритическим воспалением толстого кишечника. вирус рода Pestivirus семейства Flaviviridae, РНК его вириона заключена в белковый капсид, покрытый липидным слоем. В зависимости от вирулентности вируса, а также иммунного статуса организма классическая чума свиней может протекать в сверхострой, острой, подострой и хронической формах. Сверхострое течение, типичное только для молодых животных, характеризуется быстрым течением, высокой лихорадкой и быстрой гибелью. Острое течение, проявляющееся обычно в начале эпизоотии, характеризуется лихорадкой, угнетением, поносами, рвотой, слизисто-гнойным ринитом, появлением пустул на коже, супоросные свиноматки abortируют. Классическая чума свиней в хронической форме протекает как сочетанная вирусно-бактериальная инфекция. В этом случае в патологический процесс обычно вовлекаются сальмонеллы (кишечная форма чумы, характеризующаяся крупозно-дифтеритическим тифлоколитом) или пастереллы (легочная форма с гнойно-фибринозным воспалением легких). Кроме клинически выраженной формы чумы болезнь может протекать субклинически, что наблюдается в случае внутриутробного заражения поросят, что происходит в случае размножения вирулентных штаммов вируса в организме свиноматок, привитых инактивированными вакцинами. Рождающиеся от таких свиней поросята отстают в росте, постоянно выделяют вирус во внешнюю среду или гибнут в возрасте 3-8 недель. Возможна длительная персистенция вируса в организме поросят, зараженных трансплацентарно от хронически больных свиноматок, что способствует появлению стационарных очагов чумы свиней. Культивирование вируса проводят на различных линиях культур клеток, наиболее приемлемой из которых является линия РК-15 (перевиваемая культура почки поросенка). При культивировании в культурах клеток развитие выраженного ЦПД обнаружить не удастся - индикацию вируса и его титрование проводят с помощью метода иммунофлуоресценции. Эта реакция позволяет также проводить дифференциацию вакцинного и эпизоотического штамма - последние выявляются в РИФ уже через 24 часа после заражения Отбор патматериала осуществляют в первые 2 часа после гибели или убоя больного животного. Материал в виде проб крови, кусочков селезенки, миндалин, лимфоузлов, грудной кости, почек и легких помещают в стерильные флаконы и закрывают резиновыми пробками. лимфоузлов, селезенки, почек и миндалин, а из проб костного мозга и лейкоцитарного концентрата - мазки. Последний готовят путем отстаивания в течение 1 часа стабилизированной крови и центрифугирования образовавшейся в верхнем слое после отстаивания плазмы. Образующийся беловатый осадок представляет собой лейкоциты. Лабораторная диагностика классической чумы свиней включает: - обнаружение вируса в первичном материале с последующим его выделением на культурах клеток; - постановка биопробы на поросятах; - обнаружение специфических антител в сыворотках крови свиней. Первичное обнаружение вируса в патматериале производится путем постановки РИФ, в которой исследуют мазки из костного мозга или лейкоцитов, реже - гистосрезы. При этом зафиксированный препарат обрабатывают флуоресцирующим конъюгатом в смеси с красителем Эванса (3:1). Специфическое зеленое свечение в цитоплазме даже в отдельных клетках препарата на красно-оранжевом фоне дает право на постановку предварительного диагноза. Выделение вируса осуществляют путем заражения перевиваемой культуры клеток РК-15, выращенной на стеклянной пластине. Вирус классической чумы свиней в культурах клеток ЦПД не вызывает, поэтому индикацию вируса проводят методом иммунофлуоресценции через 24-96 ч инкубации клеточного монослоя. При совпадении результатов РИФ при исследовании патматериала и культуры клеток можно ставить окончательный диагноз. Биопроба при диагностике классической чумы свиней заключается в подкожном заражении поросят 2-3-месячного возраста суспензией патматериала в количестве 2 мл. При этом проводят одновременное заражение неиммунных поросят и поросят, предварительно привитых против классической чумы свиней (по три поросенка). Положительный результат биопробы характеризуется развитием клинически выраженной формы болезни у двух или трех неиммунных поросят и отсутствием клинического проявления болезни у иммунизированных животных. В этом случае ставят окончательный диагноз на классическую чуму свиней. Для выявления специфических антител в сыворотке крови свиней используют РНГА, РДСК, РНИФ, ИФА.

70. Химический мутагенез.

Мутагенез — это внесение изменений в нуклеотидную последовательность ДНК (мутаций). Механизм мутагенеза Последовательность событий приводящая к мутации (внутри хромосомы) выглядит следующим образом: Происходит повреждение ДНК.

В случае, если повреждение произошло в незначительном (интрон) фрагменте ДНК, то мутации не происходит.

В случае если повреждение произошло в значащем фрагменте (экзон), и произошла корректная репарация ДНК, или вследствие вырожденности генетического кода не произошло нарушения, то мутации не происходит.

Только в случае такого повреждения ДНК, которое произошло в значащей части, которое не было корректно репарировано, которое изменило кодировку аминокислоты, или которое привело к выпадению части ДНК и соединению ДНК вновь в единую цепь — то оно приведет к мутации.

Мутагенез на уровне генома также может быть связан с инверсиями, делециями, транслокациями, полиплоидией, и анеуплоидией, удвоением, утроением (множественной дубликацией) и т. д. некоторых хромосом.

Подавляющее число мутаций неблагоприятно или даже смертельно для организма, так как они разрушают отрегулированный на протяжении миллионов лет естественного отбора целостный генотип. Однако мутации возникают постоянно, и способностью мутировать обладают все живые организмы. У каждой мутации есть какая-то причина, хотя в большинстве случаев мы не можем ее определить. Однако число мутаций можно резко увеличить, воздействуя на организм так называемыми мутагенными факторами.

Химические мутагены

Предложено три классификации химических мутагенов:

Рехборна, Фриза, Раппопорта.

Фриз предложил разделить мутагены на две основные группы:

1) мутагены, реагирующие с нуклеиновой кислотой только во время ее репликации;

2) мутагены, вступающие в реакцию с покоящейся молекулой нуклеиновой кислоты, но требующие для формирования мутаций последующих ее репликаций.

В основе молекулярных изменений вирусной нуклеиновой кислоты, приводящих к мутации, лежат два основных процесса: замена основания или вставка основания. Различают два типа замены оснований: простую (транзигация) — на место одного пуринового основания встает другое или одно пиримидиновое основание заменяется другим; сложную (трансверсия) — вместо пуринового основания появляется пиримидиновое или пиримидиновое основание заменяется пуриновым. Вставка основания — ведет более к глубоким изменениям генетического кода, чем простая замена оснований. В то же время основой изменения генетического признака, имеющего одно и то же фенотипическое выражение, могут быть мутационные повреждения различных генов.

Кроме простых замен, алкилирующие агенты способны индуцировать сложные замены — пурин на пиримидин. Мутагенное действие этих соединений было показано с вирусами ньюкаслской болезни и клещевого энцефалита.

Гидроксиламин индуцирует мутации по типу образования простых замен оснований в нуклеиновой кислоте, направление которых зависит от типа нуклеиновой кислоты, которую содержит вирус. С помощью гидроксиламина были индуцированы мутации у вирусов герпеса, ньюкаслской болезни, полиомиелита.

В последнее время был синтезирован и изучен один из аналогов гидроксиламина — оксиметилгидроксиламин (ОМГА), реагирующий только с цитозином, но не с урацилом РНК, а следовательно, обладающий более высокой специфичностью и одной направленностью мутагенного действия.

Для вирусов человека и животных мутагеном является и формальдегид, с помощью которого были индуцированы мутанты у вируса полиомиелита и вируса западного энцефаломиелиталошадей при воздействии на очищенную РНК и внутриклеточный вирус.

Механизм мутагенного действия формальдегида недостаточно изучен.

Механизм действия азотистой кислоты (HNO_2) как мутагена на нуклеиновые кислоты заключается в дезаминировании органических оснований, т. е. отщеплении от их молекул аминогруппы (NH_2).

71. Явление геммагглютинации, его использование в вирусологии.

В основе РГА лежит способность эритроцитов склеиваться при адсорбции на них определенных антигенов. В качестве исследуемого материала при геммагглютинации используют аллантоисную, амниотическую жидкость, суспензию хорионаллантоисных оболочек куриных эмбрионов, взвеси и экстракты из культур или органов животных, зараженных вирусами, нативный инфекционный материал. РГА не является серологической, поскольку происходит без участия иммунной сыворотки и используется для выбора рабочего разведения антигена для постановки РТГА или наличия антигена (вируса) в исследуемом материале (например, при гриппе). В реакции используются эритроциты животных, птиц, человека I (0) группы крови.

Для постановки ориентировочной РГА на предметное стекло наносят каплю 5% взвеси эритроцитов и каплю испытуемого материала, тщательно смешивают. При положительном результате через 1-2 минуты макроскопически наблюдают появление хлопьевидной агглютинации эритроцитов.

Для постановки РГА в развернутом ряду в лунках полистероловых планшетов готовят двукратно возрастающие разведения исследуемого материала на физиологическом растворе в объеме 0,5 мл. Во все пробирки вносят по 0,5 мл 0,25 - 1% взвеси эритроцитов. Результаты учитывают после полного оседания эритроцитов в контроле (эритроциты + физиологический раствор). Реакцию учитывают по характеру осадка эритроцитов. В положительных случаях степень агглютинации отмечают плюсами. Четырьмя плюсами оценивают реакцию, имеющую вид тонкой пленки из склеившихся эритроцитов, покрывающей дно пробирки (зонтик), реакцию с просветами в пленке отмечают тремя плюсами, наличие пленки с фестончатыми кружевными краями из склеившихся эритроцитов обозначают двумя плюсами, хлопьевидный осадок эритроцитов, окруженный зоной комочков агглютинированных эритроцитов соответствует одному плюсу. Резко очерченный осадок эритроцитов, неотличимый от контроля показывает отсутствие агглютинации. За титр принимают предельное разведение исследуемого материала, вызвавшее агглютинацию эритроцитов на два плюса.

При положительном результате РГА исследование продолжают, определяя тип выделенного вируса с помощью реакции торможения геммагглютинации типоспецифическими сыворотками.

РТГА основана на свойстве антисыворотки подавлять вирусную геммагглютинацию, так как нейтрализованный специфичными антителами вирус утрачивает способность агглютинировать эритроциты. При ориентировочном типировании вирусов используют капельный метод на стекле. Для окончательного установления типовой принадлежности выделенного вируса и титрования антител в сыворотках ставят развернутую РТГА в пробирках или в лунках. С этой целью готовят двукратные разведения сывороток на физиологическом растворе и разливают по 0,25 мл. К разведениям сыворотки прибавляют по одной капле материала, содержащего вирус и по одной капле 1% взвеси эритроцитов.

При использовании РТГА для определения типа вируса, используют типоспецифические сыворотки, которые добавляют к равному объему рабочего разведения антигена. Типовую принадлежность выделенного вируса устанавливают по специфической иммунной сыворотке, показавшей наивысший титр антител к этому вирусу.

РГА и РТГА широко применяется для диагностики вирусных инфекций (клещевой энцефалит, грипп и др.) с целью обнаружения специфических антител и для идентификации многих вирусов по их антигенам.

72. Вирус африканской чумы свиней.

Африканская чума свиней - острая, высоко контагиозная болезнь, характеризующаяся явлениями острого токсикоза, некробиозом клеток лимфоидной ткани, появлением в органах тромбозов, кровоизлияний и заканчивающаяся почти всегда смертельно. Клиническая картина, а также длительность течения при африканской чуме свиней аналогична классической чуме свиней. Однако в патологический процесс в бо степени вовлечена дыхательная система, чем пищеварительная, и, кроме того, воспаление внутренних органов носит ярко выраженный геморрагический характер. Хроническое течение характеризуется длительным персистированием вируса внутри организма свиней. Гибель при хронической форме болезни наступает после вовлечения в инфекционный процесс легких. Латентное течение характерно для естественных носителей вируса – диких свиней, которые являются пожизненными выделителями вируса во внешнюю среду. Особенностью эпизоотического процесса при африканской чуме свиней является постоянное присутствие резервуара возбудителя – отдельных видов клещей, в организме которых вирус длительно сохраняется и даже размножается. Инфицирование вирусом клещей, а также передача его здоровым свиньям происходит в процессе кровососания. Присутствие резервуара возбудителя инфекции в эпизоотическом процессе обуславливает длительную стационарность эпизоотических очагов и постоянное сохранение возбудителя в природе. Возбудителем африканской чумы свиней является вирус из семейства *Asfarviridae*, рода *Asfarvirus*. Данный род включает исключительно возбудителя африканской чумы свиней. Это ДНК-геномный вирус, репродукция которого происходит в цитоплазме с образованием специфических паракристаллических телец-включений в конце инфекционного цикла. Вирус реплицируется в макрофагах, а также может содержаться в высоких титрах в эритроцитах свиней. У вируса сложная антигенная структура: он содержит комплементсвязывающий, преципитирующий и гемадсорбирующий антигены. При этом белки первых двух антигенов не подвержены изменчивости и являются схожими у всех штаммов вируса, изолируемых от свиней в различных географических местах. В этой связи реакциями связывания комплемента и иммунодиффузии выявляют антителя, общие для всех вирусов африканской чумы свиней. Поверхностные суперкапсидные белки, отвечающие за феномен гемадсорбции на поверхности инфицированной культуры клеток, отличаются значительной вариабельностью, то есть гемадсорбирующий антиген у вируса является типоспецифическим. По результатам РТГАд выделено три антигенные группы, обозначенные как А, В и С, причем в пределах этих групп выявлено большое число серотипов. В редких случаях изолируют отдельные штаммы вируса, не обладающие гемадсорбирующими свойствами даже после длительной адаптации их на культуре клеток. Установлена прямая корреляция между активностью специфической гемадсорбции и вирулентностью вируса африканской чумы, а также между титром вируса в исследуемом материале и временем появления гемадсорбции на поверхности инфицированной культуры клеток. Особенностью вируса африканской чумы свиней является его неоднородность даже в пределах одной популяции. Он представляет собой гетерогенную популяцию, состоящую из клонов, отличающихся по признакам гемадсорбции, вирулентности, инфекционности, антигенным свойствам, причем изменение отдельных биологических характеристик может наступать даже в ходе одного цикла культивирования *in vitro*. В этой связи при оценке эпизоотического штамма, изолируемого от свиней в ходе одной эпизоотической вспышки, принимают во внимание характеристики доминирующего в популяции клона с наибольшей вирулентностью. Лабораторная диагностика. Основанием для подозрения африканской чумы свиней может служить возникновение заболевания с быстрым течением и высокой смертностью среди свинополовья, привитого против классической чумы свиней. В лабораторной диагностике африканской чумы свиней главным является дифференциация болезни против классической чумы свиней. Отбор патматериала проводят от погибших или вынужденно убитых животных. Обязательным материалом для взятия являются пробы крови и селезенки, так как нахождение вируса в этих тканях является постоянным при всех формах болезни. В лабораторию также направляют ткани сердца, легких, печени, почек, миндалин и лимфоузлов. Пробу берут кусочками массой 10-15 г и помещают во флаконы, которые затем заключают в термос с охлаждающей жидкостью. Подготовка материала заключается в приготовлении 20%-ной суспензии из проб внутренних органов на физиологическом растворе или растворе Хенкса. После этого суспензию центрифугируют при 1-2 тыс об/мин, к надосадочной жидкости добавляют антибиотики (по 500 ЕД/мл) пенициллина и стрептомицина, выдерживают 2 часа при комнатной температуре и используют для заражения культур клеток. Пробу крови дефибринируют. Из проб внутренних органов готовят мазки-отпечатки для исследования в РИФ. Лабораторную диагностику африканской чумы свиней проводят по следующим направлениям: - обнаружение вируса в патматериале с подтверждением диагноза путем выделения вируса на культуре клеток и его идентификацией; - постановки биопробы на подсвинках; - обнаружение специфических антител в сыворотке крови. Первичное обнаружение вируса в патматериале производится путем постановки РИФ. Обязательным в реакции является постановка отрицательно-го контроля с использованием иммунных сывороток против классической чумы свиней. Специфическое свечение наблюдается в виде отдельных гранул, диффузного скопления или включений. В препаратах из лимфоузлов и селезенки антиген содержится в цитоплазме лимфоидных клеток в форме отдельных зеленых гранул, гомогенных желтовато-зеленых округлых или бобовидных включений, а также в виде диффузного зеленого свечения всей цитоплазмы. Первичное обнаружение вируса можно также проводить путем постановки РСК и РИД. В качестве антигена используют надосадочную жидкость, образующуюся после центрифугирования суспензии из внутренних органов. Для ее получения проводят экстрагирование суспензии из внутренних органов смесью ацетона и эфира. Однако удовлетворительные результаты реакции получают только при диагностике острого течения болезни - при хроническом и

73. строение куриных эмбрионов и методы их экспериментального заражения.

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

Заражение куриных эмбрионов проводят в боксе с использованием стерильных инструментов. Перед заражением куриные эмбрионы двукратно протирают ватным тампоном, смоченным спиртом.

Заражение на хорион-аллантоисную оболочку. После дезинфекции яйца осторожно срезают кусочек скорлупы с тупого конца, снимают подскорлупную оболочку - при этом обнаруживается хорион-аллантоисная оболочка. Инфекционный материал в количестве 0,1-0,2 мл при помощи шприца или пастеровской пипетки наносят на хорион-аллантоисную оболочку. После заражения отверстие закрывают колпачком и просвет между ним и куриным эмбрионом заливают парафином. На другой стороне яйца простым карандашом пишут название инфекционного материала и дату заражения

Заражение в амниотическую полость. Яйцо овоскопируют и на боковой стороне выбирают участок, где хорион-аллантоис лишен крупных кровеносных сосудов. Этот участок отмечают карандашом. Яйца укладывают на подставку в горизонтальном положении, дезинфицируют и специальным стерильным копьём прокалывают отверстие и скорлупе на глубину 2-3 мм, через которое вводят на

это же расстояние иглу с инфекционным материалом непосредственно в амниотическую полость. Для того чтобы вводимая жидкость не вытекала обратно, предварительно делают прокол над воздушным мешком. После чего оба отверстия заливают парафином.

Заражение в аллантаическую полость. Заражение производят в затененном боксе. Отмечают воздушное пространство, скорлупу над воздушным пространством дезинфицируют и через отверстие в скорлупе вводят по направлению к эмбриону иглу шприца с материалом. Если игла попала в аллантаическую полость, то наблюдается смещение тени эмбриона. После заражения отверстие заливают парафином.

Заражение, в желточный мешок. Скорлупу дезинфицируют. Яйцо помещают на подставку тупым концом вправо так, чтобы желточный меток был обращен вверх. Над воздушной камерой в центре прокалывают отверстие. Через отверстие в скорлупе в горизонтальном направлении на глубину 2-3 мм вводят иглу шприца, которая попадает в желточный мешок. Материал вводят в объеме 0,2-0,3 мл. После введения материала отверстие парафинируют.

Температурный режим и длительность инкубации зависят от биологических свойств данного вируса. Инфицированные яйца ежедневно проверяют, овоскопируют для проверки жизнеспособности эмбриона. Если эмбрионы погибают в первые сутки, то причиной этого обычно бывает травма при заражении. Такие яйца выводят из опыта. Наличие вируса в зараженном эмбрионе определяют по характерным изменениям хорион-аллантаической оболочки зараженного куриного эмбриона. Вирусы, не обладающие гемагглютинирующей активностью, выявляют с помощью РСК. Для выявления вируса в аллантаической или амниотической жидкостях зараженных эмбрионов ставят РГА.

74. Принцип расчета титра вируса по 50%-му инфекционному действию.

Этот метод более универсален. Количество вируса (титр вируса) при этом измеряется в эффективной 50% дозе – ЭД50.

1 ЭД50 = доза вируса, способная вызывать инфекционный эффект у 50% зараженных тест-объектов.

Для каждого вируса подбирают чувствительный к нему тест-объект - лабораторные животные (обычно белые мыши), куриные эмбрионы или культура клеток. Инфекционный эффект или действие вируса на разных тест-системах может проявляться гибелью, клиническими симптомами, патологоанатомическими изменениями и цитопатическим эффектом. У лабораторных животных и куриных эмбрионов действие вируса оценивается в летальной и инфекционной дозах:

1 ЛД50 - доза вируса, убивающая 50% лабораторных животных;

1 ЭЛД50 - доза вируса, убивающая 50% куриных эмбрионов;

1 ИД50 - доза вируса, вызывающая клинические симптомы или патологоанатомические изменения у 50% зараженных лабораторных животных;

1 ЭИД50 - доза вируса, вызывающая патологоанатомические изменения у 50% зараженных куриных эмбрионов.

В культуре клеток действие вируса оценивается по цитопатическому эффекту или действию (ЦПД):

1 ЦПД50 - доза вируса, вызывающая цитопатический эффект в 50% пробирок с зараженной культурой клеток.

Количество ЭД50 (ЛД50, ЭЛД50, ИД50, ЭИД50 и ЦПД50) вируса, содержащееся в единице объема вирусосодержащего материала, будет выражением титра вируса в этом материале. Так, запись $T = 103.48 \text{ ЦПД50/0,1 мл}$ означает, что в каждом 0,1 мл вирусосодержащего материала содержится 103.48 доз, каждая из которых способна вызвать цитопатический эффект в 50% пробирок с культурой клеток.

Метод титрования вирусов по 50% инфекционному действию пригоден для титрования практически любого вируса, если подобрать чувствительную к нему живую тест-систему. Недостатком является трудоемкость, длительность и необходимость статистического расчета.

Методика определения титра вируса в единицах 50% инфекционного действия (ЛД50, ЭЛД50, ИД50, ЭИД50 и ЦПД50) заключается в том, чтобы найти такое разведение испытуемого вирусосодержащего материала, в объеме заражающей дозы которого содержалась бы одна ЭД50, а затем рассчитать, сколько таких единиц вируса содержится в таком же объеме вирусосодержащего материала. Это и будет титр вируса. Для этого:

1) из исследуемого вирусосодержащего материала готовят ряд последовательных 10-кратных разведений. Количество разведений необходимо делать больше (т.е. столько, чтобы последнее наиболее высокое уже не давало инфекционного эффекта совсем). Для 10 последовательных разведений в каждую из 10 стерильных пробирок наливают по 9 мл стерильного физиологического раствора, а затем в первую вносят ровно 1 мл исследуемой суспензии. Перемешивают содержимое первой пробирки, набирают 1 мл смеси и вносят во вторую пробирку, перемешивают содержимое и 1 мл из второй пробирки - в третью, и т. д.

2) одинаковыми объемами каждого разведения вирусосодержащего материала заражают чувствительных к данному вирусу живых тест-объектов. В каждой их группе требуется не менее 4-6 тест-объектов (для статистической достоверности);

3) по истечении времени учитывают результат действия вируса на зараженные объекты (гибель, заболевание, патологоанатомические изменения или цитопатический эффект). Гибель лабораторных животных, КЭ впервые 48 часов считают неспецифической. Учет заканчивают через 2-3 суток после прекращения падежа;

4) определяют, в каком разведении вирус проявил свое действие на 50% чувствительных объектов. Действие вируса определяют в ЛД50, ЭЛД50, ИД50, ЭИД50 и ЦПД50. Считают, что доза в этом разведении соответствует 1 ЭД50. Дозу вируса подсчитывают различными методами (по Риду и Менчу, Керберу).

Для проведения титрования из исследуемого вирусосодержащего материала готовят ряд последовательных десятикратных разведений от 1:10, т.е. 10⁻¹ до 1:10.000.000, т.е. 10⁻⁷, и более (10⁻¹, 10⁻², 10⁻³, 10⁻⁴, 10⁻⁵ и т.д.). Количество разведений зависит от предполагаемого титра вируса, их нужно готовить столько, чтобы последнее (наиболее высокое) разведение уже не давало бы инфекционного эффекта. Инфекционное действие вируса (величина инфекционного эффекта) с каждым разведением убывает пропорционально логарифму разведения (или дозы). То есть при разведении 1:100 (10⁻²) инфекционное действие уменьшается в два раза, если 1:1000 (10⁻³) в три раза и т. д.

Каждым разведением исследуемого вирусосодержащего материала в определенном одинаковом объеме заражают равные группы чувствительных к данному вирусу живых тест-объектов (лабораторных животных, куриные эмбрионы, культуры тканей). При этом учитывают тропизм и дозы вируса, общепринятые для данного способа введения материала. В каждой группе должно быть не менее 4-6 тест-объектов, т. к. при меньшем количестве статистическая обработка материала будет иметь слишком большую погрешность.

Метод Рида и Менча основан на логической предпосылке о том, что животные (и другие модели), погибшие при заражении каким-либо разведением вируса, например 10⁻⁵, погибли и при заражении более низким разведением (10⁻⁴, 10⁻³) вируса. Если же животное не пало при данном разведении, то останется живым и при заражении более высоким разведением (10⁻⁶, 10⁻⁷). На этом основании полученные результаты подвергают интерполяции и выражают их в виде кумулятивных данных, на основании которых рассчитывают % летальности.

75. Вирус оспы птиц.

Оспа птиц — контагиозная болезнь птиц разных видов (кур, голубей, канареек, скворцов, перепелов, индюков, фазанов, попугаев), протекающая с поражением слизистых оболочек ротовой, носовой полостей и кожных покровов преимущественно неоперенных участков тела. Болезнь распространена повсеместно. Отмечается ее сезонное осенне-весеннее усиление. Экономический ущерб заключается в снижении яйценоскости и вынужденном убое больных и переболевших птиц.

Характеристика возбудителя. Вирус относится к семейству *Poxviridae*, подсемейству *Chordopoxvirinae* и роду *Avipoxvirus*. Вирионы овальной или прямоугольной формы, размером в среднем 140—450 нм и со сложным типом симметрии. Состоят из нуклеоида, содержащего геном, боковых тел и наружной липопротеидной оболочки, образующей выступы. Геном представлен двуспиральным линейным ДНК.

Антигенная структура. Вирионы вируса оспы содержат наружным протеидный антиген в составе поверхностных ворсинок (филаментов). Наружный антиген индуцирует образование антигемагглютинирующих вируснейтрализующих антител, которые обеспечивают развитие иммунитета. Внутренние полипептиды индуцируют комплементсвязывающие и преципитирующие антитела.

Антигенная вариабельность и родство. Штаммы вируса оспы кур идентичны в антигенном отношении, но различаются по спектру патогенности, вирулентности и гемагглютинирующей активности. Инкубационный период болезни длится в среднем 15—20 дней. В дальнейшем у больной птицы ухудшается аппетит, появляется вялость, снижается яйценоскость. Болезнь может приобретать кожную, дифтеритическую или смешанную формы течения.

При кожной форме чаще на гребне, бородачках, сережках, основании клюва, щеках, клоаке, иногда по всему туловищу развиваются бородавчатые образования (оспины). Течение чаще доброкачественное, летальность низкая.

При дифтеритической форме развивается дифтеритическое воспаление слизистых оболочек ротовой и носовой полостей, а также гортани, трахеи, бронхов и глаз. Прогноз неблагоприятный, летальность в холодное время года может достигать 70 %.

Локализация вируса. В организме больной птицы вирус локализуется в оспинах бесперьевых участков головы, на слизистой глотки, гортани, трахеи. На 17—20-й день после инфицирования вирус можно обнаружить в крови, почках, яичниках, селезенке, головном мозге.

У переболевшей птицы остается длительное вирусоносительство (более 10 мес).

Источник инфекции — больная птица. Переносчиками возбудителя служат клещи и клопы. Вирус передается контактным путем через загрязненные инвентарь, одежду персонала, непосредственно через поврежденную кожу, а также воздушно-капельным и алиментарным путями через загрязненные корм и воду. В естественных условиях некоторые штаммы вируса оспы кур патогенны только для кур, другие — для кур, голубей и индеек.

Иммунитет и специфическая профилактика. В нашей стране разработаны и применяются живые аэрозольные вакцины двух типов: из неактивного гетерологичного штамма вируса оспы голубей Нью-Джерси и из природно-ослабленного штамма оспы кур АШ-27. А также разработана вакцина из аттенуированного культурального штамма К вируса оспы кур, которую вводят парентерально в перепонку крыла. Иммунитет у привитых цыплят в среднем сохраняется в течение 3—6 мес, у кур — до 10 мес.

76. Этапы репродукции вирусов. В интернете чушь написана. Проще по лекции (2-3)

77. Явление гемадсорбции, его использование в вирусологии.

РГАд. Гемадсорбция — соединение эритроцитов с поверхностью пораженных вирусом клеток — впервые была обнаружена Фогелем и Щелоковым (1957) на культуре ткани, инфицированной вирусом гриппа. 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. Преимущество этой реакции состоит в том, что она становится положительной еще до появления отчетливых цитопатических изменений в инфицированных клетках.

Методика РГАд состоит в следующем. На 3—4-й день после инфицирования клеток берут две пробирки с одинаковой культурой клеток, из которых одна заражена вирусосодержащим материалом, а вторая контрольная. Из обеих пробирок сливают культуральную жидкость и вносят в обе по 2—3 капли 0,5%-ной суспензии отмытых эритроцитов. Обе пробирки оставляют на 5—10 мин так, чтобы эритроциты были на поверхности клеток (кладут горизонтально на стол), а затем слегка споласкивают физраствором и исследуют под микроскопом (малое увеличение). В контрольной пробирке эритроциты полностью удаляются с физраствором, а некоторые из оставшихся плывут вместе с жидкостью. Если в зараженной пробирке эритроциты не удалились с физраствором и не плывут, а прикреплены к поверхности клеток, следует считать РГАд положительной.

В зависимости от вируса и вида клеток расположение эритроцитов может быть тройным:

— эритроциты адсорбированы только по периферии клеточного пласта в виде «ожерелья» (вирус африканской чумы свиней);

— эритроциты расположены на слое клеток очагами или скоплениями (вирус гриппа);

— эритроциты расположены на слое клеток диффузно (вирус парагриппа).

Каждый вирус способен адсорбировать эритроциты крови животных определенных видов.

78. Вирус чумы крс.

Чума крупного рогатого скота (лат. — *Pestisbovum*) — остро протекающая контагиозная септицемическая болезнь домашних и диких жвачных, проявляющаяся высокой лихорадкой, геморрагическим диатезом, воспалительно-некротическим поражением слизистых оболочек пищеварительного тракта, образованием эрозий и язв в ротовой полости, диареей, ринитом, конъюнктивитом, слизисто-гнойными истечениями из носа и глаз, чрезвычайно высокой заболеваемостью и летальностью.

Возбудитель болезни. Возбудитель — РНК-содержащий вирус, относящийся к роду *Morbillivirus* семейства парамиксовирусов. Частицы вируса полиморфны. Большинство вирионов круглой или овальной формы, размером 120...300 нм; обнаружены и нитчатые формы. Инфекционный вирион содержит преципитирующий, комплементсвязывающий антигены. Антигенных вариантов нет. Между вирусами чумы крупного рогатого скота, кори человека и чумы собак установлено антигенное и иммунологическое родство. Вирус пантропен — разносится кровью по всему организму и в наиболее высоких титрах обнаруживается в лимфатических узлах, слизистой оболочке сычуга, легких и почках. Вирус пассируют в куриных эмбрионах и культурах клеток, в которых проявляется цитопато-генное действие (ЦПД).

Эпизоотология. К чуме восприимчивы животные всех видов из отряда парнокопытных. В естественных условиях из сельскохозяйственных животных чаще болеют крупный рогатый скот, зебу и буйволы, реже — овцы, козы, верблюды, яки и свиньи. Из диких животных поражаются представители почти 60 различных видов. Однокопытные плотоядные, птицы, обезьяны и человек невосприимчивы.

Источник возбудителя инфекции — больные и переболевшие чумой животные, выделяющие вирус во внешнюю среду с истечениями из носовой полости (вирус появляется в носовом секрете за 2 дня до начала лихорадки и обнаруживается до 9-го дня болезни) и половых органов (выделяется из влагалища в течение 3 нед после клинического выздоровления), с калом (с 3...8-го дня болезни),

мочой (с 1...8-го дня), молоком, слюной, конъюнктивальной слизью и кровью (при кровотечениях). В крови вирус появляется за 12...48 ч до начала лихорадки, и вирусемия продолжается до 8-го дня болезни. Вирус сохраняется в язвах сычуга крупного рогатого скота до 140 дней после клинического выздоровления.

Чума отличается высокой контагиозностью. В естественных условиях крупный рогатый скот заражается через слизистую оболочку носовой полости, конъюнктиву и пищеварительный тракт. Экспериментально удавалось воспроизвести болезнь путем перорального, подкожного и внутримышечного введения вирусосодержащей крови, слюны, носовой слизи, мочи, кала, желчи, слез, влажностного экссудата больного животного. Свиньи легко инфицируются алиментарно. В свежих очагах эпизоотии носят взрывоподобный опустошительный характер с 90...100%-ной летальностью животных всех пород и любого возраста. В стационарных очагах чума регистрируется у животных в возрасте от 10 мес до 2 лет; летальность составляет 5...20 %.

Патогенез. Вскоре после заражения вирус проникает в кровь, разносится по всему организму и размножается преимущественно в лимфатических узлах, костном мозге, в легких, слизистых оболочках дыхательных путей и желудочно-кишечного тракта. Рано развиваются угнетение и затем блокада иммунной системы. В результате повреждения стенок кровеносных сосудов начинается некроз эпителия слизистых оболочек, появляются эрозии и язвы. В некротизированных участках и по краям эрозий откладывается фибрин и образуются псевдомембраны, в результате чего возникают рыхлые наложения на стенке кишечника и характерные изменения во рту. Вследствие тяжелого поражения слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта резко нарушается пищеварение, развивается диарея, что приводит к быстрому обезвоживанию организма и исхуданию животного, нарушению кровообращения, сердечной недостаточности и смерти.

У крупного рогатого скота и буйволов различают три стадии болезни: лихорадочную (продромальный период), стадию повреждения слизистых оболочек и стадию выраженных желудочно-кишечных расстройств.

Иммунитет, специфическая профилактика. Переболевший чумой крупный рогатый скот приобретает сначала нестерильный, затем стерильный, практически пожизненный иммунитет (на срок более 5 лет). Телята от переболевших матерей получают колостральный иммунитет.

Пассивная иммунизация защищает животных от заболевания только в течение 14 дней. Ее применение целесообразно при кратковременной опасности заражения, например при транспортировке разных групп скота.

Для активной иммунизации используют инактивированные и живые вакцины. В нашей стране выпускают вирус-вакцину против чумы крупного рогатого скота сухую культуральную из штамма К37/70, которая вызывает в организме привитых животных выработку специфических антител, передающихся потомству и защищающих молодняк в первые месяцы жизни.

Лечение. Лечение при чуме крупного рогатого скота не разработано и запрещено. Всех больных и подозрительных по заболеванию чумой животных немедленно убивают бескровными методами, трупы вместе с кожей сжигают.

79. Вирус как объект исследования при решении ряда общебиологических проблем. Вет. Вирусология и ее задачи.

Вирусология (vira-яд) – наука о вирусах - мельчайших, невидимых невооруженным глазом организмах, не имеющих клеточного строения, белоксинтезирующей системы и содержащих только ДНК или РНК.

Вирусология подразделяется на:

Общую вирусологию – изучает природу и происхождение вирусов, их классификацию, строение, химический состав, генетику и селекцию, устойчивость к физико-химическим воздействиям, общие механизмы взаимодействия вируса и клетки, вируса и макроорганизма, основы противовирусного иммунитета, общие признаки (клинику) вирусных болезней, методы диагностики и профилактики. Частную вирусологию – изучает систематическое положение конкретных возбудителей, строение, размеры и устойчивость вирионов, лабораторные методы культивирования вирусов, антигенные свойства, эпизоотологические особенности вызываемого заболевания, методы диагностики, терапию и специфическую профилактику.

Вирусы способны вызывать заболевания у растений (вирус табачной мозаики, Y вирус картофеля) человека и животных. Вирусы поражают бактерии, грибы, беспозвоночных. Некоторые вирусы являются антропоозоонозами, т.е. общими для животных и человека.

Если все инфекционные болезни, вызываемые всевозможными микроорганизмами, принять за 100%, то вирусные болезни в медицине составят примерно 80%, а в ветеринарии-50% и более.

Среди множества инфекционных болезней животных (более 1340 нозологических единиц) есть группа болезней, которые именуются особо опасными, или конвекционными. Международное эпизоотическое бюро поместило в группу А, имея в виду, что они могут вызывать массовое поражение животных, наносить большой экономический ущерб животноводству. Болезней в этой группе 15, в том числе 14 – вирусной этиологии: ящур, везикулярный стоматит, везикулярная болезнь свиней, чума крупного рогатого скота, чума мелких жвачных, нодулярный дерматит, лихорадка долины Рифт, блютанг, оспа овец и коз, африканская чума лошадей, африканская чума свиней, классическая чума свиней, чума (грипп) птиц, болезнь Ньюкасла. Некоторые болезни из этого списка поражают и человека.

Задачи ветеринарной вирусологии:

-Изучение структуры, химического состава, биологии, генетики, селекции вирусов, взаимодействие вируса и клетки, устойчивость вирусов к различным факторам;

-Разработка эффективных методов борьбы с вирусными болезнями;

-Совершенствование существующих и разработка новых методов диагностики вирусных болезней.

Для ликвидации вирусных заболеваний животных и недопущения их заноса на территорию России и на отдельные территории и животноводческих комплексов необходимо предпринимать самые строгие меры. Это прежде всего вакцинация восприимчивого поголовья (ящур, болезнь Ньюкасла), недопущение заноса заболеваний, своевременная диагностика.

80. Морфология и структура вирусов. Проще учить по лекции, так как в интернете другая инф...

81. Вирус ящура.

Ящур — остропротекающая высококонтагиозная болезнь парнокопытных, проявляющаяся лихорадкой, везикулярным поражением слизистых оболочек рта, кожи венчика и вымени, у молодых животных — поражением миокарда и скелетных мышц. Ящур регистрируется во многих странах мира.

В естественных условиях к вирусу ящура восприимчивы домашние и дикие парнокопытные. Могут заражаться и бессимптомно переболевать собаки и кошки. Человек заражается редко при употреблении необеззараженного молока от больных животных.

Характеристика возбудителя. РНК-содержащий вирус относится к семейству Picornaviridae, роду Aphthovirus. Геном представлен единой односпиральной линейной плюс-РНК. Вирионы вируса представляют собой лишенные суперкапсидной оболочки частицы кубической симметрии диаметром 22—30 нм.

Устойчивость к физико-химическим воздействиям. Вирус ящура устойчив к эфиру, хлороформу, фреону. Быстро инактивируется в среде с pH 6,0 и ниже. Наиболее стабилен при pH 7,0—7,5. Хлорная известь, креолин, крезол, фенол убивают вирус лишь через несколько часов. Растворы щелочей (2%-ные) инактивируют его за 10 мин. Вирус устойчив к влиянию факторов внешней среды; афтозная лимфа, содержащая вирус, инактивируется при температуре 31 °С за 24 ч, в молоке при температуре от 66 до 78 °С вирус погибает через 1 мин. Низкие температуры его консервируют; при минус 40 — минус 70 °С сохраняет биологические свойства несколько лет. В сточных водах вирус выживает до 103 дней. Хороший консервант — 50%-ный раствор глицерина на фосфатном буфере, в нем при 4—8 °С вирус сохраняется в течение 40 дней. Лучшие дезинфицирующие средства — 2- или 3%-ные горячие растворы гидрокарбоната натрия и 1%-ный раствор формальдегида.

Антигенная структура. Основные структурные белки вируса ящура — VP1, VP2, VP3 и VP4. Белок VP1 расположен поверхностно и обуславливает индукцию вируснейтрализующих антител, которые защищают животное от вирулентного вируса.

Антигенная вариабельность. В настоящее время известны 7 антигенных типов вируса ящура: А, О, С, Сат-1, Сат-2, Сат-3 и Азия-1. Внутри основных типов существуют варианты, или подтипы, отличающиеся друг от друга.

Антигенная активность. В организме естественно восприимчивых животных вирус индуцирует образование вируснейтрализующих, комплементсвязывающих и преципитирующих антител.

Культивирование вируса. Вирус культивируется на естественно восприимчивых и лабораторных животных: новорожденных мышатах и крольчатах, хомьяках 60-дневного возраста, взрослых морских свинках. Хорошо размножается в культуре клеток почек восприимчивых животных, в культуре эксплантатов эпителия языка крупного рогатого скота и в некоторых перевиваемых линиях клеток (ВНК-21, СПЭВ и др.) с выраженным цитопатическим действием.

Гемагглютинирующие свойства. Вирус ими не обладает.

Клинические признаки. Инкубационный период длится 1—3 дня, иногда до 7—10 дней. Самый характерный признак данного заболевания у животных — везикулярное поражение слизистых рта, кожи венчика и вымени. У крупного рогатого скота и свиней ящур протекает остро, у взрослых животных, как правило, доброкачественно. Заболевание очень быстро распространяется. Вначале отмечают ухудшение аппетита, повышенную саливацию, повышение температуры тела (до 40,5—41,5 °С). На 2—3-й день на внутренней поверхности губ и на языке появляются афты. У некоторых животных афты образуются в области межкопытной щели и на вымени. Заболевание конечностей сопровождается хромотой. Через сутки афты разрываются и образуются эрозии. Через 2—3 нед эрозии заживают и животные выздоравливают. У свиней, овец и коз поражение наблюдают чаще на конечностях и реже на слизистых оболочках рта. Довольно часто поражается вымя. У молодняка ящур обычно протекает злокачественно (гибель — 80 % и более), афт, как правило, нет.

Патологоанатомические изменения. При вскрытии павших молодых животных отмечают геморрагическое воспаление кишечника и дегенеративные изменения в мышцах сердца («тигровое» сердце), подобные изменения находят в скелетных мышцах.

Локализация вируса. От больных животных вирус можно выявить уже в инкубационный период из молока, спермы, слюны (за 4-7 дней до клинических признаков). Наибольшее количество вируса содержится в эпителии и жидкости везикул (до 108 ИД/г). Экскреты и секреты больных животных инфекционны более 10 дней. Выделяется вирус и с выдыхаемым воздухом. Переболевание может сопровождаться длительным вирусоносительством. Около 50 % крупного рогатого скота может выделять вирус в течение 8 мес, а некоторые — до двух лет. У свиней персистентного носительства вируса не установлено. В стадах буйволов инфекцию в течение многих лет поддерживают вирусоносители и животные со скрытым течением инфекции.

Источником инфекции служат больные животные и вирусоносители. Весьма существенна эпизоотологическая роль диких парнокопытных. Вирус очень контагиозен, поэтому болезнь быстро распространяется среди восприимчивых животных. В распространении ящура серьезную роль играют продукты и сырье животного происхождения, а также предметы ухода, навоз и корма, загрязненные выделениями больного скота. Переносчиками инфекции могут быть и невосприимчивые к ящурю животные (собаки, кошки, лошади и птицы).

Диагностика. Диагноз на ящур ставят на основании эпизоотологических данных (высокая контагиозность и избирательное поражение только парнокопытных), клинических признаков (везикулярное поражение слизистых оболочек рта, кожи, конечностей и вымени), патолого-анатомических изменений (при гибели молодняка — поражение кишечника и мышц сердца) и результатов лабораторных исследований.

Диагностировать ящур по клиническим признакам довольно легко, но для врача хозяйства важно знать, каким типом вируса вызвано заболевание, чтобы применять соответствующую вакцину. Тип вируса определяют в лаборатории.

Взятие и подготовка материала. Для лабораторных исследований от 2—3 больных животных отбирают не менее 5 г стенки и содержимого афт на слизистой оболочке языка (у крупного рогатого скота), на пяточке (у свиней), на коже венчика и межпальцевой щели (у крупного и мелкого рогатого скота, свиней, верблюдов и др.). При отсутствии афт берут кровь животных в момент температурной реакции, из трупов молодняка животных всех видов — лимфатические узлы головы и заглоточного кольца, поджелудочную железу и мышцу сердца. Для исследования на вирусоносительство берут пищеводно-глоточную слизь (специальным зондом).

Материал необходимо получать так, чтобы предупредить вынос вируса за пределы неблагополучного очага и лаборатории, обезопасить персонал, работающий с инфекционным материалом. Для этого: а) ветврач хозяйства должен иметь определенные навыки взятия материала от больных животных; б) необходимо подготовить все для отбора материала — пинцеты, ножницы, салфетки, толстостенные флаконы, лейкопластырь, резиновые пробки, 50%-ный раствор стерильного глицерина на изотоническом растворе хлорида натрия, термос с охлаждающей смесью, дезраствор — 2%-ный раствор NaOH или 1 %-ный раствор уксусной или молочной кислоты; спецодежду — халаты, комбинезоны, косынки или шапочки, маски, резиновые сапоги, перчатки и т. д. Все необходимое помещают в контейнер и едут в неблагополучный очаг, где, прежде чем войти в помещение с больными животными, переодеваются; в) после взятия материала от больных животных инструменты, маску, перчатки погружают в дезраствор; наружную поверхность флаконов и термоса обрабатывают дезраствором. В санпропускнике снимают всю одежду и принимают душ.

В носовой полости у людей вирус ящура переживает до 7 дней, следовательно, в течение этого времени после посещения неблагополучного хозяйства нежелателен контакт со здоровыми парнокопытными животными.

Лабораторные исследования на ящур включают: обнаружение и идентификацию антигена вируса ящура в РСК (определение его типовой и вариантной принадлежности); обнаружение и титрование антител к вирусу ящура у переболевших животных (реконвалесцентив) в реакции радиальной иммунодиффузии (РРИД) и непрямой реакции иммунофлуоресценции (НРИФ).

Обнаружение и идентификация антигена вируса ящура с помощью РСК. Компоненты реакции: испытуемые антигены из эпизоотических штаммов вируса от заболевших животных; сыворотки морских свинок, гипериммунизированных стандартными типовыми и вариантными штаммами вируса ящура (биофабричного производства); антигены контрольные — из типовых и

вариантных штаммов вируса ящура (биофабричного производства); комплемент — свежая или сухая нормальная сыворотка морских свинок; гемолизин биофабричного производства; эритроциты барана — в виде 2%-ной взвеси на физиологическом растворе; 0,85%-ный раствор химически чистого хлорида натрия на дистиллированной воде; набор специфических сывороток и антигенов к другим вирусам, вызывающим везикулярные поражения.

Дифференциальная диагностика. Необходимо исключить другие заболевания животных с везикулярным синдромом, такие, как ВД, ИРТ, везикулярный стоматит, у свиней — везикулярную болезнь, везикулярную экзантему, у овец — катаральную лихорадку.

Иммунитет и специфическая профилактика. Продолжительность иммунитета у животных, переболевших ящуром, составляет 8—12 мес, у свиней — 10—12, у овец — 18 мес. При очень напряженном иммунитете может наблюдаться некоторая устойчивость к заражению гетерологичным типом вируса. При ящуре возникает тканевой и гуморальный иммунитет. Основное значение в защите животных от заболевания принадлежит гуморальным факторам иммунитета. Для специфической профилактики ящура применяют инактивированные вакцины. В нашей стране нашли широкое применение следующие 3 вакцины: лапинизированная гидроокисьюалюминиевая сапонинформолвакцина, которую готовят из вируса, репродуцированного в организме новорожденных крольчат; гидроокисьюалюминиевая сапонинформолвакцина из вируса, культивируемого в переживающей ткани слизистой оболочки языка, не иммунного к ящуру крупного рогатого скота (метод Френкеля); и вакцина из вируса, полученного в суспензионной культуре клеток ВНК-21/13. Для свиней используют противоящурную эмульгированную вакцину из лапинизированного вируса.

Иммунитет после вакцинации у взрослых животных длится 4—6 мес. После ревакцинации иммунитет более напряженный и продолжительный.

Молодняк, родившийся от иммунных животных, получает пассивно антитела с молозивом. Антитела у телят сохраняются в течение 5 мес, хотя пассивная защита продолжается до 3—4 мес.

Инактивированные вакцины могут быть моно — или поливалентными, т. е. содержать антигены одного или многих типов и вариантов вируса. Живые вакцины против ящура не разработаны. Проводятся исследования по разработке и использованию синтетических вакцин, а также молекулярных вакцин, полученных с помощью методов генной инженерии.

82. Последовательность этапов репродукции РНК-содержащих вирусов. Сначала в лекции, потом здесь. (но в принципе, думаю того что в лекции будет достаточно)

РНК-вирусы проникают в клетку путём слияния (парамиксовирусы) либо виropексиса (рабдо- и ортомиксовирусы). Для эффективной репродукции вирусная -РНК должна быть преобразована в +РНК — аналог клеточной мРНК.

Оглавление темы "Вирусология. Репродукция вирусов. Генетика вирусов.": 1. Вирусология. История вирусологии. Шамберлан. Ру. Пастер. Ивановский. 2. Репродукция вирусов. Репродукция +РНК-вирусов. Пикорнавирусы. Репродукция пикорнавирусов. 3. Тогавирусы. Репродукция тогавирусов. Ретровирусы. Репродукция ретровирусов. 4. Репродукция -РНК-вирусов. Репродукция вирусов с двухнитевыми РНК. 5. Репродукция ДНК-вирусов. Репликативный цикл ДНК-содержащих вирусов. Репродукция паповавирусов. Репродукция аденовирусов. 6. Репродукция герпесвирусов. Репликативный цикл герпесвирусов. Поксвирусы. Репродукция поксвирусов. 7. Репродукция вируса гепатита В. Репликативный цикл вируса гепатита В. 8. Генетика вирусов. Характеристика вирусных популяций. Генофонд вирусных популяций. 9. Мутации вирусов. Спонтанные мутации вирусов. Индуцированные мутации вирусов. Проявление мутаций вирусов в фенотипе. 10. Генетические взаимодействия между вирусами. Рекомбинации и перераспределение генов вирусами. Обмен фрагментами генома вирусами. Антигенный шифт. Репродукция -РНК-вирусов. Репродукция вирусов с двухнитевыми РНК. -РНК-вирусы проникают в клетку путём слияния (парамиксовирусы) либо виropексиса (рабдо- и ортомиксовирусы). Для эффективной репродукции вирусная -РНК должна быть преобразована в +РНК — аналог клеточной мРНК (рис. 5-3). Рис. 5-3. Репродуктивный цикл -РНК-содержащих вирусов. Проникновение вируса в клетку происходит после его адсорбции и слияния с клеточной оболочкой (1). После высвобождения вирусной -РНК происходит синтез +РНК на матрице -РНК, катализируемый РНК-зависимой РНК-пол имеразой, входящей в состав вириона (2), что приводит к образованию полных и коротких нитей. Короткие +РНК-нити участвуют в синтезе ферментов и белков для дочерних популяций (3). Среди последних особую значимость имеют белок М (4) и гликопротеины оболочки, встраивающиеся в клеточную стенку на этапах, предшествующих отпочковыванию. Полная цепь +РНК служит матрицей для синтеза молекул -РНК дочерних популяций (5). Вирионы дочерних популяций собираются на участках клеточной мембраны, модифицированных белком М (6), и высвобождаются почкованием, захватывая её фрагмент, служащий в дальнейшем суперкапсидом (7). -РНК-вирусы. Репродукция -РНК-вирусов Ранняя стадия репродукции. После высвобождения генома вирусная транскриптаза (РНК зависимая РНК-полимераза) запускает синтез +РНК. При этом «шаблоном» для вирусной транскриптазы служит вирусный рибонуклеопротеин (то есть РНК и внутренние белки) В результате образуются полные и короткие молекулы-копии +РНК. Поздняя стадия репродукции. Полные плюс-нити служат матрицами для синтеза молекул -РНК, составляющих геномы дочерней популяции. Короткие плюс-нити участвуют в синтезе ферментов и белков. Вирусные белки (гемагглютинин и нейраминидаза) взаимодействуют участками клеточной мембраны. Там же сорбируются и вирусные М-белки (белки матрикса) Они проявляют выраженную гидрофобность за счёт содержания до 75% нейтральных аминокислот. Это свойство даёт им способность взаимодействовать с белками и липидами клеточные мембраны и быть посредником сборки вирусных частиц. С одной стороны, М-белок распознает участки включения гликопротеинов вируса в мембрану, с другой — его специфически распознает нуклеокапсид и связывается с ним. Сборка дочерних популяций завершается после присоединения нуклеокапсида к клеточной мембране. Их высвобождение происходит путём почкования через модифицированные участки мембраны. Отпочковывающиеся вирусные частицы захватывают её фрагменты, служащие в дальнейшем суперкапсидами. Двухнитевые РНК-вирусы представлены семейством Reoviridae (рео- и ротавирусы). Они не имеют суперкапсида и организованы по типу кубической симметрии. С вирусной РНК связана РНК-зависимая РНК-полимераза. Вирусы отличает удлинённый репродуктивный цикл и тенденция к накоплению продуктов вирусспецифического синтеза внутри клеток. После высвобождения генома в цитоплазме клеток РНК-полимераза осуществляет синтез молекул мРНК (+РНК на одной нити -РНК. В результате образуется до 11 функциональных молекул мРНК, соответствующих по размерам 11 сегментам одной нити -РНК. Молекулы транслируются в 11 первичных полипептидных продуктов. Их последующее расщепление приводит к образованию в заражённых клетках до 16 вторичных полипептидов. Семь первичных и два вторичных полипептида входят в состав вирусных частиц, остальные первичные и вторичные полипептиды выполняют каталитические и регуляторные функции. Параллельно, синтезированная в ходе трансляции вирусная РНК-полимераза запускает синтез минус-нитей на матрице +РНК с последующим их соединением в двухнитевую молекулу РНК. Выход образовавшихся вирионов сопровождается гибелью клетки.

83. Интерференция вирусов и интерферон. Практическое применение интерферона.

Интерференция вирусов – процесс, где развитие одной вирусной инфекции в результате действия интерферона препятствует развитию другой инфекции.

ИНТЕРФЕРЕНЦИЯ ВИРУСОВ (лат. приставка inter- между; гибель, уничтожение + ferens, ferentis несущий, переносящий; вирусы) — антагонистическое, или ингибиторное, действие одного вируса или его компонентов на репродукцию другого вируса и течение инфекционного процесса, вызываемого последним. Первый вирус, обуславливающий феномен, называют интерферирующим, а второй — претендующим или интерферируемым. При одновременном введении вирусов возможна двусторонняя интерференция. Интерференция может возникнуть между штаммами одного и того же вируса (гомологичная интерференция), а также между вирусами, различными в иммунол. отношении (гетерологичная интерференция); могут интерферировать вирусы, сходные по морфол. и биохим. структуре, механизму и месту репродукции и биол. свойствам, а также вирусы, отличающиеся друг от друга по всем этим признакам. Интерферирующей активностью, а также чувствительностью к интерферирующему действию обладают практически все инфекционные вирусы. Кроме того, инфекционные вирусы могут интерферировать с онковирусами и с нек-рыми внутриклеточными микроорганизмами (напр., с возбудителями трахомы, с нек-рыми риккетсиями), причем эта интерференция может быть взаимной. Онковирусы также способны интерферировать между собой, и эта интерференция выражается не только в ингибции вирусной репродукции, но также в уменьшении трансформации и онкогенности.

Интерфероны — гликопротеины, вырабатываемые клетками в ответ на вирусную инфекцию и другие стимулы. Блокируют репродукцию вируса в других клетках и участвуют во взаимодействии клеток иммунной системы.

Интерфероны применяются для профилактики и лечения ряда вирусных инфекций. Их эффект определяется дозой препарата, однако высокие дозы интерферона оказывают токсическое действие. Интерфероны широко применяются при гриппе и других острых респираторных заболеваниях. Препарат эффективен на ранних стадиях заболевания, применяется местно. Интерфероны оказывают терапевтическое действие при гепатите В, герпесе, а также при злокачественных новообразованиях.

Применение интерферона. Действие интерферона тем эффективнее, чем раньше он начинает синтезироваться или поступать в организм извне. Поэтому его используют с профилактической целью при многих вирусных инфекциях, например гриппе, а также с лечебной целью при хронических вирусных инфекциях, таких как парентеральные гепатиты (В, С, D), герпес, рассеянный склероз и др. Интерферон дает положительные результаты при лечении злокачественных опухолей и заболеваний, связанных с иммунодефицитами.

Интерфероны обладают видоспецифичностью, т. е. интерферон человека менее эффективен для животных и наоборот. Однако эта видоспецифичность относительна.

Получение интерферона. Получают интерферон двумя способами: а) путем инфицирования лейкоцитов или лимфоцитов крови человека безопасным вирусом, в результате чего инфицированные клетки синтезируют интерферон, который затем выделяют и концентрируют из него препараты интерферона; б) генно-инженерным способом — путем выращивания в производственных условиях рекомбинантных штаммов бактерий, способных продуцировать интерферон. Обычно используют рекомбинантные штаммы псевдомонад, кишечной палочки со встроенными в их ДНК генами интерферона. Интерферон, полученный генно-инженерным способом, носит название рекомбинантного. В нашей стране рекомбинантный интерферон получил официальное название «Реаферон». Производство этого препарата во многом эффективнее и дешевле, чем лейкоцитарного.

Рекомбинантный интерферон нашел широкое применение в медицине как профилактическое и лечебное средство при вирусных инфекциях, новообразованиях и при иммунодефицитах.

84. Принцип лабораторной диагностики вирусных инфекций.

С целью диагностики вирусных инфекций применяются следующие методы:

- Ø Вирусоскопический — обнаружение в исследуемом материале вирусов с помощью световой (крупные вирусы, внутриклеточные включения вирусов), люминесцентной и электронной микроскопии;
- Ø Вирусологический — выделение вирусов из исследуемого материала с последующей их идентификацией (установление вида и типа вируса посредством серологических реакций);
- Ø Серологический — обнаружение в исследуемом материале антигенов вирусов или вирусоспецифических антител;
- Ø Биологический — заражение вирусосодержащим материалом лабораторных животных;
- Ø Молекулярно-биологический — выявление в исследуемом материале нуклеиновых кислот вирусов (ПЦР, ДНК-зонды);
- Ø Экспресс-методы — выявление антигенов вирусов в короткие сроки (РИФ);

Этапы вирусологического метода исследования:

1. Взятие материала (выбор материала определяется клиническими признаками заболевания, местом размножения вируса в организме и путями его выделения), транспортировка в лабораторию и подготовка к исследованию (для подавления сопутствующей бактериальной флоры обрабатывают антибиотиками).
2. Заражение исследуемым материалом чувствительной модели. Вирусы в отличие от бактерий не растут на питательных средах, т.к. являются абсолютными (облигатными) паразитами, поэтому для их культивирования применяются особые модели:
 - Ø в организме восприимчивых животных;
 - Ø в куриных эмбрионах (овокультуры);
 - Ø в культуре клеток.
3. Культивирование вируса в зараженной модели при стандартных условиях (оптимальная температура, продолжительность культивирования).
4. Индикация (обнаружение) вируса в зараженной модели.
5. Идентификация выделенного вируса в серологических реакциях.

Достоинство вирусологического метода — 100% достоверность.

Культивирование вирусов в организме чувствительных животных — на первом этапе развития вирусологии был единственным методом, доказывающим наличие фильтрующихся агентов в исследуемом материале.

Требования, предъявляемые к лабораторным животным:

- Ø животное должно быть чувствительным к данному вирусу;
 - Ø использование новорожденных/молодых особей;
 - Ø использование инбридных (беспородных) животных/гнотобионтов (выращены в безмикробной среде);
 - Ø использование здоровых животных одной линии (одного пола, возраста, веса, содержащихся в одинаковых условиях).
- Способ заражения животных определяется тропизмом вируса (способностью репродуцироваться в определенных типах клеток):
- Ø нейротропен (например, вирус бешенства) — вводится интрацеребрально;
 - Ø пневмотропен (например, РС-вирусы) — интраназально;
 - Ø дерматропен (например, вирус натуральной оспы) — внутрикожно;
 - Ø пантропен — внутривенно/внутрибрюшинно.

Методы индикации вируса в организме лабораторного животного:

- 1) клинические симптомы заболевания;
- 2) гибель животного;
- 3) патоморфологические изменения органов при вскрытии.

Достоинства – выделение тех вирусов, которые не культивируются в куриных эмбрионах и культурах клеток.

Недостатки – контаминация животных посторонними микроорганизмами.

Культивирование вирусов методом овокультур – заражение вирусами куриных эмбрионов.

Требования, предъявляемые к куриным эмбрионам:

Ø должны быть из эпидемиологически благополучных хозяйств;

Ø скорлупа должна быть чистой, непигментированной, без механических повреждений;

Ø возраст – 5-12 дней (недостаточно противовирусных ингибиторов).

Способы заражения куриных эмбрионов:

Ø закрытый (прокол иглой под контролем овоскопа);

Ø открытый (с удалением части скорлупы).

Исследуемый материал вводят в аллантоисную и амниотические полости, хорион-аллантоисную оболочку и желточный мешок.

Перед заражением скорлупу над воздушной камерой обрабатывают 70% этиловым спиртом и фломбируют (обжигают на пламени).

После заражения отверстие в скорлупе заливают расплавленным парафином. Инкубируют при 35-37°C ≈ 48 часов.

Методы индикации вируса в куриных эмбрионах:

- 1) результаты овоскопии – отсутствие подвижности эмбриона, слабая инъецированность сосудов кровью и отсутствие их пульсации;
- 2) патологоанатомические изменения на хорион-аллантоисной оболочке – отеки, кровоизлияния, наличие оспинок (узелков);
- 3) отставание эмбриона в росте и развитии, пороки развития, гибель;
- 4) положительная реакция гемагглютинации (РГА) – через 5-10 минут при смешивании аллантоисной жидкости и суспензии эритроцитов (кур, гусей, уток, морских свинок и других животных) на дне лунки полистеролового планшета образуется осадок в виде «перевернутого зонтика» вследствие склеивания эритроцитов под действием вируса (отрицательная РГА – эритроциты не склеиваются и выпадают в осадок в виде «пуговки»).

Достоинства – высокая чувствительность к большому спектру вирусов.

Недостатки – обнаружение вируса только после вскрытия эмбриона.