

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ПОЛІСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

Кваліфікаційна наукова праця
на правах рукопису

РАДЗИХОВСЬКИЙ МИКОЛА ЛЕОНІДОВИЧ

УДК 619:616.98:636.7

ДИСЕРТАЦІЯ

**“ПАТОМОРФОЛОГІЯ, ДІАГНОСТИКА, ЛІКУВАННЯ ТА
ПРОФІЛАКТИКА ЕНТЕРИТІВ ВІРУСНОЇ ЕТІОЛОГІЇ У
СОБАК”**

16.00.02 – «патологія, онкологія і морфологія тварин»

16.00.03 – «ветеринарна мікробіологія, епізоотологія,
інфекційні хвороби та імунологія»
(ветеринарні науки)

Подається на здобуття наукового ступеня доктора ветеринарних наук

Дисертація містить результати власних досліджень.
Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають
посилання на відповідне джерело М. Л. Радзиховський

Науковий консультант:
Горальський Леонід Петрович
доктор ветеринарних наук, професор,
заслужений діяч науки і техніки України

Житомир – 2021

АНОТАЦІЯ

Радзиховський М. Л. Тема: “Патоморфологія, діагностика, лікування та профілактика ентеритів вірусної етіології у собак” – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора ветеринарних наук за спеціальністю 16.00.02 – «патологія, онкологія і морфологія тварин» та 16.00.03 – «ветеринарна мікробіологія, епізоотологія, інфекційні хвороби та імунологія».

Поліський національний університет.

Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького, Львів, 2021.

Проведені дослідження показали, що інфекційна патологія собак з симптомокомплексом ураження шлунково-кишкового тракту і розвитком ентериту являє собою досить багатовекторний нозологічний профіль, який включає вірусні, бактеріальні та паразитарні хвороби. У собак з розладами шлунково-кишкового тракту, що супроводжувалися геморагічним ентеритом, за результатами наших досліджень, встановлена причина незаразної етіології у 13, а заразної – у 87 % дослідних тварини, при тому 63 % собак були уражені інфекційним антигеном, а 37 – інвазійним. Серед інфекційних домінували антигени вірусної етіології: аденовірусний гепатит (18,8 %), парво- (13,6 %), рота (9,8 %) та коронавірусна інфекція (5,8 %), чума м'ясоїдних (5,8 %). Потім хвороби бактеріального профілю: кампілобактеріоз (4,6 %) і сальмонельоз (3,9 %), та паразитарні (протозойні) – лямбліоз (19,5 %), криптоспоридіоз (11,7 %) і неоспороз (6,5 %).

Згідно із результатами досліджень щодо епізоотологічних особливостей встановлено, що коронавірус вражає собак різного віку, єдиним винятком є собаки до 2 місяців. Подібну ситуацію спостерігали і щодо чутливості парво- та ротавірусу. У тварини старших вікових груп коронавірус діагностували навіть у віці 7 та 8 років, а найбільш схильними до захворювання були собаки від 5 до 8 місяців. За результатами експериментальних досліджень встановлено, що найбільшу схильність до ротавірусного ентериту мають собаки віком від 6 до

12 місяців. Також слід відмітити поодинокі випадки ротавірусу у собак 12 – 13 років. Стосовно сприйнятливості собак до парвовірусу, відмічаємо два найбільш виражені спалахи: у віці 6-8 місяців та в 6-7 років.

Відповідно наших результатів, пік захворюваності залежно від пори року був наступним: за парвовірусу – у літньо-осінній; коронавірусу – у весняно-літній; ротавірусу – навесні та восени. Найбільшу схильність до парвовірусу проявляли собаки таких порід як: Лайка Англійський бульдог та Бульмастиф; коронавірусну – Ротвейлер Джек рассел тер'єр та Бігль; ротавірусу – Шотландський тер'єр, Коллі і Померанський шпіц.

За результатами проведених комплексних гематологічних досліджень хворих на парвовірусний ентерит собак встановлено еритроцитопенію, лейкоцитопенію, лімфоцитопенію, гіпопротеїнемію, гіперактивність АсАТ і лужної фосфатази, збільшення ШОЕ. Залежно від форми прояву захворювання, показники дещо відрізняюся, але в основному характеризують задовільний функціональний стан печінки та серця. Крім того, на основі гематологічних показників визначено поліорганну недостатність з розвитком патологічної імуносупресії і гепаторенального синдрому.

У собак за коронавірусного ентериту, враховуючи результати проведених комплексних гематологічних досліджень, виявлено еритроцитопенію, лейкоцитопенію, лімфоцитопенію, гіпопротеїнемію, гіперактивність лужної фосфатази, збільшення ШОЕ. За результатами аналізу індексів морфологічних показників еритроцитопенії встановлено нормацитарну анемію, з тенденцією переходу до макроцитарної. При цьому зміни біохімічних показників крові не є неспецифічними, проте відображають глибину патологічних процесів, які ускладнюють перебіг коронавірусного ентериту.

Експериментально встановлено, що патологоанатомічні зміни в органах травлення собак за коронавірусного ентериту подібні до таких, як за парвовірусного: шлунок часто порожній, його слизова оболонка на дотик сухувата, вкрита тонким шаром густого слизу, тонкий відділ кишечника

розтягнений газами, кровоносні судини під серозною оболонкою кровонаповненні, слизова оболонка має ознаки катарально-геморагічного запалення, її рельєф згладжений. Основними патологоанатомічними змінами внутрішніх органів є: у селезінці – крапчасті крововиливи; у нирках – локальні інфаркти; у серці – розширення лівої частини; легенях – ознаки гемостазу. Печінка та підшлункова залоза щільної консистенції, іноді темнішого кольору, у стані дегідратації.

За коронавірусного ентериту у собак спостерігають дегідратацію організму, атрофію паренхіматозних органів, катаральний гастроентерит, білковий міокардоз, тотальну (поверхневу) десквамацію епітелію слизової оболонки тонкої кишки. У собак, експериментально заражених культуральним коронавірусом, він розмножується і виявляє здатність до персистенції у тонкому відділі кишечника за рахунок значного накопичення нуклеїнових кислот останнього. Розвиток інфекційного процесу пов'язаний зі змінами гістоархітекtonіки тонкого відділу кишечника та гістохімічного стану клітин, що призводить до порушення обмінних процесів організму у відповідь на дію збудника.

Виявлені нами зміни гістоструктури стінки кишечника у експериментальних собак (руйнування ворсинок, їх некроз, набряк строми тощо) і клітинного складу (зерниста та гідропічна дистрофія епітеліоцитів ворсинок, лізис цитоплазми і деформація ядер ентероцитів), порушення гістохімічної статики (накопичення у цитоплазмі ентероцитів основних і кислих білків, гіперсекреція слизу келихоподібними клітинами, зменшення у цитоплазмі ентероцитів вмісту ШЙК-позитивних речовин), формування базофільних тілець-включень у ентероцитах експериментально заражених собак свідчать про перебудову організму у зв'язку з інфекційним процесом, спричиненим коронавірусом.

Слід зазначити, що під впливом коронавірусу відбувається порушення клітинних контактів ентероцитів, яке призводить до пригнічення захисних функцій кишечника. Патологічний процес у експериментально інфікованих

тварин розвивається швидко і має гострий перебіг. При цьому захисними механізмами розвитку інфекційного процесу на дію коронавірусу є гіперсекреція слизу келихоподібними клітинами.

У результаті досліджень встановлено, що парвовірусний ентерит характеризується ураженням слизової оболонки тонкого відділу кишечника (геморагічно-некротичне запалення), гіперплазією та одночасно атрофією лімфоїдного апарату кишкового тракту, виявлено еозинофільний альтеративний міокардит. Патолого-анатомічні зміни у собак, загиблих від парвовірусного ентериту, відповідають двом формам хвороби – кардіальній та кишковій. За кишкової форми парвовірусного ентериту основними патолого-анатомічними змінами є: геморагічний ентерит, серозно-геморагічне запалення брижових лімфовузлів, ознаки гепатиту та збільшення селезінки. Кардіальна форма хвороби характеризувалась гострим альтеративним міокардитом, у легенях – крововиливами та вогнищами ателектазів. За кишкової форми парвовірусної інфекції у печінці собак відбуваються дистрофічні зміни й руйнування гепатоцитів, у підшлунковій залозі – дистрофічні та некротичні зміни клітин екзокринної й ендокринної частин органа. Встановлені мікроскопічні зміни дають можливість стверджувати, що кишкова форма парвовірусної інфекції у собак призводить до розвитку гепато-панкреатичного синдрому.

Вперше шляхом проведення експериментального відтворення парвовірусного ентериту у собак виявляли і реєстрували мікроскопічні зміни в органах кровотворення та імуногенезу: у тимусі – дезорганізацію тимічних тілець, а сам орган набряклий за рахунок розширення кровоносних судин, порушення процесів диференціації лімфоцитів у кірковій та мозковій речовині часточок, нерівномірний набряк сполучнотканинної строми органа та виразний набряк кіркової і мозкової речовин тимусних часточок. Кровоносні судини кишкових, печінкових лімфатичних вузлів та вузлів тазової порожнини розширені і переповнені кров'ю, кіркова та мозкова речовини набрякли. Селезінка набрякла, у червоній пульпі органа містилась значна кількість залізовмісного пігменту – гемосидерину, як наслідок розпаду великої кількості

еритроцитів. Мікроскопічні зміни у міокарді собак за експериментального відтворення парвовірусного ентериту проявлялись дифузним набряком міжм'язової сполучної тканини, зернистою дистрофією кардіоміоцитів та наявністю внутрішньоядерних еозинофільних тілець-включень.

У нирках експериментально інфікованих цуценят виявлено крововиливи у строму кіркової і мозкової речовин, прогресуючий набряк ниркових клубочків з наступним їх розпадом на окремі фрагменти та руйнуванням і некрозом цих фрагментів, а також дистрофічні зміни (переважно зерниста дистрофія) й руйнування епітелію усіх відділів каналців. У ниркових тільцях спостерігали екстракапілярний серозний гломерулів. У ядрах частини мезангіоцитів багатьох ниркових клубочків виявляли еозинофільні тільця-включення. У печінці мікроскопічні зміни включали венозний застій і набряк органа, зернисту дистрофію та руйнування гепатоцитів. Переважна кількість гепатоцитів були збільшеними, за наявності у певної частини стану зернистої дистрофії. Відповідно до одержаних нами результатів, за експериментальної парвовірусної інфекції у цуценят реєстрували одночасне ураження печінки та нирок, що верифікується як гепаторенальний синдром. Зернисту та гідропічну дистрофію виявлену у підшлунковій залозі. Мікроскопічні зміни у легенях характеризувались розширенням і переповненням кров'ю вен паренхіми та строми, венозним застоєм і набряком органа.

За експериментального відтворення парвовірусу ізолятом, культивованим у гетерологічній культурі клітин у тонкій кишці цуценят, ураження мали сегментарний характер: на одних ділянках ворсинки не змінені, на інших – з оголеними верхівками, у третьому випадку – частково чи майже повністю зруйновані. Крипти дезорганізовані, частково чи повністю зруйновані. Ступінь дезорганізації та руйнування крипт чітко корелює зі ступенем руйнування ворсинок. Місцева реакція системи специфічного імунітету характеризується гіпертрофією поодиноких і скупчених лімфоїдних вузликів. Місцями виявляли невеликі осередки некрозу лімфоцитів. Також спостерігали набряк і гіперемія підслизової основи, зернисту дистрофію гладких м'язових клітин м'язової

пластинки слизової та м'язової оболонки. У ядрах епітеліоцитів ворсинок і крипт, а також у ядрах лімфоцитів виявляли еозинофільні тільця-включення.

У товстій кишці цуценят за експериментального зараження ізольованим парвовірусом, культивованим у гетерологічній культурі клітин, ураження локалізуються у сліпій та ободовій кишках і мають сегментарний характер: на одних ділянках крипти добре збережені, а на інших виявлено руйнування крипт. Місцева реакція системи специфічного імунітету характеризується гіпертрофією поодиноких і скупчених лімфоїдних вузликів. Місцями виявляють невеликі осередки некрозу лімфоцитів. У ядрах епітеліоцитів крипт, а також у ядрах лімфоцитів знаходяться еозинофільні тільця-включення.

За результатами нашого дослідження, морфологічні критерії, на яких базується патоморфологічний діагноз за парвовірусної інфекції у собак включають геморагічний ієюно-ілеїт, геморагії в серозній і слизовій оболонках тонкого відділу кишечника, геморагічний брижовий лімфаденіт, виснаження й некроз лімфоїдної тканини, дегідратацію організму. Експериментально доведено, що морфологічні критерії, на яких базується патоморфологічний діагноз за коронавірусної інфекції у собак, включають: серозно-катаральний або серозно-фібринозний ієюно-ілеїт, серозно-геморагічний брижовий лімфаденіт, геморагічні інфаркти у паренхімі селезінки, геморагії в серозній оболонці тонкого відділу кишечника, гіперплазію лімфоїдної тканини; дегідратацію організму. Не характерними, але постійними ознаками для ентеритів є пасивна венозна гіперемія печінки і нирок, дилатація правого шлуночка серця, дегідратація організму та набряк легень.

У ході проведення аналізу динамічних змін інтегральних гематологічних індексів, отриманих під час математичної обробки лейкограм, у собак, хворих на парвовіроз виявлено декомпенсацію ендогенної інтоксикації з переходом у термінальну стадію у субкомпенсацію цього процесу. Крім того, за розвитку хвороби відбувається домінування неспецифічних захисних клітин і розвиток важкого ступеня інтоксикації, про що свідчить збільшення індексу Кребса. За спонтанного перебігу коронавірусного ентериту, аналізуючи лейкоцитарні

індекси, встановлено гострий запальний процес з порушенням імунної реактивності організму за рахунок активності лише клітинної ланки імунітету та токсичним ураженням кісткового мозку, розвинена ендогенна інтоксикація, відбувається порушення ефекторних і афекторних ланок імунітету з пригніченням його функцій. Це супроводжується нестачею блокаторів запалення, цитокінів, що свідчить про супресію кісткового мозку на тлі гіпоксії головного мозку. Крім того, у хворих собак виявлено пригнічення імунної відповіді організму у зв'язку з постінфекційною інтоксикацією. Вищенаведені зміни також спостерігали за експериментального відтворювання хвороби, але у значно менш активній формі.

Під час дослідження імунного статусу собак за парво- та коронавірусного ентериту щодо змін кількості Т- і В- лімфоцитів визначено чітко виражені порушення імунного гомеостазу у вигляді Т-лімфопенії, зниження функціональної активності Т-клітин, зменшення числа циркулюючих Т-хелперів і основних продуцентів антитіл, якими є В- лімфоцити, кількість яких достовірно знижувалась.

Доведена доцільність вакцинації під час щенності так як встановлено трансплацентарну передачу материнських антитіл в межах від 6,7 до 8,2 % відповідно, що безумовно покращує опірну здатність організму і розвиток гуморального імунітету у отриманих цуценят. За результатами наших досліджень експериментально доведено, що вакцинацію цуценят потрібно проводити тільки після встановлення рівня напруженості імунітету шляхом визначення імуноглобулінів класу G (*Ig G*): у 5 тижневому віці і в разі виявлення показника *Ig G* більше 50 Од/мл імунізувати тварин вакциною *Purru DP*, далі за схемою у 7–8 тижневому – вакциною *DHPPI+L*, у 9–11 тижневому ревакцинація вакциною *DHPPI+LR*. Якщо у цуценят 5- тижневого віку показник *Ig G* менше 40 Од/мл, вакцинувати слід за загальною схемою починаючи з 7–8 тижнів і з однією ревакцинацією через 21 добу. При цьому слід враховувати, що концентрація поствакцинальних антитіл через 7–8 місяців після вакцинації є на досить низькому рівні і передбачає відновлення.

Експериментально доведена ефективність афінної хроматографії з використанням сорбентів на основі іммобілізованих імуноглобуліно-зв'язувальних білків, зокрема, рекомбінантного білка А *Staphylococcus aureus*. Це забезпечило отримання фракції тотальних Ig G собаки з чистотою близько 90 %, що на сьогодні є кращим показником ніж у більшості аналогових біопрепаратів, і має високий рівень стабільності не менше 6 місяців.

Під час дослідження встановлено, що найбільшу чутливість для культивування польового ізоляту парвовірусу має культура клітин нирки кроля, де титр інфекційної активності впродовж п'яти пасажів зростав і становив $3,8 \pm 0,08 \lg \text{ТЦД}_{50/\text{см}^3}$. Щодо польового коронавірусу, то найбільш чутливу лінію культур клітин має нирка хом'яка, де титр інфекційної активності після п'ятого пасажу становив $4,8 \pm 0,04 \lg \text{ТЦД}_{50/\text{см}^3}$.

Уперше в Україні виділено польовий штам коронавірусу, проведено його ізоляцію й адаптацію в системі *in vitro* та визначено його патогенність на сприйнятливих тваринах. Експериментально доведено можливість адаптації і накопичення польового ізоляту парвовірусу в системі *in vitro* на гетерологічних культурах клітин з визначенням його патогенності.

Розроблено протокол постановки ПЛР для виявлення ДНК парвовірусу у біологічному матеріалі. Підібрано нуклеотидну послідовність праймерів для виявлення парвовірусу собак підібрано із використанням програми *Primer Express (Applied Biosystems)*. При тім олігонуклеотидні праймери синтезували на виробничих потужностях *HVD Biotech Vertriebs (Австрія)*. Отримані нами результати аналізували за допомогою електрофорезу в 2 % агарозному гелі. Підібрані нами олігонуклеотидні праймери для виявлення та ідентифікації геному парвовірусу собак у ПЛР дозволяють ампліфікувати певні ділянки геному вірусу з високою специфічністю.

Ключові слова: собака, парвовірусний ентерит, коронавірусний ентерит, еритроцитопоез, лейкоцитопоез, імунітет, культуральні властивості, ПЛР, IgG, біопроба, макроскопічні та мікроскопічні особливості.

ANNOTATION

N. Radzikhovskii “Pathomorphology, diagnosis, treatment and prevention of enteric viral etiology in dogs” – On the rights of the manuscript.

The dissertation on competition of a scientific degree of the doctor of veterinary sciences on specialties 16.00.02 – pathology, oncology and morphology of animals and 16.00.03 – veterinary microbiology, epizootology, infectious diseases and immunology.

Polissya National University

Lviv national university of veterinary medicine and biotechnologies of a name of Gzhytsky, Lviv , 2021.

Studies have shown that the infectious pathology of dogs with the symptom complex of lesions of the gastrointestinal tract and the development of enteritis is a fairly multi-vector nosological profile that includes viral, bacterial and parasitic diseases. In dogs with disorders of the gastrointestinal tract, which was accompanied by hemorrhagic enteritis, according to our research, the cause of non-infectious etiology was established in 13% and infectious in 87% of the experimental animals. At the same time 63% of dogs were infected with infectious antigen and 37% were invasive. Of the infectious, viral etiology was predominant: adenovirus hepatitis (18,8 %), parvoviridae (13,6 %), rotaviridae (9,8 %) and coronaviridae infection (5,8 %), paramyxoviridae (4,6 %). Then there were bacterial diseases: campylobacteriosis (4,6 %) and salmonellosis (3,9 %), and parasitic (protozoal) giardiasis (19,5 %), cryptosporidiosis (11,7 %), and neosporosis (6,5 %).

According to research on epizootic features, it is found that coronavirus affects dogs of different ages, the only exception is dogs up to 2 months. A similar situation was observed with regard to the sensitivity of parvo- and rotavirus. In older animals, the coronavirus was diagnosed, even at the age of 7 and 8 years, and the most susceptible to the disease were dogs from 5 to 8 months. Experimental studies have shown that dogs 6 to 12 months of age are most susceptible to rotavirus enteritis. Also, single cases of rotavirus in dogs 12 to 13 years old should be noted. Regarding the susceptibility of dogs to parvovirus, we note the two most pronounced outbreaks:

at 6-8 months and at 6-7 years of age. According to our results, the peak incidence, depending on the time of year, was as follows: for parvovirus - in summer and autumn; coronavirus - in spring and summer; rotavirus - in spring and autumn. The most susceptible to parvovirus showed such dog breeds as: Laika English Bulldog and Bullmastiff; coronavirus - Rottweiler Jack Russell Terrier and Beagle: Rotavirus Jack - Scottish Terrier, Collie and Pomeranian Spitz.

According to the results of complex hematological studies of patients with parvovirus enteritis of dogs, erythrocytopenia, leukocytopenia, lymphocytopenia, hypoproteinemia, hyperactivity of AsAT and alkaline phosphatase, increase of ESR. However, depending on the form of manifestation of the disease, the indicators are somewhat different, but mainly characterize the satisfactory functional state of the liver and heart. In addition, on the basis of hematological indices polyorganic insufficiency with development of pathological immunosuppression and hepatorenal syndrome was determined. Erythrocytopenia, leukocytopenia, lymphocytopenia, hypoproteinemia, hyperactivity and alkaline phosphatase, an increase in ESR, have been established in dogs for coronavirus enteritis, taking into account the results of complex hematological studies. According to the analysis of indices of morphological indicators of erythrocytopenia reflects normocytic anemia, with a tendency to transition to macrocytic. However, changes in blood biochemical parameters are not nonspecific, however, they reflect the depth of pathological processes that complicate the course of coronavirus enteritis. In the analysis of dynamic changes of integral hematological indices obtained during mathematical treatment of leukograms, decompensation of endogenous intoxication with transition to the terminal stage in subcompensation of this process was revealed in dogs with parvovirus. In addition, the development of the disease is dominated by nonspecific protective cells and the development of a severe degree of intoxication, as evidenced by the increase in the Krebs index. Due to the natural course of coronavirus enteritis, analyzing leukocyte indices, an acute inflammatory process is established with impaired immune reactivity of the body due to the activity of only the cellular immunity and toxic bone marrow damage, developed endogenous intoxication, affecting the effector effector

lack of inflammatory blockers, cytokines, suggesting bone marrow suppression amid brain hypoxia. In addition, suppressed dogs have been shown to suppress the body's immune response due to post-infectious intoxication. The above changes were also recorded for experimental reproduction of the disease but in a much less active form.

During the study of the immune status of dogs with parv and coronavirus enteritis by changes in the number of T and B lymphocytes revealed clearly expressed disorders of immune homeostasis in the form of T-lymphopenia, decreased functional activity of T-cells, reducing the number of circulating T-helper cells and the main producers In lymphocytes, the number of which was significantly decreased.

The feasibility of vaccination during pregnancy has been proven as transplacental transfer of maternal antibodies in the range of 6.7 to 8.2 %, respectively, has been established, which certainly improves the body's resistance and the development of humoral immunity in the puppies obtained. According to our research, it is experimentally established that puppies vaccination should be carried out only after the level of immunity has been established by determining immunoglobulins of class G (Ig G): at 5 weeks of age and when Ig G is greater than 50 U / ml, immunize animals with Puppy DP vaccine, further according to the scheme in 7-8 weeks - DHPPI + L vaccine, in 9-11 weeks revaccination with DHPPI + LR vaccine. If the puppies of 5 weeks of age Ig G is less than 40 U / ml to be vaccinated according to the general scheme starting from 7-8 weeks and with one revaccination after 21 days. It should be borne in mind that the concentration of post-vaccine antibodies, after 7-8 months. after vaccination, is at a fairly low level and requires recovery.

The efficacy of affinity chromatography using sorbents based on immobilized immunoglobulin binding proteins, in particular, recombinant protein A *Staphylococcus aureus*, was experimentally proved, which provided a total of 90 % pure IgG fraction for dogs, which is now better than any other. high level of stability for at least 6 months.

The study found that the culture of the rabbit kidney cell, where the titer of infectious activity for five passages grew and was $3.8 \pm 0.08 \lg \text{ TCD}_{50}/\text{cm}^3$, has the

highest sensitivity for cultivation, the parvovirus field isolate. The hamster kidney also has a sensitive cell culture line, where the titer of infectious activity after the fifth passage was $4.8 \pm 0.04 \lg_{\text{TCD}_{50}/\text{cm}^3}$. For the first time in Ukraine, a coronavirus field strain was isolated, isolated and adapted in vitro, and its pathogenicity detected in susceptible animals. The possibility of adaptation and accumulation of the field isolate of parvovirus in the in vitro system on heterologous cell cultures with the determination of its pathogenicity was experimentally proved.

The PCR protocol for the detection of parvovirus DNA in biological material was developed. The nucleotide sequence of the primers was selected to detect dog parvovirus selected using Primer Express (Applied Biosystems). The oligonucleotide primers were then synthesized at the production facilities of HVD Biotech Vertriebs (Austria). The results obtained were analyzed by electrophoresis in 2 % agarose gel. Selected oligonucleotide primers for the detection and identification of the genome of parvovirus dogs in PCR, allow to amplify certain areas of the genome of the virus with high specificity.

It is experimentally established that the pathoanatomical changes in the digestive organs of dogs for coronavirus enteritis are similar to those of parvovirus: the stomach is often empty, its mucous membrane is touch dry, covered with a thin layer of thick mucus, a thin section of the intestine is dilated with a croup; , the mucous membrane has signs of catarrhal-hemorrhagic inflammation, its relief is smoothed. The main pathoanatomical changes of the internal organs are: in the spleen - speckled hemorrhage; in the kidneys local heart attacks; in the heart - expansion of the left part; lungs - signs of hemostasis. The liver and pancreas are of dense consistency, sometimes darker in color, in a state of dehydration. In coronavirus enteritis in dogs, there is dehydration of the body, atrophy of the parenchymal organs, catarrhal gastroenteritis, protein myocardosis, total (superficial) desquamation of the epithelium of the small intestinal mucosa. In dogs experimentally infected with a culture coronavirus, reproduction and its ability to persist in the small intestine occurs due to the significant accumulation of the latter's nucleic acids. In this case, the development of the infectious process is associated with changes in the

histoarchitectonics of the small intestine and disturbance of the histochemical state of cells, which leads to disruption of metabolic processes in the body in response to the action of the pathogen.

The revealed changes in the histostructure of the intestinal wall in experimental dogs (destruction of the villi of their necrosis, edema of the stroma, etc.) and cellular composition (granular and hydropic dystrophy of the epitheliocytes of the villi, cytoplasmic lysis and deformation of enterocytic nuclei) , mucus hypersecretion by goblet cells, decrease in enterocyte content of SHIK-positive substances in the cytoplasm), formation of basophilic bodies of inclusions in enterocytes. but infected dogs are indicative of a restructuring of the body due to the infectious process caused by the coronavirus. It should be noted under the influence of coronavirus is a violation of cellular contacts of enterocytes, which leads to inhibition of the protective functions of the intestine. In this case, the pathological process in experimentally infected animals develops rapidly and has an acute course. In this case, the protective mechanisms of the development of the infectious process on the action of the coronavirus are hypersecretion of mucus by goblet cells.

As a result of researches it is established that parvovirus enteritis is characterized by the lesion of the mucous membrane of the small intestine (hemorrhagic-necrotic inflammation), hyperplasia and atrophy of the lymphoid apparatus of the intestinal tract, eosinophilic alternative myocarditis is noted. Pathologic-anatomical changes in dogs killed from parvovirus enteritis revealed two forms of the disease - cardiac and intestinal. In intestinal form of parvovirus enteritis, the main pathological and anatomical changes are: hemorrhagic enteritis, serous-hemorrhagic inflammation of mesenteric lymph nodes, signs of hepatitis and enlargement of the spleen. Cardiac disease was characterized by acute alternative myocarditis, hemorrhage and atelectasis in the lungs. In the intestinal form of parvovirus infection in the liver of dogs recorded dystrophic changes and destruction of hepatocytes. Dystrophic and necrotic changes of cells of exocrine and endocrine parts of organ are established in pancreas. The established microscopic changes make it possible to state that the intestinal form of parvovirus infection leads to the development in dogs of

hepatopancreatic syndrome. For the first time, by conducting experimental reproduction of parvovirus enteritis in dogs, microscopic changes in the organs of hematopoiesis and immunogenesis were detected and recorded: in the thymus the disorganization of the thymic calves was recorded, and the organ itself was swollen due to the expansion of blood vessels, disturbances of the differentiation of the lymph nodes in the lymph nodes. connective tissue stroma of the organ and pronounced edema of the cortical and brain substances of the thymus lobes. The blood vessels of the intestinal, hepatic lymph nodes and pelvic nodes are dilated and filled with blood, the cortical and brain matter are swollen. The spleen is swollen, the red organ pulp contains a significant amount of iron-containing pigment - hemosiderin, as a result of the decay of a large number of erythrocytes. Microscopic changes in the myocardium of dogs in experimental reproduction of parvovirus enteritis were manifested by diffuse swelling of the intermuscular connective tissue, granular dystrophy of cardiomyocytes, and the presence of intranuclear eosinophilic Taurus inclusions.

In the kidneys of experimentally infected puppies, hemorrhages in the stroma of the cortical and cerebral substance are registered, progressive swelling of the renal glomeruli followed by their disintegration into individual fragments and destruction and necrosis of these fragments, as well as dystrophic changes (mainly granular dystrophytes) and destructive ruptures. Extracapillary serous glomerulitis was recorded in renal calves. In the nuclei of part of the mesangiocytes of many renal glomeruli eosinophilic Taurus-inclusions are found. In the liver, microscopic changes included venous congestion and organ swelling, granular dystrophy, and destruction of hepatocytes. Most hepatocytes were enlarged, with granular dystrophy present in some part. In accordance with the results obtained with experimental parvovirus infection, puppies recorded simultaneous lesions of the liver and kidneys, which is verified as hepato-renal syndrome. Granular and hydropic dystrophy found in the pancreas. Microscopic changes in the lungs were characterized by enlargement and overflow of parenchyma and stroma veins, venous congestion and organ swelling.

In experimental reproduction of parvovirus isolate cultured in heterologous cell culture in the small intestine puppies lesions had a segmental nature: in some areas

the villi are unchanged, in others with exposed tips, in the third case partially or almost completely destroyed. Crypts are disorganized, partially or completely destroyed. The degree of disorganization and destruction of crypts clearly correlates with the degree of destruction of villi. The local response of the system of specific immunity is characterized by hypertrophy of single and clustered lymph nodes. Small foci of lymphocyte necrosis were occasionally found. There is also swelling and hyperemia of the submucosa, granular dystrophy of the smooth muscle cells of the muscular plate of the mucous membrane and the mucous membranes. In nuclei of epitheliocytes of villi and crypts, and also in nuclei of lymphocytes eosinophilic bodies of inclusion are found. In the large intestine, puppies are localized in the caecum and colon with experimental isolation of parvovirus isolate, cultured in heterologous cell culture, and have segmental character: crypts are well preserved on some sites and crypts destroyed in others. The local response of the system of specific immunity is characterized by hypertrophy of single and clustered lymph nodes. Small foci of lymphocyte necrosis are found in places. Eosinophilic Taurus Inclusions are found in nuclei of crypt epitheliocytes as well as in lymphocyte nuclei.

According to the results of our study, the morphological criteria underlying the pathomorphologic diagnosis of parvovirus infection in dogs include hemorrhagic ileac-ileitis, hemorrhage in the serous and mucous membranes of the small intestine, hemorrhagic mesenteric lymphadenitis, tissue lymphadenitis,

It is experimentally proved that the morphological criteria on which the pathomorphological diagnosis based on coronavirus infection in dogs is based include: serous-catarrhal or serous-fibrinous myo-ileitis, serous-hemorrhagic mesenteric lymphadenitis, hemorrhagic infections, hemorrhagic infections lymphoid tissue hyperplasia; dehydration of the body. Passive venous hyperemia of the liver and kidneys, dilation of the right ventricle of the heart, dehydration of the body, and pulmonary edema are not characteristic but permanent signs of enteritis.

Key words: *dog, parvovirus enteritis, coronavirus enteritis, erythrocytopoiesis, leukocytopoiesis, immunity, cultural properties, PCR, IgG, bioassay, macroscopic and microscopic features.*

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ**Монографія:**

1. Лісова В.В., Радзиховський М.Л. Коронавірусна інфекція собак : монографія. Київ: ЦП «Компринт», 2019. 126 с. *(Здобувачем проведено аналіз літературних даних порівняно з одержаними результатами вивчення особливостей коронавірусу та його патогенний вплив на організм собак, оформлено ілюстративний матеріал, підготовлено монографію до друку).*

Статті у наукових фахових виданнях України:

2. Радзиховський М.Л. Епізоотологічні особливості парвовірусного ентериту собак. *Проблеми зооінженерії та ветеринарної медицини*. Харків, 2016. Вип. 32, Ч. 2. С. 130–134.

3. Радзиховський М.Л. Моніторинг ентеритів вірусної етіології у собак *Науковий вісник ЛНУВМ та БТ ім. С.З. Гжицького. Сер. Ветеринарні науки*. Львів, 2016. Т. 18, № 1 (65), Ч. 1. С. 138–142.

4. Радзиховський М.Л. Епізоотологічні особливості ротавірусного ентериту собак. *Наук.-техн. бюл. НДЦ біобезпеки та екологічного контролю ресурсів АПК*. Дніпро, 2016. Т. 4, № 4. С. 49–53.

5. **Радзиховський М.Л.**, Дишкант О.В., Розумнюк А.В. Морфологічні та біохімічні показники крові собак уражених парвовірусним ентеритом. *Ветеринарна біотехнологія. Бюлетень Інституту ветеринарної медицини НААН*. Київ, 2016. Вип. 29. С. 226–232. *(Здобувачем здійснені морфологічні дослідження крові та їх аналіз).*

6. **Радзиховський М.Л.**, Горальський Л.П., Заїка С.С. Патологоанатомічні зміни при коронавірусному ентериті у собак. *Вісник ЖНАЕУ*. Житомир, 2017. Т. 3, № 1 (60). С. 303–307. *(Здобувачем здійснені патологоанатомічні дослідження та їх аналіз).*

7. Радзиховський М.Л. Показники еритроцитопоезу у собак за парвовірусного ентериту. *Науковий вісник ветеринарної медицини*. Біла Церква, 2017. Вип. 2 (136). С. 97–101.

8. **Радзиховський М.Л.**, Розумнюк А.В., Полупан І.М. Показники еритроцитопоезу у собак за коронавірусного ентериту. *Ветеринарна біотехнологія*. Київ, 2017. Вип. 31. С. 128–134. (Здобувачем здійснені лабораторні дослідження та їх аналіз).

9. **Радзиховський М.Л.**, Дишкант О.В., Лісова В.В., Пінський О.В. Гемаглютинувальні властивості парвовірусу собак. *Проблеми зооінженерії та ветеринарної медицини. Сер. Ветеринарні науки*. Харків, 2018. Т. 3, Вип. 35, Ч. 2. С. 46–50. (Здобувачем здійснені лабораторні дослідження та їх аналіз).

10. Радзиховський М.Л. Морфологічні показники крові у собак за різних форм прояву парвовірусного ентериту. *Науково–технічний бюлетень ДНДКІ ветеринарних препаратів та кормових добавок України і Інституту біології тварин НААН*. Львів, 2018. № 2, Вип. 19. С. 152–157

11. Горальський Л.П., **Радзиховський М.Л.**, Заїка С.С. Патоморфологічна диференційна діагностика парвовірусного та коронавірусного ентериту у собак. *Наукові горизонти*. Житомир, 2018. № 9–10 (71). С. 3–7. (Здобувачем здійснені патоморфологічні дослідження та їх аналіз).

12. Радзиховський М.Л. Мікроскопічні зміни в тонкій кишці цуценят при експериментальному зараженні ізолятом парвовірусу, культивованим у гетерологічній культурі клітин. *Науковий вісник ветеринарної медицини*. Біла Церква, 2018. Вип. 1 (140). С. 122–127.

13. **Радзиховський М.Л.**, Горальський Л.П., Борисевич Б.В., Дишкант О.В. Інтегральні індекси інтоксикації у собак за коронавірусного ентериту. *Науковий вісник ветеринарної медицини*. Біла Церква, 2018. Вип. 2 (144). С. 13–19. (Здобувачем здійснені лабораторні дослідження та їх аналіз).

14. Радзиховський М.Л. Гістологічні зміни у собак за кишкової форми парвовірусного ентериту. *Ветеринарія, технології тваринництва та природокористування*. Харків, 2018. № 2. С. 59–62.

15. Радзиховський М.Л. Макроскопічні зміни у цуценят за експериментального відтворення коронавірусного ентериту. *Вісник ПДАА. Сер. Ветеринарна медицина*. Полтава, 2018. № 4. С. 174–177.

16. Радзиховський М.Л. Гістологічні зміни в печінці та нирках за експериментального відтворення парвовірозу у собак. *Науково-технічний бюлетень ДНДКІ ветеринарних препаратів та кормових добавок України і Інституту біології тварин НААН*. Львів, 2019. № 1, Вип. 20. С. 123–129.

Статті у наукових фахових виданнях України, включених до міжнародних наукометричних баз даних:

17. Радзиховський М.Л. Епізоотологічні особливості коронавірусного ентериту собак. *Науковий вісник НУБіП України. Сер. Ветеринарна медицина, якість і безпека продукції тваринництва*. Київ, 2016. № 237. С. 321–328.

18. Радзиховський М.Л. Гематологічні та біохімічні показники крові собак уражених коронавірусним ентеритом. *Науковий вісник ЛНУВМ та БТ ім. С.З. Гжицького*. Львів, 2017. Т. 19, № 77. С. 170–174.

19. **Радзиховський М.Л.**, Заїка С.С. Патоморфологічна характеристика парвовірусного ентериту в собак. *Науковий вісник ЛНУВМ та БТ ім. С.З. Гжицького*. Львів, 2017. Т. 19, № 82. С. 45–49. (Здобувачем здійснені патологоанатомічні дослідження та їх аналіз).

20. Лісова В.В., **Радзиховський М.Л.** Патоморфологічна діагностика ентеритів вірусної етіології у собак. *Науковий вісник ЛНУВМ та БТ ім. С.З. Гжицького*. Львів, 2018. Т. 20, № 83. С. 299–303. (Здобувачем здійснені патологоанатомічні дослідження та їх аналіз).

21. Лісова В.В., **Радзиховський М.Л.**, Стеблінова А.О. Мікроскопічні зміни в печінці й підшлунковій залозі собак при кишковій формі парвовірусного ентериту. *Науковий вісник НУБіП України. Сер. Ветеринарна медицина, якість і безпека продукції тваринництва*. Київ, 2018. № 285. С. 346–351. (Здобувачем здійснені гістологічні дослідження та їх аналіз).

22. Радзиховський М.Л. Порівняння чутливості перещеплювальних ліній культур клітин до коронавірусу собак. *Вісник ДДАЕУ*. Дніпро, 2018. № 1–2 (47). С. 157–160.

23. Радзиховський М.Л. Мікроскопічні зміни в товстій кишці цуценят за експериментального зараження ізолятом парвовіруса, культивованим у

гетерологічній культурі клітин. *Науковий вісник ЛНУВМ та БТ ім. С.З. Гжицького*. Львів, 2018. Т. 20, № 88. С. 98–101.

24. **Радзиховський М.Л.**, Горальський Л.П., Дишкант О.В. Динаміка лейкоцитарних індексів за парвовірусного ентериту у собак. *Theoretical and Applied Veterinary Medicine*. Дніпро, 2019. Vol. 7 (1). С. 3–7. (Здобувачем здійснені лабораторні дослідження та їх аналіз).

25. Горальський Л.П., **Радзиховський М.Л.**, Дишкант О.В. Мікроскопічна будова серця, органів кровотворення та імунного захисту собак за експериментального відтворення парвовірозу. *Наукові горизонти*. 2019. № 6 (79). С. 9–14. (Здобувачем здійснені гістологічні дослідження та їх аналіз).

26. Лісова В.В., **Радзиховський М.Л.** Морфологічні особливості різних форм парвовірусної інфекції собак. *Ukrainian journal of veterinary sciences*. Київ, 2019. Vol. 10 (2). Р. 37–44. (Здобувачем здійснені патологоанатомічні дослідження та їх аналіз).

27. Goralskii L., **Radzikhovsky N.**, Dyshkant O., Dunaievska O., Sokulskiy I. Experimental study of tropism in cultivated canine coronavirus in the small intestine of puppies. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. 2019. Vol. 10 (4). Р. 489–496. doi: 10.15421/021972 (Здобувачем здійснені гістологічні дослідження та їх аналіз).

Статті у наукових фахових виданнях інших держав, включених до міжнародних наукометричних баз даних:

28. **Радзиховський Н.Л.**, Заика С.С., Дышкант О.В. Патолого-анатомические изменения у собак при ассоциированном течении парвовирусного энтерита с аденовирусным гепатитом. *Сельское хозяйство проблемы и перспективы. Сер. Ветеринария*. Гродно, 2018. Т. 40. С. 182–190. (Здобувачем здійснені патологоанатомічні дослідження та їх аналіз)

29. **Радзиховський Н.**, Дишкант О. Эпизоотологические особенности болезней собак, вызванных энтеровирусами. *Ученые записки УО ВГАВМ*. Витебск, 2018. Т. 54, Вып. 2. С. 51–55. (Здобувачем здійснений епізоотологічний аналіз)

30. **Радзиховский Н.Л.,** Дышкант О.В., Бахур Т.И., Патафеева В.А. Сравнительные показатели эритроцитопоза у собак при энтеритах вирусной этиологии. *Ученые записки УО ВГАВМ.* Витебск, 2018. Т. 54, Вып. 3. С. 37–40. *(Здобувачем здійснені морфологічні дослідження крові та їх аналіз).*

31. **Радзиховский Н.,** Дышкант О., Бахур Т., Столярова Ю. Сравнение чувствительности перевиваемых культур клеток к парвовирусу собак. *Ветеринарный журнал Беларуси.* Витебск, 2018. Вып. 2 (9). С. 57–60. *(Здобувачем здійснені вірусологічні дослідження та їх аналіз).*

Патенти:

32. **Радзиховський М.Л.,** Дишкант О.В. Патент України № 137015: Спосіб культивування парвовірусу собак № U201902860; заявл. 22.03.2019; опубл. 25.09.2019, Бюл. № 18. *(Здобувач брав участь у проведенні досліджень і оформленні патенту України).*

33. Горальський Л.П., **Радзиховський М.Л.,** Дишкант О.В. Патент України № 133896: Спосіб культивування коронавірусу собак: № U201811498; заявл. 23.11.2018; опубл. 25.04.2019, Бюл. № 8. *(Здобувач брав участь у проведенні досліджень і оформленні патенту України).*

Посібник:

34. Довгій Ю.Ю., **Радзиховський М. Л.,** Дубова О.А., Фещенко Д.В., Нікітін О.А., Бахур Т.І., Дишкант О.В., Довгій М.Ю.. Паразитарні та інфекційні хвороби м'ясоїдних тварин : навч. посібник / за ред. Ю.Ю. Довгія. Вид. 2-ге, пер. і доп. Житомир: Полісся, 2016. 320 с. *(Здобувачем написано розділ «Вірусні хвороби»).*

Методичні рекомендації:

35. **Радзиховський М.Л.,** Горальський Л.П., Костюк В.К. Патоморфологічна діагностика парвовірусного та коронавірусного ентериту у собак : методичні рекомендації. Житомир: Рута, 2018. 20 с. (Затверджено НМР Науково-методичного центру інформаційно-аналітичного забезпечення діяльності вищих навчальних закладів «Агроосвіта», 1 жовтня 2018 року,

протокол № 6). *(Здобувач проводив морфологічні дослідження та узагальнення отриманих результатів).*

36. **Радзиховський М.Л.**, Горальський Л.П., Костюк В.К. Особливості культивування вірусів собак родини Parvoviridae та Coronaviridae. Житомир: Рута, 2018. 20 с. (Затверджено НМР «Науково-методичного центру інформаційно-аналітичного забезпечення діяльності вищих навчальних закладів «Агроосвіта», 1 жовтня 2018 року, протокол № 6). *(Здобувач особисто проводив вірусологічні дослідження та узагальнення отриманих результатів).*

37. **Радзиховський М.Л.**, Горальський Л.П., Дишкант О.В. Інтегральні гематологічні індекси оцінки ступеня ендогенної інтоксикації у собак. Житомир: Рута, 2018. 20 с. Затверджені Науково - методичною радою Держветфітослужби № 3 від 20.12 2018 року. *(Здобувач проводив статистичні дослідження та узагальнення отриманих результатів і підготовку матеріалів до друку).*

Тези наукових доповідей:

38. **Радзиховський М.Л.**, Дишкант О.В. Інфекційні ентерити у собак *Актуальні проблеми ветеринарної біотехнології та інфекційної патології тварин* : матеріали щорічної наук.-практ. конф. молодих вчених, 16 червня 2016 р. Київ : НААН України, Інститут ветеринарної медицини, Київ, 2016. С. 68–70. *(Здобувачем здійснені моніторингові дослідження та їх аналіз).*

39. **Радзиховський Н.Л.** Никитин О.А. Заразные болезни собак и кошек в городе Житомир. *Инфекционные болезни животных и антимикробные средства* : междунар. науч.-практ. конф. Саратов, 2016. С. 183–186. *(Здобувачем здійснені моніторингові дослідження та їх аналіз).*

40. Радзиховський М.Л. Нозологічний профіль ентеритів у собак. *Біологія тварин. Актуальні проблеми сучасної біології тваринництва та ветеринарної медицини* : матеріали міжнар. наук.-практ. конф., 29–30 вересня 2016 р. Львів, 2016. № 3, Т. 18. С. 176.

41. Горальський Л.П., **Радзиховський М.Л.** Патоморфологічні зміни в органах травлення собак за коронавірусного ентериту. *Сучасні проблеми*

ветеринарної медицини з питань інфекційної патології та патоморфології тварин : матер. всеукр. наук.-прак. інтернет-конф., 18–19 травня 2017 р. Полтава, 2017. С. 74–75. (Здобувачем здійснені патоморфологічні дослідження та їх аналіз).

42. **Радзиховський М.Л.**, Дишкант О.В. Морфологічні особливості показників крові у собак за інфекційних ентеритів. *Актуальні проблеми ветеринарної біотехнології та інфекційної патології тварин* : матеріали щорічної наук.-практ. конф. молодих вчених, присв. 40-річчю заснування Інституту ветеринарної медицини ІВМНААН. Київ, 2017. С. 72–74. (Здобувачем здійснені морфологічні дослідження крові та їх аналіз).

43. **Radzykhovskiy N.**, Dyshkant O. Peculiarities of cultivation on enterovirus cell cultures of dogs BTRP Ukraine Regional. *One Health Research Symposium* : 16–20 April 2018. Kyiv, 2018. P. 210. (Здобувачем здійснені лабораторні дослідження та їх аналіз).

44. **Радзиховський М.Л.**, Дишкант О.В. Моніторинг заразних хвороб собак і котів у м. Житомир. *Актуальні проблеми ветеринарної біотехнології та інфекційної патології тварин* : матеріали щорічної наук.-практ. конф. молодих вчених, присв. 100-річчю НААН України, 19 липня 2018 р. Київ : Компринт, 2018. С. 79–80. (Здобувачем здійснені моніторингові дослідження та їх аналіз).

45. **Радзиховський М.Л.**, Дишкант О.В., Нікітіна Ю.О. Мікроскопічні зміни в підшлунковій залозі собак за парвовірусного ентериту. *Science and technology of the present time : priority development directions of Ukraine and Poland*, 19–20 October 2018. Wolomin, Republic of Poland. 2018. Vol. 6. С. 78–82. (Здобувачем здійснені мікроскопічні дослідження та їх аналіз).

46. Соколюк В.М., **Радзиховський М.Л.**, Дишкант О.В., Колеснік Н.Л. Парвовірусний ентерит собак. Коронавірусний ентерит собак. *Science, research, development #12 Economy. Management. State and Law Vol. 2 Belgrade (Serbia)* 29.12.2018–30.12.2018. P. 7–19. (Здобувачем здійснені моніторингові і лабораторні дослідження та їх аналіз).

47. Радзиховський М.Л. Мікрофлора кишечника собак за коронавірусного ентериту. *BTRP Ukraine Regional One Health Research Symposium* : 20–24 May 2019. Kyiv, 2019. P. 248.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ.....	28
ВСТУП.....	31
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	42
1.1. Морфологічні та фізико-хімічні властивості парвовірусу та коронавірусу у собак (історія вивчення та характеристика збудника).....	41
1.2. Епізоотологічні особливості парвовірусного та коронавірусного ентериту у собак.....	50
1.3. Патогенез парвовірусного та коронавірусного ентериту у собак.....	53
1.4. Клінічна характеристика парвовірусного та коронавірусного ентериту у собак.....	57
1.5. Лікування ентеритів вірусної етіології.....	62
1.6. Діагностика парвовірусного та коронавірусного ентериту у собак.....	66
1.6.1. ПЛР – діагностика ПВЕ та КВЕ у собак.....	69
1.7. Патоморфологічна характеристика ПВЕ і КВЕ у собак.....	73
1.7.1. Патоморфологічні зміни за парвовірусного ентериту у собак.....	73
1.7.2. Патоморфологічні зміни за коронавірусного ентериту у собак.....	76
1.8. Характеристика ротавірусного ентериту (ротавірус) у собак.....	79
1.9. Висновок з огляду літератури.....	82
РОЗДІЛ 2 ВИБІР НАПРЯМІВ ДОСЛІДЖЕНЬ.	85
МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ ВИКОНАННЯ РОБОТИ	
2.1. Епізоотологічні дослідження.....	87
2.2. Морфологічні дослідження крові.....	87
2.3. Імунологічні дослідження.....	88
2.4. Патологоанатомічні дослідження	90
2.5. Гістологічні дослідження.....	91
2.6. Вірусологічні (культуральні) дослідження.....	92
2.7. Мікробіологічні дослідження.....	94
2.8. Біопроба	96
2.9. Молекулярно-біологічні дослідження.....	97
2.10. Статистичні методи дослідження.....	98
РЕЗУЛЬТАТИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ	
РОЗДІЛ 3. ОСОБЛИВОСТІ ЕПІЗООТОЛОГІЧНОГО ПРОЦЕСУ, МОРФОЛОГІЧНІ, БІОХІМІЧНІ І ІМУНОЛОГІЧНІ ПОКАЗНИКИ КРОВІ ЗА ПАРВО ТА КОРОНАВІРУСНОЇ ІНФЕКЦІЇ	99
3.1. Нозологічний профіль ентеритів у собак.....	99
3.2. Епізоотологічні особливості вірусних ентеритів у собак.....	106
3.3. Морфологічні показники крові за парвовірусної та коронавірусної інфекції у собак.....	113
3.4. Показники еритроцитопоезу у собак за парвовірусної та коронавірусної інфекції у собак.....	118
3.5. Морфологічні і біохімічні показники крові у собак за різних форм прояву парвовірозу.....	122

3.6. Інтегральні гематологічні індекси інтоксикації у собак за ентеритів вірусної етіології.....	126
3.7. Показники імунітету у собак за ентеритів вірусної етіології.....	138
ВИСНОВКИ ДО РОЗДІЛУ 3.....	142
РОЗДІЛ 4. ПАТОМОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ У СОБАК ЗА КИШКОВОЇ ФОРМИ ПАРВОВІРУСНОЇ ІНФЕКЦІЇ.	146
4.1. Макроскопічні зміни у собак за спонтанної кишкової форми парвовірусної інфекції.....	146
4.2. Мікроскопічні зміни у собак за спонтанної кишкової форми парвовірусної інфекції.....	153
4.2.1. Мікроскопічні зміни у шлунково-кишковому тракті.....	153
4.2.2. Мікроскопічні зміни в інших органах.....	180
РОЗДІЛ 5 ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ІНФЕКЦІЯ	195
5.1. Виділення польового ізоляту ПВС та КВС, підготовка вірусомісного патматеріалу для мікробіологічних і вірусологічних досліджень.....	195
5.2. Підготовка вірусомісного патологічного матеріалу для вірусологічних досліджень та мікробіологічний контроль вірусомісного матеріалу.....	198
5.3. Культуральні властивості польового вірусу родини <i>Parvoviridae</i>	206
5.4. Культуральні властивості польового вірусу родини <i>Coronaviridae</i>	213
5.5. Гемаглютинуючі властивості парво- та коронавірусу.....	217
5.6. Експериментальне відтворення парвовірусного і коронавірусного ентериту у собак.....	221
5.7. Мікрофлора собак, експериментально уражених парвовірусом і коронавірусом.....	222
ВИСНОВКИ ДО РОЗДІЛУ 5.....	234
РОЗДІЛ 6 ПАТОМОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ ЗА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ІНФЕКЦІЇ	235
6.1. Макроскопічні зміни у цуценят за експериментального зараження ізолятом парвовірусу, культивованим у гетерологічній культурі клітин.....	235
6.2. Мікроскопічні зміни.....	240
6.2.1. Мікроскопічні зміни у тонкій кишці цуценят за експериментального зараження ізолятом парвовірусу, культивованим у гетерологічній культурі клітин.....	240
6.2.2. Мікроскопічні зміни у товстій кишці цуценят за експериментального зараження ізолятом парвовірусу, культивованим у гетерологічній культурі клітин.....	279
6.2.3. Мікроскопічні зміни у внутрішніх органах цуценят за експериментального зараження ізолятом парвовірусу, культивованим у гетерологічній культурі клітин.....	295
6.3. Патоморфологічні зміни у собак за експериментального коронавірусного ентериту.....	332
6.3.1. Макроскопічні зміни цуценят за експериментального	

зараження ізолятом коронавірусу, культивованим у гетерологічній культурі клітин.....	332
6.4. Мікроскопічні зміни у шлунково-кишковому тракті цуценят за експериментального зараження ізолятом коронавірусу, культивованим у гетерологічній культурі клітин.....	338
6.4.1. Мікроскопічні зміни в інших органах цуценят за експериментального зараження ізолятом коронавірусу, культивованим у гетерологічній культурі клітин.....	360
ВИСНОВКИ ДО РОЗДІЛУ 4 ТА 6.....	373
РОЗДІЛ 7. УДОСКОНАЛЕННЯ ЛІКУВАЛЬНО-ПРОФІЛАКТИЧНИХ ЗАХОДІВ І ДІАГНОСТИКИ З ПАРВОВІРУСНИМ ЕНТЕРИТОМ	377
7.1. Удосконалення профілактики ентеритів вірусної етіології.....	377
7.2. Виділення та сорбція імуноглобулінів класу <i>G (Ig G)</i>	384
7.3. Розробка тест-системи полімеразно-ланцюгової реакції для діагностики парвовірусу отриманого з гетерологічних перещеплювальних ліній культур клітин.....	391
ВИСНОВКИ ДО РОЗДІЛУ 7	395
РОЗДІЛ 8 АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ	397
ВИСНОВКИ.....	422
ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ.....	426
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ЛІТЕРАТУРНИХ ДЖЕРЕЛ.....	428
ДОДАТКИ.....	490

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ

- ГАО – гемаглютинуюча одиниця
ДНК – дезоксирибонуклеїнова кислота
РНК – рибонуклеїнова кислота
МЕБ – Міжнародне епізоотичне бюро
ПЛР – полімеразна ланцюгова реакція
ІФА (ELISA) – імуноферментний аналіз
ІРІ – імунорегуляторний індекс
РГА – реакція гемаглютинації
Lim – межа значення
АсАТ – аспартатамінотрансфераза
АлАТ – аланінамінотрансфераза
ШОЕ – швидкість осідання еритроцитів
МСV – об'єм еритроцитів
МСНС – середня концентрація гемоглобіну в еритроциті
МСН – вміст гемоглобіну в одному еритроциті
ЛШ – лейкоцитарний індекс інтоксикації
ЯІ – ядерний індекс
РВН – реактивна відповідь нейтрофілів
ІЗЛК – індекс зсуву лейкоцитів крові
ЛІ – лейкоцитарний індекс
ПІ – показник інтоксикації
ІСНЛ – індекс співвідношення нейтрофілів і лімфоцитів
ІСНМ – індекс співвідношення нейтрофілів і моноцитів
ІСЛМ – індекс співвідношення лімфоцитів і моноцитів
ІСЛЕ – індекс співвідношення лімфоцитів і еозинофілів
ІСЕЛ – індекс співвідношення еозинофілів і лімфоцитів
ІГ – індекс Гаркаві

ІА – індекс алергізації

ІР – індекс імунореактивності

ІСНПН – індекс співвідношення сегментоядерних нейтрофілів та паличкоядерних нейтрофілів

ІСЛШОЕ – індекс співвідношення лейкоцитів і ШОЕ

ІЛГ – лімфоцитарно-гранулоцитарний індекс

ІСЛМШОЕ – індекс співвідношення лімфоцитів і моноцитів до ШОЕ

ЗІ – загальний індекс

Ig A – імуноглобуліни класу А

Ig M – імуноглобуліни класу М

Ig E – імуноглобуліни класу Е

Ig G – імуноглобуліни класу G

ПВС – парвовірус собак

КВС – коронавірус собак

СРV – Canine Parvoviridae

ССV – Canine Coronaviridae

ЦНС – центральна нервова система

ССС – серцево-судинна система

ШКТ – шлунково-кишковий тракт

АГ – антиген

АТ – антитіло

КК – культура клітин

ВНК-21 – культура клітин нирки сирійського хом'яка

СПЕВ – культура клітин нирки ембріона свині

МДВК – культура клітин нирки бика

РК-13 – культура клітин нирки кроля

ЦПД – цитопатогенна дія

ПЕГ – поліетиленгліколь

МПА – м'ясо-пептонний агар

СКА – соєво-казеїновий агар

ЖСА – жовтково-сольовий агар

ДСН-ПААГ – додецилсульфат натрію

М – середнє арифметичне

m – похибка середнього арифметичного

n – кількість дослідних тварин

P – критерій достовірності

t – розрахункове значення критерію Стюдента

г – грам

од. – одиниць

ВСТУП

Актуальність теми. Проблема ентеритів вірусної етіології у тварин є актуальною для сучасної ветеринарної медицини. Особливо широке розповсюдження таких інфекцій серед собак пояснюється активним збільшенням популяції *Canis lupus familiaris*, що обумовлює подальше загострення епізоотичної ситуації. Тому ентеровірусні інфекції у загальній патології собак стабільно займають провідні місця [7, 14, 84, 203, 398, 471, 532].

За даними О.В. Іліної (2011), О.В. Ящука (2014) та А.В. Дідуха (2015) в Україні у собак регулярно реєструють захворювання з ураженням шлунково-кишкового тракту, зокрема вірусний ентерит та гепатит, а також гастроентерити нез'ясованої етіології, частка яких в межах 60 % від загальної кількості інфекцій. Очевидно, що фахівці ветеринарних клінік невеликих міст, у зв'язку із відсутністю діагностичних лабораторій, диференціацію таких хвороб майже не проводять, а здебільшого об'єднують їх під загальною назвою «парвовірусний ентерит». Водночас етіологічний спектр хвороб цього симптомокомплексу охоплює корона- та ротавірусний ентерит, про що свідчать результати специфічної профілактики [26, 73, 85, 196, 490].

Враховуючи домінування і прогресивне поширення ентеритів вірусної етіології по всій території України, кількість собак, хворих на парво- та коронавірусний ентерит, з кожним роком збільшується [48, 78, 343, 501].

Світові літературні джерела пояснюють, що у собак причинами появи діареї із наступним проявом симптомів ентериту здебільшого є віруси, бактерії та паразити [87, 160, 366, 387, 437, 501].

На сьогодні у ветеринарній медицині класифікують наступні види ентериту: *інфекційний* – чинником якого є віруси та бактерії, які після проникнення в організм тварин спричиняють запалення шлунково-кишкового тракту; *паразитарний* – внаслідок прогресивного розмноження гельмінтів і найпростіших у тонкому відділі кишечника; *аліментарний* – з причини

надмірного згодовування корму, особливо із вмістом грубої клітковини; *токсичний* – внаслідок отруєння сулемою, миш'яком, грибами, речовинами небактеріального походження; *алергічний* – рушійною силою якого є алергічні реакції кишечника на деякі харчові продукти або медикаменти, виникає тільки у випадку гіперчутливості організму на будь-яку речовину – алерген [12, 25, 33, 275131, 141, 191, 275, 299].

Інфекційні запалення тонкого відділу кишечника у 70 % випадків мають вірусне, а не бактеріальне походження і характеризуються гострим перебігом. Такі патології здебільшого проявляються у формі гастроентериту або ентероколіту [295, 406, 448, 455, 590].

Взагалі вірусним ентеритам притаманний складний патогенетичний механізм, який супроводжується ураженням серця, печінки та нирок [23, 42, 124, 125, 161, 363].

Збільшення випадків захворювання собак з ознаками діареї в останні роки відмічають не лише в Україні, але й у Європі. Окрім парво- та коронавірусного ентериту провідні наукові центри постійно відмічають наявність ще й ротавірусної інфекції, котра надзвичайно небезпечна для цуценят і собак дрібних порід, у зв'язку з високою летальністю внаслідок швидкого зневоднення їх організму [159, 170, 341, 406, 367, 387, 435, 548, 553].

Існує багато високочутливих і специфічних методів діагностики парво- та коронавірусного ентериту у собак. Проте ці методи здебільшого тривалі у часі, потребують спеціального обладнання і можуть бути виконані тільки в умовах лабораторії [33, 79, 190, 214].

Таким чином, вивчення біологічних властивостей збудників парвовірусного і коронавірусного ентериту у собак, особливостей клінічного прояву хвороби, морфологічних показників крові, імунологічних показників і патоморфологічних особливостей, удосконалення профілактики та діагностики є актуальним та має важливе значення для вирішення проблеми парво- та коронавірусної інфекції собак.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.

Дисертаційна робота є фрагментом комплексної наукової програми кафедри анатомії і гістології Житомирського національного агроекологічного університету ЖНАЕУ (нині Поліський національний університет) за темою «Морфологія, імунологія коронавірусних інфекцій (інфекційний бронхіт курей, коронавірусний ентерит собак), їх діагностика та профілактика» (номер державної реєстрації 0118U003815, 2018–2019 рр.).

Автор виконував розділ «Розвиток, морфологія та гістохімія органів тварин у нормі та при патології» (номер державної реєстрації – 0113U000900 2013–2018 рр.).

Фрагмент дисертаційної роботи за 2015–2016 рр., складав частину науково-дослідної роботи кафедри мікробіології, фармакології та епізоотології ЖНАЕУ «Крайова епізоотологія, удосконалення діагностики і профілактики інфекційних хвороб тварин» (номер державної реєстрації 0115U006074).

Ініціативна тематика – «Патоморфологія, діагностика, лікування та профілактика ентеритів вірусної етіології у собак» (номер державної реєстрації 0117U003609, 2017–2021 рр.).

Мета та завдання досліджень. Метою дисертаційної роботи було дослідити особливостей епізоотичної ситуації щодо ентеритів різного нозологічного профілю та проведення епізоотологічного аналізу щодо парвовірусного (ПВЕ) та коронавірусного ентериту (КВЕ), біологічних властивостей їх збудників у собак, особливостей морфологічних показників крові, еритроцитопоезу та гематологічних інтегральних індексів, імунологічних показників та патоморфологічних особливостей.

Для досягнення мети були поставлені наступні завдання:

- з'ясувати нозологічний профіль ентеритів у хворих тварин і визначити роль парво- та коронавірусної інфекції у заразній патології собак;
- встановити епізоотологічні особливості парво- та коронавірусного ентериту у собак;

– дослідити морфологічні зміни крові за парво- та коронавірусного ентериту;

– з'ясувати макро- та мікроскопічні зміни на тканинному та клітинному рівнях в організмі собак за парвовірусної інфекції;

– з'ясувати макро- та мікроскопічні зміни на тканинному та клітинному рівнях в організмі собак за коронавірусної інфекції;

– з'ясувати показники ендогенної інтоксикації на організм собак за парво- та коронавірусного ентериту;

– дослідити культуральні властивості збудників парво- та коронавірусного ентериту у собак;

– з'ясувати макро- та мікроскопічні зміни на тканинному та клітинному рівнях в організмі собак за експериментального відтворення парво- та коронавірусної інфекції.

– встановити імунну реактивність організму собак за парво- та коронавірусного ентериту;

– розробити та удосконалити сучасні методи діагностики парво- та коронавірусної інфекції у собак;

– удосконалити та запровадити ефективні методи лікування парво- та коронавірусної інфекції у собак.

Об'єкт дослідження – вплив на організм собак парвовірусної та коронавірусної інфекції.

Предмет дослідження – особливості епізоотологічного процесу, морфологічні, біохімічні, імунологічні показники крові та патоморфологічні зміни внутрішніх органів у собак за спонтанного та експериментального парво- і коронавірусного ентериту.

Методи дослідження – епізоотологічні (епізоотологічний аналіз); клінічні (визначення загального клінічного стану тварин); мікробіологічні (якісний та кількісний склад мікроорганізмів умісту кишечника, визначення чутливості до антибіотиків); патологоанатомічні (виявлення макроскопічних змін); гістологічні (оцінка мікроскопічної будови органів тварин на клітинному і

тканинному рівнях); вірусологічні (розмноження вірусу, дослідження інфекційної активності вірусу, біологічна проба); гістохімічні (виявлення кислих білків, вуглеводів та глікопротеїну); серологічні (дослідження рівня антитіл у сироватці крові); гематологічні (морфологічні, біохімічні та імунологічні показники крові); молекулярно-генетичні (проведення полімеразної ланцюгової реакції); статистичні (обробка цифрових даних з метою визначення вірогідності змін показників).

Наукова новизна одержаних результатів. У дисертаційній роботі з'ясовано особливості епізоотологічного процесу парво- та коронавірусного ентеритів у собак. На основі одержаних результатів досліджень розроблені та запропоновані критерії патоморфологічної диференційної діагностики парвовірусного та коронавірусного ентеритів у собак. За результатами досліджень експериментально обґрунтовано визначення рівня імуноглобулінів класу *G* (*Ig G*) у цуценят після відлучення і до року для корекції схеми вакцинації.

Уперше в Україні проведено детальне вивчення патоморфологічних змін за спонтанного і експериментального ПВЕ та КВЕ собак у порівняльному аспекті, результати якого запропоновано використовувати для диференційної діагностики вірусних ентеритів.

Отримані нові дані щодо культуральних властивостей польових штамів парвовірусу та коронавірусу собак. Опубліковані відповідні методичні рекомендації та отримано патенти України на корисну модель.

За результатами аналізу лейкопоезу розраховано та запропоновано до використання результати інтегральних індексів для оцінки ступеня ендогенної інтоксикації у собак, хворих на ентерити вірусної етіології. Визначено особливості морфологічних, біохімічних показників та результати еритроцитопоезу і лейкопоезу за парво- та коронавірусної інфекції.

Уперше в Україні виконано комплексне дослідження щодо удосконалення діагностики парвовірусного ентериту шляхом виділення *Ig G* до парвовірусу

собак шляхом афінної хроматографії з іммобілізованим білком А *Staphylococcus aureus*.

Встановлено, що у собак за ПВЕ та КВЕ виявляють чітко виражені порушення імунного гомеостазу у вигляді зниження субпопуляцій імунокомпетентних клітин.

За результатами молекулярно-генетичних досліджень вперше сконструйовано олігонуклеотидні праймери, *SET1 – CPVF (tctttgcctcaatctgaagg)* *CPVR (cagtaatatagtttgtatttcc)* і *SET2 – CPVF (gcatttggtagacaacatgg)* *CPVR (ttgaatccaatctccttctgg)*, для виявлення та ідентифікації геному парвовірусу собак у полімеразно-ланцюговій реакції (ПЛР), які дозволяють ампліфікувати певні ділянки геному вірусу з високою специфічністю, задля своєчасної диференційної діагностики ПВЕ. Крім того, вперше на території України виділено польовий штам коронавірусу «*Nick*» і отримано свідоцтво про первинне депонування штаму мікроорганізму в Депозитарії Державного науково-контрольного інституту біотехнології і штамів мікроорганізмів (№ 735 від 10. 12. 2018 р.). Виділено польовий штам парвовірусу «*Антей*» і отримано свідоцтво про первинне депонування штаму мікроорганізму в Депозитарії Державного науково-контрольного інституту біотехнології і штамів мікроорганізмів (№ 734 від 10. 12. 2018 р.).

Наукова новизна отриманих результатів підтверджена патентами України на корисну модель № 137015 від 25. 09. 2019 р. «Спосіб культивування парвовірусу собак» та № 133896 від 25. 04. 2019 р. «Спосіб культивування коронавірусу собак».

Практичне значення одержаних результатів. Результати досліджень суттєво доповнюють і поглиблюють сучасні знання про ПВЕ та КВЕ, як інфекційні хвороби собак і можуть бути використані у клінічній практиці лікарів ветеринарної медицини для діагностики ентеритів вірусної етіології.

За результатами проведених наукових досліджень здобувачем (у співавторстві) опубліковано монографію «Коронавірусна інфекція собак», та навчальний посібник для студентів вищих навчальних закладів, які навчаються

за спеціальністю «Ветеринарна медицина» з грифом Міністерства освіти і науки України (1/11-5576 від 15.04.2014 р.) «Паразитарні та інфекційні хвороби м'ясоїдних тварин».

Для диференційної діагностики ПВЕ та КВЕ розроблено та видано методичні та науково-практичні рекомендації: «Патоморфологічна діагностика парвовірусного та коронавірусного ентериту у собак», затверджені НМР Науково-методичного центру інформаційно-аналітичного забезпечення діяльності вищих навчальних закладів «Агроосвіта», (протокол № 6 від 1.10.2018 р.); «Особливості культивування вірусів собак родини *Parvoviridae* та *Coronaviridae*», затверджені НМР «Науково-методичного центру інформаційно-аналітичного забезпечення діяльності вищих навчальних закладів «Агроосвіта», (протокол № 6 від 1.10.2018 р.); «Інтегральні гематологічні індекси оцінки ступеня ендогенної інтоксикації у собак», затверджені НМР Держветфітослужби (протокол № 3 від 20.12.2018 р.).

Отримано деклараційні патенти України на корисну модель: «Спосіб культивування коронавірусу собак» (UA 201811498 U від 25.04.2019 р.), «Спосіб культивування парвовірусу собак» (UA 201902860 U від 25.09.2019 р.).

Матеріали дисертаційної роботи використовуються у навчальному процесі та науково-дослідній роботі на кафедрах: лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи Інституту післядипломного навчання керівників і спеціалістів ветеринарної медицини (ІПНКСВМ), кафедрі епізоотології та інфекційних хвороб, кафедрі ветеринарно-санітарної експертизи, гігієни продуктів тваринництва та патологічної анатомії імені Й.С. Загаєвського Білоцерківського національного аграрного університету; кафедрі мікробіології, фармакології та епізоотології, кафедрі анатомії і гістології Житомирського національного агроекологічного університету (нині Поліський національний університет); на кафедрі нормальної та патологічної морфології Харківської державної зооветеринарної академії; на кафедрі нормальної і патологічної анатомії та патофізіології, кафедрі фізіології, біохімії

і мікробіології, кафедрі епізоотології і паразитології Одеського державного аграрного університету; на кафедрі епізоотології та інфекційних хвороб тварин, кафедрі нормальної і патологічної анатомії сільськогосподарських тварин Дніпровського державного аграрно-економічного університету; на кафедрі інфекційних та інвазійних хвороб Подільського державного аграрно-технічного університету; на кафедрі анатомії нормальної та патологічної фізіології тварин Сумського національного аграрного університету; на кафедрі епізоотології та організації ветеринарної справи Національного університету біоресурсів і природокористування України; кафедрі патологічної анатомії і гістології, кафедрі епізоотології і інфекційних хвороб тварин, кафедрі мікробіології і вірусології, кафедрі хвороб дрібних тварин і птиці ЗО Вітебська «Знак пошани» державної академії ветеринарної медицини (Республіка Білорусь).

Результати дисертаційної роботи використовують у схемі лабораторної діагностики ентеритів вірусної етіології: ТОВ-центр ветеринарної діагностики «ЦВД» і ТОВ «Бальд», ветеринарна лабораторія (м. Київ); у виробничому процесі в умовах ветеринарної клініки «Багіра»; навчально-науково-виробничій клініці ветеринарної медицини факультету ветеринарної медицини Поліського національного університету; ветеринарній клініці «Доктор ZOO» і «Шанс»; міській державній лікарні ветеринарної медицини м. Житомир; «Айболит» м. Бердичів; «Юпітер» м. Вінниця; «Зоолукс», «Крихітка Єнот» і «Вікторія» м. Київ та племінному розпліднику кінологічного центру прикордонних військ Західного оперативного командування м. Великі Мости, Сокальського району, Львівської області (військова частина № 2418).

Особистий внесок здобувача. Автор особисто виконав пошук і аналіз наукової літератури за темою роботи, відібрав матеріал, провів наукові дослідження, здійснив статистичну обробку цифрових показників та узагальнив одержані результати, оформив ілюстративний матеріал. Здобувач розробив програму й етапи наукових досліджень, сформулював мету і завдання експериментальних досліджень. Інтерпретацію одержаних результатів,

формулювання висновків і пропозицій виробництву проведено спільно з науковим консультантом.

Частину патоморфологічних досліджень проводили на кафедрі анатомії, гістології і патоморфології тварин ім. акад. В.Г. Касьяненка НУБіП у співпраці з доктором ветеринарних наук, професором Б.В. Борисевичем та кандидатом ветеринарних наук, доцентом В.В. Лісовою. Окремі імунологічні дослідження проводили за науково-консультативної допомоги доктора ветеринарних наук, професора В.М. Івченка (Інститут післядипломного навчання керівників і спеціалістів ветеринарної медицини БНАУ). Молекулярно-біологічні дослідження здобувач проводив у лабораторії генно-інженерних біотехнологій, відділу генних технологій ДУ «Інститут генетичної та регенеративної медицини НАМН України», дослідної лабораторії ПП «Лабораторія провідних біотехнологій «НЕО-ГЕН» м. Київ, за участі наукових співробітників Д.Ю. Рибальченка та О.Л. Філоненка. Виділення та сорбцію імуноглобулінів виконували спільно з лабораторією генно-інженерних біотехнологій, відділу генних технологій ДУ «Інститут генетичної та регенеративної медицини НАМН України», разом з кандидатом біологічних наук, доцентом О.Б. Горбатюк. Низку експериментальних науково-лабораторних досліджень було проведено у ТОВ «Бальд», приватній ветеринарній лабораторії та ТОВ «Центр ветеринарної діагностики» (м. Київ).

Одержані наукові результати, що виносяться на захист, є особистим досягненням здобувача.

Апробація результатів дисертації. Основні матеріали дисертаційної роботи доповідались, обговорювались і були схвалені на конференціях професорсько-викладацького складу факультету ветеринарної медицини Житомирського національного агроекологічного університету (м. Житомир, 2014–2019); міжнародній науково-практичній конференції «Заразні хвороби тварин: сучасні методи діагностики, лікування та профілактики» (м. Житомир, 2015); міжнародній науково-практичній конференції «Актуальні проблеми сучасної біології тваринництва та ветеринарної медицини» (м. Львів, 2016);

науково-практичній конференції молодих вчених «Актуальні проблеми ветеринарної біотехнології та інфекційної патології тварин» (м. Київ, 2016); науково-практичній і навчально-методичній конференції науково-педагогічних працівників Харківської державної зооветеринарної академії «Проблеми, новітні здобутки та перспективи розвитку ветеринарної медицини» (м. Харків, 2016); міжнародної науково-практичної конференції «Инфекционные болезни животных и антимикробные средства» (г. Саратов, 2016); міжнародній науково-практичній конференції «Теорія, практика та перспективи ветеринарної медицини», присвяченій, 115-річчю з дня народження академіка І.О. Поваженка (м. Київ, 2016); міжвузівській науково-практичній конференції викладачів і студентів «Актуальні аспекти біології тварин, ветеринарної медицини та ветеринарно-санітарної експертизи» (м. Дніпропетровськ, 2016); XIII міжнародній науково-практичній конференції морфологів України «Актуальні проблеми сучасної морфології» (м. Житомир, 2017); всеукраїнській науково-практичній Інтернет-конференції «Сучасні проблеми ветеринарної медицини з питань інфекційної патології та патоморфології тварин» (м. Полтава, 2017); науково-практичній конференції молодих вчених «Актуальні проблеми ветеринарної біотехнології та інфекційної патології тварин» (м. Київ, 2017); третьому щорічному регіональному науковому симпозиумі в рамках концепції «Єдине здоров'я» за підтримки ПЗБЗ в Україні (м. Київ, 2018); міжнародній науково-практичній конференції «Актуальні проблеми сучасної біології, тваринництва та ветеринарної медицини», присвяченій 100 - річчю заснування НААН України (м. Львів, 2018); міжнародній науково-практичній конференції «Інфекційна патологія тварин: сучасні методи діагностики, лікування та профілактики» (м. Дніпро, 2018); науково-практичній конференції молодих вчених «Актуальні проблеми ветеринарної біотехнології та інфекційної патології тварин» (м. Київ, 2017); XVII всеукраїнській науково-практичній конференції молодих вчених «Молоді учені у вирішенні актуальних проблем біології, тваринництва та ветеринарної медицини», присвяченій 100-річчю з дня народження професора В.І. Третьевича (м. Львів, 2018); international

Multidisciplinary Conference Science and Technology of the present time: Priority Development Directions of Ukraine and Poland (19–20 October 2018, Wolomin, Republic of Poland); VI всеукраїнській науково-практичній конференції «Сучасні підходи забезпечення здоров'я тварин та якості кормів і харчових продуктів» (м. Житомир, 2019); четвертому щорічному регіональному науковому симпозиумі в рамках концепції «Єдине здоров'я» за підтримки ПЗБЗ в Україні (м. Київ, 2019); міжнародній науково-практичній конференції «Актуальні проблеми епізоотології та заразних хвороб тварин» присвяченій 80-річчю з дня народження професора В.Я. Атамася (м. Одеса, 2019); зборах з начальниками відділень (груп) безпечності харчових продуктів та ветеринарної медицини органів Держприкордонслужби на базі Кінологічного навчального центру (м. Великі Мости, Львівська область, Сокальський район, 2019).

Публікації. За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 47 наукових праць, з яких 1 монографія, 30 статей у наукових фахових виданнях України, (13 одноосібних), 11 у наукових фахових виданнях України, включених до міжнародних наукометричних баз даних (1 – *Web of Science*, 10 – у виданнях, що входять до наукометричних баз даних), 4 статті у науковому фаховому виданні іншої держави, 1 посібник, 3 методичні рекомендації (одна з яких затверджена Держветфітослужбою України), 2 патенти на корисну модель і 2 свідоцтва про первинну реєстрацію штамів мікроорганізмів, 10 тез наукових доповідей, з яких 5 у закордонних виданнях.

Структура та обсяг дисертації. Обсяг основної частини дисертаційної роботи викладено на 427 сторінках комп'ютерного тексту, містить анотації, вступ, огляд літератури, вибір напрямів досліджень, матеріали і методи виконання роботи, результати експериментальних досліджень, аналіз і узагальнення результатів досліджень, висновки, пропозиції виробництву, список використаних літературних джерел та додатки. Матеріали дисертаційної роботи проілюстровані 263 рисунками і 31 таблицею. Список використаних літературних джерел містить 603 посилання, у тому числі 285 латиницею.

РОЗДІЛ 1

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Морфологічні та фізико-хімічні властивості парвовірусу та коронавірусу у собак (історія вивчення та характеристика збудника)

Парвовірусний ентерит собак (ПВС, парвовіроз, «олімпійка» *Caninae parvoviridae*) – гостра висококонтагіозна хвороба, що характеризується ураженням шлунково-кишкового тракту й серцевого м'яза. Парвовіроз зазвичай має стаціонарний характер зі значним охопленням поголів'я. Найбільш небезпечна хвороба для цуценят віком до 6 місяців, причому летальність може досягати 80 % [123, 295, 346, 562].

Парвовіруси (лат. *Parvoviridae*, від лат. *Parvus* – маленький) – родина найдрібніших ДНК – вмісних сферичних вірусів, позбавлених ліпопротеїнової оболонки. Віріони мають діаметр 18–26 нм і містять 60 капсомерів, тип симетрії ікосаедричний T1. Геном вірусу містить одноланцюгову ДНК (геном близько 5 kb). Перший представник парвовірусів був ізольований L. Kilham від щурів у 1959 році [11, 106, 298, 464, 575].

Родина *Parvoviridae* налічує понад 30 представників і складається з трьох родів: *Parvovirus*, *Dependovirus* (від лат. *Dependere* – залежний) і *Densovirus* (від лат. *Densus* – щільний, компактний). Віріони парвовірусів – безоболонкові ізометричні частинки з кубічною симетрією, що мають діаметр 18–26 нм; діаметр серцевини 14–17 нм. Це найдрібніші віруси тварин. Капсид складається з 32 капсомерів діаметром 3–4 нм. Ліпідів, вуглеводів і ферментів у складі віріонів не виявлено. Парвовіруси мають єдину односпіральну лінійну ДНК з молекулярною масою 1,5–2,2 м. д., що становить 19–32 % маси вібріонів. На кінцях молекули ДНК є поліндромні послідовності, що формують двоспіральні шпильки [108, 215, 270, 348, 535].

Парвовіруси є одними із самих дрібних ДНК вмісних вірусів тварин. Їх віріон має в діаметрі 18 – 26 нм і складається тільки з білка та ДНК. У родину *Parvoviridae* входять три роди: парвовіруси, депендовіруси (аденоасоційовані

віруси) і денсовіруси (вірус денсонуклеозу). Парвовіруси – група вірусів, що уражає хребетних і комах. Віріон парвовірусів має відносно просту структуру і складається тільки з трьох білків та лінійної одноланцюгової молекули ДНК.

У родині Parvoviridae 3 роди: *Parvovirus*, *Dependovirus*, *Densovirus* [47, 97, 113, 202, 294, 331, 421].

1. Рід *Parvovirus*. До складу роду входять дрібний вірус мишей (прототипний вірус), парвовіруси людини (В 19), свиней, ВРХ, собак, кроликів, єнотів, гусаків, пацюків, віруси ентериту й алеутської хвороби норок, панлейкопенії кішок, а також віруси *HI*, *RT*, *TVX*, походження яких досконало не з'ясовано. Можливим представником роду є парвовірус курчат, дрібний вірус собак, *HB iRA1*. У віріонах більшості представників роду міститься негативна ДНК. Однак у частини віріонів парвовірусів ВРХ, пацюків, *HI*, *Lu111* і В19 міститься позитивна ДНК. Усі віруси роду *Parvovirus* автономні (не дефектні). Вони спричинюють у тварин ентерити, гепатити, міокардити, геморагічну енцефалопатію, панлейкопенію, загибель ембріонів та плодів, відставання у рості, пригнічують гематопоез і лімфопоез та імунну відповідь [323, 510].

2. Рід *Dependovirus*. У цей рід входять аденоасоційовані віруси (ААВ) людину і мавп (5 серотипів), ВРХ, собак та птахів. Типовий представник роду – ААВ1, можливі представники – ААВ коней і овець. У віріонах депендовірусів міститься позитивна або негативна ДНК. Ці типи ДНК комплементарні один одному *in vitro* поєднуються з утворенням 2-спіральних молекул. ДНК має кінцеві інвертовані повтори довжиною 145 нуклеотидів, що формують шпильки. Перші 125 нуклеотидів утворюють полідромні послідовності. Ефективна реплікація депендовірусів відбувається у присутності адено- і герпесвірусів. Однак у відповідних умовах (наявність мутагенів, синхронізація клітин у S-фазі) реплікація здійснюється і без вірусів – “помічників” [108, 417].

3. Рід *Densovirus*. До складу цього роду входять парвовіруси, що уражають комах родини двокрилих (*Diptera*), лускокрилих (*Lepidoptera*) і прямокрилих (*Orthoptera*). Типовий представник роду – вірус денсонуклеозу личинок великої

вощаної молі. У вібріонах міститься позитивна або негативна ДНК. Денсовіруси розмножуються в більшості тканин личинок, німф і дорослих тварин без вірусу – "помічника" з утворенням великих і щільних кристалічних внутрішньоядерних включень [216, 333].

Парвовірусна інфекція собак характеризується високою стійкістю до фізико-хімічних факторів і зберігається у зовнішньому середовищі до 1 року. Парвовіруси стабільні за рН 3,0–9,0 і витримують нагрівання до температури +60 °С протягом 1 години, стійкі до жиророзчинників, трипсину, пепсину, а також до хлороформу, ефіру, спирту. Маючи високу стабільність, парвовіруси становлять велику небезпеку як контамінанти клітинних культур, вірусних препаратів і вакцин у лабораторних умовах. Мінусова температура консервує вірус, при цьому його вірулентність не знижується. Кип'ятіння вбиває його миттєво. У замороженому стані вірус життєздатний протягом року, за кімнатної температури активний не менше 6 місяців. Прямі сонячні промені діють на вірус згубно. Парвовірус протягом доби гине в 0,5 % розчині формаліну, їдкого натру і їдкого калію. У висушеному стані зберігає вірулентність до 3–4 місяців. Інактивується ультрафіолетовими променями, формаліном, у 0,2 % розчині формальдегіду вірус інактивується протягом 24 годин, в 0,1% розчин – протягом 2 діб [9, 199, 508].

Для виділення, адаптації та накопичення парвовірусу використовують первинно-трипсинізовані і перещеплювальні культури клітин. Успішне культивування вірусів здійснюється в культурах клітин, отриманих від чутливих до цього вірусу тварин. Найбільш ефективно розмноження парвовірусу собак відбувається у клітинах, отриманих з органів собак і кішок, у тому числі: у культурах клітин нирки котів або собаки, легень норки, без прояву цитопатогенної дії. Але, за даними інших дослідників, парвовірус собак здатний чинити цитопатогенну дію вірусу в клітинній лінії нирки котів [195, 413, 435, 502].

В умовах експериментального зараження собаки чутливі, на відміну від кішок, які більш резистентні до собачого парвовірусу. Найбільш часто для

біопробы використовують цуценят порід Ротвейлер і Доберман, яких вважають найбільш вразливими до інфекції. Інфекцію вдається відтворити за різних способів зараження – перорального, інтраназального, внутрішньом'язового, підшкірного і внутрішньовенного [97, 323].

Як самостійна хвороба, парвовірусний ентерит собак вперше був зареєстрований у 1976 р. в Бельгії, хоча деякі автори констатують перше виникнення у 1978 р. – у Північній Америці, а потім у 1978–1981 рр. – в Австралії, Канаді, Англії, Італії, Франції та інших державах. На території колишнього Радянського Союзу (м. Москва) вперше хвороба зареєстрована А. А. Сулімовим у кінці 1979 року. На початку 1980-х років реєстрували значне поширення інфекційного ентериту, а на червень – липень хвороба набула масовості серед собак. Саме з 1980 року (у рік проведення олімпіади), пов'язана друга назва парвовірусного ентериту – «олімпійка». На той час парвовірусний ентерит собак увійшов до групи 5 найбільш поширених в СРСР інфекційних хвороб собак [35, 314, 509].

У повідомленнях деяких авторів йдеться про те, що ПВС-1 вперше ізолювали в Німеччині від військової собаки в 1967 р., проте у подальшому антитіла до нього виявили в комерційному препараті гіперімунної сироватки, виготовленої в 1956 р. Такий результат означає, що цей збудник виник задовго до того, як став відомим ветеринарним фахівцем. У подальшому серологічні обстеження собак в Японії, США і Швейцарії показали, що інфекція ПВС-1 розповсюджена досить широко: рівень серопозитивності до ПВС-1 у цих регіонах варіює від 50 до 70 % [10, 449, 590].

Вважається, що парвовірус, який у майбутньому став патогенним для собак, існував з 1920 р. і природно інфікував тільки котів, норок та інших сільськогосподарських тварин. З 70 років ХХ століття став патогенним і для собак, мабуть за рахунок другої та третьої мутацій котячого парвовірусу, що дало йому змогу розширити спектр сприйнятливих тварин [398, 512].

У цей період парвовірус собак був розповсюджений на більшості континентів земної кулі. Перші випадки на території Європи спостерігали у

Греції (1974 р.), Бельгії (1976 р.) де були серологічно визначені антитіла до ПВС, а в 1978 році у сироватці крові собак у США вже виявлено високий рівень антитіл. До 1980 року був поширеним штам парвовірусу CPV-2, надалі виявлено штам CPV-2а, який відрізнявся значною вірулентністю та контагіозністю і, як наслідок, його вважали домінуючим у виникненні парвовірусного ентериту. Штам CPV-2а за рахунок своєї мутації набув здатності інфікувати котів. У 1984 році на території США був виявлений новий штам парвовірусу – CPV-2b, а в 2000 році в Італії ще один штам – CPV-2с. Провівши детальне дослідження матеріалів минулих років, вчені встановили, що CPV-2с циркулював у 1996 році у популяції собак Німеччини. На сьогодні парвовірус реєструють у 42 державах на 5 континентах і він відповідає номенклатурі CPV-2а, CPV-2b та CPV-2с [319, 321, 322, 343].

Всесвітній розподіл типів парвовірусу проаналізували португальські вчені (*Carla Miranda* і *Gertrude Thompson* 2016), які повідомляють про те, що в Європі більш розповсюдженим є CPV-2а та CPV-2с і дещо менше зустрічається CPV-2b, в Азії – CPV-2а та CPV-2b, в Індії – незначна кількість CPV-2с. Стосовно Африки, то майже у рівних частках розповсюджені всі три типи вірусу. На території Південної Америки найбільш часто знаходили CPV-2с, а Північної Америки – CPV-2b, на території Океанії зазвичай парвовірус собак спричинює CPV-2а, проте CPV-2с на цей час там не реєструють [320, 472, 473, 581].

У собак парвовіроз зумовив тільки один тип збудника, і лише в 2014 році Perez із колегами ідентифікував два або навіть всі три типи збудника в одному організмі, чим довів множинне вірусоносійство [511, 513].

У публікаціях китайських вчених (Zhou P., з колегами, 2017 р.) повідомляють про четвертий різновид парвовірусу – CPV 2/2 – *like*, який міг виникнути через набуття патогенності вакцинним штамом [602].

Коронавірусні інфекції – це група гострих інфекційних хвороб, спричинених патогенним для людини і тварин вірусом родини *Coronaviridae*. Клінічно у хворих тварин спостерігають прояви гострої респіраторної вірусної

інфекції, її перебіг варіює від безсимптомного до розвитку важкого гострого респіраторного синдрому. У частини хворих (до 30 %) можливі прояви гострого інфекційного гастроентериту. Зазвичай коронавірусний ентерит має сумісний перебіг як з вірусними, так і бактеріальними інфекціями, що надзвичайно часто призводить до загибелі тварини [88, 132, 134, 197].

Збудником хвороби є РНК – вмісний вірус родини коронавірус (*Canine coronavirus*), діаметром близько 100-120 нм, маючи два роди *Nidovirales* та *Coronavirus*, які є великими, оточені ліпопротеїновою оболонкою та мають на ній своєрідні виступи у вигляді зубців корони, що і послужило причиною такої назви. Коронавірус містить позитивний ланцюг РНК і володіє унікальним механізмом реплікації. Незважаючи на спорідненість збудника коронавірусної інфекції собак з коронавірусами людини, кішок та інших тварин, людині цей вірус від собаки не передається, хоча кішок і свиней цей вірус інфікувати може [298, 460, 521, 534].

Визначена етіологічна роль коронавірусів у захворюваннях людей і тварин. Спочатку перші виділені коронавіруси були віднесені до ортоміксовірусів, оскільки вони нагадували останніх за структурою і розміром частинок, а також були виділені від хворих за респіраторних інфекцій. Однак зараз коронавіруси являють собою окрему групу вірусів, що за багатьма показниками відрізняються як від ортоміксо-, так і від параміксовірусів. Коронавіруси містять позитивну нитку РНК і мають унікальний механізм реплікації. У них відсутня нейрамінідазна активність і вони не зв'язуються з рецепторами, що мають у своєму складі сіалову кислоту. Родина коронавірусів (*Coronaviridae*) включає в себе два роди: *Coronavirus* та *Torovirus* [107, 361, 569].

Свою назву коронавіруси отримали завдяки подібності цих виростів з сонопа *spinarum* – вінцем навколо голови святого на релігійних картинах. Деяким авторам ці виступи нагадують сонячну корону. Протягом багатьох років вперше відкриті віруси відносили до родини коронавірусів тільки за їх характерною морфологією, і навіть сьогодні виділені коронавіруси ідентифікують з використанням негативного контрастування. Характерною

ознакою коронавірусів є широкий спектр їх природних господарів у поєднанні з вираженим видовим обмеженням патогенності. За здатністю вражати різні органи коронавіруси можуть бути віднесеними до пантропних вірусів. Захворювання, що спричинюють коронавіруси, мають переважно гострий перебіг, однак вони можуть переходити у хронічні та латентні форми. Всім видам Коронавірусам усіх видів притаманна чітка залежність між віком сприятливого організму та інтенсивністю прояву клінічного синдрому [326, 364].

Філогенетична характеристика коронавірусів включає такі різновиди, як альфа, бета, гамма та дельта- коронавірус. Стосовно собак, то на сьогодні відомо альфавірус, тропізм якого характеризується ураженням шлунково-кишкового тракту, проте нещодавно ідентифікований бета- коронавірус, що вражає респіраторну систему. В окремих випадках коронавірус проявляє пантропність, у такому разі захворювання тяжко діагностуються і часто призводять до швидкої загибелі собак [65, 135, 341, 356, 430].

Коронавірус собак належить до роду *Alphacoronavirus* родини *Coronaviridae* ряду *Nidovirales*. Різні коронавіруси цієї родини заражають велику кількість людей і домашніх тварин, включаючи велику рогату худобу, свиней, собак, кішок, коней, птицю, щурів та мишей. Після спалахів захворювань у собак із симптомокомплексом діарея, станом на сьогодні ізольовано кілька штамів коронавірусу [256, 476, 523].

У 1971 році в Німеччині був виділений коронавірус із фекалій військових собак за підозри на інфекційний ентерит. Деякі автори стверджують, що коронавірусний ентерит уперше був виділений від німецької вівчарки у США. Значне розповсюдження коронавірусного ентериту спостерігали у 1978 році на території США. Особливо тяжкий перебіг цієї хвороби спостерігали у породних собак. З того часу у світі було виявлено значну кількість спалахів коронавірусного ентериту у собак з клінічними ознаками ураження шлунково-кишкового тракту. Під час проведення серологічних досліджень виявили, що на території Японії цей вірус діагностували у 57 %, а в Австралії – 85 %

серопозитивних собак. Аналізом літературних джерел встановлено, що коронавірусний ентерит має широке розповсюдження, антитіла до нього виявляють у сироватках крові майже 54 % домашніх собак, а в деяких популяціях за вол'єрного утримання ця цифра досягає майже 100 %. На території СНД коронавірус вперше був виділений та ідентифікований в 1997 році А. А. Ольшанською [196, 316, 363].

Після першої ідентифікації *Canine Coronavirus* від хворої собаки у 1971 році не було належним чином досліджено та визначено роль вірусу в епізоотологічній ситуації. Тільки після появи у 2002 році атипової пневмонії у людини увага була зосереджена на коронавірус. Потім, внаслідок відносно високої частоти мутацій РНК-позитивних вірусів, ССВ набув певного розвитку, і з використанням біомолекулярних методів, розроблених протягом останніх двох десятиліть вже були виявлені нові вірусні штами, серотипи й підтипи у інфікованих собак. З огляду на поширений характер заражень ССВ серед популяцій собак, було проведено кілька досліджень, в яких основну увагу приділяли епідеміологічній значимості цих вірусів і підкреслювали необхідність подальшого вивчення біології коронавірусу й патогенетичної ролі інфекцій [393, 409, 523].

Збудник коронавірусу нестійкий у зовнішньому середовищі і легко інактивується під впливом звичайних дезінфектантів. Так, за кімнатної температури він інактивується за дві доби, його практично миттєво вбиває кип'ятіння, вірус нестійкий навіть до слабких розчинів дезінфекційних засобів, також вірус чутливий до жиророзчинників (ефір, хлороформ), 10 % розчин соди може зруйнувати його за 10 хвилин [379, 430].

Вірус втрачає інфекційну здатність у фекаліях приблизно через 40 годин, за кімнатної температури – через 60 годин, а за високої температури 65 і 75 °С – протягом 60 і 30 хвилин, відповідно, знищує збудника. Коронавіруси більш стабільні за рН 6,0, але деактивуються за більш високих рН (вище 11,0) або менших рН (нижче 5,0) [522, 544].

Коронавірус має здатність до мутації, про що свідчать публікації італійських вчених, які в 2001 році виділяли тоді дещо видозмінений коронавірус, а в 2005 для підтвердження діагнозу й ізоляції збудника проводили вже біопробу [341, 521].

1.2. Епізоотологічні особливості парвовірусного та коронавірусного ентериту у собак

Всебічний аналіз епізоотичного процесу з використанням усього комплексу даних епізоотологічного дослідження, за допомогою якого виявляють загальні закономірності епізоотичного процесу і його особливості в конкретних умовах, дозволяє об'єктивно оцінити ефективність протиепізоотичних заходів, удосконалювати їх, прогнозувати виникнення хвороб та інтенсивність перебігу епізоотичного процесу. На підставі проведеного аналізу подано достеменний опис виявлених закономірностей та особливостей епізоотичної ситуації на певній території і за певний період. Дані, отримані за допомогою епізоотологічного аналізу, використовують для конкретних пропозицій щодо профілактики і ліквідації інфекційних хвороб тварин [75, 258].

Відомо, що первинний варіант **парвовірусу** циркулював у популяції собак і диких представників родини *Canidae*. Потім парвовіруси варіантів 2a і 2b проявляли вже виражену здатність міжвидового перезараження і зумовлювали інфекцію не тільки у собаки і диких м'ясоїдних родини *Canidae* (вовка, гривастого вовка, койота, шакала, чагарникової і єнотоподібної собаки, лисиць різних видів, песця), але й у тварин родини *Felidae* (домашньої кішки, степової кішки, сибірського тигра, гепарда), *Procyonidae* (великої панди), *Ursidae* (бурого ведмедя) і *Mustelidae* (медоїда). За деякими даними в останні роки у 10 % випадків панлейкопенії у кішок виділяли парвовірус собак, а не парвовірус котів. Від великих кішок, що перебували в зоопарках, ці підтипи собачого парвовірусу ізолювали ще частіше – у 70 % випадків. Джерелом інфекції були інфіковані агентом собаки і котів. Виділення збудника з їх

організму із фекаліями починається через 3–5 діб після зараження і триває впродовж 4–14 діб. Зазвичай концентрація агента в фекаліях хворих тварин досягає 10⁶–10⁹ віріонів / г. На клінічній стадії хвороби вірус потрапляє в зовнішнє середовище також зі слиною і блювотними масами. Доволі часто форма прояву захворювання у собак безсимптомно – латентний перебіг. Такі тварини являють собою досить небезпечне джерело інфекції, оскільки їх вважають здоровими і не ізолюють від інших собак та кішок [115, 286, 597].

Розвиток епізоотичного процесу залежить від вірулентності збудника, ступеня сприйнятливості тварини та природно-географічних чинників. Чисельність породистих собак із кожним роком значно зростає, але разом з цим збільшується кількість безпритульних тварин, які є основними носіями вірусів. На виникнення захворювання значний вплив справляє наявність певних факторів, таких як наявність інвазії, неналежні умови утримання й годівлі, а також стреси, переохолодження, голодування, склад мікрофлори кишечника [400, 433].

Джерелом інфекції є хворі тварини і вірусоносії, які виділяють збудника в навколишнє середовище з фекаліями та блювотними масами. Є дані про збереження вірусу до 3 місяців у шерсті перехворілих тварин [22, 571].

Передаються парвовіруси собак за безпосереднього контакту, але треба зауважити, що оскільки парвовіруси дуже стабільні у зовнішньому середовищі, то пероральне й інтраназальне інфікування є дуже поширеним. При цьому найбільше значення має передача за контакту з ґрунтом, забрудненими виділеннями хворих тварин, також можлива передача через предмети догляду, корми, за сприяння людини, інших тварин, бліх та інших ектопаразитів [27, 345].

Стосовно сезонності прояву парвовірусного ентериту існує неоднозначна думка. Деякі автори повідомляли про спостереження хвороби у весняно-літній період і з жовтня по березень, інші, проводячи дослідження, вказували на максимальну захворюваність у листопаді, грудні, січні, а мінімальну – у червні, липні, вересні. Однак більшість вчених схильні до думки, що парвовірусний

ентерит може виникати у будь-яку пору року, маючи незначні розбіжності, які пов'язані з відповідальністю власників щодо вакцинації тварин [50, 407].

Вважається, що чутливість до собак парвовірусу залежить від породи і статі, проте значну роль відіграє вік тварини. Більше 80 % хворих собак мали вік менше 6 місяців, з них понад 60 % входили у групу від 1 до 3 місяців. Зафіксовано, що найменший вік хворої собаки був 6 тижнів, а найбільший – 11 років [373, 396].

Стосовно породної сприйнятливості до парвовірусного ентериту, спостерігають незначну розбіжність у дослідженнях серед окремих науковців. Встановлено, що найбільшу кількість хворих склали безпородні собаки, а далі з незначними коливаннями такі породи, як Німецька вівчарка, Ротвейлер, Доберман, Азіатська вівчарка, Лабрадор ретрівер, Американський стафордширський тер'єр. Слід зазначити, що Кокер спанієлі, Пуделі та Той-тер'єри вважаються менш сприйнятливими до зараження на парвовірусний ентерит [207, 403].

Стосовно вікової сприйнятливості, у 67,6 % випадків захворюваність собак була у віці до 6 місяців, у 25,7 % – від 6 місяців до року та у 6,8 % – більше року. Серед хворих собак у 13,33 – 31,4 % випадків були вакциновані та не вакциновані тварини [317, 426].

У 1971 році **коронавірус** був виділений із фекалій військових собак, щодо яких були підозри на інфекційні ентерити. З тих пір виникло кілька спалахів заразного ентериту, до того ж був виділений аналогічний коронавірус. Точні дані, наскільки CCV є причиною інфекційного ентериту, невідомі, проте CCV був генетичним і зареєстрований у 57 % собак з симптомокомплексом геморагічної діареї в Японії. Серологічні аналізи собак з Австралії з ознаками діареї показали, що у 85 % випадків результат аналізу був позитивним на антитіла до CCV-Ig M. Це означало, що вони були на той момент нещодавно інфіковані [330,431, 527].

Інформація, отримана після серологічної діагностики, вказує на те, що CCV був наявним у популяції собак і є нечастою причиною інфекційного

ентериту. Коронавірусний ентерит дуже заразний і швидко поширюється у групах сприйнятливих собак. Найвищі показники поширення інфекції виявлені у собак, яких тримали у собачих притулках або розплідниках. Щойно народжені цуценята, матері яких були серонегативними, зазнають більш серйозного впливу, ніж цуценята у віці відлучення від материнського молока чи дорослі собаки. ССV виділяється у фекаліях інфікованих собак протягом періоду від кількох тижнів до кількох місяців або довше, причому фекальні забруднення навколишнього середовища є основним джерелом виникнення коронавірусного ентериту [382, 400].

Коронавірусний ентерит проявляє чітко виражену сезонність, породну схильність, статеву та вікову належність. Більш чутливими є собаки (майже 42 %) віком від 4 до 6 місяців, потім (до 27 %) собаки до 90-добового віку. У загальній вірусній патології з характерним проявом діареї коронавірус виявляли у 13 % собак, а парвовірусний ентерит – 26 %. Стосовно сезонності реєстрації коронавірусного ентериту у собак найбільше спалахів хвороби спостерігали узимку – 41,9 %, потім у весняний період – 27,5 %, восени – 22,1 % та влітку – 8,5 % відповідно. При цьому собаки породи Німецький шпіц найбільш сприйнятливі до КВЕ (22 %), менш чутливими були Німецька вівчарка, Лабрадор. Слід зазначити, що майже 15 % безпородних собак потрапили до цієї статистики. Стосовно статеві сприйнятливості, найбільше хворіли самці (майже 60 %) і менше (близько 40 %) самки [380, 381, 549].

1.3. Патогенез за парвовірусного та коронавірусного ентериту у собак

Інкубаційний період за **парвовірусного ентериту** залежить від багатьох чинників: віку, статі, породи, імунного стану, кількості й вірулентності збудника, що потрапив в організм. У цей період вірус в організмі собаки швидко прогресує завдяки швидкому діленню клітин для інтенсивного розвитку хвороби. Патогенний вплив починається з мигдалин та лімфатичних вузлів глотки. До того ж, вірус може починати свій розвиток з брижових лімфатичних вузлів і тимусу. При цьому парвовірус проявляє імунодепресивну

дію – вражає імунні клітини, а саме лімфоцити, де відмічається стадія активного їх ділення, і таким чином відбувається зростання інфікованих власних клітин що є «непомітним» для макрофагів. У подальшому відбувається міграція «химерних лімфоцитів» у кровоносне русло. При цьому більшість уражених лімфоцитів гине, що призводить до зменшення кількості циркулюючих лімфоцитів, внаслідок чого й виникає лімфопенія. Вірус у цей період також може бути виділений із легенів, селезінки, печінки, нирок і міокарда [368, 398, 461, 488].

У кровоносному руслі продовжується активний процес ділення патогенних клітин і збільшення їх кількості, надалі відбувається «атака» кісткового мозку та клітин тонкого відділу кишечника. У цуценят на цьому етапі часто спостерігають ураження міокарда [405, 436, 496].

У кістковому мозку внаслідок руйнування молодих імунних клітин відбувається пригнічення захисної системи організму, внаслідок чого проявляється лейкопенія. Ймовірно, результатом імунодепресивної дії при цьому є створення безперешкодних умов для потрапляння вірусу в шлунково-кишковий тракт, де він справляє досить значний вплив, що неминуче призводить до тяжкого перебігу хвороби [388, 457 557].

Перебуваючи у шлунково-кишковому тракті, вірус проявляє тропізм до епітеліальних клітин тонкого відділу кишечника, порушуючи його властивість щодо збереження рідини і бар'єру для бактеріальних клітин, які перебувають у кишечнику. Вірус, перебуваючи у кишечнику, негативно впливає й на інші клітини, а саме молоді клітини кишечних крипт, внаслідок чого вони руйнуються. Парвовірус собак також руйнує мітотично активні клітини-попередники циркулюючих лейкоцитів та лімфоїдних клітин. За тяжких інфекцій часто виникають нейтропенія і лімфопенія [372, 456, 466, 492].

Внаслідок значної руйнації клітин кишечника, некрозу епітеліоцитів, атрофії ворсинок порушується одна з його важливих функцій – здатність поглинати поживні речовини, утримувати рідину, перешкоджаючи дегідратації, та бути бар'єром для бактеріальних клітин, не даючи при цьому останнім

потрапляти із вмісту кишечника у кровоносне русло. З розвитком хвороби процес руйнації клітин кишечника не зупиняється, водночас на фоні ослаблення імунітету бактеріальні клітини активізуються, що призводить до значних порушень функції організму. Початкова стадія розвитку хвороби характеризується діареєю, яка згодом стає геморагічною та супроводжується блювотою, внаслідок чого відбувається дегідратація організму. У подальшому бактеріальні агенти потрапляють у кровоносне русло, що посилює значну інтоксикацію організму, а це досить часто призводить до загибелі тварин через зневоднення і вплив септичних токсинів, які продукуються кишковими бактеріями, що мігрували по всьому організму [365, 371, 374, 526, 546].

Парвовірусний ентерит у щойно народжених цуценят від не вакцинованих сук та без природних антитіл може призвести до серцевої форми захворювання. Міокардит, що являє собою гостру серцево-судинну недостатність або затриману прогресуючу серцеву недостатність, можна спостерігати з ознаками ентериту або без нього. Проте міокардит CPV-2 зустрічається рідко, тому що у більшості сук є антитіла до парвовірусу від імунізації або природного перехворювання [348, 550, 582].

Збудник **коронавірусного ентериту** може виділятися з фекаліями інфікованих собак у проміжку між 3 і приблизно 14 добою після зараження. Водночас, досліджуючи біологічний матеріал у ПЛР, встановили, що у собак, заражених природним шляхом, вірус виділяється впродовж 6 місяців після хвороби. В організм вірус зазвичай проникає аліментарно через ротovu і носову порожнину. Потрапивши в організм, вірус розмножується в епітеліальних клітинах тонкого відділу кишечника, ободової кишки або слизової оболонки носоглотки, спричиняючи їх руйнування. Після потраплення в епітелій пейєрових бляшок вірус транспортується до лімфоїдної тканини. Припускають, що проникнувши у лімфоїдну тканину кишечника, він там акумулюється і в подальшому спричинює латентний перебіг цієї хвороби [341, 394, 577].

Аналогічну ситуацію спостерігають із котячим коронавірусом. Там вірус також розмножується в епітеліальних клітинах де накопичується у цитоплазмі

вакуолей епітеліоцитів. Віріони з цих вакуолей вивільняються безпосередньо в зовнішнє середовище через апікальну плазмолему або можуть бути вивільнені у результаті лізису апікальної частини цитоплазми інфікованих клітин [256, 395, 514].

Після репродукції зрілого вірусу інфіковані клітини зазнають значних цитоплазматичних змін. Надалі інфіковані вірусом клітини ворсинок слизової оболонки кишечника продукують в незрілі клітини крипт власної пластинки слизової оболонки. Епітеліоцити крипт при цьому не руйнуються, а навпаки, розвивається їх гіперплазія. За розвитку хвороби уражені ворсинки сформовані низьким циліндричним (стовпчастим) або кубічним епітелієм, часто відбувається їх атрофія та інфільтрація власної пластинки і підслизової основи оболонки кишечника мононуклеарними клітинами. На відміну від ПВС, некроз ворсинок і крововиливи у слизовій оболонці кишечника зустрічаються рідко [415, 469].

Потрапивши у кровоносну систему, вірус, розмножуючись, призводить до змін у стінках кровоносних судин. Морфологічний склад крові, як відповідна реакція на поточну дію вірусу, змінюється раніше, ніж з'являються перші клінічні ознаки захворювання. Так, уже у першу та другу добу після зараження виникає різка лейкопенія, причому морфологічні зміни крові вказують на патологічні та запальні процеси у кровотворних органах. У цей період спостерігають незначне підвищення температури [494, 596].

У зв'язку з пошкодженням кровоносних судин відбувається гіперемія і набухання слизових оболонок, особливо шлунково-кишкового тракту. Під дією вірусу слизова оболонка кишечника некротизується, внаслідок чого утворюються дрібні ерозії і виразки. На місці ерозій та виразок відкриваються ворота для інфекції і туди приєднується патогенна мікрофлора травного тракту (грибки, бактерії), що сприяє інтоксикації організму та його виснаженню [383, 453].

За інфікування пантропним коронавірусом, подібно до інших коронавірусів, він може мутувати, що призводить до більш вірулентних штамів

і, відповідно, підвищеної тяжкості кишкової форми захворювання. Було виявлено, що високовірулентний варіант СВ/05 є причиною смертельної мультисистемної хвороби собак в Італії з клінічними ознаками, що нагадують ті, які зумовлені ППС-2, зокрема у формі геморагічного ентериту та лімфопенії. Через генетичну мутацію кишкових ССV, пантропний ССV, набуває здатності внутрішньо поширюватись і на інші тканини [391, 467, 523].

Патологоанатомічні зміни за парвовірусного і коронавірусного ентериту собак схожі певною мірою між собою і зазвичай проявляються, як правило, зневодненням організму та ураженням кишечника. Ознаки зневоднення характеризуються сухістю шкіри, серозних покривів, м'язів, густим та швидким згортанням крові, водянистою дистрофією нирок. Якщо під час лікування тварин застосовували регідратаційну терапію, на розтині деяких тварин виявляли набряки, гідроторакс, асцит, які були зумовлені гіпопротеїнемією [103, 397, 451]. Водночас основні патоморфологічні зміни були зосереджені в тонкій кишці у проявлялися вогнищевими або дифузними змінами.

1.4. Клінічна характеристика парвовірусного та коронавірусного ентериту у собак

Інкубаційний період у разі спонтанного зараження **парвовірусним ентеритом** триває від 24 годин до 10 діб, за експериментального зараження 3-4 доби. Хвороба перебігає у трьох формах: кишкова, серцева і змішана [345, 586].

Захворювання виникає завжди раптово. У перші 6-8 годин після прояву клінічних ознак спостерігають зміни поведінки тварин: стан депресії, анорексія, іноді незначна гіпертермія, хвора собака більше лежить, скавчить, витягує кінцівки, живіт під час пальпації болючий, перистальтика кишечника посилена [120, 309].

За повідомленнями деяких дослідників однією з перших характерних клінічних ознак парвовірусного ентериту, найбільш часто є блювота, яка виникає через 24 години і зберігається аж до одужання тварин або їх смерті. Спочатку блювотні маси сформовані вмістом шлунка, надалі – тягучий слиз з

жовтуватим відтінком, іноді з домішками крові. Блювотні акти повторюються з інтервалом 30 – 40 хвилин. Фекалії хворих тварин спочатку сірі або жовтуваті, часто з домішками крові, геморагічні зі слизом або водянисті, дуже смердючі. Тому у ветеринарній практиці деякі лікарі іноді ставлять діагноз на підставі специфічного і смердючого запаху фекалій, хоча такий показник не можна визнати суб'єктивним. У подальшому блювота і діарея швидко призводять до дегідратації організму. Собаки втрачають у масі, шкіра стає сухою, шерсть тьмяною. Різко зростає поява токсикозу, собаки не відчують спраги, розвивається шоківий стан [311, 357, 425, 426].

У деяких тварин після появи блювоти і діареї з'являються ознаки ураження респіраторної системи і кон'юнктивіт. Температура тіла при цьому підвищується до 41 ° С [101, 368].

У цуценят віком від 3 тижнів до 7 місяців парвовірус зумовлює не тільки гастроентерит, а й ураження міокарда. У хворих тварин розвивається раптова слабкість і вони зазвичай гинуть протягом 0,5 – 24 годин. За міокардіального синдрому смертність сягає 70 %, а у тих, що вижили, наслідки ураження міокарда залишаються позитивно [490, 491].

За гострого перебігу захворювання загибель тварин може наступити протягом 1 – 6 діб після появи перших симптомів хвороби. Летальність дуже висока – без надання лікування гине близько 40 – 60 % хворих цуценят (залежно від їх віку, імунного статусу і вірулентності штаму збудника). Проте навіть інтенсивна симптоматична та патогенетична терапія не дає жодних гарантій на одужання тварин. Водночас, у разі проведення ефективного лікування, одужання настає протягом 1–1,5 тижнів, що багато в чому визначається динамікою розвитку у хворої тварини імунітету [342, 471].

Більшість вірусів і парвовірус проявляють імуносупресію патологічного характеру, яка характеризується змінами кількості лейкоцитів на різних стадіях захворювання. З початку розвитку збудника в організмі тварини відбувається активізація імунних клітин (гостра фаза), що проявляється лейкоцитозом. При цьому знижується вміст альбуміну і збільшується концентрація С-реактивного

білка. Рівень цих показників контролюють цитокіни, які стимулюють протизапальну дію організму за рахунок інтерлейкіну 1 і 6, супресором яких є інтерлейкін -10. Збільшення кількості цих білків передбачає тяжкість і тривалість захворювання [402, 440, 443].

Після руйнування крипт та ворсинок кишкового епітелію відбувається активізація продукування γ -інтерферону (II тип), який чинить імунорегуляторну дію, а саме, активізує диференціацію Т-хелперів [349, 503].

Характерною особливістю за цієї хвороби є лейкопенія, яка пов'язана з нейтропенією і лімфопенією. Нейтропенія відбувається внаслідок руйнування мітотично активних клітин, таких як кісткова кістка, шляхом прямого впливу вірусу на кістковий мозок. Лімфопенія відбувається внаслідок виснаження лімфоцитів та атрофії лімфоїдної тканини. З лімфопенією часто пов'язана еозинопенія, оскільки Т-лімфоцити продукують інтерлейкін 1 і 5, які стимулюють еозинофілію. Сприятливим прогнозом за парвовірусного ентериту є моноцитоз і лейкоцитоз, що передбачає процес одужання тварин [375, 399, 465, 525, 594].

Клінічні ознаки **коронавірусного ентериту** собак залежать від віку, вірулентності та дози вірусу, імунного стану тварин тощо [368, 454].

Диференціювати коронавірусний ентерит від інших захворювань з симптомокомплексом ентериту важко. У собак, інфікованих коронавірусом, захворювання може мати латентний перебіг, водночас такі тварини активно виділяють збудника у зовнішнє середовище з фекаліями. Тому КВЕ досить часто перебігає як субінфекція і в природному середовищі практично не зустрічається моноінфікованість. Коронавірусний ентерит зазвичай має доброякісний перебіг, проте не вакциновані цуценята раннього віку можуть тяжко хворіти, особливо за ускладнення парвовірусом. Хворіють собаки будь-якої породи, віку і статі [400, 572].

Коронавірус поширений повсюди, антитіла до нього виявляють у сироватці крові близько у 54 % хатніх собак, а в деяких популяціях, що містяться у вольєрах, ця цифра досягає 100 % [377].

Хворіють собаки різного віку і порід, але найбільш сприйнятливі цуценята у віці до 5 місяців. Джерелом інфекції є хворі тварини і тварини-вірусоносії, які виділяють вірус з фекаліями. Термін виділення вірусу сягає 3 – 14 діб, іноді довше [452].

Найбільш поширене фекально-оральне зараження вірусом, рідше фекально-назальне. Зараження відбувається через інфіковані корми і воду, а також за безпосереднього контакту здорової тварини з хворою.

Інкубаційний період хвороби складає від 1 до 7 діб. Вірус виділяється в навколишнє середовище протягом 14 діб після захворювання, а вірус-нейтралізуючі антитіла виявляють до 5 доби інфекційного процесу [463].

За коронавірусного ентериту собак розрізняють кишечну (ентеритна), респіраторну і змішану форми перебігу хвороби. За перебігом поділяється на гострий, підгострий і латентний.

Гострий перебіг виявляють переважно за основному при змішаних кишкових вірусних інфекцій (корона-, парво-, ротавірусних ентеритів) у цуценят у віці 2 – 8 тижнів. Тварина різко відмовляється від їжі, спостерігають млявість, постійну блювоту, смердючу діарею темного кольору. Температура підвищується до 41⁰С. У разі ненадання лікування тварини гинуть впродовж 24 – 48 годин [376].

Підгострий перебіг хвороби також спостерігають у цуценят в ранньому віці. Хвороба супроводжується блювотою, анорексією, різким зневодненням організму і серцево-судинною недостатністю. Фекалії спочатку кашоподібні, потім водянисті з домішками крові і різким неприємним запахом [495].

Ентеритна форма коронавірусного ентериту у інфікованих собак, характеризується, зазвичай, раптовою діареєю, яка іноді чергується з блювотою. Фекалії мають характерний помаранчевий колір, дуже смердючі та іноді містять кров. Інші загальні ознаки у хворих собак – втрата апетиту і млявість. На відміну від інфекції парвовірусу спостерігають високу температуру та нечітко виражену лейкопенію. Водночас ознаки хвороби можуть бути більш вираженими, особливо за ураження собак вірулентними

штамами чи у цуценят раннього періоду постпатологічного онтогенезу [369, 377].

За тяжкого перебігу патологічного процесу діарея набуває водянистого характеру, що призводить до зневоднення організму і електролітного дисбалансу. Також спостерігають ознаки ураження респіраторного тракту, очні та носові виділення, водночас взаємозв'язок таких проявів з первинною інфекцією достеменно невідомий. У більшості уражених собак, особливо під час надання ефективного лікування, спостерігали спонтанне одужання вже через 8 – 10 діб. За наявності вторинних ускладнювальних факторів (паразити, бактерії чи інші віруси) перебіг хвороби може бути значно тривалішим [459, 475].

За інфікування пантропним коронавірусом та у разі спалахів хвороби в природних умовах у хворих собак спостерігають гарячку (від 39,5 до 40 °С), млявість, відсутність апетиту, блювоту, криваву діарею, лейкопенію і неврологічні ознаки (атаксія, судоми), після яких настає смерть через 2 доби. Ці ознаки важко відрізнити від ознак парвовірусної інфекції. У собак, експериментально заражених штамом пантропного коронавірусу, спостерігають аналогічні клінічні ознаки, подібні таким як за спонтанного інфікування. Водночас виявляють лейкопенію, при цьому вона не є постійною та незалежною від наслідків інфекції [341, 369].

Собак, які щойно перехворіли на коронавірусний ентерит та яких експериментально заражали пантропним коронавірусом, мали більш слабкі клінічні ознаки, лейкопенію, а виділення вірусу демонструвало лише частковий гетерологічний імунний захист [368, 451].

Латентний перебіг хвороби характеризується тривалим безсимптомним проявом захворювання, при якому можуть бути окремі слабо виражені клінічні ознаки вірусних кишкових інфекцій: депресія (пригнічений стан), втрата апетиту, хронічний пронос, зниження ритму серцевої діяльності, виснаження. Прихована форма хвороби може проявлятися у собак-вірусоносіїв, а також у тварин з ослабленою імунною системою [520].

1.5. Лікування ентеритів вірусної етіології

Основною метою симптоматичного лікування ентеритів заразної етіології у собак є відновлення рідинного та електролітного балансу, а також запобігання позитивно вторинних бактеріальних інфекцій [146, 172]. Єдиним найважливішим аспектом стабілізації є інфузійна терапія, яку слід проводити впродовж всього періоду блювоти чи діареї (або обох цих симптомів). Типовими симптомами за цієї хвороби є гіпоглікемія і гіпокаліємія, які коригують за допомогою крапельниць. Доцільно застосувати антимікробні препарати, тому що за значних порушень епітеліоцитів епітеліальної пластинки слизової оболонки кишечника руйнується бар'єр, внаслідок чого для ентеробактерій з'являється можливість потрапляти у кров, і таким чином підвищується ризик виникнення сепсису [80, 532]. При цьому найбільш типовими бактеріями є кишкова паличка (*E. coli*) та *Cl. perfringens*. Найкращий антибактеріальний діапазон (грамнегативних, аеробних та анаеробних бактерій) забезпечується комбінацією пеніциліну та окремого аміноглікозиду. Перед застосуванням нефротоксичного препарату, такого як аміноглікозид, рідинний баланс пацієнта має бути повністю відновлений: якщо нефротоксичність аміноглікозидів є перешкодою, у якості альтернативної монотерапії, задля досягнення бажаного спектру дії, можна використати парентеральні пеніциліни або цефалоспорини третього покоління [142, 172]. Вживання хінолонів, що мають широкий спектр дії проти аеробних бактерій, слід уникати для лікування молодих собак, у яких ще триває період росту і розвитку організму. Важливе значення мають протиблювотні засоби, які допомагають скоротити втрати рідини, знизити рівень нездужання хворого та забезпечити ентеральне живлення. Дієвим препаратом є метаклопромід гідрохлорид та прохлорперазин, які довели свою дієвість для більшості собак з симптомами блювоти [151, 274]. Для лікування собак часто використовують такі препарати, як ондансетрон та і доласетрон.

Використання таких антиеметичних засобів при цьому захворюванні є дискусійним, оскільки вони не завжди здатні знизити рівень блювоти. Більше

того, вони здатні спричинити гіпотонію. З'ясовано, що використання лікарських засобів для зміни перистальтики кишечника під час лікування ентеритів вірусної етіології є не дуже популярним. За необхідності вживання модифікаторів перистальтики, перевагу слід надати наркотичним антиспазмотичним (дифеноксилату гідрохлорид, лопірамідю гідрохлорид) препаратам [33, 258].

Загальною рекомендацією у процесі лікування кишково-шлункових захворювань (у тому числі парвовірусного і коронавірусного ентериту), є заборона хворим тваринам вживання їжі та води, проте, як показує практика, це не є обов'язковим. Годівля собак за вірусних ентеритів, починаючи з першого дня лікування (за допомогою назоезофагеальної трубки), прискорювало їх видужання за коротший проміжок часу, при цьому їм вдавалося зберегти масу тіла, на відміну від собак, яких лікували відповідно до стандартного принципу утримання від їжі доти, доки не зникнуть симптоми (впродовж 12 годин) [41, 150].

Під час перебігу початкової стадії вірусних ентеритів рекомендована додаткова терапія, яка включає переливання специфічної гіперімунної плазми або прийому антиендотоксинової сироватки. Така додаткова терапія, незважаючи на великі затрати, дає можливість знизити смертність та період лікування. Встановлено, що застосування рекомбінантного бактерицидного білка збільшує проникність клітинної мембрани і протидіє ендотоксину, проте не змінює клінічний результат лікування або рівень смертності собак, які були природним шляхом інфіковані вірусним агентом. Тим не менш, він зумовлює підвищення рівня ендотоксину у плазмі інфікованих тварин [151, 274, 323].

У гуманній медицині для лікування тяжкої форми нейтропенії, яку спричиняють вірусні ентерити, був запропонований рекомбінантний гранулоцитарний колонієстимулювальний фактор. Проте застосування такого Г-КСФ для лікування нейтропенії у цуценят з вірусними ентеритами не вплинуло на клінічний результат лікування. Вважають, що відсутність ефективності екзогенного Г-КСФ є результатом уже існуючого високого рівня

ендогенного Г-КСФ, який максимально стимулює нейрофілопоез. Однак під час контрольованого дослідження з використанням рекомбінантного Г-КСФ собак було відмічено зменшення періоду лікування, а також більш високий рівень нейтрофілів у крові. Таким чином використання Г-КСФ для лікування собак не рекомендують, доки не будуть проведені додаткові дослідження [188, 278].

Для лікування собак, інфікованих пантропними ентеровірусами, що можуть вражати респіраторний тракт, рекомендують інгібітор нейрамінідази вірусу грипу – осельтамівіру фосфат (Таміфлю, Рош). Проте немає теоретичного підтвердження його використання за парвовірусної і коронавірусної інфекції. Було висунуто теоретичне припущення, що цей лікарський засіб може деяким чином впливати на кишкові бактерії, однак фактичних доказів цьому знайдено не було [488]

У собак з експериментальною та природною парвовірусною інфекцією, що проходили лікування рекомбінантним котячим інтерфероном (IFN) у високих внутрішньовенних дозах ($2,5 \times 10^6$ од./кг), починаючи якомога раніше (на 4 добу або раніше) у процесі розвитку цієї інфекції, було визначено позитивну динаміку до більш швидкого видужування та зниження смертності [214, 294].

Рекомендованими є кілька видів терапії, які теоретично можуть принести позитивні результати, проте такі методи належним чином не перевірені на практиці. Деякі цуценята під час хвороби сильно страждають від анемії, що може бути результатом втрати крові через шлунково-кишковий тракт, спричиненої вірусним ентеритом, або не пов'язаної з ним (наприклад, втрата крові за паразитарних захворювань). Таким цуценятам рекомендують повне переливання крові. У деяких цуценят зі симптомами гіпопротеїнемії таке повне переливання крові допоможе вирішити цю проблему. Водночас за нормального еритроцитопоезу – більш доцільним є переливання плазми крові, яка здатна відновити рівень як імуноглобулінів, так і колоїдального альбуміну. В ідеальному варіанті концентрація альбуміну у сироватці крові має підтримуватись на рівні 2,0 г/дл., або вище. Якщо за зниженого рівня протеїнів

у тварин виникає набряк, якого не вдається уникнути шляхом переливання плазми, слід використовувати синтетичний колоїдний препарат – гідроксіетилкрохмаль. Колоїдні препарати не слід застосовувати, поки не буде вирішено проблему дегідратації. Використання глюкокортикоїдів та флюніксину у формі меглумін рекомендують для лікування раннього сепсису або ендотоксинемії [345, 490].

Використання гіперімунної плазми для лікування хворих собак є дискусійним, адже до моменту прояву клінічних ознак колонізація уражених органів завершується і рівень антитіл може підвищитись. Однак цуценята з меншою кількістю антитіл у сироватці крові найчастіше схильні до ураження. Тому собачий висушений сублімацією імуноглобулін G може бути ефективним у лікуванні собак, які були інфіковані вірусним ентеритом природним шляхом. Так, порівняно з контрольною групою для собак, що піддавалися терапії імуноглобуліном G, характерним було покращення перебігу хвороби, коротший період лікування й відповідно менші затрати. Так само, експериментально інфіковані собаки, які отримували імуноглобуліни для лікування вірусного ентериту, джерелом якого був жовток курячого яйця, ставали захищеними від захворювання, за умови отримання імуноглобуліну у достатній кількості. Тому комерційні продукти, що містять імуноглобуліни, які не доступні у більшості країнах (переливання плазми, або крові з високим рівнем антитіл до ПВС або КВС) є найбільш практично вживаним методом прямого захисту від віремії [66, 172, 567, 584].

Цуценята, які вижили через 3-4 доби після зараження ПВС, за надання лікувальної допомоги, зазвичай швидко видужують (впродовж одного тижня у разі відсутності вторинних ускладнень). Цуценятам зі складними формами захворювання, що передбачають вторинний сепсис або інші ускладнення, може знадобитися більш тривалий період лікування [86, 142].

1.6. Діагностика парвовірусного та коронавірусного ентериту у собак

Раптовий початок хвороби з кривавою діареєю із дуже неприємним запахом у молодих собак (віком до 2 років) часто вважається ознакою ПВЕ та КВЕ. Необхідно зважити на те, що ця, на перший погляд, специфічна клінічна ознака вірусних ентеритів, є поширеною за багатьох хвороб. До того ж, паразитарні або ентеропатогенні бактеріальні інфекції, окремо або в комбінації, також слід розглядати, як і інші вірусні інфекції, у тому числі кишкові та пантропні коронавіруси собак, причому дуже рідко трапляється так, що в будь-який період перебігу захворювання наявні усі характерні клінічні ознаки ентеритів вірусної етіології. При цьому лейкопенію виявляють не у всіх собак, вона, як правило, пропорційна тяжкості і стадії захворювання на момент перебігу хвороби, коли береться кров для аналізу. Тому моніторинг ситуації з лейкоцитами може дати прогноз про можливий хід інфекції. Вірусні ентерити, спровоковані коронавірусом або парвовірусом одного із варіантів, на початкових етапах важко диференціювати, тому для підтвердження або спростування діагнозу на парвовірусний або коронавірусний ентерит собак обов'язковим є лабораторне дослідження крові [129, 203].

Для виявлення збудника можна застосовувати електронну мікроскопію, імуноцитохімічні методи, ізоляцію збудника у культурі клітин, молекулярні методи діагностики [34, 37, 110, 414, 420, 537].

РГА і РГГА – ці методи ґрунтуються на здатності ПВС аглютинувати еритроцити тварин певних видів (свині, мавпи-резус, коти). Вони відрізняються простотою постановки і можливістю швидкого отримання результату. За чутливості РГА поступається електронній мікроскопії, ІФА і РІФ [432, 516, 536].

Для виявлення вірусу в фекаліях був розроблений коагуляційний тест. Під час його постановки попередньо інкубують антисироватки до ПВС із суспензією *S. aureus*. Простота постановки реакції коагулінації і відсутність необхідності в будь-якому лабораторному устаткуванні робить її придатною

для діагностики інфекції ПВС у польових умовах. За чутливістю вона відповідає РГА [268, 416].

РІФ застосовують для виявлення збудника у патологічному матеріалі (слизової оболонки кишечника тощо), і в заражених культурах клітин. Її проводять із застосуванням флуоресцентних антитіл до ПВС або вірусу панлейкопенії котів. Як носії флуоресцентних антитіл можуть бути використані поліакриламідні гранули [165].

Своєчасним із найбільш чутливих методів виявлення збудника є імуноферментний аналіз. Для проведення ІФА діагностики ПВС деякі фірми випускають набори діагностиків [49, 264], де специфічні імуноглобуліни або моноклональні антитіла фіксовані в осередках полістиролів планшетів, на нітроцелюлозній мембрані, латексних або золотих частинках [308, 449, 461, 489].

Розмноження вірусного агента у перещеплювальній лінії культур клітин супроводжується деструкцією моношару – ЦПД. За аналізом репродукції вірусу в культурі клітин можна робити висновки на 10 – 12 добу у разі виявлення тілець-включень, за результатами електронної мікроскопії, РІФ, ПЛР [255, 423, 583].

Останнім часом для діагностики парвовірусного і коронавірусного ентериту використовують полімеразно ланцюгову реакцію. За чутливістю ПЛР у кілька разів перевищує ІФА та ізоляцію збудника в культурі клітин [389, 457, 526, 547].

У зв'язку з широким розповсюдженням ПВС-2а і ПВС-2б, а також регулярним проведенням масових вакцинацій проти цієї інфекції більша частина популяції собак по всьому світу є серопозитивною. Крім того, діагностична цінність серологічних тестів за цієї інфекції полягає в тому, що антитіла досягають високого титру на початковому етапі після зараження тварини. Про поточну інфекцію свідчить високий титр специфічних сироваткових ІgМ-антитіл (якщо тварину не вакцинували протягом 1 міс.), а

також 4-кратне або більш значне підвищення титру специфічних *IgG*-антитіл у пробах сироватки крові собаки, взятих з інтервалом не менше 7 діб [497, 543].

Підозра на інфекцію ПВС-1 може виникнути в разі аборту сук, розвитку описаної вище симптоматики у цуценят в перший місяць життя, а також під час їх постмортального обстеження. Важливим показником за підозри хвороби є виявлення внутрішньоядерних тілець-включень у клітинах уражених тканин. Проте остаточний діагноз ставлять на підставі виявлення збудника, його антигенів або ДНК в патматеріалі, а також високого титру антитіл у сироватці крові. Лабораторні тварини до ПВС-1 не чутливі. Результати біопроби на собаках також мають обмежену діагностичну цінність [53, 292].

Для ізоляції ПВС-1 використовують перещеплювальні лінії клітин *MDCK* і *WR 3873-D3*, причому донедавна остання вважалася єдиною чутливою до збудника клітинної системою. Спроби використовувати первинну культуру клітин нирки собаки для репродукції ПВС1 успіху не мали [435, 477, 502]. Інтенсивність ЦПД, що розвивається в цих культурах клітин після зараження різними ізолятами агента, варіабельна і позитивно корелює з їх вірулентністю [507, 552].

У нашій державі відсутність комерційних діагностикумів, а також обмежена кількість чутливих до ПВС-1 культур клітин ускладнюють проведення діагностичних тестів. За кордоном з цією метою застосовують рН і РІФ у культурі клітин [587].

Гістологічне дослідження, зазвичай, є визначальним. Проте специфічна ідентифікація парвовірусу у зразках тканини може бути зроблена лише за допомогою імуофлуоресценції або інших імунологічних методів. За допомогою непрямого флуоресцентного аналізу на знаходження антитіл у собак, що загинули від парвовірусного ентериту, антиген може бути ідентифікований на дорсальній (верхній) стінці язика (96,3 %), глотці (81 %), стравоході (50 %), вентральній (нижній) частині язика (20,4 %), носовій порожнині – (5,6 %), слизовій оболонці тонкої кишки (85,2 %), кістковому мозку (81,6 %), селезінці (79,6 %), тимусі (66,7 %), брижових лімфатичних

вузлах (50,4 %), піднебінних мигдаликах (58,5%) і міокарді (1,9 %) [13, 482, 506].

Встановлення остаточного діагнозу на коронавірусну інфекцію є складним завданням. За допомогою електронного мікроскопа можна виявити вірус у свіжих фекаліях. При цьому для ідентифікації ССV у неконцентрованих зразках фекалій потрібен рівень віріонів 1×10^6 ; таким чином можливі помилково-негативні результати. Ізоляцію вірусу не застосовують для штамів ССV-I, які не ростуть у системах культивування тканин чи клітин. Для виявлення ССV у фекалієвих зразках був розроблений кількісний ПЛР-аналіз на основі високочутливої зворотної транскриптази, з використанням флуоресцентного виявлення, який дозволяє з високою чутливістю визначати кількість вірусу та швидко розрізнити генотипи ССV. Також розроблені серологічні тести, а саме, метод вірусної нейтралізації (РН) і тест ELISA (ІФА). На сьогодні широко використовують і тест-системи (ІХА) [389, 487, 551].

1.6.1. ПЛР-діагностика ПВЕ та КВЕ у собак

Виділення ДНК і РНК – важливий крок підготовки проб перед біохімічними і діагностичними процесами. Багато маніпуляцій, таких як ампліфікація, проведення зворотної транскрипції, детектування накопичення продуктів ампліфікації методом ПЛР у реальному часі, клонування, сіквенс, гібридизація, синтез ДНК тощо, не можуть бути виконані безпосередньо на біологічних зразках без попереднього очищення нуклеїнових кислот [6, 352, 442].

Класичні методи виділення нуклеїнових кислот зі складних вихідних зразків, таких як кров або інші тканини, включають у себе лізис біологічного матеріалу детергентами або хаотропними агентами іноді за наявності білків, що руйнують ферменти. Після цього етапу слідує кілька стадій, в яких використовують органічні розчинники, такі як фенол або хлороформ, чи етанол. Повне відділення білків від нуклеїнових кислот може бути досягнуто додаванням перхлорату натрію. Для відділення РНК від ДНК потрібне

селективне інкубування з хлоридом літію або специфічне безнукліазне ізолювання з гуанідин-хлоридом або гуанідин-тіоціанатом, поєднане з фенольною екстракцією або етанольною преципітацією. Такі методи збільшують ймовірність деградації нуклеїнових кислот, втрати зразка або крос-контамінації зразків, якщо кілька проб обробляються одночасно. Під час виділення РНК є дуже великий ризик контамінації з боку присутньої у початковому зразку ДНК [138, 339, 386, 484].

Стандартна методика отримання чистого препарату заснована на тому, що ДНК є полярною молекулою і не розчиняється в органічних розчинниках. Традиційно для виділення ДНК використовують фенол-хлороформну екстракцію. У процесі перемішування клітинного лізату і фенолу формуються дві фази. ДНК знаходиться у верхній (водній) фазі, а денатуровані білки – в нижній (органічній) фазі. Однак цей метод орієнтований на роботу з такими агресивними речовинами, як фенол і хлороформ, та за наявності стадії центрифугування і рідинної екстракції, які не можна автоматизувати [423, 543].

Відомі методи, згідно з якими можна виділити одночасно ДНК і РНК з одного біологічного матеріалу (більшість таких методів є модифікацією оригінальної процедури, Chirgwin зі співав. [353, 359, 566].

При цьому використовують сильні хаотропні агенти, такі як гуанідин, тіоціанат і цезію тріфлуороацетат для одночасного руйнування клітинних мембран та інактивації внутрішньоклітинних рибонуклеаз (РНКаз). Проте лімітуючими факторами таких методик є необхідність ультрацентрифугування і тривалий час аналізу (16 – 44 год.) [467, 600].

Методи одночасного виділення ДНК і РНК, за відсутності центрифугування, мають перевагу ще й тому, що фенол діє як ефективний депротейнізуючий агент, що руйнує клітини і денатурує білки. Для ефективного відділення високомолекулярної ДНК від РНК спочатку проводять фенольну екстракцію, а потім дві фенол-хлороформні екстракції для одночасного видалення білків і ліпідів з розчину, що містить нуклеїнові кислоти. З метою підвищення виходу нуклеїнових кислот оптимізовані компоненти екстрагують

буфери. Наприклад, певний рН буфера (рН 7.9) за наявності детергенту (0,2 % додецилсульфату натрію) і відносно низької концентрації солі (100 мМ *LiCl*) дозволяє ефективно розділяти нуклеїнові кислоти у водній фазі і дисоціювати білки. Крім того, 10 мМ ЕДТА не дозволяє утворюватись білковим комплексам і утворює хелатний комплекс з Mg^{2+} , пригнічуючи таким чином, дію магніє залежних нуклеаз [429, 530, 545].

У методі, запропонованому Krieg зі співав. (1983), для відділення високомолекулярної ДНК достатньо лише лізису і процедури екстракції з використанням наступної етанольної преципітації. Час, необхідний для виділення валових клітинних РНК і ДНК, становить приблизно 2 години [445, 560].

У молекулярній діагностиці також використовують методи, що базуються на принципі твердофазних методів, в основі яких лежить адсорбція нуклеїнових кислот [340, 576].

Boom R. з співав. (1990) запропонував метод виділення нуклеїнових кислот на склі, який є одним із популярних методів на основі магнітної сепарації [336, 338, 545].

З огляду на аналіз різних літературних джерел, парвовірусний ентерит собак необхідно **диференціювати** від багатьох хвороб: чуми м'ясоїдних, аденовірозу, лептоспірозу тощо [86, 271, 324, 450, 478].

За чуми м'ясоїдних, на відміну від парвовірусного ентериту, зневоднення виражено слабо, спостерігають гнійний риніт і кон'юнктивіт, можуть бути ознаки ураження центральної нервової системи, висока температура тримається майже весь період хвороби. Нерідко чума супроводжується екземою та гіперкератозом шкіри. Особливо потрібно звернути увагу на те, що за чуми під час гематологічного дослідження зазвичай виявляють лейкоцитоз. Собаки відчувають сильну спрагу [48, 103, 324, 540, 554].

За аденовірозу може бути катаральний гастроентерит, але при цьому завжди уражаються верхні дихальні шляхи [139, 206, 294, 450].

Інфекційний гепатит у собак перебігає з переважним ураженням печінки. За розвитку інфекційного процесу в кишечнику, як правило, геморагічне запалення не спостерігають, не відбувається виражене зневоднення організму, проте можуть бути кератит і жовтяниця. У ході гістологічного дослідження печінки виявляють альтеративний гепатит. Крім того, інфекційний гепатит обов'язково проявляється шийним лімфаденітом і тонзилітом, набряком жовчного міхура. Собаки за аденовірозу часто піднімаються передніми кінцівками на підвищення, щоб ослабити таким чином тиск збільшеної печінки на діафрагму [103, 288, 585].

За лептоспірозу спостерігають жовтушність видимих слизових оболонок, нефрозо-нефрит і гостру ниркову недостатність, полідипсію та гемоглобінурію. На відміну від гострого перебігу парвовірусного ентериту, лептоспіроз найчастіше перебігає підгостро, і хворіють на таку хворобу в основному дорослі собаки [103, 312].

За ботулізму диференціюють гострий катаральний гастроентерит. Для підтвердження діагнозу матеріал досліджують хімікотоксикологічно та ставлять біопробу на морських свинках або білих мишах [177, 275].

Кокцидіоз виявляють мікроскопічним дослідженням за методом Фюллеборна на наявність ооцист [80, 288, 532].

На відміну від аліментарних гастроентеритів, застосування антибіотиків і хіміотерапевтичних засобів не впливає на перебіг парвовірусного ентериту [33, 41, 345].

За непрохідності кишечника або для виявлення в ньому сторонніх предметів проводять рентгенологічні дослідження (Вінгфілд В. Є., 2000) [41].

Для коронавірусного ентериту, на думку деяких авторів [451, 561, 573], характерним є більш млявий перебіг хвороби. Проте відсоток летальності набагато вищий. Діарея за коронавірусного ентериту з'являється набагато рідше: 1 – 2 рази на добу, водночас фекалії з великим умістом крові, такі ж і блювотні маси, що сильно виснажує тварину, помітна сильна апатія. За даними А. А. Кудряшова (2007) та А. А. Ольшанської (1997) [103, 196], коронавірусний

ентерит навпаки, перебігає у легшій формі, не враховуючи пантропного вірусу, і з меншою летальністю, ніж за парвовірусного ентериту. Хворіють на нього, в основному, новонароджені цуценята. Диференціювати КВЕ потрібно так само, як і парвовірусний. Слід зазначити, що для коронавірусу притаманна також респіраторна форма, яку потрібно диференціювати від вольєрного кашлю [392, 572].

1.7. Патоморфологічна характеристика ПВЕ і КВЕ ентериту

1.7.1. Патоморфологічні зміни за парвовірусного ентериту у собак

Патологоанатомічні зміни за ПВЕ залежать від багатьох чинників: форми прояву хвороби (кишкової, серцевої або змішаної), резистентності організму, вірулентності збудника, віку тварини тощо [274].

За патологоанатомічного розтину певних собак поверхневі лімфатичні вузли не збільшені, на розрізі – сірувато-білого кольору, сухуваті. Щитоподібна залоза часточкової будови, коричнево-червоного кольору, достатньо пружна. Тимус рожевого кольору, в'ялий, з численними крапковими крововиливами, атрофований. Легені червоного кольору, тістуватої консистенції, напівспалі, з невеликими пухирцями, що виступають над їх поверхнею, які під час натискання крепітують. Із поверхні їх розрізу виділяється піниста рідина, така ж рідина знаходиться у трахеї. У бронхах виявляють слизистий ексудат. Серце розширене, округлої форми, у міокарді ділянки червоного кольору чергуються з ділянками сірого та червоно-коричневого кольорів, серцевий м'яз в'ялий, поверхня розрізу волога, кровоносні судини серця переповнені кров'ю, кров густа, яскраво-червоного кольору [13, 159, 482].

У черевній порожнині сторонній вміст відсутній, розташування органів анатомічно правильне, очеревина матова, сухувата, сіро-білого кольору. Жирові відкладення в підшкірній клітковині, у товщі сальника та навколо нирок відсутні. Селезінка сірого кольору, дрябла. Краї селезінки зморщені. Поверхня розрізу сухувата, зскрібок незначний, кровонаповнення судин слабке. Печінка збільшена, капсула її напружена, у деяких місцях щільнувата, вентральний край

гострий, забарвлення органа рівномірне. Інколи темно-червоні ділянки органа чергуються з ділянками глинистого кольору. Судини печінки слабого кровонаповнення, у жовчних ходах і жовчних протоках міститься незначна кількість густої жовчі. Жовчний міхур слабо наповнений густою, темно-коричневого кольору жовчю. Нирки темно-червоного кольору, ущільненої консистенції, вкриті тонкою фіброзною капсулою, що легко знімається. Межа між кірковою і мозковою речовинами стерта. Слизова оболонка шлунка складчаста, темно-червоного кольору. Кардіальна ділянка помірно запалена [441, 595].

Найбільш виражені патологоанатомічні зміни спостерігають у шлунково-кишковому тракті (за кишкової форми), головним чином у тонкому відділі кишечника. Шлунок, як правило, заповнений водянистими смердючими кормовими масами, які у більшості випадків мають червоно-коричневий колір. Слизова оболонка шлунка знаходяться у стані набряку, особливо по складках, нерівномірно забарвлена. На ранніх стадіях розвитку патологічного процесу найбільш вираженими змінами є ураження в дистальних відділах дванадцятипалої кишки; на пізніших етапах більш виразних уражень зазнає тонка кишка. Стінка кишечника, як правило, потовщена і сегментально знебарвлена, має шерехуватість, а також фібринозний наліт на серозних поверхнях. У просвіті шлунка і кишечника спостерігають наявність темного, іноді з кров'ю, рідкого ексудату. За легкого перебігу розвитку інфекційного процесу патологоанатомічні зміни важко диференціювати від тих, що спричинені неспецифічним ентеритом. Спостерігали також збільшення і набряк грудних або черевних лімфатичних вузлів [368, 461].

Зміни в кишечнику характеризуються некрозом епітелію крипт слизової оболонки його тонкого відділу. Також виявляли внутрішньоядерні включення в цих епітеліальних клітинах. Патологічні зміни можуть варіюватися від помірного запалення до дифузійного геморагічного ентериту [23, 450].

У тонкому відділі кишечника і в його просвіті містяться рідкі кров'яні маси. Слизова оболонка цього відділу кишечника, головним чином,

дванадцятипалої і порожньої кишок, у стані набряку, потовщена, драглистої консистенції, червоного або темно-червоного кольору, з численними крапково-плямистими крововиливами. У товстому відділі кишечника зміни або відсутні, або слабо виражені. Вміст кишечника чорно-червоного кольору з домішками крові. Слизова оболонка може бути набряклою, нерівномірно забарвлена, покрита тягучою напіврідкою рідиною. Мезентеріальні лімфатичні вузли збільшені, соковиті, червонуватого кольору. Серце іноді (за кардіальної форми) збільшене в об'ємі, округлої форми, колір може бути до темно-червоного, малюнок паренхіми міокарда згладжений, помітна в'ялість стінки. Спостерігають міокардит альтеративного типу: серце розширене, міокард сіро-білого кольору, нерівномірно забарвлений, дряблої консистенції. В інших органах зміни зазвичай відсутні. У деяких випадках спостерігають повнокровність печінки, нирок, легень, підшлункової залози. Кістковий мозок темно-червоного кольору [27, 159, 365].

Гістологічне дослідження показало, що в тонкому відділі кишечника епітеліоцити ворсинок та кишечних крипт зруйновані, лише в окремих місцях збереглися їх частини. Власна пластинка слизової оболонки, що розташована безпосередньо під епітеліальним покривом, зруйнована, на поверхні слизової оболонки міститься гомогенна, оксифільна маса лізованої тканини. Всі кровоносні судини переповнені кров'ю, стінка цих судин потоншена. У зоні некрозу замість лімфоїдних утворень знаходяться оксифільні дрібноглибчасті зерна розпаду. Підслизовий шар слизової оболонки інфільтрований еритроцитами, лімфоцитами і нейтрофілами. М'язова оболонка стінки кишкової трубки з – вогнищами міолізісу, набрякла, просочена серозним ексудатом. Відбувається виразне кровонаповнення капілярної сітки, розташованої між серозною і м'язовою оболонками. У досліджених лімфатичних вузлах виявляють зони некрозу та атрофії, особливо значні зони некрозу знаходяться у кишкових лімфатичних вузлах. Окрім того, помітні осередки набряку, ділянки з серозною інфільтрацією тканини. Пульпа селезінки атрофована, еритроцити і лімфоцити в ній розташовані розріджено, замість

клітинних елементів – розростання сполучнотканинної основи. Лімфоїдні вузлики селезінки не містять диференційованих зон: світлі центри, маргінальні зони згладжені. У печінці характерною є атрофія паренхіматозних елементів, гепатоцити невеликих розмірів, зморщені, цитоплазма з ознаками коагуляції, ядра у стані пікнозу. Просвіти печінкових пластинок звужені, кровоносні і жовчні капіляри слабо наповнені. Міокард із вогнищами набряку й міолізу, міжм'язова сполучна тканина у стані мукоїдного набухання, у ній знаходиться значна кількість еозинофілів, лімфоцитів, поліморфноядерних лейкоцитів. У багатьох м'язових волокнах відсутня поперечна посмугованість. Запалення кишкової трубки супроводжується гострим катарально-геморагічним запаленням. Відбувається інфільтрація кишечних ворсинок еритроцитами, лімфоцитами, нейтрофілами та макрофагами, а також руйнація як епітеліального шару, так і ворсинок великих ділянок кишкової трубки. Клітини, що збереглися – з ознакам набряку, набувають округлої форми. В окремих збережених клітинах кишечних крипт виявляють внутрішньоядерні поліморфні, здебільшого округлої форми, тільця-включення. Навколо окремих внутрішньоядерних тілець-включень видно чітко виражений широкий або вузький обідок. Хроматин в ядрах епітеліоцитів ущільнений, зміщений на периферію, розташовується, як правило, під каріолемою [159, 365, 398, 488].

1.7.2. Патоморфологічні зміни за коронавірусного ентериту у собак

Трупи собак, які загинули від коронавірусного ентериту, виснажені, анемічні. Серозні покриви сухуваті [368, 515].

Тимус за патологоанатомічного розтину атрофований, зменшений в об'ємі і являє собою пластинчастої форми напівпрозоре тільце. Селезінка збільшена краї притуплені, темно-вишневого кольору, в'ялої консистенції. Печінка також збільшена, з притупленими краями, сіро-коричневого кольору, тьмяна, в'ялої консистенції, малюнок на розрізі згладжений. У серці спостерігають розширення судин і наповнення їх кров'ю темно-бордового кольору. М'язові волокна міокарда набрякли [452, 454, 515].

У шлунку знаходиться незначна кількість молока або корму, він часто пустий, слизова оболонка шлунка сухувата, покрита тонким шаром густого слизу, якого подекуди буває досить велика кількість, що вказує на зтяжний характер хвороби. Тонкий кишечник розтягнутий газами або напівспалий, у стані катарального запалення, рельєф його слизової оболонки згладжений, кровоносні судини під серозною оболонкою повнокровні, деякі з них стазовані. Стаз судин за згущеної крові розповсюджений по всьому організму. Нирки, печінка, підшлункова залоза щільної консистенції, забарвлені темніше звичайного (дегідратація, атрофія). Сечовий міхур пустий, із сухуватою слизовою оболонкою, у напівспалому стані. У жовчному міхурі знаходиться незначна кількість темної, густої та в'язкої жовчі. Спостерігають зернисту дистрофію міокарда. Легені без особливих змін, сухувато-шорсткі. У мозку чітко диференціюється сіра і біла речовини, з вираженими звивинами та борознами. Поверхня розрізу мозку сухувата, тьмяного кольору, кровоносні судини наповнені густою кров'ю, у деяких кровоносних судинах утворюються червоні кров'яні згустки. Ліквору мало, він темніший від звичайного [134, 368, 573].

Мікроскопічна будова органів і тканин за коронавірусного ентериту собак має зміни різного ступеня. Так, у порожній і клубовій кишках спостерігаються ознаки гіперемії судин серозної оболонки та підслизової основи, а також її набряк. Навколо гіперемійованих судин, переважно серозної оболонки, часто виявляють геморагії. У дистальній частині порожньої кишки спостерігають гіперплазію одиноких і скупчених лімфоїдних вузликів кишкової стінки. Виявляють скупчення великої кількості лімфоцитів, багато з яких на стадії численного мітотичного ділення. Такі клітини формують лімфоїдні утворення кишкової стінки, округлі лімфоїдні вузлики, які інтенсивно фарбуються гематоксиліном. Такі лімфоїдні утворення переважно підлягають дифузним змінам дифтеритичного типу. На поверхні та у глибині слизової оболонки, особливо де є деструктивні і некробіотичні зміни, виявляють фібринозний ексудат. У порожній і клубовій кишках спостерігають зміни серозно-

фібринозної форми, ексудативне запалення. Найбільш виразні зміни відбуваються у тонкому відділі кишечника, що зумовлено насамперед розмноженням в ньому збудника інфекції. При цьому некроз і руйнування епітелію ворсинок слизової оболонки тонкого відділу кишечника та порушення секреції келихоподібних клітин призводять до руйнування захисного бар'єру в тонкому відділі кишечника, що разом з порушенням секреції травних залоз (печінки і підшлункової залози) та моторики кишечника спричинює активацію умовно-патогенної мікрофлори. Саме про це свідчить помітне погіршення стану тварин за відсутності антибактеріальної терапії. Діарейний синдром як одна з головних клінічних ознак і ключова ланка патогенезу коронавірусної інфекції, зумовлений розвитком серозно-фібринозного ентериту, оскільки в ділянках запалення відбувається руйнування зрілого епітелію ворсинок слизової оболонки (всмоктувальної поверхні) і, як наслідок, порушується пристінкове травлення та клітинне всмоктування [155, 341, 395].

У печінці спостерігають розширення і переповнення кров'ю синусоїдних капілярів, особливо в центрі часточок, деструкцію пластинчастої структури печінки, хаотичне розташування гепатоцитів. Формені елементи крові, переважно еритроцити, у просвітах триад (артерія, вени, печінкові протоки) і центральних вен мають вигляд безструктурних еозинофільних мас. Наявна і зерниста дистрофія гепатоцитів, які морфологічно проявляються набуханням клітин, помутнінням цитоплазми, появою зернистості білкової природи, що виникають у результаті коагуляції білкових молекул. Іноді виявляють незначні ділянки жирової дистрофії з утворенням характерних вакуолей різних розмірів у цитоплазмі клітин. У паренхімі селезінки знаходять множинні вогнища геморагій різних розмірів і поодинокі геморагічні інфаркти. Останні, на відміну від крововиливів, мають досить чіткі контури й характерну трикутну форму. У регіонарних, а саме мезентеріальних, лімфатичних вузлах також виявляють гіперплазію лімфоїдних вузликів, внаслідок активної проліферації клітин лімфоїдного ряду. Також спостерігають ознаки серозно-геморагічного запалення у вигляді серозного просочення паренхіми лімфовузлів і виходу

формених елементів крові з серозним ексудатом. У нирках виявляють морфологічні ознаки пасивної венозної гіперемії і зернистої дистрофії [155, 452, 514].

1.8. Характеристика ротавірусного ентериту (ротавірус) у собак

Родина *Rotavirus* відіграє важливу роль серед інфекційних агентів, що спричиняють гострі гастроентерити у тварин різних видів. Ротавірусний ентерит може мати латентний перебіг, але зазвичай він за рахунок своєї персистенції ослаблює імунітет, що призводить до активізації вторинної мікрофлори, а це створює значну небезпеку для більшості тварин. Більшість закордонних авторів вказують на значне розповсюдження ротавірусу серед собак та котів, навіть без клінічних ознак, що створює загрозу для їх життя, особливо для молодняку [354, 387].

Ротавірусний ентерит собак – гостра шлунково–кишкова хвороба, з явищами блювоти, дегідратації та анорексії. У молодняку за цієї хвороби інколи спостерігають ураження серця. Цей ентерит як самостійне захворювання вперше було виявлено в 1969 році [424, 479].

За даними А. Mukherjee із співав. (2012), ротавіруси зумовлюють захворювання з ознаками ураження шлунково-кишкового тракту у тварин багатьох видів, серед яких – собаки, коти, свині, велика рогата худоба та коні. Важливим є той факт, що цей вірус має надзвичайне розповсюдження серед людей, особливо до 5 та після 70 років [486, 485].

Ротавіруси групи А є досить активними збудниками кишкових захворювань у тварин багатьох видів, а також у людей. На сьогодні ротавіруси класифікуються як чітко відокремлений рід у родині *Reoviridae*. Віріон має середній розмір (від 70 до 75 нм), ікосаедральну форму, є тришаровим і не має оболонки. Ротавіруси були виділені в культурах клітин або їх ідентифікували за допомогою електронного мікроскопа у зразках отриманих від птахів і ссавців багатьох видів, у тому числі домашніх м'ясоїдних (*carnivore*) тварин. Геном віріона складається з 11 сегментів дволанцюгової РНК. Зовнішній шар білків

складається з двох білків, VP-4 і VP-7, обидва з яких зумовлюють нейтралізацію антитіл. Два таких окремих антигени формують основу для загальноприйнятої біномінальної класифікації. У цій системі білок VP-4 позначають як антиген P (протеазчутливий), а VP-7, як антиген G (глікозильований). Майже виявлені на сьогодні штами CRV (ротавірусу собак) – це G3P3, а віруси котів – G3P3 або G3P9. Інфікування ротавірусами, як правило, обмежується господарями одного виду, проте може траплятися міжвидова передача чи рекомбінація вірусного геному [107, 298, 462, 539].

Для ротавірусів характерним є аліментарний шлях зараження. Віруси добре адаптовані і для виживання поза носієм збудника, і для передачі їх через шлунково-кишковий тракт. Серологічні дослідження сироваткових антитіл до ротавірусу виявлено у собак і котів усіх вікових категорій [10, 486, 536].

Згідно із даними В. К. Kang із співав. (2007), ротавіруси заражають найбільш зрілі епітеліальні клітини на верхівках ворсинок тонкої кишки, що призводить до її атрофії від легкого до середнього ступеня тяжкості [434]. Інфіковані клітини набухають, руйнуються і потрапляють у просвіт кишечника, де вивільняють велику кількість віріонів, що є джерелом інфекції для нижніх сегментів кишечника і для інших тварин. Некроз клітин, інфікованих ротавірусом, найбільш виражений у період від 18 до 48 годин після перорального інфікування. Змертвілі клітини швидко замінюються незрілими епітеліоцитами кишкових крипт. Тому клінічні ознаки хвороби, в основному, виникають у результаті атрофії ворсинок, що призводить до порушення травлення і всмоктування (від легкого до середнього ступеня) та до осмотичної діареї [434, 479, 485, 539].

Клінічний прояв хвороби зазвичай проявляється дещо в легшій формі, ніж за інших ентеритів. Головною ознакою є діарея, що триває 8 – 10 діб. У цуценят за цієї патології часто спостерігають змішану інфекцію, що ускладнює лікування і має високий відсоток летальності [7, 501, 536].

Більшість випадків інфекційного процесу з вираженими клінічними симптомами цієї хвороби виявляли у молодих цуценят (до 12 тижнів) із легкою

діареєю. Також зафіксовано кілька випадків прояву тяжкої форми хвороби у зовсім маленьких цуценят (віком 2 тижні), які внаслідок ентериту гинули. Клінічні прояви, зазвичай, не настільки виражені, ніж за інших ентеритних вірусів собак (ПВС і КВС). Зазвичай у хворих тварин виникає діарея (зі ступенем від водянистої до слизової), що триває протягом 8 – 10 діб. При цьому CRV (ротавірус собак) може бути одним із домінуючих факторів за змішаної вірусної інфекції [387, 434, 462, 501].

Більшість патогенних ротавірусів мають спільні групоспецифічні внутрішні антигени капсиду, які можуть бути виявлені багатьма способами, у тому числі доступним твердофазним імуноферментним аналізом (ELISA) на антигени у фекаліях, методом латекс-аглютинації та імунохроматографічними тестами, що використовують для діагностування інфекційних ротавірусів людини. Такі набори для тест-діагностики були використані для діагностики інфекції собак [298, 485, 539]. Крім того, ротавіруси також можуть бути ідентифіковані у зразках фекалій за допомогою електронного мікроскопа. Проте в такому разі необхідно бути дуже уважними, щоб відрізнити ротавірус від реовірусу, який іноді наявний у фекаліях собак, і який, швидше за все, не є патогенним. До того ж, застосування електронного мікроскопа підвищує специфічність аналізу. Також можливий аналіз на сероконверсію, проте він не є широко доступним. Для визначення типів походження штамів ротавірусу з метою епізоотологічного моніторингу проводять секвінування (аналіз послідовності) генів, що кодують білки [462, 479, 485].

Патологічні зміни за ротавірусного ентериту собак переважно виявляють у тонкому кишечнику – це деформування ворсинок слизової оболонки легкого та середнього ступеня. Більш вірулентні штами можуть спричиняти некроз і незначне відшарування ентероцитів на верхівках ворсинок кишечника [434 462, 536]. Вірус може бути виявлений у заморожених зрізах методом флуоресцентного або пероксидазного імуноного фарбування. Його штами можуть бути ідентифіковані ПЛР-методом мультиплексної зворотної транскриптази ПЛР або секвенування генів VP-7 і VP-4 [354, 424, 501].

1.9. Висновок з огляду літератури

Ентеровірусні інфекції – це множинна група гострих інфекційних захворювань, які можуть уражати цуценят і зрілих собак під час зараження вірусами роду *Parvoviridae*, *Coronaviridae* і *Rotaviridae* тощо. Ці кишкові віруси в останні роки спричиняють спалахи масових захворювань у собак в всьому світі і проявляються в основному ентеритами [19, 36, 387, 447].

На сьогодні час в розповсюдженні інфекційних хвороб парвовірусний ентерит займає особливе місце, оскільки він створює значні проблеми для лікарів ветеринарної медицини, кінологів та власників тварин. Навіть за вдалого лікування, інфекційні процеси, які пов'язані з парвовірусним ентеритом, призводять до незворотних змін в організмі тварин з боку різних органів або систем, що особливо негативно для молодого організму в період інтенсивного росту та розвитку, коли останній є практично неімунним на патогенну дію вірусів [2, 50, 103].

За результатами аналізу літературних джерел вперше парвовірусний ентерит був зареєстрований більше двадцяти років тому, проте на сьогодні в доступній літературі є досить невелика кількість публікацій [471, 490, 499, 556], присвячених цій хворобі. Більшість з них тією чи іншою мірою висвітлюють питання етіології, епізоотології і клінічного прояву хвороби. Лише деякі автори [23, 159] у своїх роботах описують патологоанатомічні зміни в органах і тканинах, що характерні для парвовірусного ентериту, а дані про мікроскопічні зміни наведені переважно в зарубіжних джерелах [506]. Крім того, відомості про морфологічні зміни в центральних і периферичних органах імунної системи поверхневі і малоінформативні. У кожній роботі відсутня характеристика ступеня вираженості морфологічних змін у структурах імунокомпетентних органів залежно від тривалості й тяжкості перебігу хвороби. У публікаціях ми не знайшли комплексного макро- і мікроскопічного опису органів за парвовірусного ентериту. До того ж, у наявних повідомленнях існує низка суперечностей, зокрема, про зміни, що стосуються тимуса, шлунково-кишкового тракту, лімфатичних вузлів. Ці розбіжності вказують на

необхідність додаткових досліджень з метою уточнення, доповнення та узагальнення даних щодо патоморфології різних органів і тканин за парвовірусного ентериту собак, з метою диференційної діагностики, профілактики, ефективного лікування тощо [23, 37, 85, 105, 196, 214, 258, 480].

Доведено, що коронавірус є однією з найбільш розповсюджених причин ентеритів собак. Під час проведення серологічних досліджень виявили, що на території Японії цей вірус діагностували у 57 а в Австралії 85 % серопозитивних собак [197, 377].

Крім того, за останні 50 років виникло безліч різних коронавірусів, які зумовлюють широкий спектр захворювань людини і тварин. Ймовірно, ці віруси внаслідок їх подальшого розвитку і будуть створювати проблеми для фахівців гуманної та ветеринарної медицини через їх здатність до рекомбінантної мутації й заражати кілька видів і типів клітин. Аналізуючи літературні джерела встановили, що коронавірусний ентерит має широке розповсюдження, антитіла до якого виявляють у сироватках крові майже 54 % домашніх собак, а в деяких популяціях за вол'єрного утримання ця цифра досягає майже 100 % [120, 133, 135, 520, 524, 568, 598].

Тому майбутні дослідження щодо коронавірусних інфекцій доцільно продовжувати у багатьох аспектах реплікації вірусу і патогенезу. Розуміння схильності коронавірусу до міжвидового перезараження, своєчасне встановлення інфекції у нового господаря і виявлення значних їх резервуарів, значно допоможе передбачити можливість виникнення потенційної епідемії.

Родина *Rotavirus* відіграє важливу роль серед інфекційних агентів, що спричиняють гострі гастроентерити у тварин різних видів. Ротавірусний ентерит може мати латентний перебіг, але зазвичай за рахунок своєї персистенції він ослаблює імунітет, що призводить до активізації вторинної мікрофлори, а це створює значну небезпеку для більшості тварин. Більшість закордонних авторів вказують на значне розповсюдження ротавірусу серед собак та котів, навіть без клінічних ознак, що створює небезпеку, особливо для молодняку [354, 362, 486].

Враховуючи обмежену кількість інформації, особливо вітчизняної, у доступних літературних джерелах України, питання вивчення особливостей ентеритів вірусної етіології є актуальним для науки та потрібним для практикуючих лікарів ветеринарної медицини.

РОЗДІЛ 2. ВИБІР НАПРЯМІВ ДОСЛІДЖЕНЬ. МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ ВИКОНАННЯ РОБОТИ

Дисертаційна робота виконана впродовж 2012 – 2019 років на кафедрі анатомії і гістології та кафедрі мікробіології, фармакології та епізоотології Житомирського національного агроекологічного університету (нині Поліський національний університет). Окремі діагностичні дослідження виконано на базі ІВМ НААН, а деякі патоморфологічні – на кафедрі анатомії, гістології і патоморфології тварин ім. акад. В. Г. Касьяненка НУБіП. Імунологічні дослідження проведено в Інституті післядипломного навчання керівників і спеціалістів ветеринарної медицини БНАУ. Молекулярно-біологічні дослідження – в лабораторії генно-інженерних біотехнологій, відділу генних технологій ДУ “Інститут генетичної та регенеративної медицини НАМН України”, дослідної лабораторії ПП «Лабораторія провідних біотехнологій «НЕО-ГЕН» м. Київ. Дослідження щодо епізоотичних особливостей ентеритів у собак та експериментальні дослідження проводили у приватній ветеринарній лабораторії ТОВ «Бальд», у ТОВ «Центр Ветеринарної Діагностики», та племінному розпліднику Кінологічного центру прикордонних військ Західного оперативного командування, м. Великі Мости, Сокальського району, Львівської області (військова частина № 2418) та у ветеринарних клініках м. Житомир: приватних ветеринарних клініках «Багіра» і «Доктор–Zoo», «Шанс», навчально-науково-виробничій клініці ветеринарної медицини факультету ветеринарної медицини Поліського національного університету та в міській державній лікарні ветеринарної медицини м. Житомир, приватній ветеринарній клініці «Айболит» м. Бердичів та приватних ветеринарних клініках «Зоолукс», «Крихітка Єнот» і «Вікторія», м. Київ, та «Юпітер» м. Вінниця на породних і безпородних собаках.

Експерименти на тваринах проводили відповідно до правил, прийнятих Європейською Конвенцією із захисту хребетних тварин, що використовують для експериментальних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986), «Загальних

етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених I Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001), Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (Відомості ВР, 2010 р.) [82, 92, 217, 384, 574].

Дослідження проводили згідно зі схемою, представленою на рис. 2.1.

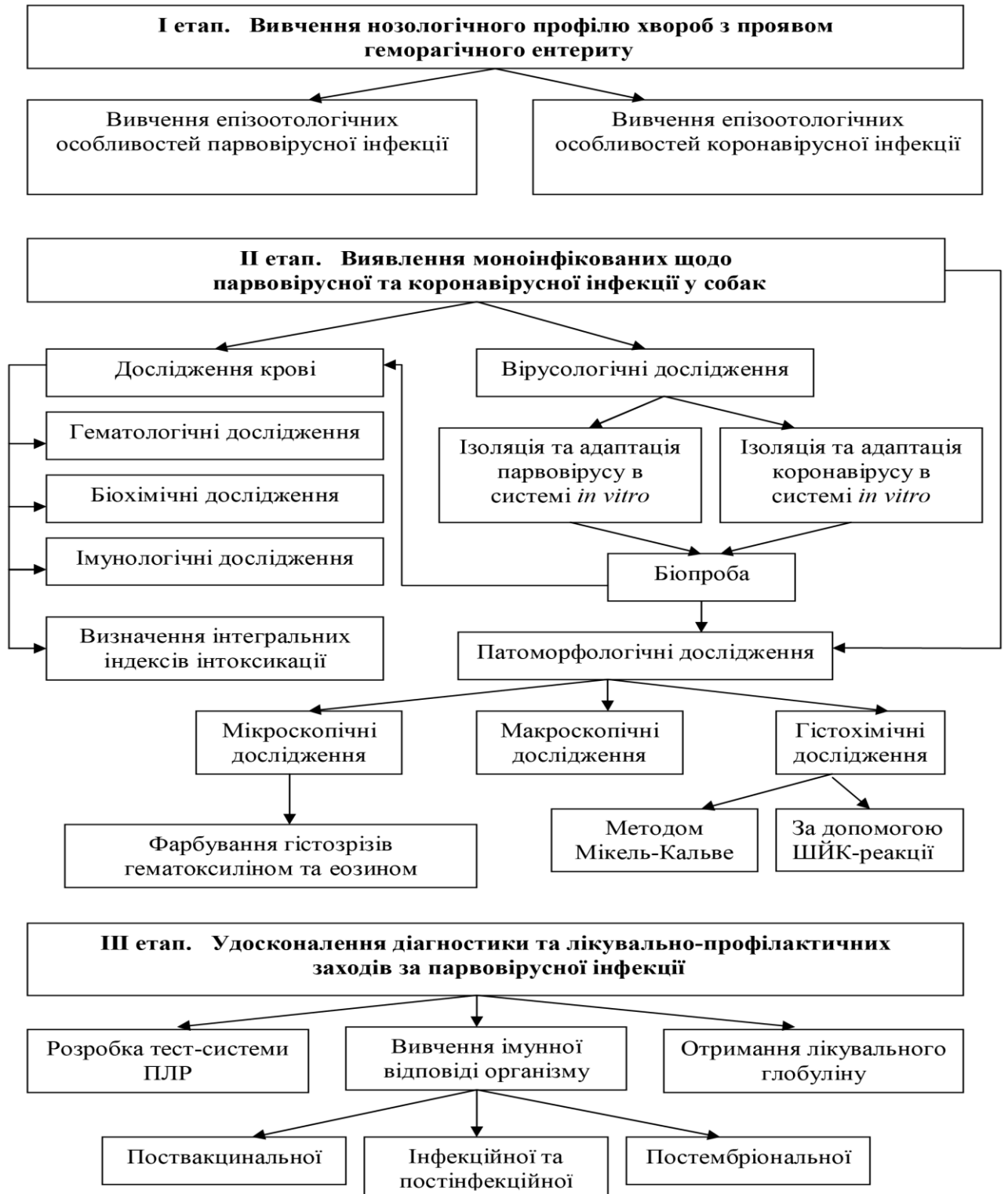


Рис. 2.1. Загальна схема проведення досліджень

Об'єктом досліджень були собаки, хворі на парвовірусний та коронавірусний ентерит.

Діагностичні дослідження на підтвердження парвовірусного і коронавірусного ентериту проводили за допомогою експрес-тестів *VetExpert CPV/CCV Ag* та використовуючи ІФА і ПЛР у приватній ветеринарній лабораторії «Бальд» та «Центрі Ветеринарної Діагностики».

2.1. Епізоотологічні дослідження

На **першому етапі** досліджень проводили визначення *епізоотологічних особливостей* ентеритів вірусної етіології з встановленням ролі парво- та коронавірусної інфекції у нозологічному профілі хвороб з специфічним симптомокомплексом – геморагічний ентерит. Для цього використовували амбулаторні журнали прийому приватних та державних клінік ветеринарної медицини таких міс як – Київ, Житомир, Вінниця та Бердичів. Враховуючи результати власних імунохроматографічних аналізів проб одержаного матеріалу від собак, хворих та підозрілих на заразні ентерити, а також результати досліджень приватної ветеринарної лабораторії ТОВ «Бальд» та ТОВ «Центр Ветеринарної Діагностики».

За дослідження епізоотологічних особливостей ентеритів у собак виявлено 3302 тварини з характерними клінічними ознаками, з яких 1423 інфіковані вірусними ентеритами: парвовірусом – 1237; коронавірусом – 99; ротавірусом – 87.

За основу епізоотологічного методу обстеження взято збір і реєстрацію даних про закономірності та виявлення залежності захворюваності з розрахунком загальних і приватних епізоотологічних, зоометричних показників: нозологічного профілю, сезонності, захворюваності, породної схильності та статевій належності [76, 98, 218, 263, 284].

2.2. Морфологічні дослідження крові

На **другому етапі** проводили *гематологічні, біохімічні дослідження* та визначали показники *еритроцитопоезу* у собак за спонтанного і експериментального парво- і коронавірусного ентериту при різних формах

прояву та у різні стадії перебігу хвороби. Також на основі показників *лейкоцитопоезу* визначали ступень ендогенної інтоксикації шляхом арифметичного розрахунку інтегральних індексів інтоксикації.

Кров для досліджень відбирали з поверхневої вени передпліччя *v. Anterbrachium*, медіальна вена сафена або підшкірна вена гомілки *v. Saphena* або з яремної вени *v. Jugulares* вранці до годівлі [83, 122, 130, 305].

Гематологічні та біохімічні дослідження проводили за допомогою біохімічного аналізатора *BioChem SA* із застосуванням реактивів фірми *High Tehnology, Inc.* (США).

Загальний аналіз крові – кількість еритроцитів та лейкоцитів визначали меланжерним методом у камері з сіткою Горяєва; вміст гемоглобіну в крові – гемоглобінціанідним методом; гематокритну величину – мікроцентрифугуванням за Шклярюм, лейкограму у забарвлених мазках крові – за Романовським-Гімзою [4, 44, 45, 111, 140, 143, 184, 259, 289, 493]. На підставі одержаних результатів розраховували індекси крові – вміст гемоглобіну в одному еритроциті (*MCH*), середню концентрацію гемоглобіну в еритроциті (*MCHC*) та середній об'єм еритроцитів (*MCV*) [53, 118, 121, 180, 181].

Біохімічні дослідження крові: визначення білка проводили рефрактометричним методом; вміст сечовини – колірною реакцією з діацетилмонооксимом; активність АсАТ і АлАТ – за методом Райтмана-Френкеля; креатиніну – методом Яффе [39, 109, 110, 116, 143, 293, 307, 580].

2.3. Імунологічні дослідження

Імунологічні дослідження включали визначення параметрів клітинної та гуморальної ланки імунітету. Кров відбирали вранці натще з ліктьової вени та визначали кількість лейкоцитів, лімфоцитів, їх субпопуляцій. Абсолютний і відносний вміст Т-лімфоцитів та їх субпопуляцій визначали в реакції розеткоутворення з еритроцитами барана, В-лімфоцити – в реакції розеткоутворення з еритроцитами миші. При цьому розеткоутворювальними вважали клітини, до яких приєдналось три і більше еритроцити. Також

здійснювали підрахунок кількості теофілінчутливих (Т–супресорів) та резистентних до дії теофіліну (Т–хелпери) клітин. Імунорегуляторний індекс визначали як співвідношення Т-хелперів до Т-супресорів. Імунологічні дослідження щодо визначення рівня імуноглобуліна G-антитіл до парвовірусу собак у сироватці крові проводили використовуючи набір реагентів «Парво-IgG-IФА» (ХЕМА) на аналізаторі *Immunochem-2100 Microplate reader* [20, 40, 46, 77, 112, 180, 194].

Для визначення показників клітинного імунітету виділяли лімфоцити. Для отримання лімфоцитів відбирали венозну кров від тварини у пробірку, ставили у штативи і давали можливість їй відстоятись. Із стабілізованої крові збирали верхню плівку (лейкоцити) 2 см³ і поміщали в центрифужну пробірку, додавали 2 см³ холодної стерильної дистильованої води і струшували 30 секунд. Потім добавляли 2 см³ 1,7 % холодної розчину NaCl, розмішували і центрифугували 10 хв при 1 тис. об./хв. Другий раз лейкоконцентрат відмивали холодним фізіологічним розчином. Надосадову рідину зливали, а до осаду додавали розчин Хенкса, струшували і переносили у пробірочки “епіндорфи”, після чого проби заморожували [8, 18, 38, 100, 127, 189, 224].

Імунологічні дослідження щодо визначення рівня імуноглобуліна G-антитіл до парвовірусу собак у сироватці крові проводили використовуючи набір реагентів «Парво-IgG-IФА» (ХЕМА) на аналізаторі *Immunochem-2100 Microplate reader*.

Удосконалення методів лікування – виділення імуноглобуліну класу G (Ig G), специфічних до парвовірусної інфекції з сироватки крові собак на 21 добу після вакцинації. Високопродуктивним та ефективним способом отримання антитіл є афінна хроматографія з використанням сорбентів на основі іммобілізованих імуноглобулінозв'язувальних білків, зокрема, рекомбінантного білка А *Staphylococcus aureus*. Чистоту елюйованих антитіл аналізували методом електрофорезу в 12 – 15 % поліакриламідному гелі з 0,1 % додецилсульфатом натрію. Оцінку чистоти та кількості виділених Ig G собаки проводили шляхом денситометрії електрофореграм.

Для вивчення імунної відповіді організму проводили статистичний аналіз щодо специфічної профілактики та поствакцинальних ускладнень у цуценят, що обслуговують у ветеринарних клініках міста Житомир за 2015 – 2016 роки. За визначений період було проведено 1080 профілактичних щеплень собак до року. Реактивність організму на перебування парвовірусу та після одужання визначали за рівнем імуноглобуліна G (антитіл) до парвовірусу собак у сироватці крові методом ІФА. Встановлено період напруженості імунітету та визначені оптимуми щодо термінів вакцинації та ревакцинації на основі рівня антитіл та показників клітинного імунітету.

Постембріональний стану гуморальної ланки імунітету цуценят, отриманих від сук, вакцинованих під час щенності, ми визначали за вмістом імуноглобуліну класу G до парвовірусу у сироватках крові методом ІФА. Біологічний матеріал у цуценят відбирали на 45 добу життя, а у сук перед вакцинацією у першій половині щенності.

2.4. Патологоанатомічні дослідження

Патологоанатомічний розтин трупів собак проводили у спинному положенні методом часткової евісцерації в загальноприйнятій послідовності у прозекторії кафедри анатомії і гістології факультету ветеринарної медицини ЖНАЕУ та відбирали матеріал для вірусологічних й гістологічних досліджень. Кожного разу проводили протоколювання розтину та фотофіксацію виявлених змін фотоапаратом «Nikon» [55, 95, 102, 176, 179, 200, 261].

Патологоанатомічний розтин собак різного віку, які загинули від парвовірусного та коронавірусного ентериту, у ветеринарних клініках виконували методом часткової евісцерації в загальноприйнятій послідовності [21, 24, 96, 94, 102, 136, 204, 205, 208, 277, 276].

Для підтвердження патологоанатомічного діагнозу від загиблих тварин відбирали патологічний матеріал (ділянки тонкої кишки з умістом), який направляли для дослідження у ветеринарні лабораторії ТОВ «Бальд», і ТОВ «Центр Ветеринарної Діагностики». За необхідності матеріал перед відправкою заморожували.

2.5. Гістологічні дослідження

Для гістологічного дослідження від усіх тварин під час їх розтину відбирали тимус, селезінку, брижові лімфатичні вузли, міокард, ділянки тонкої кишки. Від цуценят з генералізованою формою хвороби додатково відбирали шматочки легенів, печінки, нирок.

Всі проби органів у вигляді шматочків $1 \times 1 \times 0,5$ см фіксували в 10–12 % охолоджену водну розчину нейтрального формаліну, а кишечник у 7–8 %. Фіксований матеріал перед заливкою у парафін для подальших досліджень промивали проточною водопровідною водою впродовж 24–48 год, залежно від товщини відібраних шматочків. Зневоднення матеріалу здійснювали етиловим спиртом зростаючої міцності. Для цього використовували 40° , 70° , 96° і абсолютний етиловий спирт. Після зневоднення шматочки матеріалу заливали у парафін за загальноприйнятими схемами [1, 54, 63, 64, 179, 193].

Гістологічні зрізи виготовляли на санному мікротомі МС-2. Товщина зрізів не перевищувала 10 мкм.

Для вивчення мікроскопічної будови, морфології клітин та морфометричного дослідження і для отримання оглядових препаратів застосовували фарбування зрізів гематоксиліном та еозином і за методом Ван-Гізона [54, 57, 63, 64].

Сумарні білки зафарбовували амідочорним 10 В, загальні та кислі білки – за методом Мікель-Кальве [63], глікоген і глікопротеїди – за допомогою ШЙК-реакції [152, 164]. Глікозаміноглікани виявляли альціановим синім за рН 1,0 та 2,5 [313, 528].

Аналіз мікроструктур виконували за допомогою світлового мікроскопа Micros МС-50 та МБС-10.

Для вимірювання товщини епітеліального, власного шару, підслизової основи, м'язової оболонки, висоти ворсинок дванадцятипалої кишки використовували окуляр-мікрометр МОВ – 1–7 \times . Необхідні компоненти визначали не менше ніж у десяти полях зору на десяти і більше препаратах у кожній групі тварин.

Мікрофотографування гістологічних препаратів здійснювали за допомогою відеокамери САМ V200, вмонтованої у мікроскоп Micros MC 50.

2.6. Вірусологічні (культуральні) дослідження

Для виділення коронавірусного та парвовірусного антигену з патологічного матеріалу і накопичення вірусного матеріалу використовували перещеплювальні лінії культур клітин СПЕВ (нирки ембріона свині), ВНК-21 (фібробласти нирки сирійського хом'яка), РК-13 (нирки кроля) [114]. Вірусологічні дослідження, а саме виділення та ідентифікацію вірусів, проводили з використанням клітинних культур або курячих ембріонів, шляхом зараження лабораторних тварин. Клітини вирощували у скляних і пластикових матрацах об'ємом 25, 50 і 100 мл. стаціонарним методом, а також у лунках полістиролових плашок із посівною концентрацією від $1,0 \times 10^5$ до $2,0 \times 10^5$ кл./мл. Репродукцію польових ізолятів парво- і коронавірусу проводили на культурі клітин з густоти моношару у межах 70 – 80 %. У кінці періоду інкубації інфіковану культуру заморожували за температури мінус 24 C^0 та піддавали відтаюванню, щоб зруйнувати структуру цілісності клітин за рахунок температурного «стресу» і забезпечити повний вихід вірусу. Мікробіологічні дослідження, щодо визначення бактеріальної контамінації та антибіотикочутливості виявлених мікроорганізмів проводили шляхом висіву патологічного матеріалу на живильні середовища [3, 126, 144, 174, 212, 254, 280]. Розрахунок інфекційного титру вираховували за методом Ріда і Менча [16, 17, 72, 301, 533].

Для виділення вірусного ізоляту використовували фрагмент кишечнику собаки, після евтаназії, що хворіла на коронавірусний ентерит. Кишечник з умістом відбирали під час проведення патологоанатомічного розтину, поміщали у стерильний посуд з фізіологічним розчином та заморожували. Після розморожування матеріал подрібнювали, розтираючи у ступці зі стерильним кварцовим піском, розводячи розчином Хенкса (1:10). Від великих часток звільняли центрифугуванням впродовж 20–30 хв при 2500 об. / хв ($g = 800$). Далі надосадову рідину відбирали, до осаду додавали антибіотики (1000

Од пеніциліну і стрептоміцину на 1 мл), і поміщали в холодильник при 4°C на 60 хв. Контроль ефективності такої обробки проводили за допомогою посіву на поживні середовища для аеробів, анаеробів і грибів. Після отримання негативного результату бактеріологічного контролю вірусовмісний матеріал використовували для зараження культур клітин [106, 148, 201, 216, 266, 287].

Культуральну вірусовмісну рідину використовували для постановки РГА на виявлення аглютинуючих властивостей парвовірусу та коронавірусу до еритроцитів тварин різних видів. Суспензію еритроцитів і РГА отримували за загальноприйнятими методиками [106, 185, 216, 280, 287, 297].

Для збільшення концентрації гемаглютининів в культуральній вірусовмісній суспензії виконували її концентрування методом зворотного діалізу [17, 68, 106, 165].

Реакція гемаглютинації. Для постановки РГА з культуральними парвовірусом і коронавірусом використовували еритроцити свині, собаки, кішки, кроля, ВРХ, ДРХ, коня, курки, білої миші. Перед постановкою реакції вірусовмісний матеріал очищали від великих частин центрифугуванням при 2 тис. об./хв впродовж 15–30 хв. Для постановки реакції використовували 0,02 – 0,04 % суспензію еритроцитів. Для отримання суспензії еритроцитів їх за 2–4 години до використання відмивали ізотонічним розчином NaCl. Відмивання повторювали 3–4 рази, кожен раз осаджуючи еритроцити центрифугуванням по 10 хв при 2 тис. об./хв. Після останнього відмивання надосадова рідина повинна бути безбарвна і прозора. Із осаду еритроцитів, який вважали 100 %, готували суспензію 0,02–0,04 %. Готова суспензія еритроцитів зберігається впродовж 3 діб за температури $+4^{\circ}\text{C}$.

Постановку реакції проводили на 96-лункових стерильних планшетах за температури 4°C ; 16°C і 25°C . В лунки, з першої по восьму вносили фізіологічний розчин у дозі $0,02\text{ см}^3$. Потім у першу лунку додали $0,02\text{ см}^3$ культурального вірусовмісного дослідного матеріалу і отримували розведення 1:2. За допомогою автоматичної піпетки відбирали $0,02\text{ см}^3$ рідини і вносили в другу лунку і т. д., розтитровуючи вірусовмісну рідину до розведення 1:256. Після

цього в кожен лунку додали по 0,02 см³ суспензії еритроцитів коня. Для виключення спонтанної аглютинації ставили такі контролі:

- фізіологічний розчин + суспензія еритроцитів;
- нативна вірусомісна рідина + фіз. розчин + суспензія еритроцитів;
- суспензія еритроцитів.

Постановку реакції проводили за кімнатної температури. Облік реакції виконували через 4, 6 та 12 годин [185, 224, 280, 287].

Метод постановки ІФА. Метод базується на взаємодії іммобілізованого на поверхні лунок планшета специфічного імуноглобуліну з антигеном CPV або CCV з досліджуваної проби і подальшому виявленні отриманого комплексу кон'югантом (міченим пероксидазою хрому специфічним імуноглобуліном G до антигену парвовірусу або коронавірусу). Пов'язана пероксидаза спричиняє розкладання, знаходиться у хромоген-субстратному розчині перекису водню і окислення хромогену. У лунках з'являється забарвлення, інтенсивність якого прямо пропорційна кількості антигену у обумовленій пробі.

Для аналізу використовують проби фекалій, дефібриновану кров від живих тварин, а також ділянки тонкої і товстої кишок, взяті від загиблих або після евтаназії собак у перші години після смерті. Потім з матеріалу готували 10 % суспензію на забуферному фізрозчині і центрифугували 10 хв при 2000–3000 об. / хв [51].

2.7. Мікробіологічні дослідження

Для перевірки патологічного матеріалу на забруднення сторонньою мікрофлорою проводили мікробіологічні дослідження, що дозволили виявити патогенні мікроорганізми, які можуть зіпсувати результати вірусологічних досліджень, а саме, накопичення вірусного ізоляту.

Найголовнішим чинником якості такого дослідження є можливість виростити (висіяти) супутню мікрофлору, що була отримана у взятому зразку біоматеріалу. Використовували поживні середовища, що виготовляються лідером у сфері мікробіології – французькою компанією *bioMerieux* та *Himedia* (Індія). До того ж, кожний зразок одразу висівали одночасно на 6 середовищах,

що дозволяє забезпечити максимальне виявлення мікроорганізмів. Також визначали чутливість цих мікроорганізмів до антибіотиків класичним диско-дифузійним методом, для подальшого їх знищення.

У мікробіологічних дослідженнях використовували найпоширеніше універсальне поживне середовище – м'ясопептонний агар, необхідний для культивування та вивчення культуральних властивостей різних мікроорганізмів. Для виділення ентеробактерій застосовували диференційно діагностичне середовище Ендо, на якому їх колонії зафарбовуються в малиново-червоний колір з металевим блиском або без нього. Соєво-казеїновий агар використовували для культивування анаеробів широкого спектру мікроорганізмів. Для виділення дріжджів та плісневих грибів застосовували Агар Сабуро, який за рахунок низького значення рН пригнічує ріст бактерій. Поживне середовище Агар Вільсон Блера використовували для диференціації клостридій, які здатні до відновлення сірки і перетворюють сульфат натрію (у високій концентрації входить до складу середовища) у сірководень, який, в свою чергу, реагує з іонами заліза і зумовлює почорніння середовища. Такої реакції ми не помічали, що і свідчить про відсутність клостридій у досліджуваному матеріалі.

Для культивування анаеробних мікроорганізмів обрали поживне рідке середовище Кітта-Тароцці, що складається з м'ясопептонного бульйону, збагаченого екстрактивними продуктами печінки ВРХ і містить шматочки вивареної печінки як поглиначка вільного кисню. На цьому середовищі росту анаеробних бактерій не спостерігали.

У разі виявлення бактеріальної контамінації визначали чутливість до антибіотиків диско-дифузійним методом [11, 20, 67, 70].

За незначної контамінації визначали антибіотикочутливість, щоб обробити проби для використання на культурах клітин. За інтенсивного мікробного забруднення пробу утилізували. Для дослідження використовували агар Мюллер-Хінтона, який розливали у стерильні чашки Петрі по 25 мл, товщина агару не перевищувала 5 мм. На поверхню підсушеного живильного

середовища в чашці Петрі наносили 1 мл досліджуваної мікробної суспензії, рівномірно розподіляючи її по поверхні агару стерильним скляним шпателем Дригальського. Після посіву, для прикріплення мікробів до субстрату і подальшого утворення плівки, чашки підсушували за кімнатної температури 10–15 хв. Надлишок суспензії відсмоктували стерильною одноразовою піпеткою. Надалі на поверхню агару розміщали стерильним пінцетом паперові диски, просочені антибіотиками, на рівній відстані один від одного та на 2 см від краю чашки. Потім чашки інкубували в термостаті за температури 37 °С [126, 144, 174].

Через 24 – 48 годин проводили облік. За допомогою лінійки вимірювали діаметри зон затримки росту навколо дисків, включаючи їх діаметр. Результати оцінювали за величиною діаметра зони пригнічення росту мікроба, яку вимірювали в міліметрах. Зону затримки мікробного росту в досліді порівнювали із нормативними даними [167, 187].

Потім визначали 2 групи мікроорганізмів за чутливістю до антибіотиків: чутливі і стійкі. «Чутливі» мікроорганізми до антибіотиків – це ті, що знищуються у разі використання звичайних терапевтичних доз препаратів. «Стойкі» або резистентні мікроорганізми – це ті для яких неможливо створити бактерицидних концентрацій препарату.

За результатами проведеного дослідження визначили препарати, що є дієвими, тобто мають бактерицидну дію, до яких висіяні мікроорганізми проявляли чутливість, таким препаратом і обробляли патологічний матеріал [67, 187].

2.8. Біопроба

Для вивчення *імуногенних властивостей* отриманого, власне виділеного на гетерологічних перещеплювальних культурах клітин, парвовірусу та коронавірусу проводили біопробу на інтактних цуценятах 45 добового віку, які були розділені на три групи: перша (5 цуценят використовували для зараження культуральним парвовірусом); друга (5 цуценят заражали культуральним коронавірусом); третя (3 цуценят використовували для виявлення спонтанного виникнення хвороби

на випадок інфікування до початку експерименту). Евтаназію проводили активну, використовуючи лікарські засоби (Тіопенат в дозі 60 мг на 1 кг маси тіла (в 1 г порошку якого міститься тіопентал натрію – 950 мг) в дозі) [74, 81], які забезпечують швидке безболісне настання смерті відповідно до Європейської Конвенції із захисту хребетних тварин, що використовуються для експериментальних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986) [90, 92, 91, 93, 99, 192, 290, 315].

2.9. Молекулярно-біологічні дослідження

Комерційна система

Виділення ДНК. Геном ДНК із зразків польових ізолятів та вірусомісної культуральної рідини виділяли гуанідин-тіоціонатним методом, на приладі *Nucleic Acid PrepStation 6100 (Applied Biosystems)*. Концентрацію ДНК вимірювали на спектрофотометрі за довжини хвилі 260 нм.

Дизайн та синтез праймерів. Нуклеотидну послідовність праймерів та флуоресцентних зондів для виявлення вірусів *Parvoviridae* та *Coronaviridae* підібрано із використанням програми *Primer Express (Applied Biosystems)*. Олігонуклеотидні праймери та флуоресцентні зонди синтезували амідітофосфітним методом на автоматичному ДНК-синтезаторі *ABI 3400 (Applied Biosystems)* [211, 281].

Експериментальна система

Метою третього етапу експериментів було удосконалення діагностики шляхом розроблення режимів проведення ПЛР з підбором специфічних праймерів.

Розробку специфічних праймерів для виявлення парвовірусу собак на основі ПЛР проводили за використання бази даних *GenBank*, *EMBL* (Європейська молекулярно-біологічна бібліотека). Нуклеотидну послідовність праймерів для виявлення парвовірусу собак підібрано із використанням програми *Primer Express (Applied Biosystems)*. Олігонуклеотидні праймери синтезували на виробничих потужностях *HVD Biotech Vertriebs (Австрія)*. Ампліфікацію ДНК-мішені здійснювали на приладі Терцік (виробництва НФК

«ДНК-технологія»). Отримані результати аналізували за допомогою електрофорезу в 2 % агарозному гелі.

2.10. Статистичні методи дослідження

Отримані результати обробляли статистично з вирахуванням середніх арифметичних величин (M), середньої квадратичної похибки (m) і ступеня вірогідності різниці (p), між показниками. Цифрові результати досліджень обробляли за методикою, описаною Л. П. Горальським та ін. (2011), і загальноприйнятими методами варіаційної статистики з використанням комп'ютерних програм *Statistika 6.0* та *Microsoft Excel 2007*. Достовірність розходжень між показниками оцінювали за критерієм Стьюдента. Вираховували три ступені вірогідності * – $P < 0,05$; ** – $P < 0,01$; *** – $P < 0,001$ [89, 147, 162, 168, 171, 183, 186, 210, 260, 385].

Оформлення дисертаційної роботи проводили відповідно до нормативних документів ДАК України [182].

РЕЗУЛЬТАТИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

РОЗДІЛ 3. ОСОБЛИВОСТІ ЕПІЗООТОЛОГІЧНОГО ПРОЦЕСУ, МОРФОЛОГІЧНІ, БІОХІМІЧНІ ІМУНОЛОГІЧНІ ПОКАЗНИКИ КРОВІ ЗА ПАРВО ТА КОРОНАВІРУСНОЇ ІНФЕКЦІЇ

3.1. Нозологічний профіль ентеритів у собак

Випадки захворювань у собак з симптомокомплексом діареї у ветеринарній практиці – явище звичайне і часто потребують лише невеликого ветеринарного втручання, за умови відсутності інфекційного або інвазійного антигену. Проте завжди є потенційна вірогідність того, що будь-який з випадків, може спричинювати захворювання. Розвиток діареї у собак виникає з різноманітних причин, а саме заразної і незаразної етіології. Вірусну етіологію хвороб заразного характеру спричиняють такі родини збудників, як: *Herpesviridae*, *Rotaviridae*, *Adenoviridae*, *Parvoviridae*, *Paramyxoviridae*, *Coronaviridae*; бактеріальну – кишковими бактеріями роду *Salmonella*, *Campylobacter*, *Clostridium*, *E. Coli*, та паразитарної етіології – *Giardia*, *Cryptosporidium*, *Neospora*. Хвороби незаразної етіології з розвитком вищезгаданого симптомокомплексу бувають аліментарні, токсичні та алергічні. Більшість із таких чинників можуть бути первинними з різною мірою патогенності. Зазвичай у собак за діарейного комплексу діагностується полігамність етіологічного спектра збудників, вплив яких зумовлює значні розлади в їх організмі високу летальність.

Враховуючи значне розповсюдження захворювань у собак, за яких розвивається геморагічна діарея, вивчали на їх етіологічну належність, у період 2014 – 2015 рр. у м. Житомир та Київ (табл. 3.1). Діагностичні дослідження в обов'язковому порядку проводили у клініках ветеринарної медицини за допомогою тест-систем (ІХА) та підтвердження первинного діагнозу в лабораторії, проводячи ІФА (ХЕМА) та ПЛР (АМПЛІСЕНС).

За визначений проміжок часу в ході проведення експерименту було відібрано для комплексного аналізу проби від 146 собак. Зазвичай лікарі ветеринарної медицини для підтвердження або спростування діагнозу направляють у лабораторію біоматеріал для дослідження на наявність одного, інколи двох збудників захворювань. Аналіз таких досліджень не дає можливості отримати повну і вичерпну інформацію щодо етіологічного спектра збудника або збудників, що спровокували хворобу. Ми проаналізували дані звітності приватної лабораторії «Бальд», де, за необхідності, проводяться комплекс діагностичних досліджень на ідентифікацію десяти різновидів заразного патогена, що можуть спричиняти захворювання зі специфічною клінічною ознакою – геморагічний ентерит.

Ці тварини мали клінічні ознаки, типові для ентеритів заразної етіології. Собаки були малорухливі, пригнічені, апатичні, із субфібрильною температурою тіла, ознаками діареї та блювоти, відсутністю апетиту, у деяких помічали спрагу. За більш тривалого перебігу розвивалась дегідратація організму, спостерігали наявність кров'яних тяжів у фекаліях тощо.

Отже, у собак основними хворобами, які викликали зацікавлення під час проведення роботи, були 5 вірусних: парво-, корона-, ротавірусні ентерити, гепатит, чума м'ясоїдних; 2 бактеріальних: сальмонельоз і кампілобактеріоз та 3 паразитарного походження: неоспороз, криптоспоридіоз та лямбліоз (див. табл. 3.1.1).

Проведені дослідження показали, що у собак, за ураження шлунково-кишкового тракту та розвитку специфічної клінічної ознаки – геморагічний ентерит, найпоширенішою хворобою є вірусний гепатит (*Adenoviridae*), антиген був виявлений майже у 19 % дослідних проб, парвовірусний ентерит (*Parvoviridae*) – майже у 14 %, ротавірусний (*Rotaviridae*) – майже у 10 %, коронавірусний ентерит (*Coronaviridae*) та чума м'ясоїдних (*Paramyxoviridae*) – майже у 6 %, кампілобактеріоз (*Campylobacter*) – у 4,6 % проб відповідно, і найменше під час проведення моніторингу зустрічався сальмонельозний антиген (*Salmonellosis*) – у 3,9 % проб.

Стосовно інвазійного агента то найчастіше виявляли лямбліозний антиген (*Giardia*) майже у 20 % дослідних проб.

Водночас слід зазначити, що під час проведення діагностичних досліджень тільки у 46 собак виявлено лише один антиген, а в інших 100 тварин було два і більше збудники хвороб, що вивчали.

Таблиця 3.1.1

Нозологічний профіль ентеритів у собак

Рік	Досліджено	Родина збудників										Кількість виявлених антигенів
		<i>Adeno viridae</i>	<i>Parvo viridae</i>	<i>Rota viridae</i>	<i>Corona viridae</i>	<i>Paramyxo viridae</i>	<i>Salmonellosis</i>	<i>Campylo bacter</i>	<i>Neo spora</i>	<i>Cryptosporidium</i>	<i>Giardia</i>	
2014	кількість	21	15	12	6	4	4	5	8	11	19	105
	%	20	14,4	11,4	5,7	3,8	3,8	4,7	7,6	10,5	18,1	100
2015	кількість	37	27	18	12	14	8	9	12	25	41	203
	%	18,3	13,3	8,9	5,9	6,9	3,9	4,4	5,9	12,3	20,2	100
всього	кількість	58	42	30	18	18	12	14	20	36	60	308
	%	18,8	13,6	9,8	5,8	5,8	3,9	4,6	6,5	11,7	19,5	100

Також з'ясовано, що аденовірус найчастіше був поєднаний в організмі тварин з парвовірусом у 12, ротавірусом – 11, чумою м'ясоїдних – 4 та коронавірусом у 3 собак відповідно. Другим щодо розповсюдження був парвовірусний ентерит, який здебільшого асоціював з ротавірусним у 6 собак та коронавірусним ентеритом у 4 собак відповідно. Кампілобактеріоз двічі

зустрічався з сальмонельозом, один раз з чумою, гепатитом та парвоентеритом і у 5 собак з паразитарними хворобами. Подібна ситуація була присутня і в собак, хворих на сальмонельоз – у 3 собак моноінфікування, інших – з інвазійними хворобами. За ентеритів вірусної етіології також інколи відмічали паралельне ураження паразитарними агентами (рис. 3.1.1).

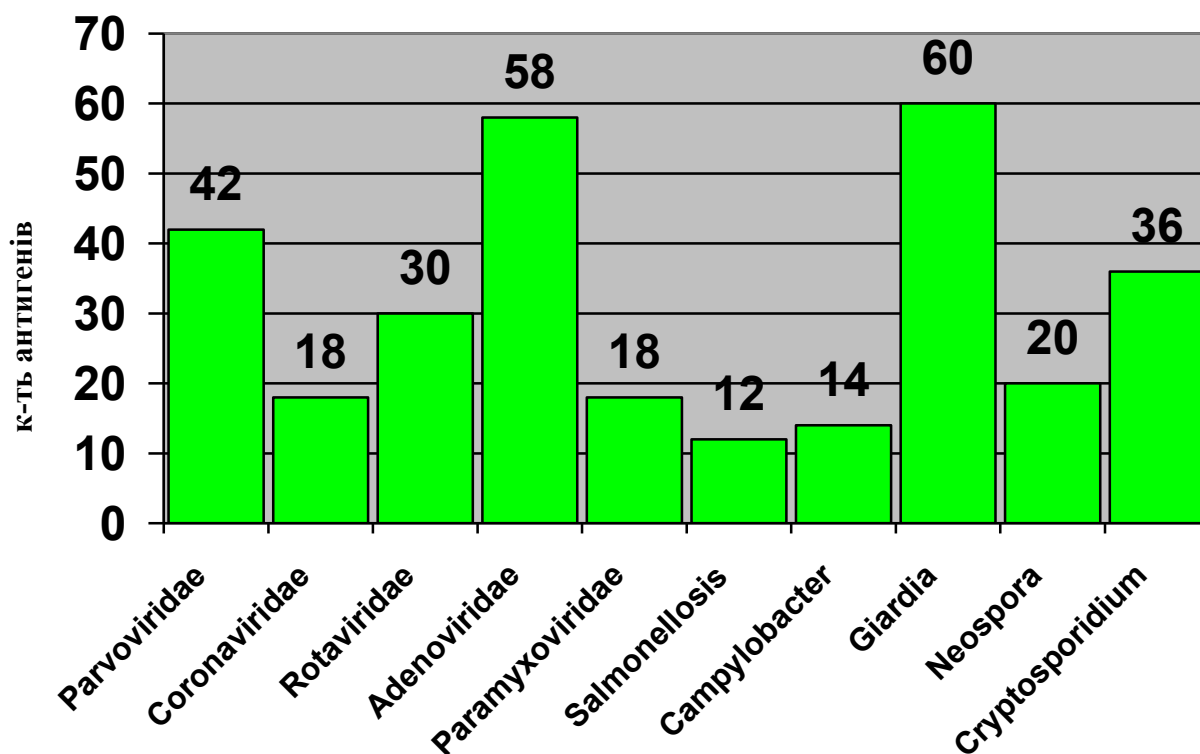


Рис. 3.1.1 Нозологічний профіль ентеритів у собак

Проведені дослідження показали, що в інфекційній патології собак з симптомокомплексом ураження шлунково-кишкового тракту і розвитком ентериту визначено досить багатогранний нозологічний профіль, яких включає вірусні, бактеріальні та паразитарні хвороби.

За період проведення дослідження виявлено 146 собак з розладами шлунково-кишкового тракту, у яких основною клінічною ознакою був геморагічний ентерит. Клінічні ознаки у даних тварин значною мірою були тотожними (діарея, блювота, зневоднення). Для підтвердження або спростування парвовірусної інфекції у хворих собак відбирали змиви для

проведення лабораторної діагностики. Дослідження проводили на десять найпоширеніших хвороб, а саме: парво-, корона-, ротавірусний ентерит, чуму м'ясоїдних, вірусний гепатит, сальмонельоз, кампілобактеріоз, лямбліоз, криптоспоридіоз та неоспороз.

Отже, у собак з розладами шлунково-кишкового тракту, що супроводжувались геморагічним ентеритом, була визначено причину незаразної етіології у 13 %, а заразної – у 87 % дослідних тварин. Встановлено, що 63 % собак були уражені інфекційним антигеном, а 37 – інвазійним. Інтенсивного розповсюдження зазнали такі інфекційні хвороби вірусної етіології, як інфекційний гепатит (18,8 %), парво – (13,6 %), рота – (9,8 %) та коронавірусна інфекція (5,8 %), чума м'ясоїдних (5,8 %); бактеріального профілю кампілобактеріоз (4,6 %) і сальмонельоз (3,9 %). Серед паразитарних хвороб значне розповсюдження реєстрували щодо протозойних, а саме лямбліоз (19,5 %), криптоспоридіоз (11,7 %) та неоспороз (6,5 %).

У свою чергу, на частку інфекційних хвороб за моноінфікування припадає 63 %, найпоширенішими хворобами є вірусний гепатит, сальмонельоз та парвовірусний ентерит. Інфікування збудником одного типу паразитарної етіології було виявлено у 37 % собак, а основне захворювання – лямбліоз.

Наступним етапом нашої роботи було провести моніторингові дослідження проб, отриманих від собак з кишковими проблемами та ознаками діареї, яких обслуговували у ветеринарних клініках м. Житомир та Київ за період з 2007 по 2015 роки. Стосовно інформації щодо корона- та ротавірусу, дослідження цього напряму проводили у період з 2010 по 2015 роки.

У процесі проведених досліджень встановлено розповсюдженість парвовірусного, коронавірусного та ротавірусного ентериту (табл. 3.1.2.).

Аналізуючи дані, підсумували, що за визначений період (2007 – 2015 рр.), було піддано дослідженню 3302 проби, отримані від собак з «діарейним комплексом», у 2396 тварин первинним діагнозом був «парвовірусна інфекція», а наявність парвовірусного антигену підтвердили у 1237 пробах, що відповідає 51,6 %. Стосовно коронавірусного ентериту, то первинний діагноз був

поставлений у 535 собак, з яких лабораторно підтверджено 99 тваринам, що відповідає 18,5 %. Ротавірусний ентерит зазвичай виявляли як вторинну інфекцію, яку класифікували як «фіксовану». Лабораторно наявність ротавірусного антигену було підтверджено у 87 пробах з 371 дослідженої, що відповідає 23,5 %.

Таблиця 3.1.2

Епізоотична ситуація щодо вірусних ентеритів за 2007 – 2015 рр.

Назва хвороби	Позитивно реагуючих	Негативно реагуючих	Позитивно реагуючих	Негативно реагуючих	Загальна кількість
	к-ть досліджених проб		відсоток (%)		
ПВЕ	1237	1159	51,6	48,4	2396
КВЕ	99	436	18,5	81,5	535
РВЕ	87	284	23,5	76,5	371
Всього	1423	1879	43,1	56,9	3302

За 2010 – 2015 роки було проведено дослідження сумісної персистенції парво- та коронавірусу в організмі собак, виявлено 43 з двома типами збудника, що склало 21,6 % від 199 дослідних проб (табл. 3.1.3).

Наступним етапом нашої роботи було дослідити ситуацію щодо наявності субінфекції в організмі хворих собак, а саме персистентними двома антигенами, парво- та коронавірусом (див. табл.3.1.3).

За рахунок впливу вірусного антигену на організм тварини відбувається супресія імунної системи: нами були зафіксовані випадки сумісного інфікування (міксованого) собак збудником двох і більше типів. Тому було проведено дослідження у собак на сумісне перебування двох антигенів, а саме парво- та коронавірусу. Попередній діагноз – вірусний ентерит, враховуючи

анамнестичні дані та клінічне обстеження, поставлено 514 тваринам, серед яких було виявлено 43 собаки зі збудником двох типів, що склало 21,6 % від 199 дослідних проб (табл. 3.1.3).

Таблиця 3.1.3

Епізоотична ситуація щодо сумісного виявлення ПВЕ та КВЕ

Назва хвороби	КВЕ +	КВЕ -	Позитивно реагуючих	Негативно реагуючих	Загальна кількість
	к-ть досліджених проб		відсоток (%)		
ПВЕ +	43	156	21,6	78,4	199
ПВЕ -	53	262	16,8	83,2	315
Всього	96	418	18,7	81,3	514

Таблиця 3.1.4

Епізоотична ситуація щодо сумісного виявлення ПВЕ та РВЕ

Назва хвороби	РВЕ +	РВЕ -	Позитивно реагуючих	Негативно реагуючих	Загальна кількість
	к-ть досліджених проб		відсоток (%)		
ПВЕ +	34	81	29,6	70,4	115
ПВЕ -	49	189	20,6	79,4	238
Всього	83	270	23,5	76,5	353

Під час дослідження сумісної персистенції парво- та ротавірусу в організмі собак було виявлено 34 тварини зі збудниками двох типів, що склало 29,6 % від 115 дослідних проб (табл. 3.1.4).

У ході проведеної роботи за 2010 – 2015 роки також виявлено 8 собак, одночасно уражених збудником трьох типів.

Під час проведення досліджень нами було встановлено широке розповсюдження ентеритів вірусної етіології серед собак, незважаючи на виконання специфічної профілактики у більшості випадків.

Отже, у собак найрозповсюдженішим ентеритом вірусної етіології за 2007 – 2015 роки був парвовірус – 1237 (51,6 %) позитивних проб із 2396 досліджуваних тварин. За 2010 – 2015 роки корона- та ротавірусний ентерит відповідно діагностували у 18,5 % та 23,5 % проб, отриманих від хворих собак.

Значне розповсюдження має сумісне ураження збудником двох типів ПВЕ з КВЕ – 43 випадки та ПВЕ з РВЕ – 34 випадки, з трьома збудниками виявлено лише 8 собак.

Результати підрозділу 3.1 висвітлені в наукових працях [221, 235, 237 246, 247].

3.2. Епізоотологічні особливості вірусних ентеритів у собак

Важливим показником будь-якого інфекційного захворювання є епізоотологічна характеристика, а саме сезонність, вікова та породна схильність і розповсюдженість у різні роки. У зв'язку з тим, що збір даних щодо епізоотичної ситуації проводили з 2010 по 2015 роки, тому саме за цей період наведені результати (табл. 3.2.1). Для проведення епізоотологічного аналізу використовували дані ветеринарних клінік та ветеринарних лабораторій. У експерименті враховували показники, отримані тільки у разі підтвердження діагнозу лабораторним методом.

За визначений проміжок часу було проведено аналіз діагностичних досліджень за парвовірусної інфекції (CPV) у 756 собак, коронавірусної (CCV) – 99 та ротавірусної інфекції (CRV) – у 87 собак (див. табл. 3.2.1)

Аналізом результатів проведених досліджень встановлено, що найбільшу кількість тварин, інфікованих парво- корона та ротавірусом, було зареєстровано у 2010 та 2011 роках, а найменшу – у 2013 році. Стосовно 2012, 2014 та 2015 років розповсюдженість вірусних ентеритів, а відповідно і їх реєстрація, знаходилась майже в однакових межах (див. табл. 3.2.1).

Таблиця 3.2.1

Динаміка захворюваності на вірусні ентерити

Захворювання / Роки	Парвовірусна інфекція	Коронавірусна інфекція	Ротавірусна інфекція	Всього
2010	186	7	-	193
2011	200	15	9	224
2012	119	18	12	149
2013	50	12	4	66
2014	96	27	30	153
2015	105	20	32	157
Всього	756	99	87	942

Згідно із проведеними нами статистичними дослідженнями щодо виявлення ентеритів вірусної етіології у собак за 2010 – 2015 роки, встановлено, що в останні шість років домінує парвовірусний ентерит, при тому коронавірусний ентерит є неодмінною складовою етіологічного спектра хвороб з ураженням шлунково-кишкового тракту (табл. 3.2.1 та рис. 3.2.1).

На сьогодні нозологічний профіль ентеритів вірусної етіології поповнив ще один представник, це вірус родини *Rotaviridae*, який не зважаючи на свою латентність все частіше виявляються у собак з геморагічним ентеритами.

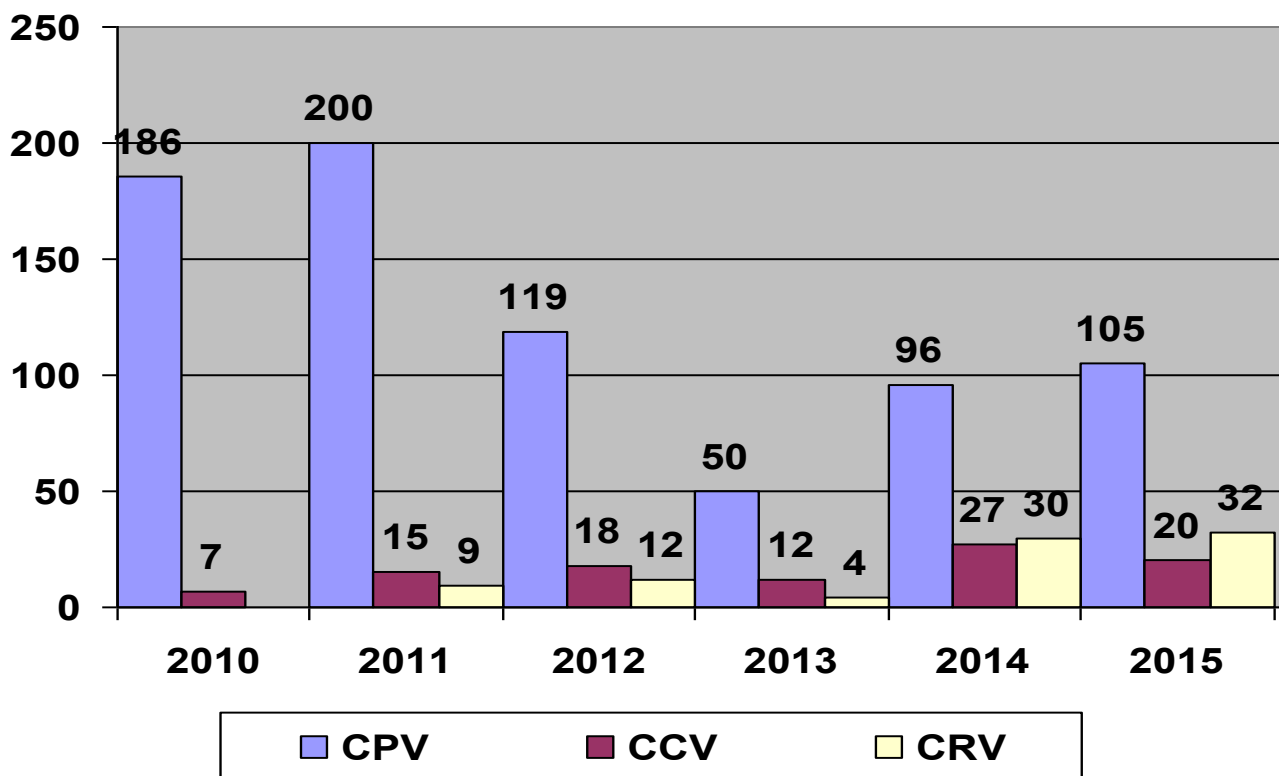


Рис.3.2.1. Динаміка захворюваності на парво- корона та ротавірус за 2010 – 2015 роки

Щодо епізоотологічного аналізу вікової схильності до вірусних ентеритів, встановлено, що коронавірус уражує собак різного віку, єдиним винятком у наших дослідженнях були собаки до 2 місяців (рис. 3.2.2). На нашу думку, це пов'язано з материнським імунітетом. У тварин старших вікових груп також діагностували цю патологію, навіть у віці 7 та 8 років нами були виявлені хворі собаки. Під час проведення експерименту встановлено, що найбільшу схильність до коронавірусного ентериту спостерігали у групі собак від 5 до 8 місяців. Дещо рідше діагностували динне захворювання у групі тварин від 8 до 12 місяців. Стосовно ротавірусу відмічаємо, що він вражає собак різного віку, єдиним виключенням також є собаки до 2-х місяців, що пов'язано, можливо, з

материнським імунітетом. У тварин старших вікових груп також діагностували дану патологію, навіть у віці 12 та 13 років були виявлені хворі собаки.

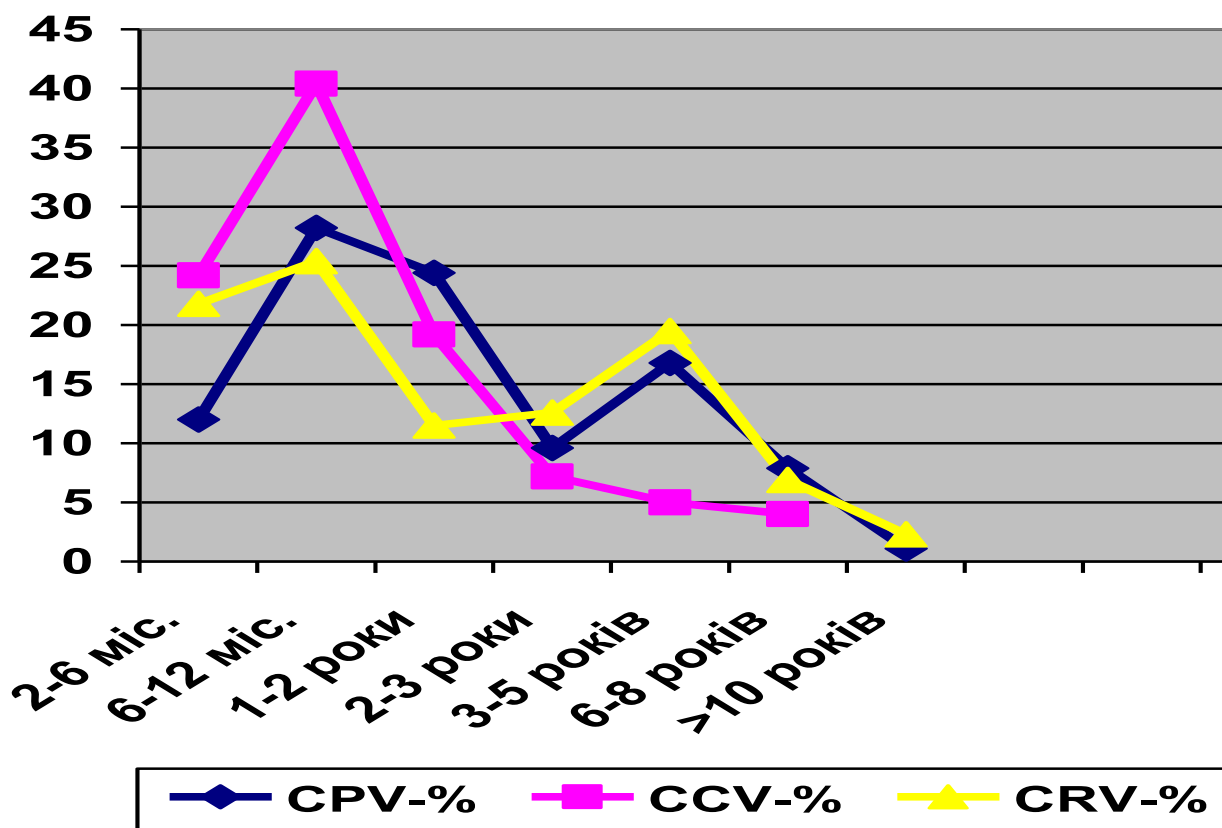


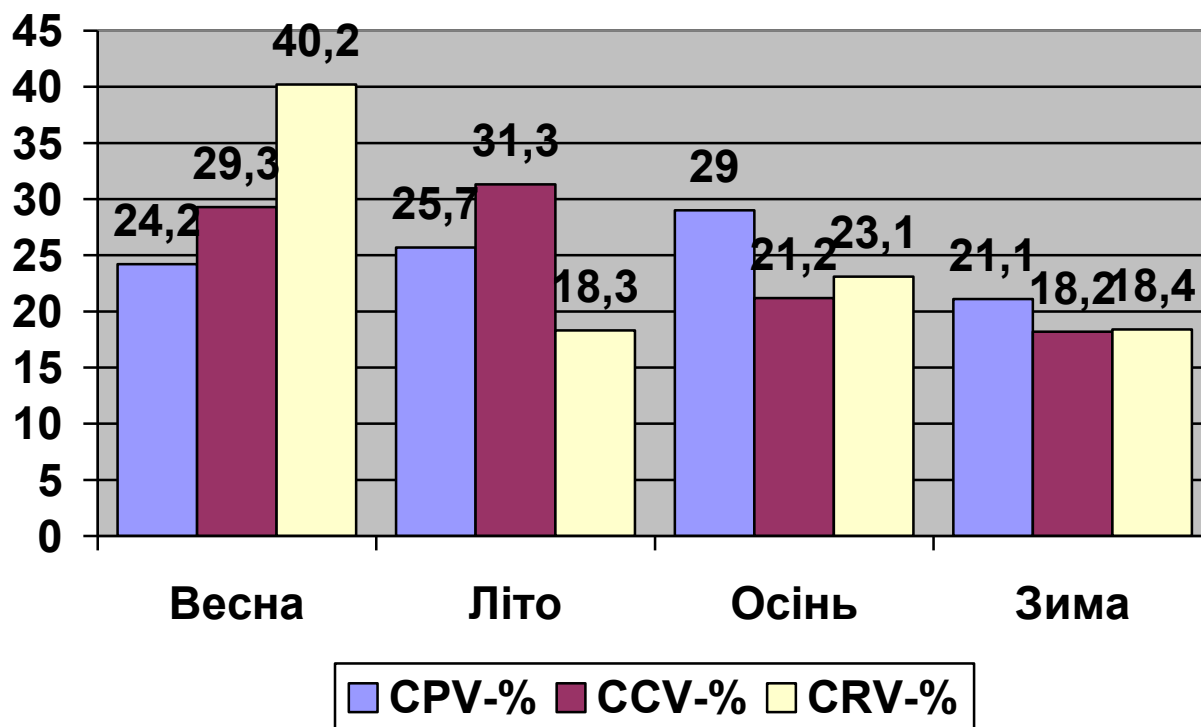
Рис. 3.2.2. Вікова схильність собак до парво- корона та ротавірусу за 2010 – 2015 роки

За результатами експериментальних досліджень було встановлено, що найбільшу схильність до ротавірусного ентериту є собаки віком від 6 до 12 місяців. Дещо рідше діагностували ротавірус в групі собак від 2 до 6 місяців. Значний спад захворюваності у собак реєструється після року, який зберігається до п'яти річного віку.

Стосовно сприйнятливості до парвовірусу собак, відмічаємо два найбільш виражені спалахи: у 6-8 місяців та в 6-7 річному віці. Також слід відмітити, що під час проведення експериментального аналізу не було виявлено хворих на парвовіроз собак менше двох місячного віку.

Наступним критерієм епізоотологічного аналізу було вивчення сезонності. Відомо, що будь-яке захворювання має або не має прояву сезонності. За

результатами наших досліджень, спалахи коронавірусного ентериту у собак залежали від пори року (рис. 3.2.3).



**Рис. 3.2.3 Прояв сезонності за парво- корона та ротавірусом
(2010 – 2015 роки)**

Так, згідно з нашими результатами, пік захворюваності наставав у весняний (29,3 %) та літній (31,3 %) періоди. Водночас слід зазначити, що це захворювання спостерігали впродовж року практично у рівних співвідношеннях: осінь – 21,2 %, зима – 18,2 % відповідно. Стосовно підозри і проведення лабораторних досліджень на наявність коронавірусу в організмі собак, виявляли в осінньо-зимовий період (рис. 3.2.3).

Інфікованість ротавірусом свідчить про те, що пік захворюваності наставав у весняний період – 40 % випадків. Водночас його виявляли впродовж інших сезонів року практично у рівних співвідношеннях від 18,3 % літом до 23,1 % восени відповідно. Стосовно підозри і проведення лабораторних досліджень на

наявність ротавірусу в організмі собак, то найчастіше захворювання виявляли в осінньо-зимовий період.

Аналізуючи результати досліджень за останні шість років, найчастіше парвовірусний ентерит реєструвався восени – 29 %, рідше влітку – 25,7 %, навесні – 24,2 % і найменша кількість хворих собак була зафіксована взимку – 21,1 % (див. рис. 3.2.3)

У процесі проведення експериментального дослідження встановлено, що парвовірусний ентерит не має постійної чіткої сезонності, яка коливалась із року в рік. Виходячи з вищез'ясованого, стверджуємо, що цю патологію слід очікувати у будь-яку пору року, особливо у неімунних (не вакцинованих) цуценят.

Наступним етапом наших досліджень було з'ясування породної схильності до парво- корона та ротавірусу.

Слід зазначити, що вагомим аспектом вивчення епізоотичного процесу є породна схильність до інфекційного захворювання. Згідно наведеними даними щодо породної схильності та аналізом результатів проведених досліджень встановлено значну кількість порід собак, чутливих до парвовірусного ентериту, якими виявились у порядку зменшення від найсприйнятливішого: Лайка – 73,9 %, Англійський бульдог – 72,2 %, Бульмастиф – 70,0 %, Шарпей – 68,4 %, Ротвейлер – 65,0 %, Кокер спаніель – 63,6 %, Чихуахуа – 61,2 %, Бігль – 54,2 %, Німецька вівчарка – 53,9 % та Чау - чау – 53,3 %. Найменш схильними породами до парвовірусного ентериту є: Боксер – 25,0 %, Такса – 27,7 %, Кане - Корсо – 35,7 %, Той - тер'єр – 38,1 % та Шпіц – 38,7 %. Такі породи як Чорний тер'єр та Кавказька вівчарка мали середній відсоток щодо сприйнятливості і він коливався в межах 50 % (табл. 3.2.2).

Під час проведення експериментального дослідження щодо вивчення породної схильності до захворювання на коронавірусний ентерит виявляли, що найбільш часто хворіли собаки таких порід, як Ротвейлер, Джек рассел тер'єр та Бігль. Менш характерну чутливість до коронавірусу проявляють Чихуахуа, Той - тер'єр та Боксер. Достатньо стійкими породами виявилися Французький

бульдог та Лабрадор. Також було з'ясовано, що метиси проявляли схильність до коронавірусу, незважаючи на існуючу теорію про значну резистентність собак таких порід (див. табл. 3.2.2).

Таблиця 3.2.2

Породна сприйнятливість собак до парво- корона та ротавірусу

№	CPV	CCV	CRV
1	Лайка	Джек рассел тер'єр	Мальтійська болонка
2	Англійський бульдог	Ротвейлер	Померанський шпіц
3	Бульмастиф	Бігль	Коллі
4	Шарпей	Боксер	Шотландський тер'єр
5	Кокер спаніель	Чихуахуа	Кане-Корсо
6	Ротвейлер	Той-тер'єр	Американський стаф. тер'єр
7	Чихуахуа	Німецька вівчарка	Французький бульдог
8	Мопс	Такса	Німецький дог

На ротавірусний ентерит, як нами було встановлено, найбільш часто хворіли собаки таких порід, як Шотландський тер'єр, Коллі, Померанський шпіц, Мальтійська болонка. Менш характерну чутливість до ротавірусу проявляють Німецька вівчарка, Німецький дог та Французький бульдог. Достатньо стійкими породами виявились Лабрадор - ретривер та Йоркширський тер'єр. Також було з'ясовано, що метиси проявляли схильність до ротавірусу, незважаючи на існуючу теорію про значну резистентність собак таких порід. Собаки деяких порід, не були уражені цим вірусом, але це не підтверджує резистентності їх організму.

Результати підрозділу 3.2 висвітлені в наукових працях [222, 228, 229, 230].

3.3. Морфологічні показники крові за парвовірусної та коронавірусної інфекції у собак

Для дослідження використовували біоматеріал (стабілізована кров і сироватка крові), отриманий від собак з характерними клінічними ознаками парвовірусної або коронавірусної інфекції та обов'язковим підтвердженням діагнозу одним із методів: експрес-тест (ІХА) або лабораторно – на виявлення антигену (ПЛР).

За 2013–2016 рр. виявлено та підтверджено діагноз на парвовірусний ентерит у 288 собак. Встановлено, що температура тіла хворих тварин була в межах норми – $38,7 \pm 0,05^\circ\text{C}$. Стосовно собак, інфікованих коронавірусною інфекцією, то за 2014–2016 рр. виявлено та підтверджено діагноз у 10 тварин. Температура тіла у собак, інфікованих коронавірусом, була також у межах норми – $38,9 \pm 0,05^\circ\text{C}$.

У хворих тварин були відібрані зразки крові для морфологічних і біохімічних досліджень.

Проведені дослідження показали, що за парвовірусної інфекції у собак достовірно ($P < 0,01$) зменшується кількість еритроцитів, можливо причиною цього є інфекційний агент у крові хворих, що зумовив їх гемоліз.

Водночас слід зазначити, що парвовірус уражає червоний кістковий мозок, це пов'язано з гіпоксією, внаслідок патології серцево-судинної системи за цієї хвороби. Визначено також, що гематокритна величина в інфікованих тварин була у межах норми $41,1 \pm 0,50\%$, але нижче цього показника у тварин контрольної групи – $45,4 \pm 2,37\%$. Крім того, у хворих собак спостерігали достовірне зменшення кількості ($P < 0,001$) лейкоцитів. Це можливо пов'язано, на нашу думку, з тим, що вірус розмножується швидким діленням у клітинах кісткового мозку, а саме – лейкоцитах. Причому частка еозинофілів і моноцитів була у межах норми. Встановлено достовірне зниження ($P < 0,001$) кількості лімфоцитів, що є характерним для гострих інфекційних процесів. Лімфоцитопенія, можливо, була спричинена низькомолекулярними білками – інтерферонами, які синтезуються у відповідь на вірусну інфекцію. Швидкість

осідання еритроцитів у крові інфікованих збудником парвовірусного ентериту тварин була достовірно ($P < 0,001$) вище за норму. Цей факт ми пов'язуємо із збільшенням концентрації у плазмі білків гострої фази, а саме: фібриногену, С-реактивного білка та імуноглобулінів. Було визначено достовірне ($P < 0,05$) збільшення кількості тромбоцитів, що можливо пов'язано з крововтратами за геморагічного ентериту. У собак за парвовірозу достовірно збільшувалася кількість еозинофілів ($P < 0,001$) (розвиток еозинофільного гастроентериту) та моноцитів ($P < 0,05$) (вплив інфекційного агента). Встановлено достовірне ($P < 0,001$) збільшення кількості паличкоядерних нейтрофілів, що характеризує ядерний зсув вліво (переважання молодих форм клітин). Такі зміни характерні для запального процесу, інтоксикації за інфекційних хвороб. За парвовірозу ядерний зсув вліво на тлі лейкопенії ми констатуємо як дегенеративний (табл. 3.3.1).

Аналізуючи гематологічні показники у собак за коронавірусної інфекції відзначали зниження кількості еритроцитів з $5,20 \pm 1,34$ Т/л до $6,1 \pm 0,38$ Т/л, порівнюючи з аналогічним показником у тварин контрольної групи. Гематокритна величина в інфікованих тварин була дещо нижче від норми на $\sim 30\%$, що відповідало стану собак, у яких виявляли дегідратацію внаслідок проносу. У тварин за коронавірусної інфекції встановлено достовірне ($P < 0,001$) зниження кількості лейкоцитів. Проте кількість еозинофілів і моноцитів була в межах норми, але достовірно вище ($P < 0,001$) за аналогічні показники у собак контрольної групи. Водночас кількість лімфоцитів достовірно ($P < 0,001$) зменшилась, що є характерним для гострих інфекційних процесів.

Крім того, у собак за коронавірусної інфекції відбувається зсув лейкоцитарної формули вправо за рахунок зростання кількості сегментованих ядерних форм нейтрофілів. Цей показник, за результатами наших досліджень, пов'язаний з домінуванням зрілих нейтрофілів, що характеризує патологічні процеси в печінці та нирках, а саме, розвиток гепаторенального синдрому за коронавірозу.

Морфологічні показники крові собак, інфікованих КВЕ та ПВЕ

Показники		Lim M±m	КВЕ n = 10	ПВЕ n = 288
Еритроцити, Т/л		5,5–8,5 6,1±0,38	5,20 ± 1,34	5,0±0,08**
Гематокритна величина, %		37,0–55,0 45,4±2,37	35,2 ± 5,40	41,1±0,50
Тромбоцити, Г/л		150 – 500 252±19,7	343,6 ± 34,04*	355,5±43,20*
Лейкоцити, Г/л		8,5–10,5 9,4±0,15	4,6 ± 0,98***	6,1±0,21***
Нейтрофіли, %	Ю	0	-	-
	С	40,0–70,0 58,5±1,42	73,6 ± 5,77	73,3±1,29
	П	1,0 – 6,0 1,7±0,22	1,66 ± 1,44	5,2±1,80***
Еозинофіли, %		2–9 1,8±0,26	3,0 ± 0,81***	2,9±0,20***
Моноцити, %		1,0–5,0 3±0,22	1,75 ± 0,95***	3,9±0,30*
Лімфоцити, %		21,0–40,0 35±1,32	18,4 ± 4,22***	19,8±0,81***
ШОЕ, мм/год.		2,0–5,0 4,4±0,45	7,0 ± 1,41	8,7±0,77***

Примітка * – P < 0,05; ** – P < 0,01; *** – P < 0,001 – порівняно з контрольною групою тварин

Швидкість осідання еритроцитів у крові інфікованих збудником коронавірусного ентериту собак була вище норми майже на 40 % порівняно з аналогічним показником у тварин контрольної групи.

У ході інтерпретації біохімічних показників у собак за парвовірозу виявляли, достовірне збільшення (P<0,001) концентрації глюкози, що на нашу думку пов'язано з патологією підшлункової залози та розвитком гепаторенального синдрому. Встановлено достовірне підвищення (P<0,01)

рівня загального білірубіну, що також вказує на патологію у печінці за парвовірозу. У тварин достовірно знижувалась ($P < 0,001$) концентрація креатиніну, можливо причиною у розвитку цієї патології є порушення функції нирок, а саме клубочкової фільтрації (табл. 3.3.2).

Таблиця 3.3.2

Біохімічні показники у собак інфікованих КВЕ та ПВЕ

Показники	Lim M±m	КВЕ n = 10	ПВЕ n = 288
Глюкоза, ммоль/л	3,4 – 6,0 4,2±0,2	3,39 ± 0,57	5,0±0,12***
Білірубін загальний, мг/л	0 – 5,0 0,22±0,19	1,0 ± 0,28*	0,76±0,03**
Калій, ммоль/л	4,0 – 5,6 4,8±0,31	2,43 ± 0,44***	4,2±0,27
Загальний кальцій, ммоль/л	1,87 - 2,8 2,55±0,06	2,52 ± 0,056	2,2±0,03
Неорганічний фосфор, ммоль/л	0,68 – 2,0 1,52±0,053	1,45 ± 0,07	1,6±0,05
Лужна фосфатаза, од/л	10 – 150 34,6±2,72	310,8 ± 63,35***	179,2±9,10***
Нв (гемоглобін), г/л	120 – 180 145±12,45	131,04 ± 27,15	145,5±2,0
Загальний білок, г/л	51,0 – 78,0 71,0±1,81	39,55 ± 12,37*	47,6±0,7***
АсАТ, од/л	5,0 – 55,0 50,1±3,8	26,7 ± 6,08**	61,4±3,9*
АлАТ, од/л	9,0 – 75,0 46,6±3,3	36,75 ± 6,43	58,8±4,4*
Сечовина, ммоль/л	3,5 – 9,2 5,3±0,17	4,2±0,41*	5,1±0,25
Креатинін, мкмоль/л	26,0 – 120,0 97,0±3,9	48,8±27,15	49,9±3,0***

Примітка * – $P < 0,05$; ** – $P < 0,01$; *** – $P < 0,001$ – порівняно з контрольною групою тварин

Визначено також, що вміст загального білка за парвовірусного ентериту у собак достовірно ($P < 0,001$) знижувався, оскільки у хворих тварин помічали зниження апетиту. Отже, у хворих собак білок в організм надходив у

недостатній кількості і через ураження кишечника практично не всмоктувався в ньому. Гіпопротеїнемія відображає процеси ураження печінки, оскільки більшість його фракцій синтезується гепатоцитами (див. табл. 3.3.2). Водночас слід зазначити достовірне зростання ($P < 0,05$) активності АсАТ та АлАТ, що свідчить про порушення структури клітин печінки і розвитку цитолізу. Визначено, що активність лужної фосфатази була достовірно ($P < 0,001$) підвищеною. Отже, у собак можливе ушкодження жовчних проток печінки, оскільки вміст у сироватці крові загального кальцію та неорганічного фосфору був у межах фізіологічних величин.

Зміни біохімічних показників є неспецифічними, проте відображають глибину патологічних процесів, які ускладнюють перебіг парвовірусного ентериту.

За інтерпретації біохімічних показників собак, інфікованих коронавірусом встановлено, що концентрація гемоглобіну, вміст кальцію, фосфору та глюкози не виходили за межі фізіологічних коливань (див. табл. 3.3.2). Водночас слід зазначити, що вміст глюкози та креатиніну у хворих на коронавірусний ентерит собак є нестабільним показником. Проте середнє значення було в межах норми. Вміст загального білка за коронавірусного ентериту в собак достовірно ($P < 0,05$) знижувався, що може означати порушення всмоктувальної здатності за ентеритів, а достовірне збільшення ($P < 0,05$) рівня загального білірубіну вказує на дестабілізацію в роботі печінки. У тварин достовірно знижувалась ($P < 0,05$) концентрація сечовини, можливо причиною у розвитку патології є порушення функції нирок та підшлункової залози. У собак за коронавірусного ентериту достовірно зростала ($P < 0,001$) активність лужної фосфатази. Визначено також, що у собак за коронавірусної інфекції достовірно знижується ($P < 0,001$) вміст калію, що можливо пов'язано з надмірною втратою його через нирки та ШКТ (див. табл. 3.3.2).

Проведені комплексні дослідження показали, що у собак, хворих на парвовірусний ентерит, характерними є зміни морфологічного та біохімічного складу крові. А саме, було встановлено еритроцитопенію, лейкоцитопенію,

лімфоцитопенію, гіпопротеїнемію, гіперактивність АсАТ і лужної фосфатази, збільшення ШОЕ. Водночас слід зазначити, що у собак за коронавірусного ентериту виявлено еритроцитопенію, лейкоцитопенію, лімфоцитопенію, гіпопротеїнемію, гіперактивність лужної фосфатази, збільшення ШОЕ.

Зміни таких біохімічних показників не є неспецифічними, проте, відображають глибину патологічних процесів, які ускладнюють перебіг коронавірусного ентериту. Одержані нами результати збігаються з даними літератури [52, 303, 347, 488, 556] і показали, що в інфекційний процес втягується більшість органів та систем.

Результати підрозділу 3.3 висвітлені в наукових працях [225, 248, 252].

3.4. Показники еритроцитопоезу у собак за парвовірусної та коронавірусної інфекції у собак

Для всебічного і більш глибокого вивчення патогенного впливу парвовірусу та коронавірусу на функціональний стан організму собак нами було досліджено показники еритроцитопоезу за вищезгаданих хвороб.

Отримані результати досліджень показників еритроцитопоезу у собак за парвовірусного ентериту, та індекси червоної крові наведені в таблиці 3.4.1, де перша дослідна група – собаки, хворі на парвовірусний ентерит, та друга – інфіковані коронавірусом. Lim – показники, що наведені у профільній літературі, $M \pm m$ – контрольна група клінічно здорових собак $n=10$.

Проведені дослідження показали, що у собак за парвовірусної інфекції виявлено еритропенію $5,0 \pm 0,08$ Т/л, що може свідчити про наявність інфекційного агента у крові хворих, внаслідок гемолізу еритроцитів. Для оцінки загального об'єму еритроцитів визначали гематокритну величину, яка у хворих собак була нижче від норми і становила $40,1 \pm 0,50$ %, що може вказувати на розвиток анемії.

Індекси морфологічних показників еритроцитопоезу, які свідчать про інтенсивність дозрівання еритроцитів та насичення їх гемоглобіном у

кістковому мозку *MCH* (вміст гемоглобіну в одному еритроциті) – $27,01 \pm 0,6$ пг, *MCV* (середній об'єм еритроцитів) – $71,5 \pm 0,7$ fl і *MCHC* (вміст гемоглобіну в одному еритроциті) – $35,6 \pm 0,5$ г/дл у собак за парвовірусного ентериту істотно не відрізнялись від діагностичного ліміту, що характерно для нормацитарної анемії, яка виникає внаслідок пригнічення роботи кісткового мозку. Проте слід зазначити, що вищезгадані показники мали тенденцію до їх збільшення, яке характеризує глибину патології за цього захворювання (табл. 3.4.1).

Таблиця 3.4.1

Показники еритроцитопоезу у собак за вірусних ентеритів

Біомет. показ.	Гемоглобін, г/л	Еритроцити, Т/л	<i>MCH</i> , пг	<i>MCHC</i> , г/дл	<i>MCV</i> , fl	Гематокрит, %
Lim	120-180	5,5-8,5	22,0-26,0	32,0-36,0	62,0-72,0	41,0-50,0
M±m	145±12,45	6,1±0,38	23,6±1,57	33,9±1,42	67,1±3,72	45,4±2,37
Дослідна група n=288 M±m	145,5±2,0	5,0±0,08***	27,01±0,6*	35,6±0,5	71,5±0,7	40,1±0,5
Дослідна група n=10 M±m	131,04 ± 27,15	5,20 ± 1,34	25.34 ± 1,82	37,5 ± 3,45	69,06 ± 0,98	35,2 ± 5,4

Примітка * – $P < 0,05$; ** – $P < 0,01$; *** – $P < 0,001$ – порівняно з контрольною групою тварин.

У собак за парвовірусного ентериту спостерігається гіпопротеїнемія ($47,6 \pm 0,7$ г/л), що відображає процеси ураження печінки, оскільки більшість його фракцій синтезується гепатоцитами, і свідчить про порушення функціонального стану печінки.

Еритроцитарні індекси, які свідчать про інтенсивність дозрівання еритроцитів та насичення їх гемоглобіном у кістковому мозку *MCH* і *MCV*, у хворих на коронавірусний ентерит собак, істотно не відрізнялися від таких показників у клінічно здорових тварин, але мали зсув у бік розвитку нормацитарної анемії. Водночас середня концентрація гемоглобіну в еритроциті (*MCHC*) була дещо вищою за фізіологічний ліміт і становила $37,5 \pm 3,45$ г/дл. відповідно, що може вказувати про розвиток анемії (див. табл. 3.4.1).

Стосовно показників за коронавірусної інфекції спостерігали еритропенією – $5,20 \pm 1,34$ Т/л. При цьому показник гематокритної величини у хворих собак був нижче від норми і становив $35,2 \pm 5,4$ %, що може свідчити про розвиток анемії.

У собак за коронавірусного ентериту так само як і за парвовірусного, спостерігали гіпопротеїнемію ($39,55 \pm 12,37$ г/л), яка, на нашу думку, може бути пов'язана з гіпоальбумінемією ($11,34 \pm 0,12$ г/л). Гіпопротеїнемія свідчить про ураження печінки, оскільки більшість її фракцій синтезується гепатоцитами. Тому у хворих собак спостерігали зниження білкового коефіцієнта $0,645 \pm 0,105$ за норми 0,71-1,28.

Під час діагностики захворювань серцево-судинної системи і печінки запропоновано визначати коефіцієнт де Рітиса, що показує співвідношення АсАТ і АлАТ. За хвороб серцево-судинної системи він збільшується, за патології печінки, навпаки, зменшується. У собак, уражених коронавірусом за результатами наших досліджень встановлено зниження цього коефіцієнта – $0,725 \pm 0,025$ од/л, що свідчить про наявність гепатопатії.

За інтерпретації біохімічних показників, окрім вмісту загального білка, для діагностики різних патологічних процесів важливе значення має визначення білкових фракцій. При цьому альбумінова фракція є негативним гострофазним білком і тому в разі запалення часто зменшується, що і спостерігають за ураження собак парвовірусом, внаслідок чого виникає гіпоальбумінемія ($20,01 \pm 0,7$ г/л).

Коефіцієнт де Рітиса за парвовірусної інфекції збільшувався і становив $1,86 \pm 0,4$ од./л. Активність АсАТ також зростає і відповідно складає $61,4 \pm 3,90$ од./л, що вказує на розлади у роботі серцево-судинної системи (табл. 3.4.2).

Таблиця 3.4.2

**Показники функціонального стану печінки у собак
за вірусних ентеритів**

Показники	Загальний білок г/л	Альбуміни г/л	Білковий коефіцієнт	АсАТ од /л	АлАТ од /л	Коефіцієнт Де Рітиса од / л
Lim	51,0-78,0	31,0-41,0	0,71-1,28	5,0-55,0	9,0-75,0	1,33-1,75
M±m	71±1,81	36,5±0,5	0,97± 0,04	50,1± 3,8	46,6±3,3	1,24± 0,2
Дослідна n=288 група M±m	47,6± 0,7***	20,01± 0,7***	0,96± 0,05	61,4± 3,9*	58,8± 4,4*	1,86± 0,4*
Дослідна n=10 група M±m	39,55 ± 12,37	11,34 ± 0,12***	0,64 ± 0,1**	26,7 ± 6,08**	36,75 ± 6,43	0,72 ± 0,02*

Примітка * – P < 0,05; ** – P < 0,01; *** – P < 0,001 – порівняно з контрольною групою тварин

Водночас слід зазначити, що стан ренальної системи, особливо швидкість клубочкової фільтрації, характеризує інший продукт залишкового азоту – креатинін, який у хворих на парвовіроз собак становив $49,9 \pm 3,00$ мкмоль/л, а інфікованих коронавірусом – $48,8 \pm 27,15$ мкмоль/л, що нижче від фізіологічного ліміту. Отже, зниження цього показника, на нашу думку, пов'язано з виснаженням тварини і, як наслідок, зменшенням м'язової маси тіла тварин. Таким чином, проведені нами комплексні дослідження показали, що у собак, хворих на коронавірусний ентерит, характерними є зміни морфологічного складу крові. Так було виявлено еритропенію, зниження гематокритної величини, спостерігали незначне збільшення середньої

концентрації гемоглобіну в еритроциті, гіпопротеїнемію та гіпоальбумінемію, зниження білкового коефіцієнта і коефіцієнта де Рітиса (табл.3.4.3).

Таблиця 3.4.3

**Вміст сечовини і креатиніну в сироватці крові собак
за вірусних ентеритів**

Показники	Сечовина ммоль/л	Креатинін мкмоль/л
Lim	3,5-9,2	53-120
M±m	5,3±0,17	97±3,9
Дослідна n=288 група M±m	5,1±0,25	49,9±3,0***
Дослідна n=10 група M±m	4,2±0,41*	48,8±27,15

Примітка * – P < 0,05; ** – P < 0,01; *** – P < 0,001 – порівняно з контрольною групою тварин

За інтерпретації показників комплексних досліджень крові у собак, хворих на парвовірусний ентерит, визначені зміни морфологічного складу, а саме еритропенію, зниження гематокритної величини, спостерігали незначне збільшення вмісту гемоглобіну в одному еритроциті, гіпопротеїнемію та гіпоальбумінемію, збільшення коефіцієнта де Рітиса і активності АсАТ.

Результати підрозділу 3.4 висвітлені в наукових працях [219, 238, 240].

3.5. Морфологічні і біохімічні показники крові у собак за різних форм прояву парвовірозу

У собак парвовірусна інфекція може проявлятися у трьох формах: кишковій, кардіальній та змішаній. Остання є найбільш поширена і морфологічні показники за прояву хвороби дають можливість повною мірою

встановити специфічність патогенезу парвовірусної інфекції. Отже, для дослідження було сформовано 2 групи по 25 собак у кожній, тварин підбирали за схожістю віку і тяжкості розвитку хвороби з кишковою та кардіальною формою прояву парвовірусної інфекції. У собак були відібрані зразки крові для морфологічних і біохімічних досліджень.

У хворих собак за кишкової форми прояву (2 дослідна група) спостерігали зниження кількості еритроцитів – $5,1 \pm 0,4$ Т/л, а за кардіальної – (1 дослідна група) їх кількість знаходилася в межах фізіологічних коливань – $5,6 \pm 0,3$ Т/л, але на нижній її межі (табл. 3.5.1).

У хворих тварин другої групи визначали виражену лейкоцитопенію – $8,2 \pm 1,9$ Г/л, а в першій цей показник знаходився на нижньому рівні фізіологічного ліміту – $8,7 \pm 1,5$ Г/л. Визначено також рівень зниження кількості лімфоцитів – $11,8 \pm 1,4$ % у першій групі, а за кишкової форми він знаходився на межі мінімального ліміту – $21,2 \pm 5,5$ %. За парвовірусного ентериту у собак виявляли зсув лейкоцитарної формули вправо за рахунок зростання кількості сегментованих ядерних форм нейтрофілів – $79,3 \pm 3,4$ % у першій групі і $71,3 \pm 5,5$ % – другій відповідно. Збільшення вмісту моноцитів ($5,7 \pm 1,7$ %) виявляли у тварин першої групи. Швидкість осідання еритроцитів у крові собак, інфікованих збудником парвовірусного ентериту за кишкової форми прояву захворювання була вищою за норму – $12,8 \pm 7,1$ мм/год (табл. 3.5.1).

Біохімічні показники такі як показники концентрація гемоглобіну, вміст глюкози, сечовини й креатиніну в хворих тварин не виходили за межі фізіологічних коливань (табл. 3.5.2).

Еритроцитарні індекси, які свідчать про інтенсивність дозрівання еритроцитів та насичення їх гемоглобіном у кістковому мозку *MCH* (вміст гемоглобіну в одному еритроциті) – $24,9 \pm 1,1$ пг, *MCV* (середній об'єм еритроцитів) – $70,9 \pm 3,2$ fl і *MCHC* (середня концентрація гемоглобіну в еритроциті) – $35,2 \pm 8,3$ г/дл, у собак за кишкової форми прояву парвовірусного ентериту істотно не відрізнялись від діагностичного ліміту, що характерно для нормацитарної анемії.

Таблиця 3.5.1

**Морфологічні показники крові за кардіальної та кишкової форми
прояву парвовірусної інфекції у собак**

Показники		Lim M±m	Показники 1-а дослідна група n=25 група M±m	Показники 2-а дослідна група n=25 група M±m
Еритроцити, Г/л		5,5–8,5 6,1±0,38	5,6 ± 0,3	5,1 ± 0,4
Гематокритна величина, %		37,0–55,0 45,4±2,37	45,2 ± 2,3	42,6 ± 3,8
Тромбоцити, Г/л		150–500 252±19,7	352,4 ± 42,5*	376 ± 59,6
Лейкоцити, Г/л		8,5–10,5 9,4±0,5	8,7 ± 1,5	8,2 ± 1,9
Нейтрофіли, %	Ю	0	-	-
	П	1,0–6,0 1,7±0,22	5,4 ± 1,7*	3,4 ± 1,7
	С	40–71 58,5±1,42	79,3 ± 3,4***	71,3 ± 5,5*
Еозинофіли, %		2,0–9,0 1,8±0,26	3 ± 0,6	3,3 ± 0,5*
Моноцити, %		1,0–5,0 3±0,22	5,7 ± 1,7*	4,8 ± 1,5
Лімфоцити, %		21–40 35±1,32	11,8 ± 1,4***	21,2 ± 5,5*
ШОЕ, мм/год		2,0–5,0 4,4±0,45	4,1 ± 0,8	12,8 ± 4,1*

Примітка * – P < 0,05; ** – P < 0,01; *** – P < 0,001 – порівняно з контрольною групою тварин

Водночас за кардіальної форми прояву хвороби спостерігали збільшення показників еритроцитопоезу, а саме *MCH* – 26,8 ± 1,3 пг, *MCV* – 75,2 ± 3,4 fl *MCHC* – 35,6 ± 7,7г/дл., що вказує на макроцитарну анемію.

Показник рівня креатиніну у тварин першої групи знаходився на мінімальному фізіологічному рівні – $52,5 \pm 9,9$ мкмоль/л, а у тварин другої групи був значно нижчим від норми – $36,8 \pm 6,2$ мкмоль/л.

Таблиця 3.5.2

Біохімічні показники та індекси червоної крові за кардіальної та кишкової форми прояву парвовірусної інфекції у собак

Показники	Lim M±m	Показники 1-а дослідна група n=15 група M±m	Показники 2-а дослідна група n=15 група M±m
<i>MCH</i> , пг	22–26 23,6±1,57	26,8 ± 1,3	24,9 ± 1,1
<i>MCHC</i> , г/дл	32–36 33,9±1,42	35,6 ± 7,7	35,2 ± 8,3
<i>MCV</i> , fl	62–72 67,1±3,72	75,2 ± 3,4	70,9 ± 3,2
Гемоглобін, г/л	120–180 145±12,45	149,3 ± 8,6	132,1 ± 13,3
Загальний білок, г/л	51–78 71±1,81	48,9 ± 2,1***	50,6 ± 2,6***
Креатинін, мкмоль/л	53–120 97±3,9	52,5 ± 9,9***	36,8 ± 6,2***
Сечовина, ммоль/л	3,5–9,2 5,3±0,17	4,6 ± 0,3*	4,0 ± 0,43**
Глюкоза, ммоль/л	3,4–6 4,2±0,2	5,4 ± 0,4*	4,9 ± 0,4
АлАТ, од/л	9–75 46,6±3,3	60,7 ± 2,3***	182,5 ± 48***
АсАТ од/л	5–55 50,1±3,8	141,4 ± 22,3***	44,3 ± 2,8
Коефіцієнт Де Рітиса од/л	1,33–1,75 1,24±0,2	2,3 ± 0,4*	0,32 ± 0,05***

Примітка * – $P < 0,05$; ** – $P < 0,01$; *** – $P < 0,001$ – порівняно з контрольною групою тварин

Вміст загального білка за парвовірусного ентериту знижувався до $48,9 \pm 2,1$ г/л у собак першої групи і до $50,6 \pm 2,6$ г/л – другої.

Також у тварин першої дослідної групи спостерігали зростання активності АсАТ – $141,4 \pm 22,3$ од/л, а у тварин другої – активності АлАТ – $182,5 \pm 48$ од/л. У собак за парвовірусного ентериту виявлено збільшення коефіцієнта де Рітиса до $2,3 \pm 0,4$ од./л за кардіальної форми прояву і зменшення цього показника за кишкової форми прояву до $0,32 \pm 0,05$ од./л (див. табл. 3.5.2).

Таким чином проведені комплексні дослідження показали, що у собак, хворих на парвовірусну інфекцію, характерними є зміни морфологічних та біохімічних показників складу крові. Було встановлено незначні відхилення від фізіологічних лімітів залежно від форми прояву захворювання, а саме гіпоальбумінемію, гіпо- або гіперактивність АлАТ та АсАТ і показники коефіцієнта Де Рітиса, які в основному характеризують функціональний стан печінки та серця. За парвовірусної інфекції виявлено поліорганну недостатність з розвитком патологічної імуносупресії і гепаторенального синдрому.

Результати підрозділу 3.5 висвітлені в наукових працях [236].

3.6. Інтегральні гематологічні індекси інтоксикації у собак за ентеритів вірусної етіології

За результатами та під час інтерпретації показників лейкоцитопоезу, за ентеритів вірусної етіології, нами дано оцінку стану імунної системи організму собак та своєчасно виявлено розвиток ендогенної інтоксикації, що дало можливість нівелювати поліорганну дестабілізацію, оскільки скринінг загального аналізу не дозволяє отримати вище зазначену інформацію.

Морфологічні зміни крові за коронавірусного ентериту собак свідчать про патологічні та запальні процеси у кровотворних органах. У сукупності це зумовлює появу у крові токсичних продуктів (ендотоксинів), специфічними мішенями для яких є макрофаги, нейтрофільні лейкоцити тощо.

Було сформовано три дослідні групи: перша – п'ять собак, експериментально заражених коронавірусом, друга – 10 тварин, що були природно інфіковані, і третя група – десять клінічно здорових собак віком до року. Для вивчення рівня ендогенної інтоксикації в організмі собак за коронавірусного ентериту ми використовували показники периферичної крові. На їх основі були розраховані інтегральні індекси інтоксикації у собак за коронавірусної інфекції (табл. 3.6.1).

Таблиця 3.6.1.

Лейкоцитарна формула крові у собак за коронавірусного ентериту (M±m)

Показники		Контроль (n=10)	Інфіковані CCV природно (n=10)	Інфіковані CCV експеримен- тально (n=5)
ШОЕ, мм/год		4,4±0,45	7±1,41	2,6±0,45*
Лейкоцити, Г/л		9,4±0,15	4,6±0,98***	7,5±0,12***
Нейтрофіли, %	Ю	0	-	-
	П	1,7±0,22	4,3±0,23***	1,5±0,44
	С	58,5±1,42	67,6±0,45	69,4±5,77*
Еозинофіли, %		1,8±0,26	3,5±0,81	6,6±0,84***
Базофіли, %		0,4±0,21	1,4±0,12**	0,4±0,28
Лімфоцити, %		35±1,32	19,4±4,22**	24,2±0,74***
Моноцити, %		3±0,22	1,8±0,95	2,4±0,28

Примітка * – P < 0,05; ** – P < 0,01; *** – P < 0,001 – порівняно з контрольною групою тварин

У собак за експериментального відтворення коронавірусної інфекції було визначено достовірне збільшення еозинофілів (P<0,001) та сегментоядерних нейтрофілів (P<0,05), при цьому достовірне зменшення лейкоцитів (P<0,001),

лімфоцитів ($P < 0,001$) і ШОЕ ($P < 0,05$) щодо клінічно здорових собак. У групі тварин, природно інфікованих коронавірусом, виявляли лейкопенію ($P < 0,001$), лімфопенію ($P < 0,01$) та базофілію ($P < 0,01$) (див. табл. 3.6.1).

При цьому лейкоцитарний індекс інтоксикації у модифікації В. К. Островським зі співавт., 1983, достовірно збільшується у собак двох дослідних груп (у першій на $\sim 18\%$, другій – удвічі) стосовно тварин контрольної групи. Лейкоцитарний індекс інтоксикації на сьогодні є найбільш достеменним індексом, який кількісно відображає зсув лейкоцитарної формули у бік нейтрофілів. Референтна величина ЛІ коливається в межах $1,6 \pm 0,04$ ум. од. Збільшення цього показника за коронавірусного ентериту свідчить про зростання рівня ендогенної інтоксикації в організмі собак. Незважаючи на статистично достовірне збільшення ядерного індексу, за Г. Д. Даштаянцем (1978), у тварин першої групи на $\sim 50\%$, та статистично достовірне його зниження на $\sim 35\%$, у собак другої дослідної групи, також одержані цифрові показники вказують на задовільний стан організму в цілому у собак обох дослідних груп.

Показник реактивності організму, за Т. Ш. Хабиrowим (2000) у тварин другої дослідної групи достовірно збільшувався вдвічі ($P < 0,05$), що свідчить про компенсацію ендогенної інтоксикації, оскільки значення РВН до 2,5 ум. од. вказує на компенсацію ендогенної інтоксикації, 2,6-4,0 ум. од. – на субкомпенсацію, більше 4,0 ум. од. – на декомпенсацію. РВН є доступним, досить інформативним, більш чутливим і менш схильним до погрешностей індексом, ніж ЛІ, і дозволяє без інструментальних та лабораторних показників правильно вибрати та своєчасно скоригувати тактику лікування. Індекс зсуву лейкоцитів крові, за Н. І. Яблучанським (1983), є маркером реактивності організму у разі гострого запалення. Цей індекс не залежить від кількості лейкоцитів у крові. Індекс зсуву лейкоцитів крові більшою мірою відображає стан опірності організму на відміну від показника загальної кількості лейкоцитів та означає дестабілізацію імунореактивності і надходження в периферійну кров великої кількості «молодих» форм лейкоцитів. У собак за

коронавірусного ентериту ІЗЛК достовірно збільшувався у двох дослідних групах (у першій на ~ 20 % ($P < 0,001$), другій – удвічі ($P < 0,001$)), що свідчить про активний запальний процес в організмі і порушення імунологічної реактивності. Загальний індекс достовірно знижувався (у першій на ~ 25 % ($P < 0,001$), другій на ~ 60 % ($P < 0,001$)) у тварин за коронавірусного ентериту, що вказує на наявність у них інтоксикації. Лейкоцитарний індекс, який характеризує взаємозв'язок гуморального і клітинного імунітету, достовірно зменшувався (у першій на ~ 17 % ($P < 0,05$), другій – на ~ 60 % ($P < 0,001$)) у собак двох дослідних груп, що означає на домінування активації клітинної ланки системи імунітету. Показник інтоксикації у тварин за експериментального зараження достовірно знижувався на ~ 30 % ($P < 0,05$), а за спонтанного – достовірно зростав вдвічі ($P < 0,001$) (табл. 3.6.2).

Таблиця 3.6.2.

**Інтегральні гематологічні індекси інтоксикації у собак
за коронавірусного ентериту ($M \pm m$)**

Показники	Контроль (n=10)	Інфіковані ССV природно (n=10)	Інфіковані ССV експеримен- тально (n=5)
ЛШ	1,6±0,04	3,3±0,7*	1,9±0,08**
ЯІ	0,06±0,001	0,04±0,001***	0,09±0,003***
РВН	1,1±0,08	2,2±0,5*	0,8±0,05**
ІЗЛК	1,9±0,04	4±0,35***	2,3±0,06***
ЗІ	5,8±0,16	2,5 ±0,06***	4,3±0,12***
ЛІ	0,54±0,01	0,2±0,02***	0,45±0,03*
ПІ	0,05±0,005	0,1±0,001***	0,035±0,003*

Примітка * – $P < 0,05$; ** – $P < 0,01$; *** – $P < 0,001$ – порівняно з контрольною групою тварин

Відомо, що індекс співвідношення нейтрофілів і лімфоцитів, або індекс Кребса, відображає співвідношення неспецифічного і специфічного захисту організму. Цей показник, за результатами наших досліджень, достовірно збільшується (у першій на $\sim 15\%$ ($P < 0,001$), другій – вдвічі ($P < 0,001$)) у собак двох дослідних груп, що свідчить про перевагу неспецифічних захисних клітин. Індекс співвідношення нейтрофілів і моноцитів, який дозволяє судити про співвідношення компонентів мікро-макрофагальної системи, у тварин другої дослідної групи достовірно збільшувався на $\sim 40\%$ ($P < 0,05$), що вказує на переважання нейтрофільної реакції. Індекс співвідношення лімфоцитів і моноцитів, що відображає взаємовідношення афекторної й ефекторної ланок імунологічного процесу, достовірно зменшується у двох дослідних групах собак (у першій на $\sim 27\%$ ($P < 0,05$), другій на $\sim 38\%$ ($P < 0,05$)), що свідчить про порушення взаємодії ефекторних і афекторних ланок імунної відповіді, а саме – про дефіцит лейкоцитів (лейкопенія), що призводить до супресії кісткового мозку і, як наслідок, до пригнічення лейкоцитопоезу (див. табл. 3.6.3).

Індекс співвідношення лімфоцитів і еозинофілів достовірно знижувався у двох дослідних групах (у першій на $\sim 60\%$ ($P < 0,001$), в другій на $\sim 40\%$ ($P < 0,01$)), що вказує на домінування процесів гіперчутливості уповільненого типу. Індекс співвідношення еозинофілів до лейкоцитів за експериментального відтворення коронавірусного ентериту достовірно збільшувався вдвічі ($P < 0,001$), що характерно для запалення, блокаторами якого є еозинофіли (див. табл. 3.6.3).

Відомо, що лейкоцитарна формула є інтегральним показником балансу всіх гомеостатичних систем організму. Причиною лейкоцитарних перебудов часто є загальна мобілізація захисних механізмів організму, тому з часом її використовують для оцінки неспецифічної реакції адаптації. Адаптаційний показник визначали за методом Л. Х. Гаркаві зі співавт. (1998), який характеризує взаємовідношення гуморальної і клітинної ланок імунітету та дає можливість оцінити стресовий стан організму й адаптаційні реакції. Індекс Гаркаві можна розглядати як показник збалансування відповідної реакції клітин

крові на активний запальний процес. За коронавірусного ентериту у двох дослідних групах спостерігали достовірне зниження цього показника (у першій на $\sim 20\%$ ($P < 0,001$), другій – на $\sim 60\%$ ($P < 0,001$)). Зменшення ІГ є негативним моментом у разі запалення через наявність тенденції до незавершення імунних реакцій, як закономірне відображення присутньої лімфопенії. Цей тип реакції адаптації визначають як «стресовий». Згідно із результатами наших досліджень, індекс алергізації достовірно зменшувався за спонтанного інфікування коронавірусом на $\sim 60\%$ ($P < 0,001$), що свідчить про ослаблення чутливості організму тварини до чужорідних, здебільшого білкової природи, речовин. Крім того, ми визначали індекс імунореактивності, запропонований Д. О. Івановим зі співав. (2002), який відображає баланс лімфокінів і монокінів. Цей індекс може бути використаний для контролю за станом імунної системи. Зниження ІР за спонтанного інфікування коронавірусом на $\sim 40\%$ ($P < 0,01$), пов'язано зі зменшенням відносного вмісту лімфоцитів та вказує на нестачу блокаторів запалення. Отже, дезінтоксикація компонента у спектрі медіаторів означає несприятливу динаміку імунних реакцій. Розрахунок індексу імунореактивності за Шабаловим проводять для оцінки активності клітин-продуцентів цитокінів (лімфоцитів і еозинофілів). Дефіцит клітин одного із видів може відображати зсув у спектрі цитокінів і факторах детоксикації. За коронавірусного ентериту він достовірно знижувався на $\sim 40\%$ ($P < 0,01$) у собак при природному зараженні, що вказує на дефіцит цитокінів лімфоцитарного походження. Індекс співвідношення сегментоядерних та паличкоядерних нейтрофілів відображає морфофункціональний стан підшлункової залози і може характеризувати тяжкість гострого панкреатиту. Даний показник у собак за експериментального інфікування достовірно знижувався на $\sim 45\%$ ($P < 0,01$), що свідчить про гіпофункцію підшлункової залози, а за спонтанного – достовірно збільшувався на $\sim 30\%$ ($P < 0,05$), що характерно для розвитку панкреатиту (див. табл. 3.6.3).

**Інтегральні гематологічні індекси неспецифічної реактивності
у собак за коронавірусного ентериту ($M \pm m$)**

Показники	Контроль (n=10)	Інфіковані ССV природно (n=10)	Інфіковані ССV експеримен тально (n=5)
ІСНЛ	1,9±0,03	4,2±0,4***	2,2±0,05***
ІСНМ	30,1±3,1	42±4,1*	25,8±2,2
ІСЛМ	16,06±1,6	10±1,3*	11,8±1,1*
ІСЛЕ	9,3±1,03	6±0,2**	3,7±0,1***
ІСЕЛ	0,13±0,02	0,16±0,05	0,27±0,01***
ІГ	0,6±0,008	0,24±0,003***	0,48±0,004***
ІА	1,7±0,05	0,7±0,005***	1,8±0,07
ІР (Іванову)	17,8±1,6	11,6±0,9**	14,9±1,35
ІР (Шабалову)	39,8±4,2	23,15±2,5**	38,2±3,9
ІСНПН	34,4±3,1	44,3±3,5*	19,5±1,9**

Примітка * – $P < 0,05$; ** – $P < 0,01$; *** – $P < 0,001$ – порівняно з контрольною групою тварин

Індекс співвідношення лейкоцитів і ШОЕ був знижений у двох дослідних групах, що свідчить про інтоксикацію, пов'язану з інфекційним агентом. Лімфоцитарно-гранулоцитарний індекс у тварин першої та другої групи достовірно зменшувався (у першій на ~ 17 % ($P < 0,001$), другій – на ~ 65 % ($P < 0,001$)), що характерно для інтоксикації інфекційного генезу. Індекс співвідношення лімфоцитів і моноцитів до ШОЕ достовірно знижувався на ~ 80 % ($P < 0,001$) у собак за спонтанного інфікування коронавірусом, що пов'язано з нейтропенією (пригнічення імунної відповіді) і збільшенням ШОЕ (запальний процес) (табл. 3.6.4).

Діагностичні та прогностичні можливості розрахункових гематологічних лейкоцитарних індексів набувають нині все більшої значимості, оскільки певні поєднання показників крові відображають інтегральні характеристики гомеостатичній системі організму, яка формує неспецифічні адаптаційні реакції.

Для оцінки рівня ендогенної інтоксикації в організмі собак за парвовірусної інфекції використовували клінічні показники периферичної крові. На їх основі були розраховані інтегральні гематологічні індекси інтоксикації.

Таблиця 3.6.4.

**Інтегральні гематологічні індекси активності запалення у собак
за коронавірусного ентериту ($M \pm m$)**

Показники	Контроль (n=10)	Інфіковані CCV природно (n=10)	Інфіковані CCV експеримен- тально (n=5)
ІСЛШОЕ	0,5±0,22	0,32±0,01	0,2±0,01
ІЛГ	4,9±0,1	2,2±0,06***	4,1±0,1***
ІСЛМШОЕ	9,9±0,25	2,9±0,07***	11,8±1,1

Примітка * – $P < 0,05$; ** – $P < 0,01$; *** – $P < 0,001$ – порівняно з контрольною групою тварин

Аналізуючи показники лейкоцитарної формули у собак за парвовірусної інфекції (табл. 3.6.5), слід зазначити достовірне ($P < 0,05$) збільшення ШОЕ в усіх дослідних групах порівняно з показниками собак контрольної групи.

У хворих собак початкова стадія парвовірозу характеризувалась достовірним ($P < 0,01$) збільшенням лейкоцитів, другої і третьої групи – достовірним зменшення ($P < 0,001$) кількості лейкоцитів. Кількість нейтрофілів достовірно збільшувалась ($P < 0,01$) у собак першої групи та ($P < 0,001$) у тварин другої і третьої групи.

Лейкоцитарна формула крові у собак за парвовірусного ентериту ($M \pm m$)

Показники	Контрольна група тварин (клінічно здорові собаки) n=10	Дослідні групи тварин		
		Початок розвитку хвороби n=23	Пік розвитку хвороби n=16	термінальн а стадія хвороби n=18
ШОЕ, мм/год	4,4±0,45	8,1±1,3*	6,6±0,8*	8,3±1,7*
Лейкоцити, Г/л	9,4±0,15	14,5±1,5**	6,7±0,3***	3,8±0,3***
Нейтрофіли, %	Ю	-	-	-
	П	1,7±0,22	2,8±0,3**	5,3±0,8***
	С	58,5±1,42	76±1,9***	67,3±3,7**
Еозинофіли, %	1,8±0,26	2±0,2	3,3±0,6*	3,1±0,7
Базофіли, %	0,4±0,21	1,3±0,1***	2,3±0,2***	1,4±0,1***
Лімфоцити, %	35±1,32	15,7±1,8***	19,1±2,9***	24,7±3**
Моноцити, %	3,0±0,22	3,7±0,9	5,2±0,8**	5,1±1,2

Примітка * – $P < 0,05$; ** – $P < 0,01$; *** – $P < 0,001$ – порівняно з контрольною групою тварин

Стосовно кількості сегментоядерних нейтрофілів, то початок парвовірусної інфекції у собак характеризується достовірним ($P < 0,001$) зростанням цього показника. З розвитком хвороби у тварин кількість сегментоядерних нейтрофілів зменшувалась. Уміст еозинофілів достовірно збільшувався ($P < 0,05$) у собак другої дослідної групи, стосовно тварин інших груп також виявляли еозинофілію. Достовірну ($P < 0,001$) базофілію за парвовірусної інфекції спостерігали у собак всіх трьох дослідних груп, при тому кількість лімфоцитів

у собак першої і другої дослідних груп достовірно ($P < 0,01$) зменшувалась, як і у тварин третьої ($P < 0,001$). Кількість моноцитів у собак, інфікованих парвовірусом, у другій дослідній групі достовірно ($P < 0,001$) зростала (див. табл. 3.6.5).

Таблиця 3.6.6

**Інтегральні гематологічні індекси інтоксикації у собак
за парвовірусного ентериту ($M \pm m$)**

Показники	Контрольна група тварин (клінічно здорові собаки) n=10	Дослідні групи тварин		
		початок розвитку хвороби n=23	розвиток хвороби n=16	термінальна стадія хвороби n=18
ЛШ	1,6±0,04	3,6±0,4***	2,6±0,1***	1,9±0,07***
ЯІ	0,06±0,001	0,08±0,002***	0,16±0,07	0,2±0,04**
РВН	1,1±0,08	5,3±0,5***	4,2±0,3***	3,2±0,2***
ІЗЛК	1,9±0,04	4,3±0,4***	3,2±0,25***	2,3±0,1***
ЛІ	0,54±0,01	0,2±0,04***	0,3±0,07**	0,4±0,08
ПІ	0,05±0,005	0,43±0,04***	0,11±0,03	0,06±0,01

Примітка * – $P < 0,05$; ** – $P < 0,01$; *** – $P < 0,001$ – порівняно з контрольною групою тварин

Отже, стосовно інтегральних індексів інтоксикації у собак за парвовірусної інфекції (табл. 3.6.6) встановлено достовірне ($P < 0,001$) збільшення величини лейкоцитарного індексу інтоксикації, реактивної відповіді нейтрофілів та індексу зсуву лейкоцитів крові в усіх трьох дослідних групах щодо контрольної. Стосовно величини ядерного індексу встановлено достовірне його збільшення у першій дослідній групі ($P < 0,001$) і третій ($P < 0,01$) відповідно

порівняно з контролем. Величина показника інтоксикації достовірно збільшувалась ($P < 0,001$) у собак першої дослідної групи. За парвовірозу показник лейкоцитарного індексу достовірно знижувався в першій ($P < 0,001$) і другій ($P < 0,01$) дослідних групах (табл. 3.6.6).

Таблиця 3.6.7

**Інтегральні гематологічні індекси неспецифічної реактивності у собак
за парвовірусного ентериту ($M \pm m$)**

Показники	Контрольна група тварин (клінічно здорові собаки) n=10	Дослідні групи тварин		
		Початок розвитку хвороби n=23	Розвиток хвороби n=16	термінальна стадія хвороби n=18
ІСНЛ	1,9±0,03	5,2±0,4***	3,8±0,2***	2,5±0,09***
ІСНМ	30,1±3,1	21,4±1,7*	13,3±0,9***	12,2±0,75***
ІСЛМ	16,06±1,6	2,7±0,2***	3,5±0,3***	4,8±0,5***
ІСЛЕ	9,3±1,03	7,9±0,7	6,1±0,6*	8,1±0,8
ІСЕЛ	0,13±0,02	0,13±0,01	0,2±0,05	0,1±0,01
ІГ	0,6±0,008	0,2±0,004***	0,3±0,007***	0,4±0,009***
ІА	1,7±0,05	0,5±0,03***	0,7±0,09***	0,9±0,1***
ІР (за Івановим)	17,8±1,6	4,7±0,9***	4,0±1,0***	5,4±1,1***
ІР (за Шабаловим)	39,8±4,2	21,4±1,2***	30,2±1,7*	32,9±2,1
ІСНПН	34,4±3,1	27,8±1,9	13±2,1***	10,7±2,2***

Примітка * – $P < 0,05$; ** – $P < 0,01$; *** – $P < 0,001$ – порівняно з контрольною групою тварин

У процесі інтерпретації інтегральних гематологічних індексів неспецифічної реактивності у собак за парвовірусної інфекції (див. табл. 3.6.7) достовірно збільшуються ($P < 0,001$) тільки величина індексу співвідношення нейтрофілів і лімфоцитів (індекс Кребса) та достовірно знижуються ($P < 0,001$) такі показники: індекс Гаркаві, індекс співвідношення лімфоцитів і моноцитів, індекс алергізації, індекс імунореактивності за Івановим, індекс співвідношення нейтрофілів і моноцитів та індекс співвідношення сегментоядерних нейтрофілів і паличкоядерних нейтрофілів у собак другої й третьої дослідних груп. Стосовно індексу імунореактивності за Шабаловим, то у тварин першої групи показник достовірно ($P < 0,001$), а другої – ($P < 0,05$) зменшувався.

Таблиця 3.6.8

**Інтегральні гематологічні індекси активності запалення у собак
за парвовірусного ентериту ($M \pm m$)**

Показники	Контрольна група тварин (клінічно здорові собаки) n=10	Дослідні групи тварин		
		початок розвитку хвороби n=23	розвиток хвороби n=16	термінальна стадія хвороби n=18
ІСЛШОЕ	0,5±0,22	1,2±0,3	0,4±0,05	0,3±0,01
ІЛГ	4,9±0,1	1,9±0,2***	2,4±0,25***	3,7±0,4**
ІСЛМШОЕ	9,9±0,25	2,4±0,3***	3,9±0,4***	3,6±0,3***
ЗІ	5,8±0,16	3,1±0,3***	2,84±0,2***	4,0±0,35***

Примітка * – $P < 0,05$; ** – $P < 0,01$; *** – $P < 0,001$ – порівняно з контрольною групою тварин

Щодо інтегральних гематологічних індексів активності запалення у собак за парвовірусного ентериту встановлено достовірне ($P < 0,001$) зменшення

показників індекс-співвідношення лейкоцитів і моноцитів до ШОЕ, загального індексу та лімфоцитарно-гранулоцитарного індексу у собак першої і другої дослідних груп (див. табл. 3.6.8).

Результати підрозділу 3.6 висвітлені в наукових працях [59, 241, 242].

3.7. Показники імунітету у собак за ентеритів вірусної етіології

Імунна система виконує важливу функцію щодо збереження стабільності внутрішнього середовища організму, здійснюючи розпізнавання та елімінацію чужорідних речовин антигенної природи.

Головну роль в імунних реакціях відіграють Т – лімфоцити, які за рахунок клітинних рецепторів ідентифікують антиген (рис. 3.7.1). Можливо завдяки цьому їх часто називають антигенреактивними або імунокомпетентними клітинами. Нами було вивчено показники клітинного імунітету у собак, які природно хворіли на парвовірусну та коронавірусну інфекцію (табл. 3.7.1). Отримані гематологічні показники хворих собак порівнювали з такими ж у клінічно здорових та визначали ступінь достовірності, характерний для ентеритів вірусної етіології.

Наведені дані щодо показників клітинного імунітету у собак свідчать про імуносупресію за ентеритів вірусної етіології. Так, встановлено достовірне зниження кількості Т- лімфоцитів за ПВЕ – ($P < 0,001$) – на $\sim 37\%$, а за КВЕ – ($P < 0,01$) на $\sim 15\%$ відповідно. Зниження цього показника може означати порушення у клітинній ланці імунітету, а враховуючи різноманіття функцій, які виконують Т- лімфоцити в межах реалізації імунної відповіді, може бути пов'язане з існуванням різних їх субпопуляцій. Т- хелпери (теофілін резистентні) активують і стимулюють В – лімфоцити до процесу синтезу антитіл. За нашими даними кількість Т- хелперів достовірно ($P < 0,001$) знижувалась у двох дослідних групах: у першій на $\sim 55\%$, другій \sim на 30% , що свідчить про затяжний інфекційний процес.

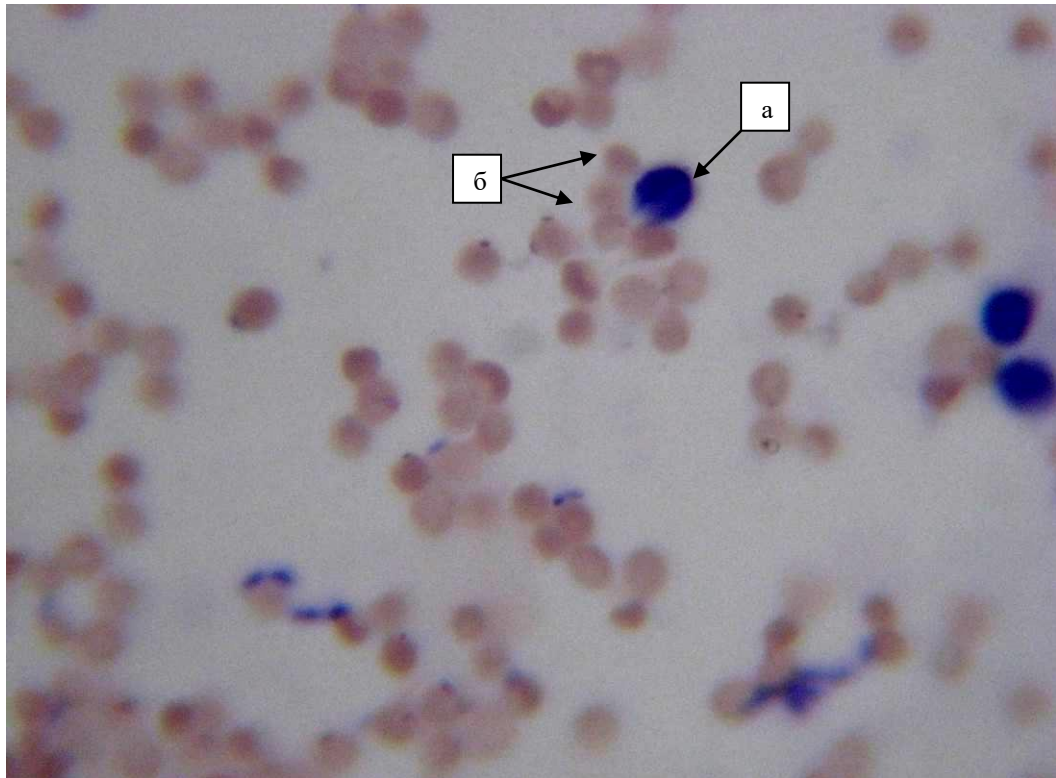


Рис. 3.7.1 Т – лімфоцити крові клінічно здорових собак: а – лімфоцит, б – еритроцити (за Романовським – Гімзою. $\times 1000$).

Т- супресори (теофілінзалежні) – це клітини регуляторного гальмування. Специфічні Т- супресори пригнічують імунну відповідь на певний антиген, а неспецифічні незалежно регулюють клітинну проліферацію. Від функціонального стану Т- супресорів і їх кількості у периферичній крові залежить розвиток аутоімунних, імунодефіцитних, алергічних та бластоматозних процесів. Кількість Т- супресорів достовірно знижувалась у тварин двох дослідних груп: ($P < 0,001$) на $\sim 40\%$ – у тварин за парвовірозу та ($P < 0,01$) на $\sim 30\%$ – за коронавірусної інфекції (див. табл. 3.7.1).

Імунорегуляторний індекс – співвідношення Т- хелперів і Т-супресорів . Для нормальної імунної відповіді на 2 – 3 хелперних клітини має бути одна супресорна, у результаті чого референтне значення становить від 1,5 до 2,5. У тварин дослідних груп цей показник за парвовірозу був на $\sim 25\%$ нижчим від показника у клінічно здорових собак, а за коронавірусної інфекції – даний показник був в межах референтних показників (див. табл. 3.7.1).

Показники клітинного імунітету у собак за ПВЕ та КВЕ

Показники	Контрольна група (клінічно здорові собаки) n=10	Дослідні групи	
		Перша група (хворі на ПВЕ) n=6	Друга група (хворі КВЕ) n=6
T – лімфоцити %	40,1±0,9	25,6±0,6***	34,2±1,4**
T – хелпери %	29,6±1,1	13±0,4***	20,4±0,9***
T – супресори %	18,4±1,3	10,4±0,6***	12,6±0,8**
Індекс X/C	1,7±0,3	1,26±0,07	1,7±0,4
B – лімфоцити %	16,0±0,7	11,8±0,9**	10,2±0,9***

Примітка * – $P < 0,05$; ** – $P < 0,01$; *** – $P < 0,001$ – порівняно з контрольною групою тварин

Основними антиген-презентуючими клітинами є В-лімфоцити (рис. 3.7.2) кількість яких у тварин першої групи достовірно ($P < 0,001$) на ~ 25 % знижувалась, і на ($P < 0,001$) – 35 % у тварин другої дослідної групи.

За ентеритів вірусної етіології виявляють чітко виражені порушення імунного гомеостазу у вигляді Т-лімфопенії, явного зниження функціональної активності Т-клітин, зменшення кількості циркулюючих Т-хелперів ($P < 0,001$), які відіграють важливу роль на початку хвороби, саме вони активізують клітинні та гуморальні реакції організму. Тому і кількість Т-супресорів, які

координують кількість і функції субпопуляцій імунокомпетентних клітин, була нижчою від норми на 30 – 40 % (табл. 3.7.1).

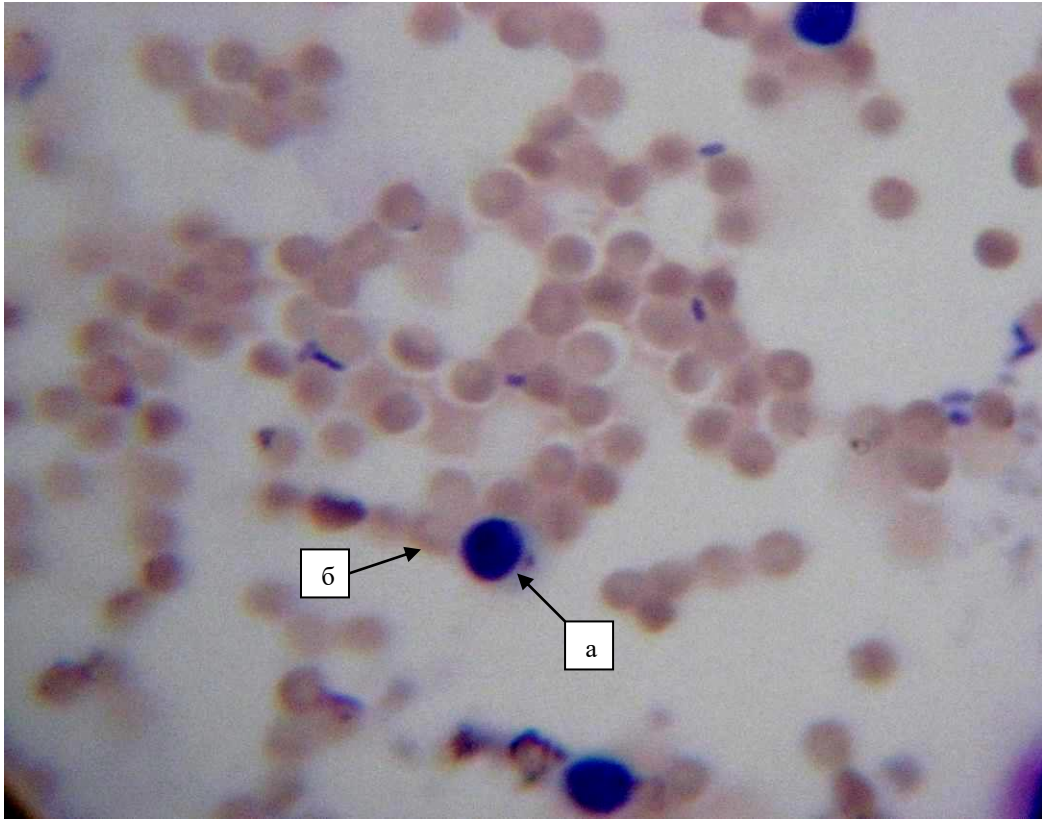


Рис. 3.7.2 В – лімфоцити крові клінічно здорових собак: а – лімфоцит, б – еритроцити (за Романовським –Гімзою. $\times 1000$).

ВИСНОВКИ ДО РОЗДІЛУ 3

Статистичні моніторингові дослідження свідчать про полігамність збудників, здатних спричинювати хвороби у собак зі специфічним симптомокомплексом – геморагічна діарея.

Отже, у собак з розладами шлунково-кишкового тракту була встановлена причина незаразної етіології у 13 %, а заразної – у 87 % дослідних тварини. У свою чергу на частину інфекційних хвороб припадає 63 %, і найпоширенішими хворобами є вірусний гепатит, сальмонельоз та парвовірусний ентерит. Інфікування збудником паразитарної етіології виявлено у 37 % собак, а основним захворюванням є лямбліоз.

Детальний епізоотологічний аналіз за 2007 – 2015 роки проведено за парвокорона- та ротавірусних інфекцій у собак. Встановлено, що найбільш розповсюдженим ентеритом вірусної етіології за визначений проміжок часу був парвовірус (51,6 %), слід зазначити значну інфікованість ротавірусом (23,5 %) та коронавірусом (18,5 %) у собак з геморагічним ентеритом.

Вищезгадані ентерити вірусної етіології характеризуються незначно вираженою весняно-літньою сезонністю, за вікової схильності цуценят від 6 до 12 місяців, з другим менш вираженим піком у 5 – 6 років. Стосовно яскраво вираженої породної чутливості, то нами такий факт не був підтверджений, однак слід зазначити більшу схильність собаки таких порід, як Ротвейлер та Тер'єри.

Значну інформативність про патогенний вплив інфекційного агента на макроорганізм здатний надати аналіз морфологічних показників крові.

За проведених комплексних досліджень у собак інфікованих ентеритами вірусної етіології, встановлено: за парвовірусного ентериту – еритропенію на 10 %, зниження гематокритної величини на 2,5 %; а за коронавірусного ентериту – еритропенію на 6 % і зниження гематокритної величини на 15 % відповідно. При цьому показники еритроцитопоезу: середня концентрація

гемоглобіну в еритроциті (*МСНС*) і середній об'єм еритроцитів (*МСV*) були в межах норми, але на піковому його значенні; щодо вмісту гемоглобіну у одному еритроциті (*МСН*), то цей показник на 5 % був вищим за ліміту у разі парвовірусного ентериту. За коронавірусного ентериту *МСН* і *МСV* знаходилися в межах норми, а *МСНС* – на 5 % вище за норму.

Показники функціонального стану печінки у собак за ентеритів вірусної етіології були наступними: за парвовірусного зниження вмісту білка на 7 %, альбумінів на 35 %, підвищення активності АсАТ на 12 % і збільшення коефіцієнта де Рітиса на 7 %. За коронавірусного ентериту встановлено зниження вмісту білка на 22,5 %, альбумінів на 64 % і зниження показників білкового коефіцієнта на 10 %. Також відзначали у досліджуваних групах зниження вмісту креатиніну за парвовірусного ентериту на 6 %, а за коронавірусного – на 8 %.

Було з'ясовано морфологічні показники крові у собак за кардіальної та кишкової форми парвовірусної інфекції і встановлено незначні відхилення від фізіологічних лімітів залежно від форми прояву захворювання, а саме гіпоальбумінемія, гіпо- або гіперактивність АлАТ та АсАТ і показники коефіцієнта Де Рітиса, які в основному характеризують функціональний стан печінки та серця. За парвовірусної інфекції встановлено поліорганну недостатність з розвитком патологічної імуносупресії і гепаторенального синдрому.

За ентеритів вірусної етіології спостерігають складний патогенез, який характеризується запальними процесами, гемолізом еритроцитів, розвитком анемії, виснаженням і зниженням м'язової маси. У деяких випадках виявлено гепатопатію і порушення у серцево-судинній системі.

Інтегральні гематологічні індекси за ентеритів вірусної етіології у собак дозволяють кількісно та своєчасно оцінити стан імунної системи організму хворих собак, чого неможливо достатньо повно й об'єктивно виконати за результатами загального аналізу крові.

Парвовірусний та коронавірусний ентерит у собак супроводжується ендогенною інтоксикацією, ступінь якої можна встановити на основі розрахунку інтегральних гематологічних індексів. Рівень ендогенної інтоксикації був більш виражений у собак за спонтанного інфікування коронавірусним ентеритом.

Більшість показників інтегральних індексів інтоксикації у собак, за спонтанного перебігу коронавірусного ентериту, були вищими, аніж за експериментального відтворення хвороби. Більш виражена неспецифічна реактивність організму собак за КВЕ була у тварин за спонтанного перехворювання. За експериментального відтворення коронавірусного ентериту у собак більш вираженими були показники індексів активності запалення.

Запалення є універсальна генетично запрограмована реакція організму на патологічний вплив різного генезу, тому більшість хвороб тварин супроводжується його розвитком. Біологічна роль запалення полягає у концентрації фагоцитів у зоні перебування інфекційного агента та ліквідації останнього задля стабілізації фізіологічних процесів у макроорганізмі, а одним з маркерів цього є показники лейкоцитопоезу.

Встановлено, що парвовірусна інфекція розвивається стадійно, звідки і фіксували різнотипні зміни з боку макрофагів крові, так виявляли їх пригнічення у вигляді лейкопенії та зменшення кількості паличкоядерних нейтрофілів. При цьому за ПВЕ стадійно встановлено розвиток лімфоцитозу, моноцитозу та еозинофілії.

Аналізуючи показники гематологічних індексів інтоксикації у собак за парвовірусного ентериту можна стверджувати про тяжкий перебіг зі слабо вираженою реактивністю та пригніченням імунної відповіді до критичних меж у термінальну стадію. У свою чергу, індекси неспецифічної реактивності показники яких здебільшого були меншими від норми, свідчать про тяжкий ступінь ендогенної інтоксикації навіть з ефектом супресії кісткового мозку.

Показники індексів активності запалення у собак за парвовірусного ентериту вказують на пригнічення імунної відповіді організму та розвиток запального процесу.

За ентеритів вірусної етіології виявляють чітко виражені порушення імунного гомеостазу у вигляді Т-лімфопенії, наявного зниження функціональної активності Т-клітин, зменшення кількості циркулюючих Т-хелперів, які відіграють важливу роль на початку хвороби, саме вони активізують клітинні та гуморальні реакції організму.

РОЗДІЛ 4. ПАТОМОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ У СОБАК ЗА КИШКОВОЇ ФОРМИ ПАРВОВІРУСНОЇ ІНФЕКЦІЇ

4.1. Макроскопічні зміни у собак за спонтанної кишкової форми парвовірусної інфекції

Під час проведення патологоанатомічного розтину собак, що загинули від кишкової форми парвовірусної інфекції, нами було встановлено, що макроскопічні зміни в усіх випадках за своїм характером у цілому були однаковими, хоча й мали незначні індивідуальні особливості щодо ступеня їх прояву.

Під час зовнішнього огляду трупів виявляли погану вгодованість, матову, скуйовджену шерсть та сухувату шкіру, яка в ділянці анального отвору, кореня хвоста і задньої поверхні стегон була забруднена фекаліями коричневатого кольору.

У тварин, в яких від початку діареї до загибелі пройшло 4 доби та більше, очі зазвичай були запалими, видимі слизові оболонки – синюшними, а в собак, які загинули невдовзі після виникнення діареї, кон'юнктива була сухувата.

Макроскопічні зміни в усіх досліджених соматичних і вісцеральних *л і м ф о в у з л а х* були подібними: збільшені, капсула напружена, мікроскопічна будова виразна на розрізі підвищеної вологості, паренхіма випиналася. Ззовні й на розрізі вони мали нерівномірний червонуватий чи рожевий колір. Поряд з цим виявляли ділянки різних розмірів і форми, які мали сірувато-білий колір. Тимус був в'ялий, набряклий, з численними крапковими крововиливами.

У 3-х собак, що загинули від кишкової форми парвовірусної інфекції, під серозною оболонкою шлунка виявлялися смугасті крововиливи (рис. 4.1.1). Слизова оболонка шлунка та його вміст у 11 собак були забарвлені у жовтий чи жовтувато-зелений колір (рис. 4.1.2), що свідчило про прижиттєве закидання вмісту дванадцятипалої кишки з великою кількістю жовчі антиперистальтичними рухами в шлунок (дуодено-гастральний рефлюкс).

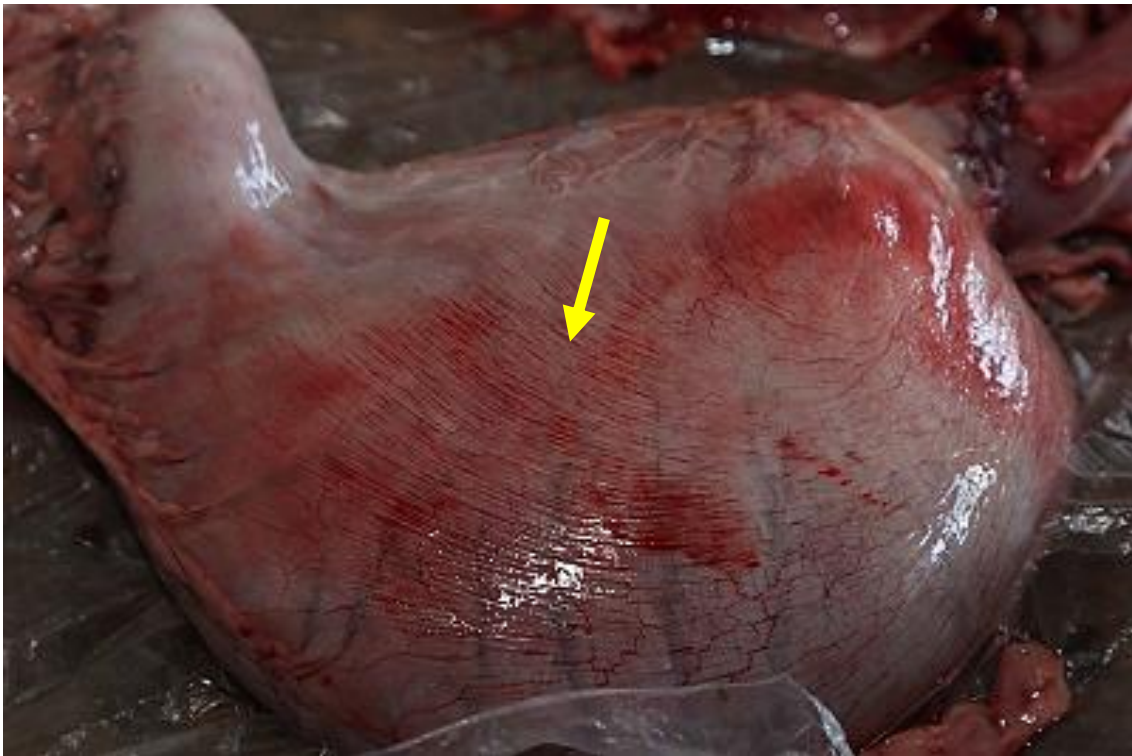


Рис. 4.1.1. Шлунок собаки, що загнула від спонтанної кишкової форми парвовірусної інфекції: смугасті крововиливи під серозну оболонку (показано стрілкою).



Рис. 4.1.2. Шлунок собаки, що загнула від спонтанної кишкової форми парвовірусної інфекції: 1 – незмінена слизова оболонка; 2 – жовтуватий колір умісту та слизової оболонки.

Також необхідно зазначити, що в жодному з випадків макроскопічні ознаки гастриту під час проведення патологоанатомічного розтину нами не виявлені. Проте, найбільш виразні зміни були нами встановлені в тонкій кишці. Ззовні її стінка була нерівномірно гіперемійована, під серозною оболонкою на більш гіперемійованих ділянках виявляли дрібні крововиливи (рис. 4.1.3). У кількох собак (4 випадки) окремі сегменти цього відділу шлунково-кишкового тракту були розтягнуті рідким вмістом. У просвіті тонкої кишки виявляли більш чи менш тягучу, внаслідок наявності домішок слизу, рідину червонуватого кольору. Стінка тонкої кишки була дещо потовщена (рис. 4.1.4).

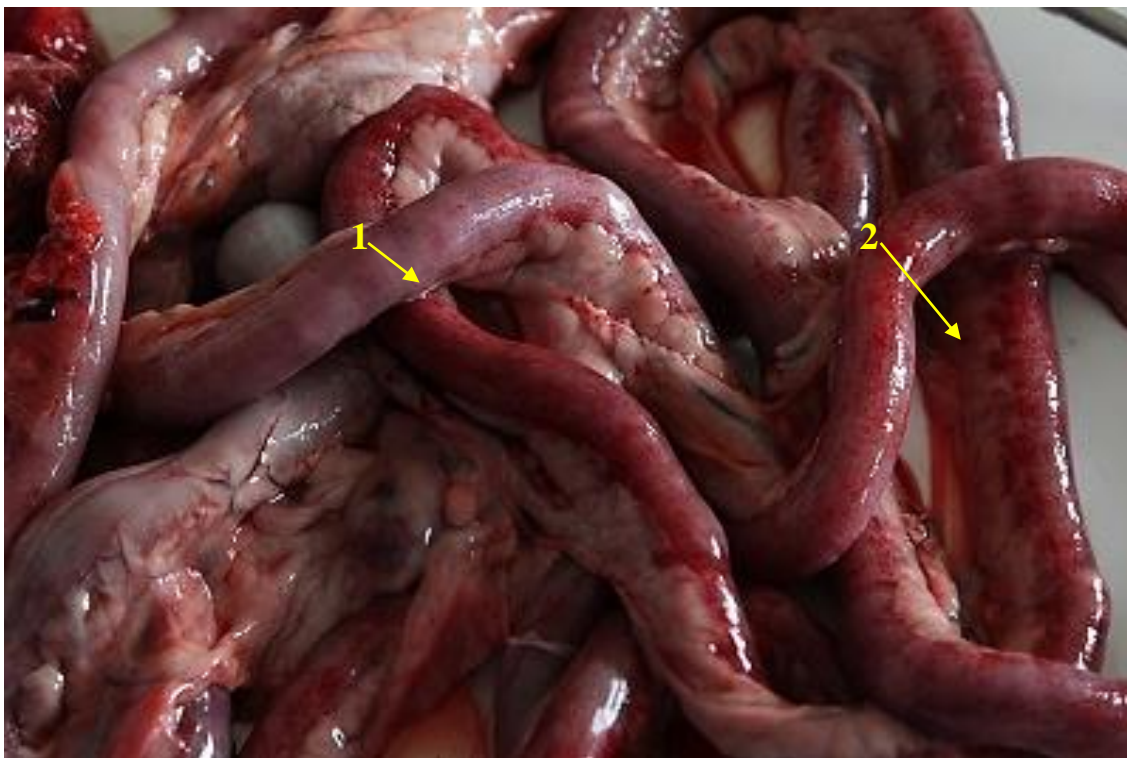


Рис. 4.1.3. Тонка кишка собаки, що загнула від спонтанної кишкової форми парвовірусної інфекції: 1 – гіперемія стінки; 2 – дрібні крововиливи під серозну оболонку.

Слизова оболонка тонкої кишки почервоніла, тьмяна, набрякла, вкрита слизом такого ж кольору, що й уміст тонкої кишки, з дрібними, зазвичай крапковими, крововиливами (див. рис. 4.1.4). Кровоносні судини брижі тонкої кишки виразно розширені, переповнені кров'ю, а лімфатичні – виразно розширені, переповнені лімфою.

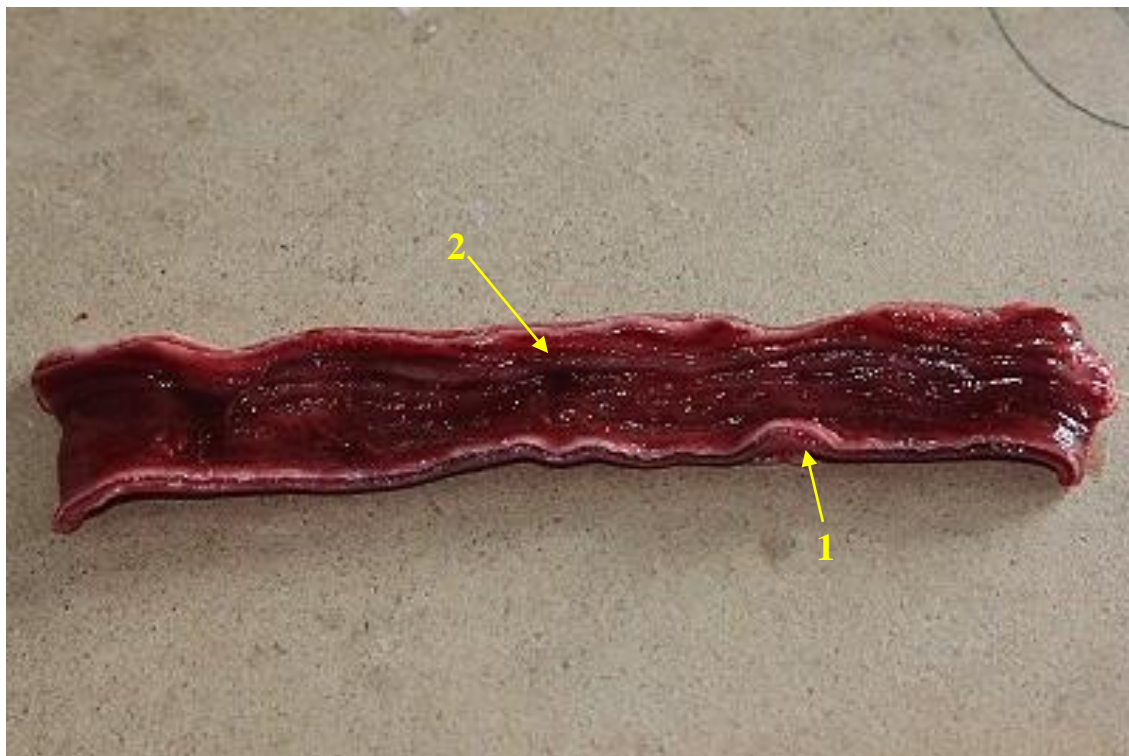


Рис. 4.1.4. Порожня кишка собаки, що загнула від спонтанної кишкової форми парвовірусної інфекції: 1 – потовщення стінки; 2 – гіперемійована, набрякла слизова оболонка.

У товстій кишці макроскопічних змін в жодному випадку встановлено не було. Проте у просвіті цього відділу шлунково-кишкового тракту знаходили рідину червонуватого кольору.

Печінка була збільшена, темно-червоного кольору, з поверхні розрізу виділялася темно-червона кров. Жовчний міхур зазвичай був розтягнутий жовтувато-зеленою розрідженою жовчю, нерідко з пластівцями білуватого кольору (рис. 4.1.5).



Рис. 4.1.5. Печінка собаки, що загинула від спонтанної кишкової форми парвовірусної інфекції: 1 – темно-червоний колір печінки; 2 – розтягнутий жовчю жовчний міхур.

Підшлункова залоза в усіх собак була повністю чи місцями рожевуватого чи червонуватого кольору. Її кровоносні судини розширені, переповнені кров'ю. Іноді спостерігали крапкові крововиливи у паренхіму.

У селезінці під час проведення патологоанатомічного розтину макроскопічні зміни виявлені не були, за винятком того, що орган був дещо зменшеним, внаслідок чого його капсула злегка поморщена (рис. 4.1.6). Зскрібок із поверхні розрізу був помірним.

Нирки з поверхні зазвичай мали синюшний чи темно-червоний відтінок. На розрізі межа між кірковою і мозковою речовинами була відсутня або ж погано диференціювалася. Мозкова речовина була застійно гіперемійована (рис. 4.1.7).



Рис. 4.1.6. Селезінка собаки, що загнулася від спонтанної кишкової форми парвовірусної інфекції: дещо поморщена капсула (показано стрілкою).

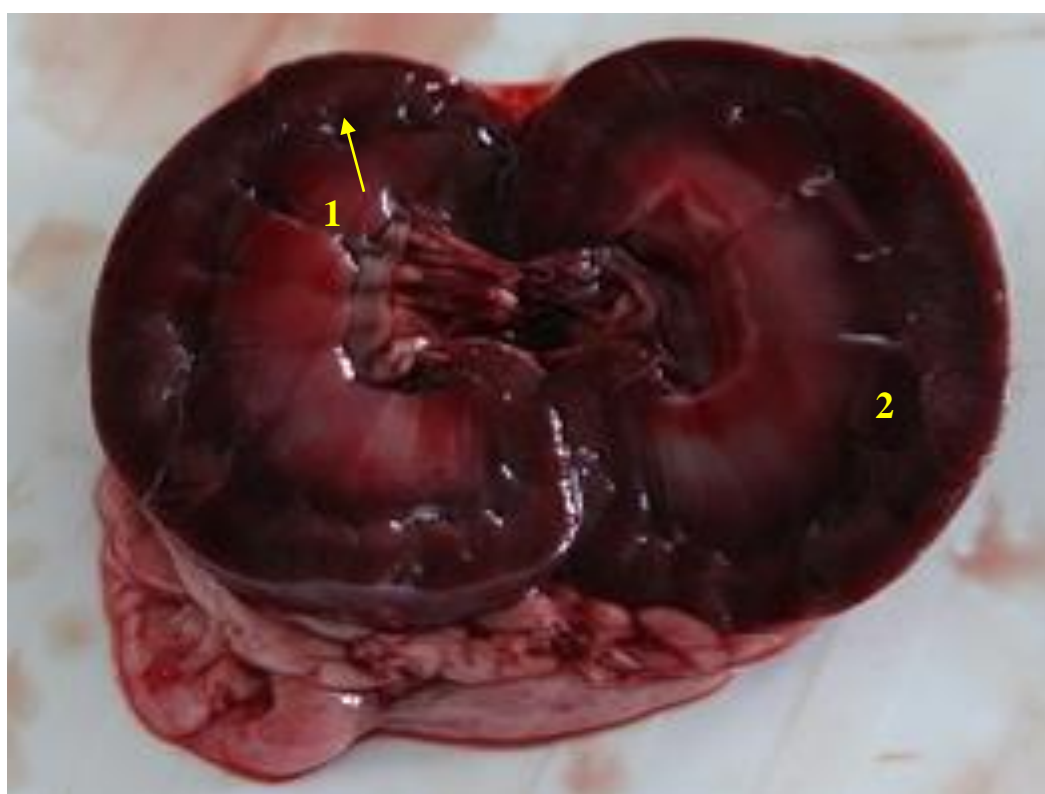


Рис. 4.1.7. Нирка собаки, що загнулася від спонтанної кишкової форми парвовірусної інфекції: 1 – згладжена границя між кірковою й мозковою речовинами; 2 – застійна гіперемія мозкової речовини.

С е р ц е в усіх досліджених тварин мало округлу форму за рахунок виразного розширення правого шлуночка, рідше – всієї правої половини органа.

Серцевий м'яз був в'ялий, нерівномірно забарвлений – з ділянками сіруватого кольору, на яких м'язова тканина органу нагадувала ошпарене м'ясо.

Легені мали тістувату консистенцію, більш-менш рівномірне рожеве забарвлення (рис. 4.1.8). Консистенція органа була тістоподібною (ямка у разі натисканні вирівнювалась повільно, або ж взагалі не вирівнювалась). Шматочки легень у воді плавали важко. З поверхні розрізу виділялась піниста рідина червонуватого кольору. Така ж рідина знаходилась у просвіті трахеї та великих бронхів.

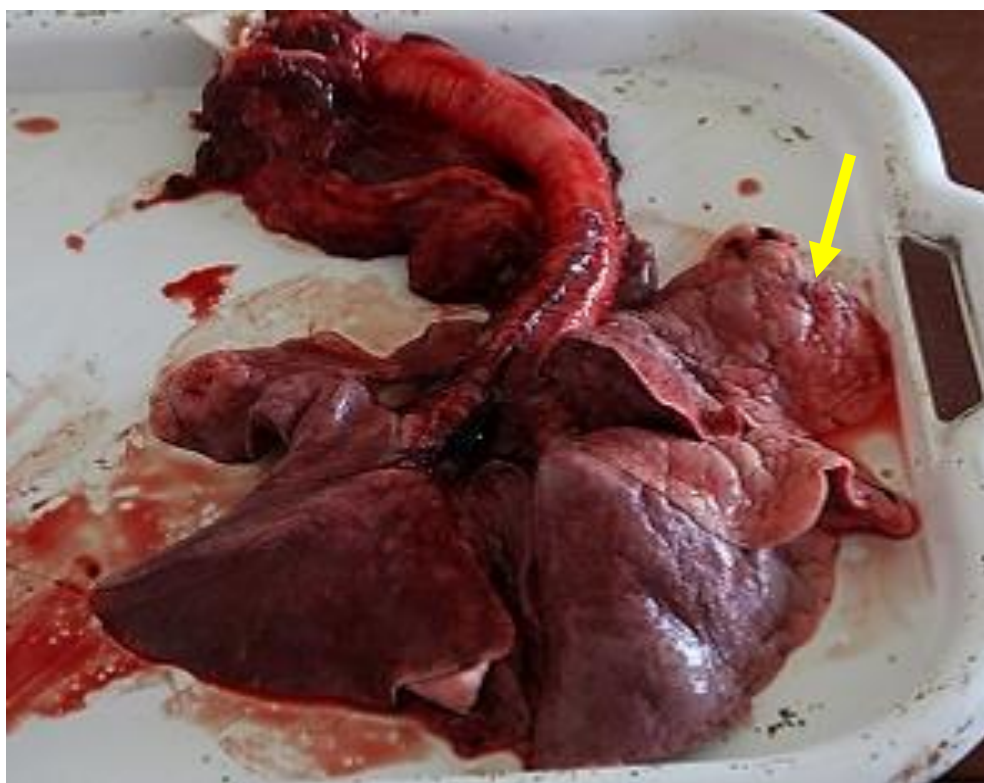


Рис. 4.1.8. Легені собаки, що загинула від спонтанної кишкової форми парвовірусної інфекції: рожевий колір частки (показано стрілкою).

Судини головного та спинного мозку і їх оболонки були виразно розширені, переповнені кров'ю. В інших органах і тканинах макроскопічні патологоанатомічних змін встановлено не було.

Результати підрозділу 4.1 висвітлені в наукових працях [154, 220, 245, 253].

4.2. Мікроскопічні зміни у собак за спонтанної кишкової форми парвовірусної інфекції

4.2.1. Мікроскопічні зміни у шлунково-кишковому тракті

Під час проведення гістологічних досліджень мікроскопічна будова слизової оболонки кардіальної, фундальної, пілоричної та беззалозистої частин шлунка в цілому була аналогічна такій як у контрольних тварин (рис. 4.2.1). Проте у деяких тварин у шлункових ямочках виявляли скупчення еритроцитів.

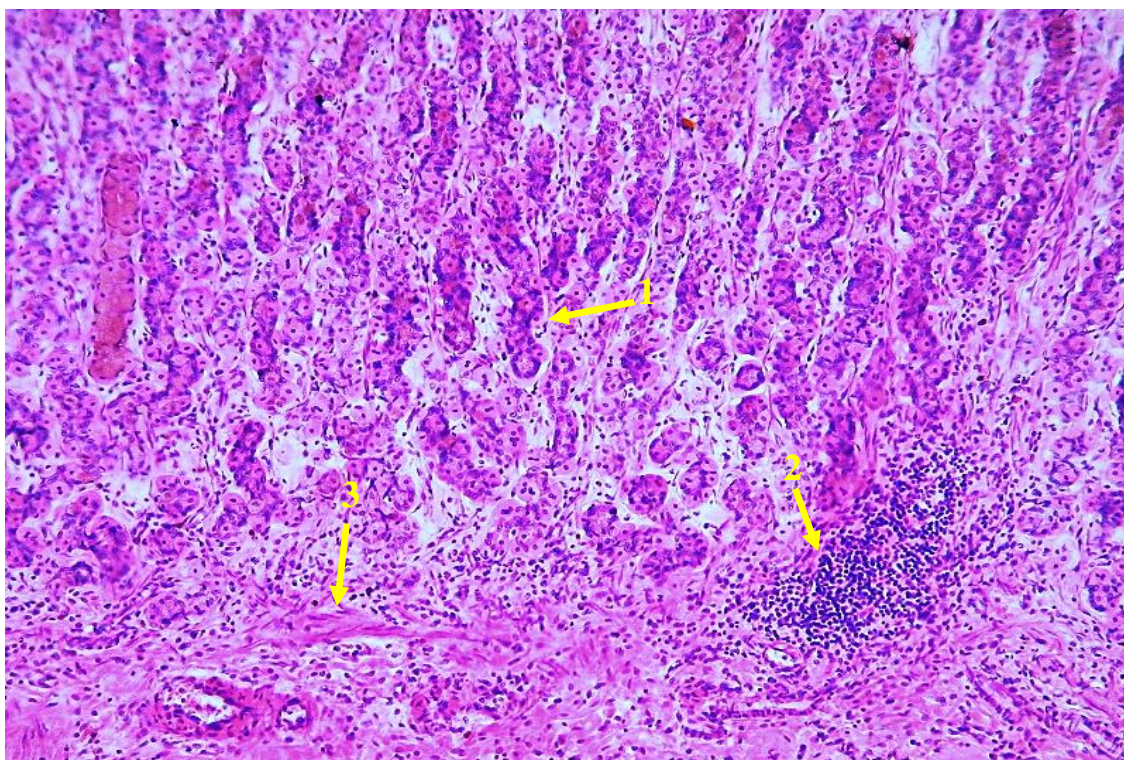


Рис. 4.2.1. Фундальна частина шлунка собаки, що загинула від спонтанної кишкової форми парвовірусної інфекції: 1 – шлункова ямочка; 2 – лімфоїдний вузлик; 3 – м'язова пластинка слизової оболонки. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 100$.

При цьому, враховуючи відсутність клітинної інфільтрації слизової оболонки, в тому числі й еритроцитами, відсутність крововиливів у слизову оболонку шлунка та відсутність пошкодження епітелію шлункових ямочок, можна зробити висновок, що еритроцити, найвірогідніше, потрапляли в просвіт шлунка з просвіту тонкої кишки під час антиперистальтичних рухів (дуодено-гастральний рефлюкс). Наявність останнього у хворих на кишкову форму

парвовірусної інфекції собак підтверджується клінічними проявами хвороби (блювання) та макроскопічними змінами (зафарбовування вмісту шлунка деяких тварин жовцю).

У фундальній частині шлунка цитоплазма значної кількості шийкових слизових клітин шлункових ямочок була переповнена ацидофільним білковим секретом настільки, що апікальна частина цитоплазми цих клітин випиналася у просвіт шлункових ямочок (рис. 4.2.2). Такі мікроскопічні зміни свідчили про гіперсекрецію слизу у шлунку хворих собак.

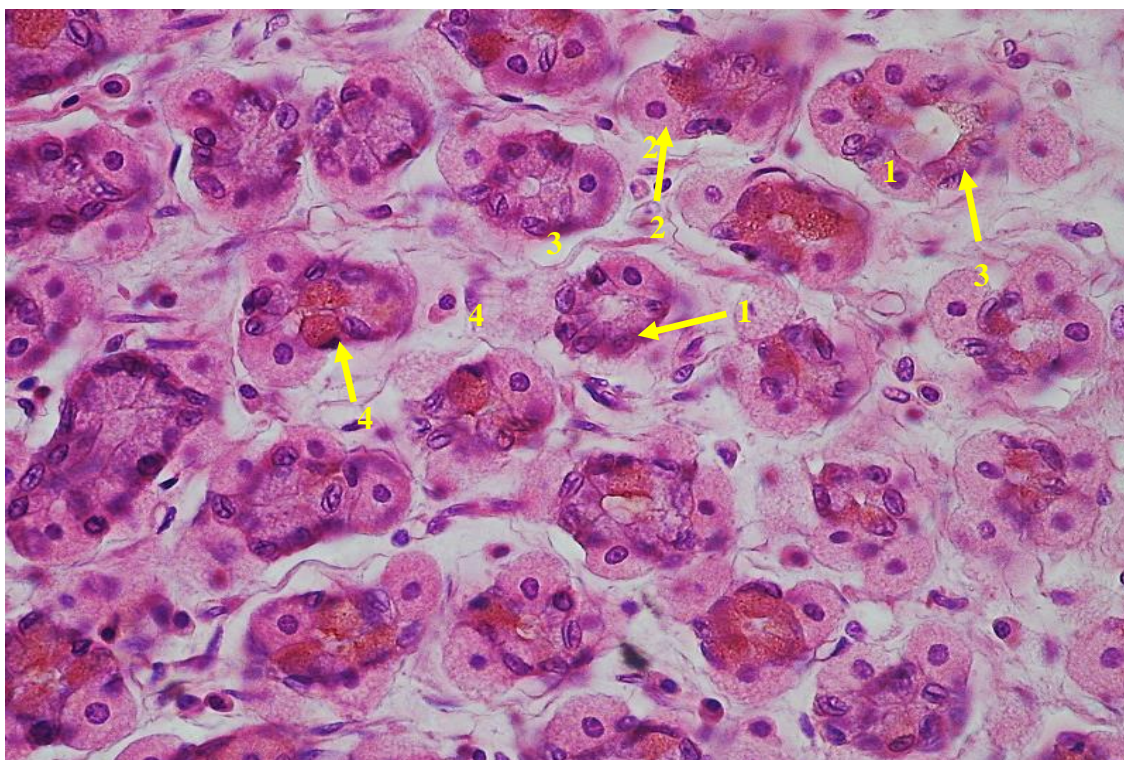


Рис. 4.2.2. Поперечний переріз через шийку фундальних залоз шлунка собаки, що загинула від спонтанної кишкової форми парвовірусної інфекції: 1 – епітелій шлункової ямочки; 2 – парієтальна клітина; 3 – головна клітина; 4 – слизова клітина. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 600$.

Розміри лімфоїдних вузликів шлунка, порівняно з аналогічними морфологічними утвореннями контрольних тварин, були помітно зменшені (див. рис. 4.2.1). Кількість лімфоцитів у таких вузликах також була зменшеними. Характерних для парвовірусної інфекції внутрішньоядерних еозинофільних тілець-включень у лімфоцитах не виявляли. Кровоносні судини

підслизової основи слизової оболонки були виразно розширені, переповнені кров'ю. У м'язовій оболонці стінки шлунка переважна більшість клітин знаходилась у стані зернистої дистрофії, а в деяких тварин місцями реєструвались некротичні зміни гладкої м'язової тканини (рис. 4.2.3). Серозна оболонка при цьому не змінювалась.

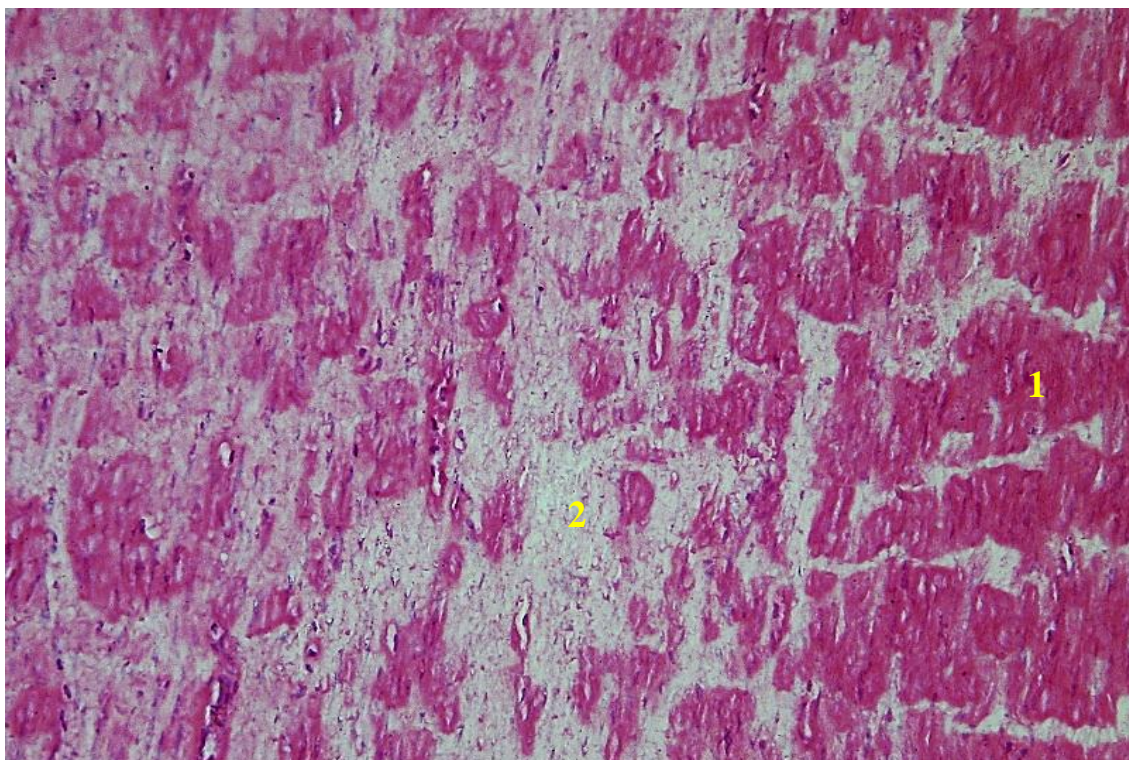


Рис. 4.2.3. М'язова оболонка стінки шлунка собаки, що загинула від спонтанної кишкової форми парвовірусної інфекції: 1 – зерниста дистрофія гладких м'язових клітин; 2 – некроз гладких м'язових клітин. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 100$.

Таким чином, визначені нами мікроскопічні зміни м'язової оболонки, на нашу думку, свідчать про функціональне виснаження м'язової тканини стінки шлунка за розвитку інфекційного процесу.

Під час проведення гістохімічних досліджень шлунка собак, що загинули від спонтанної кишкової форми парвовірусної інфекції, виявляли, що слизова оболонка кардіальної, фундальної та пілоричної частин вкрита густим слизом, до складу якого входить велика кількість білкових сполук (рис. 4.2.4). Разом із мікроскопічними змінами, встановленими нами в фундальній частині шлунка, це вказує на гіперсекрецію цього органа (рис. 4.2.5).

При цьому у підслизовій основі слизової оболонки реєструвалось накопичення кислих білків у частині пучків колагенових волокон (рис. 4.2.5).

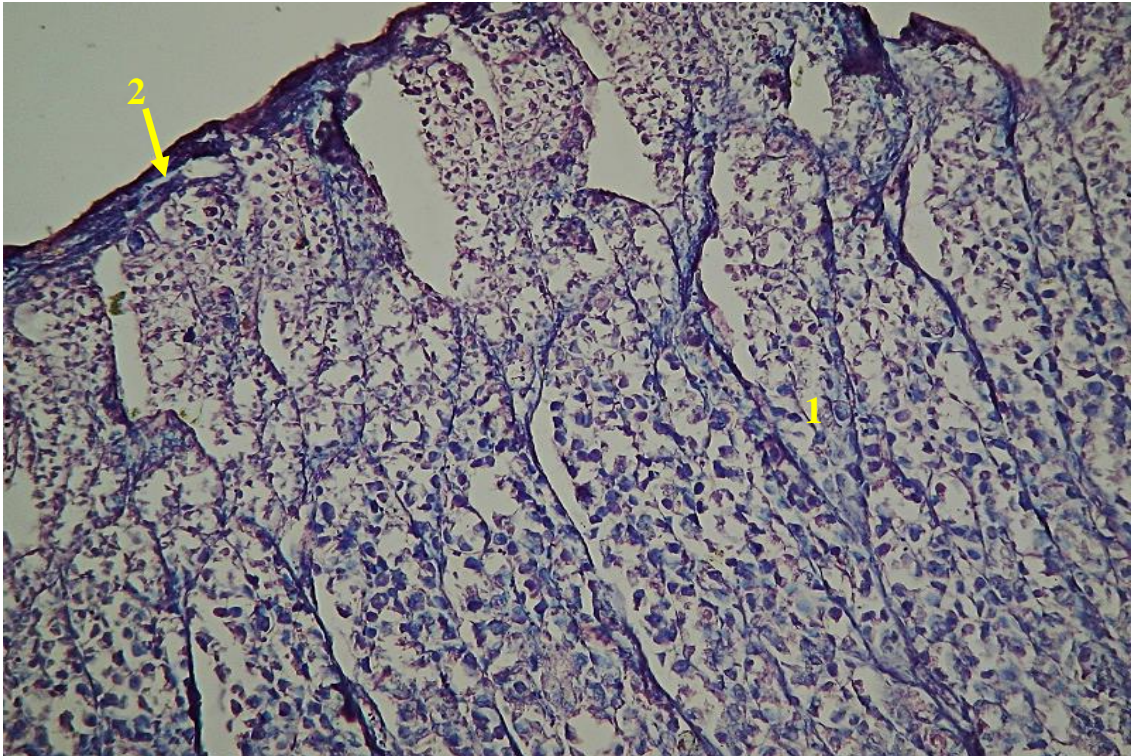


Рис. 4.2.4. Слизова оболонка фундальної частини шлунка собаки, що загинула від спонтанної кишкової форми парвовірусної інфекції: 1 – шлункові ямки; 2 – білкові сполуки слизу на поверхні слизової оболонки. Амідочорний 10 В, $\times 100$.

Під час проведення гістологічних досліджень тонкої кишки встановлено, що мікроскопічні зміни в серозній оболонці за цієї хвороби собак були відсутні. Водночас слід зазначити, що у багатьох собак за спонтанної кишкової форми парвовірусної інфекції стінка тонкої кишки була виразно потовщена за рахунок значної гіпертрофії її м'язової оболонки, що, у свою чергу, відбувалося внаслідок гіперплазії її гладких м'язових клітин.

Слід зазначити, що в усіх собак потовщення обох шарів (кільцевого та поздовжнього) м'язової оболонки по всій довжині тонкої кишки було досить рівномірним. Зовнішній поздовжній шар, порівняно з аналогічним утворенням контрольних тварин, потовщувався в 1,8 – 3,9, а внутрішній кільцевий – у 2,8 – 4,7 разів.

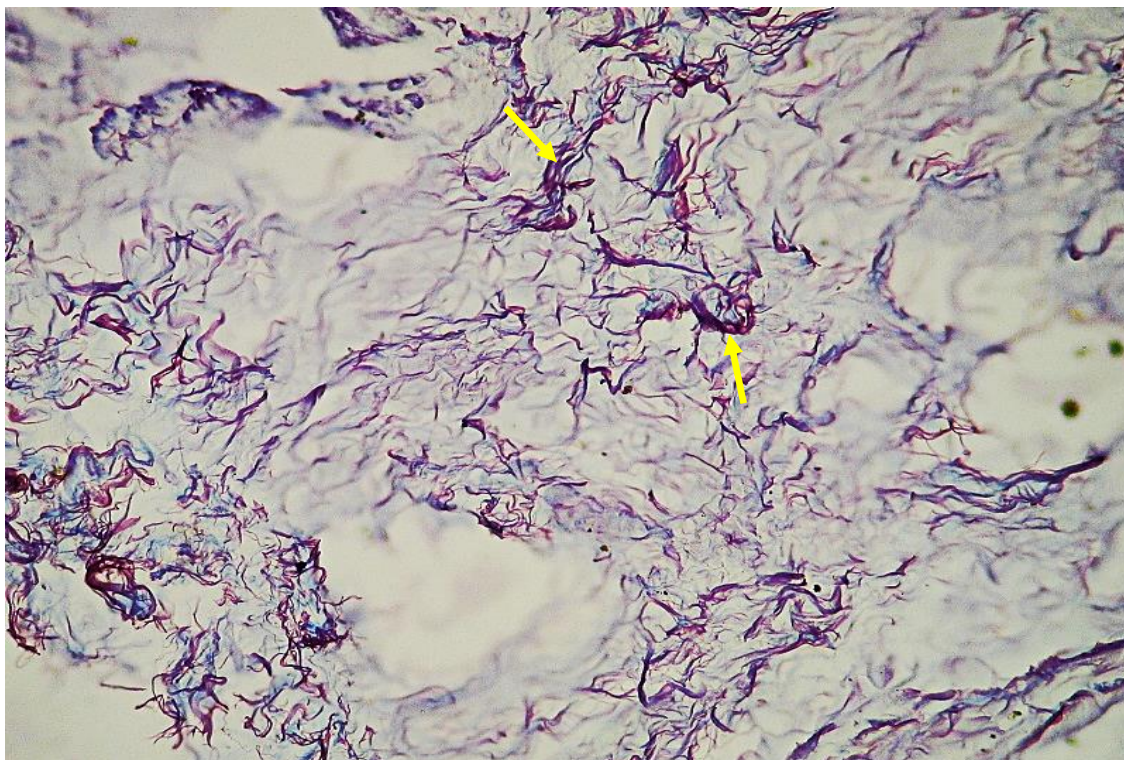


Рис. 4.2.5. Підслизова основа слизової оболонки фундальної частини шлунка собаки, що загинула від спонтанної кишкової форми парвовірусної інфекції: кислі білки в пучках колагенових волокон (показано стрілками). Амідочорний 10 В, $\times 100$.

Інші мікроскопічні зміни м'язової оболонки були аналогічними таким, виявленим за експериментального відтворення кишкової форми парвовірусної інфекції: внутрішній шар м'язової оболонки нерівномірно забарвлений внаслідок чергування більш темних і більш світлих смуг різних розмірів і форми (рис. 4.2.6). У ході аналізу гістопрепаратів за великого збільшення мікроскопа виявлено, що ця нерівномірність забарвлення зумовлена наступним: що одні групи гладких м'язових клітин знаходились у стані виразного скорочення, а інші були розтягнуті та мали ознаки зернистої дистрофії, або ж надзвичайно слабо зафарбовані ядро й цитоплазму. Місцями в цитоплазмі на частині розтягнутих гладких м'язових клітин виявляли поперечну посмугованість внаслідок наявності тут більш інтенсивно забарвлених смужок і глибок. Подекуди у внутрішньому шарі м'язової оболонки виявлялись осередки набряку. У таких місцях також спостерігали руйнування гладких м'язових

клітин. У зовнішньому шарі м'язової оболонки тонкої кишки були встановлені набряк, зернисту дистрофію гладких м'язових клітин, а також руйнування частини дистрофічно змінених гладких м'язових клітин (див. рис. 4.2.6).

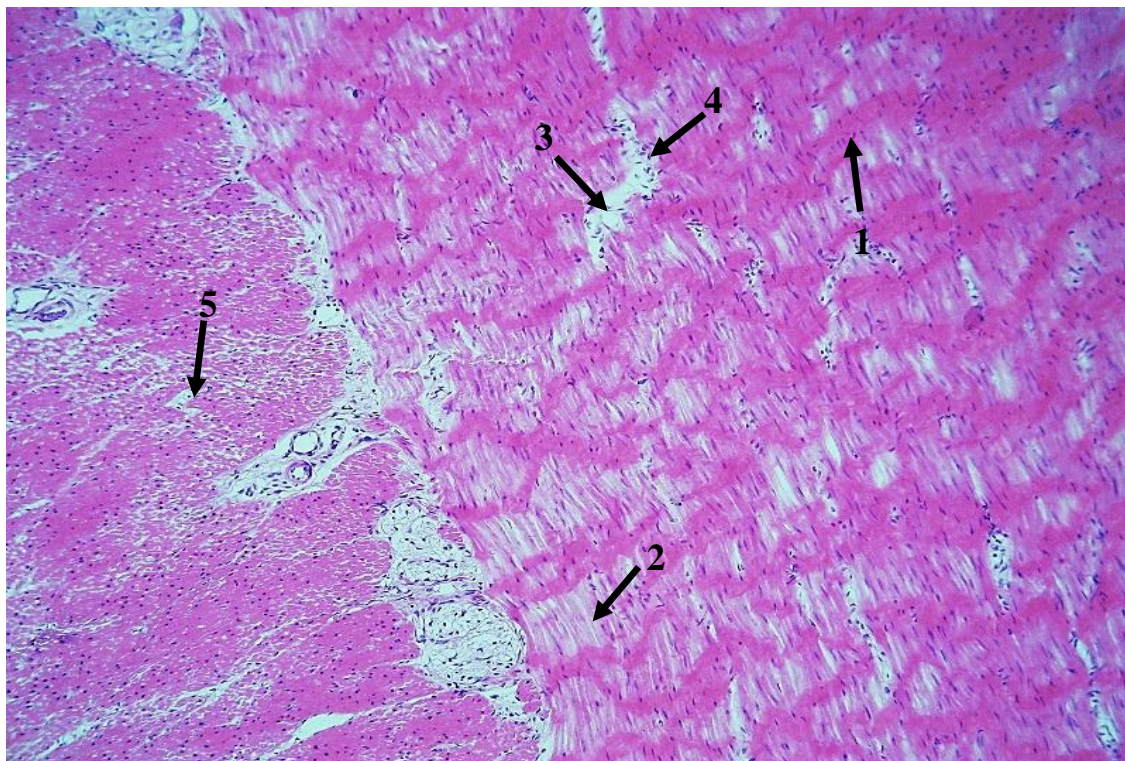


Рис. 4.2.6. М'язова оболонка клубової кишки собаки, що загинула від спонтанної кишкової форми парвовірусної інфекції: 1 – гладкі м'язові клітини внутрішнього шару м'язової оболонки у стані скорочення; 2 – розтягнуті гладкі м'язові клітини внутрішнього шару м'язової оболонки; 3 – осередок набряку у внутрішньому шарі м'язової оболонки; 4 – руйнування гладких м'язових клітин внутрішнього шару м'язової оболонки; 5 – набряк зовнішнього шару м'язової оболонки та руйнування гладких м'язових клітин. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 50$.

У зовнішньому шарі м'язової оболонки тонкої кишки виявлено набряк, зернисту дистрофію гладких м'язових клітин, а також руйнування частини дистрофічно змінених гладких м'язових клітин (див. рис. 4.2.6).

Підслизова основа в одних випадках зазнавала дифузного помірного набряку, в інших – у ній виявляли вогнищеві накопичення набрякової рідини різних розмірів та форми (рис. 4.2.7).

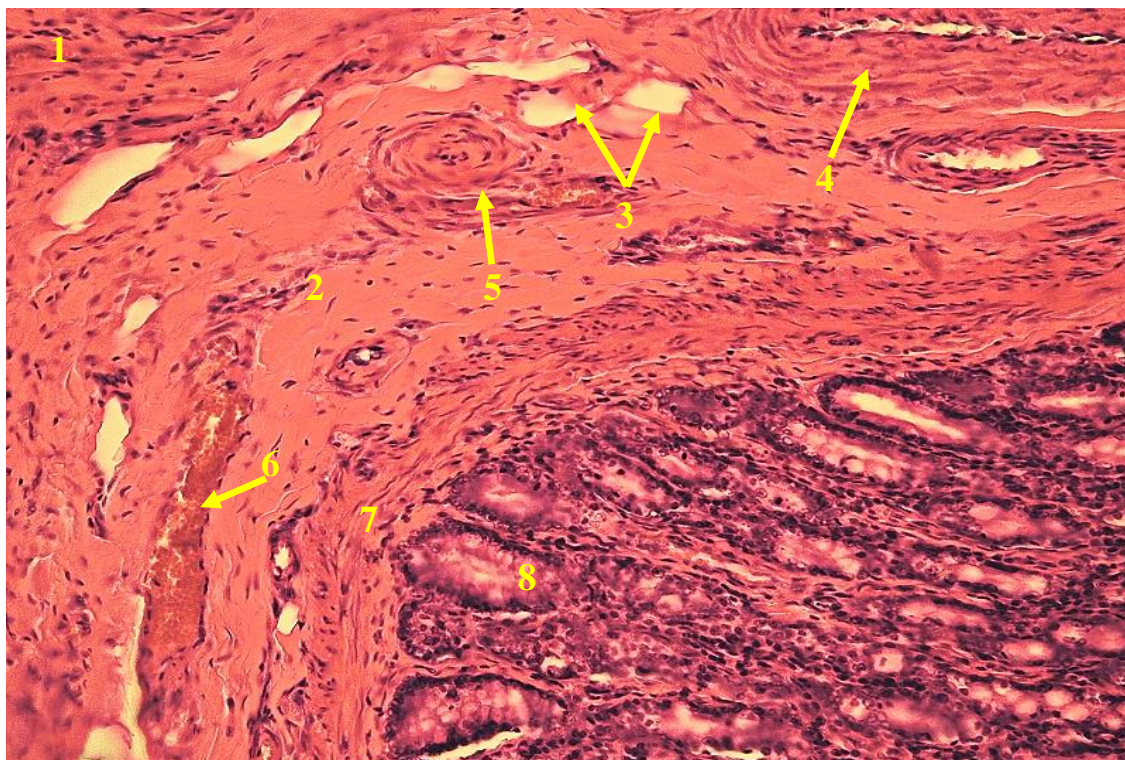


Рис. 4.2.7. Порожня кишка собаки, що загинула від спонтанної кишкової форми парвовірусної інфекції: 1 – м'язова оболонка; 2 – підслизова основа; 3 – осередки набряку; 4 – частково спазмована артерія зі щілиноподібним просвітом; 5 – повністю спазмована артерія підслизової основи; 6 – вена підслизової основи; 7 – м'язова пластинка слизової оболонки; 8 – слизова оболонка. Гематоксилін Караці та еозин, x 100.

Просвіт багатьох артерій, які виявляли у підслизовій основі, був помітно зменшений, а частина із них повністю спазмована (див. рис. 4.2.7). Всі артерії за гістологічного огляду не містили клітин крові або у їх просвіті була лише невелика їх кількість. Натомість вени були виразно розширені та заповнені великою кількістю нормохромних еритроцитів.

Пучки колагенових волокон підслизової основи, порівняно з контрольними тваринами, були значно потовщеними, набряклими, гомогенними, у більшості випадків такі пучки мали нечіткі контури. Проте їх кількість, як у собак, які загинули від кишкової форми парвовірусної інфекції, так і в контрольних тварин, була майже однаковою. У ділянках дифузного набряку підслизової основи часто виявляли фрагментацію пучків колагенових волокон – вони на багатьох ділянках ніби розривалися. Цей шар кишкової стінки в усіх

досліджених собак містив невелику кількість лімфоцитів, моноцитів та нейтрофілів, а місцями – незначну кількість еритроцитів.

У поодиноких і скупчених лімфоїдних вузликах кількість лімфоцитів у багатьох випадках була зменшена. Частина лімфоцитів у своїх ядрах містила еозинофільні тільця-включення. Також спостерігали осередки некрозу лімфоцитів (рис. 4.2.8).

М'язова пластинка слизової оболонки, як і м'язова оболонка, була гіпертрофована за рахунок збільшення кількості пучків гладких м'язових клітин (див. рис. 4.2.7; рис. 4.2.8).

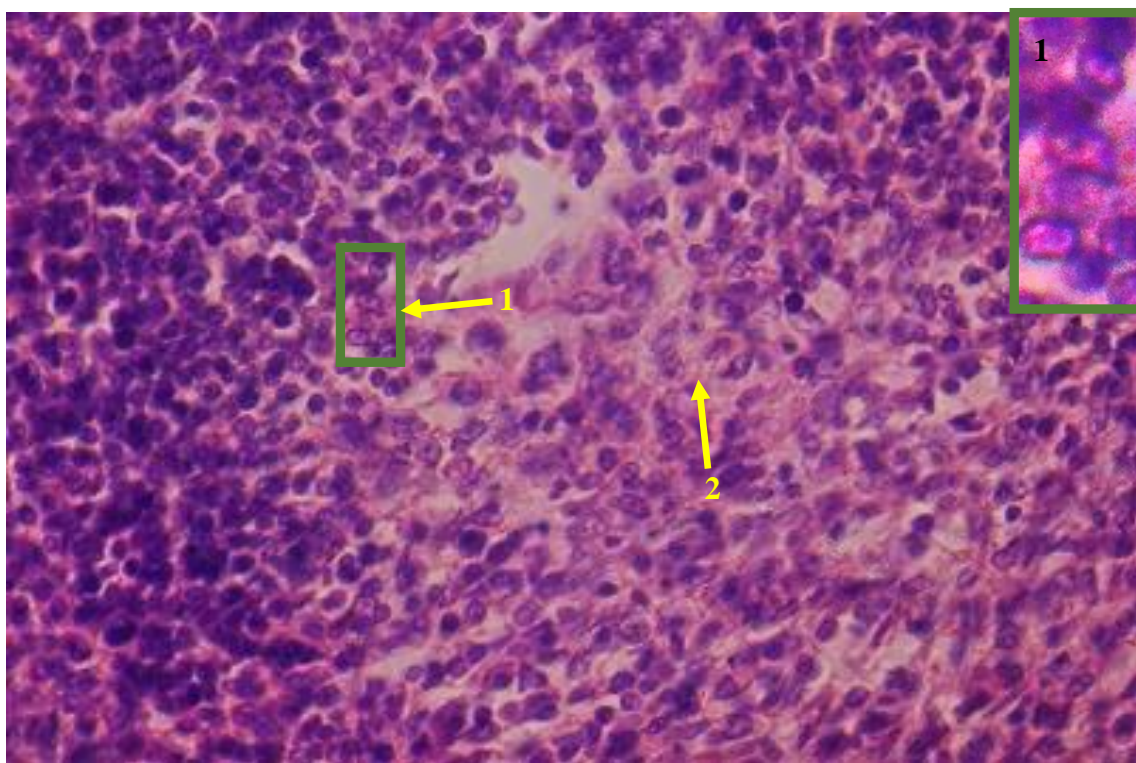


Рис. 4.2.8. Фрагмент лімфоїдного вузлика клубової кишки собаки, що загинула від спонтанної кишкової форми парвовірусної інфекції: 1 – еозинофільні тільця-включення в ядрах лімфоцитів; 2 – некроз лімфоцитів. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 600$.

Порівняно з аналогічним утворенням стінки тонкої кишки контрольних тварин її товщина зростала в 0,7 – 2,3 рази. При цьому на деяких ділянках розростання м'язової тканини цього шару кишкової стінки впиналися між криптами у слизову оболонку. Місцями виявляли помірний набряк цього шару

кишкової стінки. Переважна більшість гладких м'язових клітин м'язової пластинки слизової оболонки перебувала у стані зернистої дистрофії. Слизова оболонка тонкої кишки собак, що загинули від кишкової форми парвовірусної інфекції, зазнавала виразних змін.

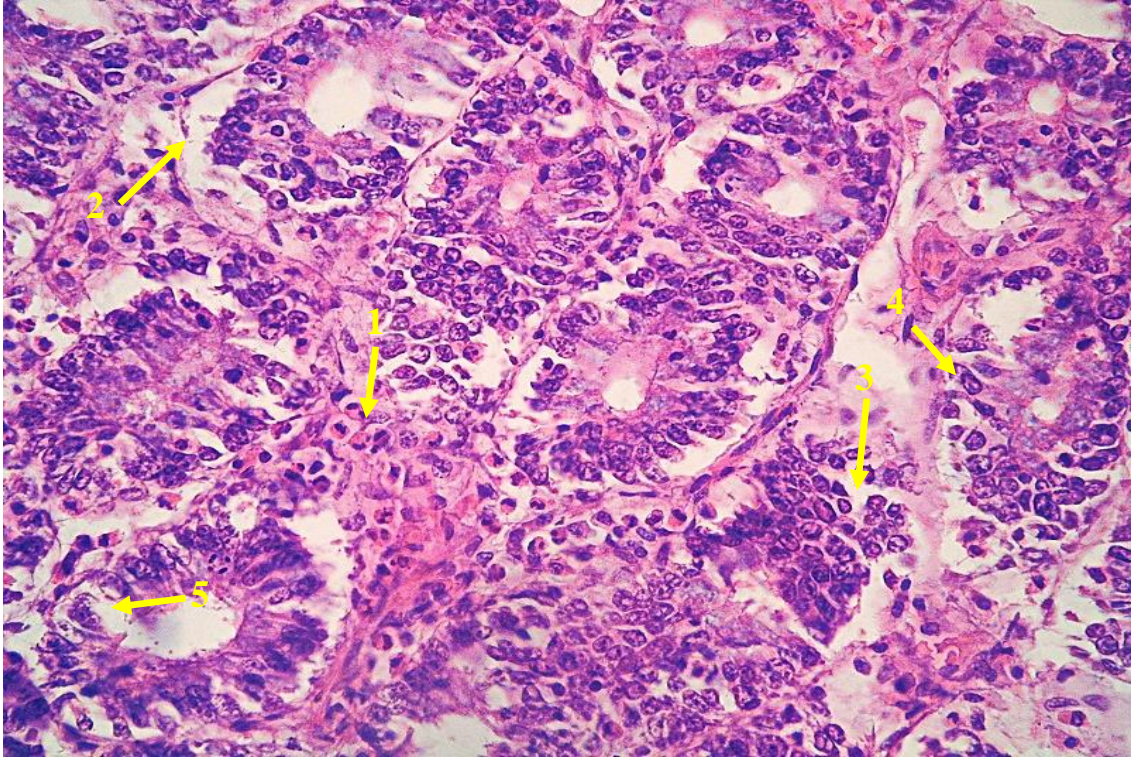


Рис. 4.2.9. Крипти порожньої кишки собаки, що загинула від спонтанної кишкової форми парвовірусної інфекції: 1 – еозинофіли у стромі слизової оболонки; 2 – руйнування базальної мембрани крипти; 3 – еозинофільні тільця-включення в ядрах епітеліоцитів крипти; 4 – руйнування ентероцитів; 5 – руйнування ядерної оболонки ентероцита. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 200$.

Слід відмітити, що ступінь ураження слизової оболонки тонкої кишки залежав від терміну перебігу хвороби. Крім того, мікроскопічні зміни були різними у різних відділах тонкої кишки навіть у однієї й тієї ж тварини. При цьому, найбільш виразними мікроскопічні зміни були у голодній кишці, менш виразними – у каудальній половині дванадцятипалої кишки та клубовій кишці. У краніальній половині дванадцятипалої кишки ступінь ураження був найменшим, або ж, у деяких випадках, у цій ділянці тонкої кишки у цьому шарі кишкової стінки альтеративні зміни взагалі були відсутні. Мікроскопічні зміни

були представлені різними компенсаторно-приспосувальними процесами. Іноді зміни слизової оболонки мали сегментарний характер. При цьому ураження були більш виразними лише на окремих ділянках тонкої кишки, у той час як на суміжних ділянках вони були досить незначними. Така різниця у змінах стосувалася характеру та ступеня ураження. Сегментарні ураження локалізувались у порожній та клубовій кишках.

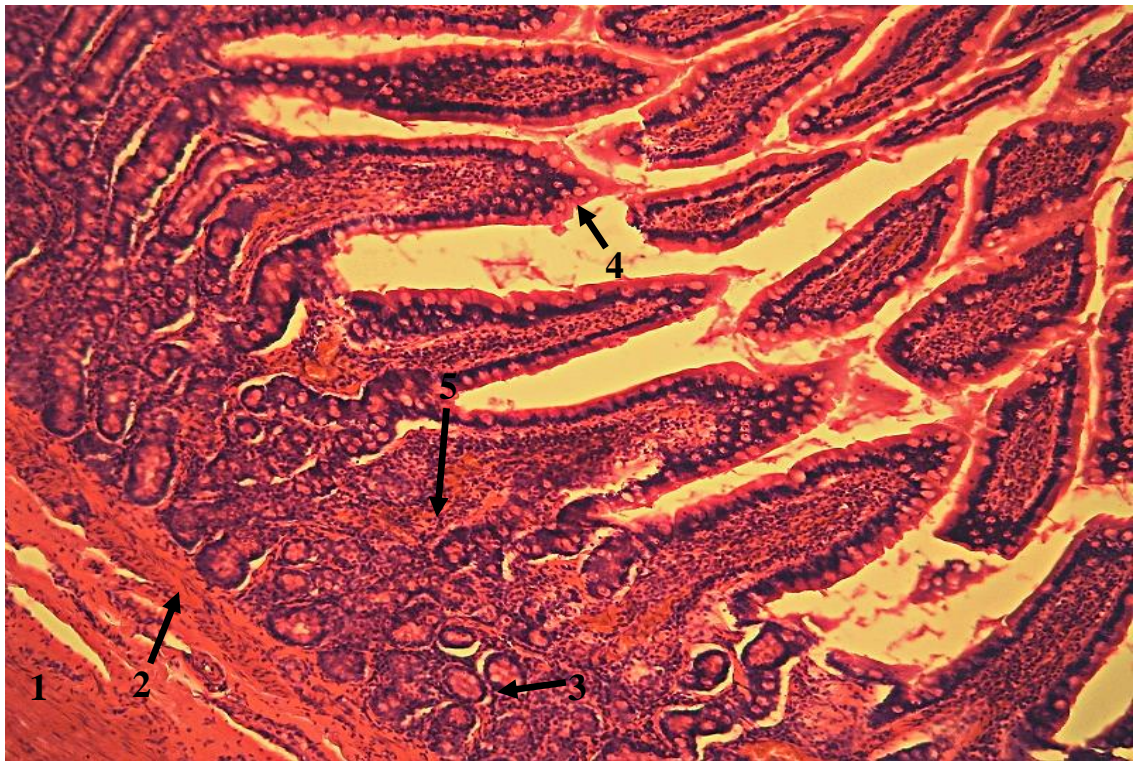


Рис. 4.2.10. Порожня кишка собаки, що загинула від спонтанної кишкової форми парвовірусної інфекції: 1 – підслизова основа; 2 – м'язова пластинка слизової оболонки; 3 – крипти; 4 – ворсинка; 5 – крововилив у слизову оболонку в ділянці крипт та початкової частини ворсинок. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 100$.

За результатами гістологічних досліджень, слизова оболонка тонкої кишки була інфільтрована лімфоцитами та меншою кількістю моноцитів, нейтрофілів, а також – еозинофілами. Останні локалізувалися переважно в ділянці крипт у вигляді скупчень з 2 – 8 клітин (див. рис. 4.2.9). Тут рідше виявляли поодинокі еозинофіли, а наявність еозинофілів, які вийшли за межі судин у тканини, свідчила про алергічний компонент запальної реакції.

Крім того, слизова оболонка, особливо строма ворсинок, була інфільтрована значною кількістю еритроцитів. При цьому місцями знаходили мікрокрововиливи у слизову оболонку. Великі за розмірами крововиливи локалізувалися в ділянці крипт та нижньої частини ворсинок безпосередньо в зоні переходу крипт у ворсинки (див. рис. 4.2.10).

При цьому більшість ворсинок тонкої кишки була досить добре збережена (рис. 4.2.11). Проте їх строма у багатьох випадках набрякла (рис. 4.2.12). Слід зазначити, що ступінь набряку строми ворсинок був значно менш виразним порівняно з набряком строми слизової оболонки, який реєструвався в ділянці крипт. У ворсинках виявлялись крововиливи, а також дифузна інфільтрація лімфоцитами та поодинокими еритроцитами чи їх невеликими групами (див. рис. 4.2.11).

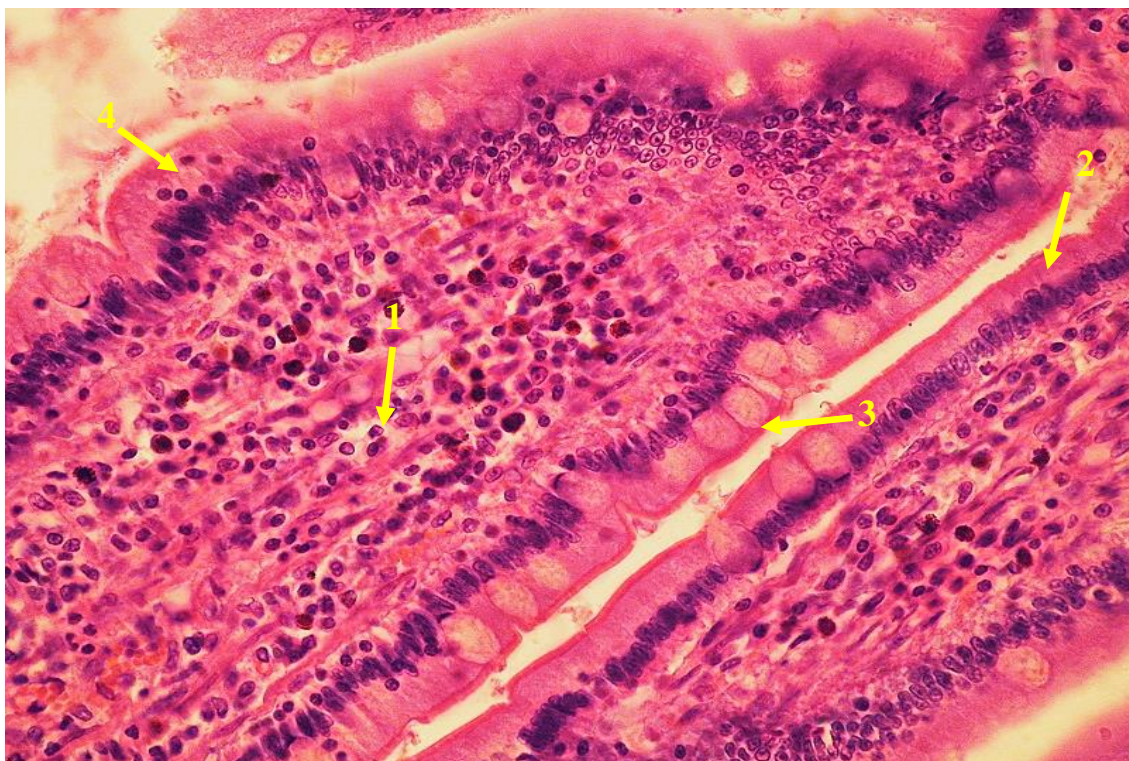


Рис. 4.2.11. Ворсинки порожньої кишки собаки, що загинула від спонтанної кишкової форми парвовірусної інфекції: 1 – лімфоцити у стромі; 2 – інтактний епітелій; 3 – келихоподібні клітини; 4 – міжепітеліальні лімфоцити. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 600$.

Крововиливи у ворсинках мали витягнуту вздовж довгої осі ворсинок форму. Їх діаметр був меншим порівняно з крововиливами у слизову оболонку в ділянці крипт тонкої кишки. Проте нерідко вони були значно витягнуті в довжину.

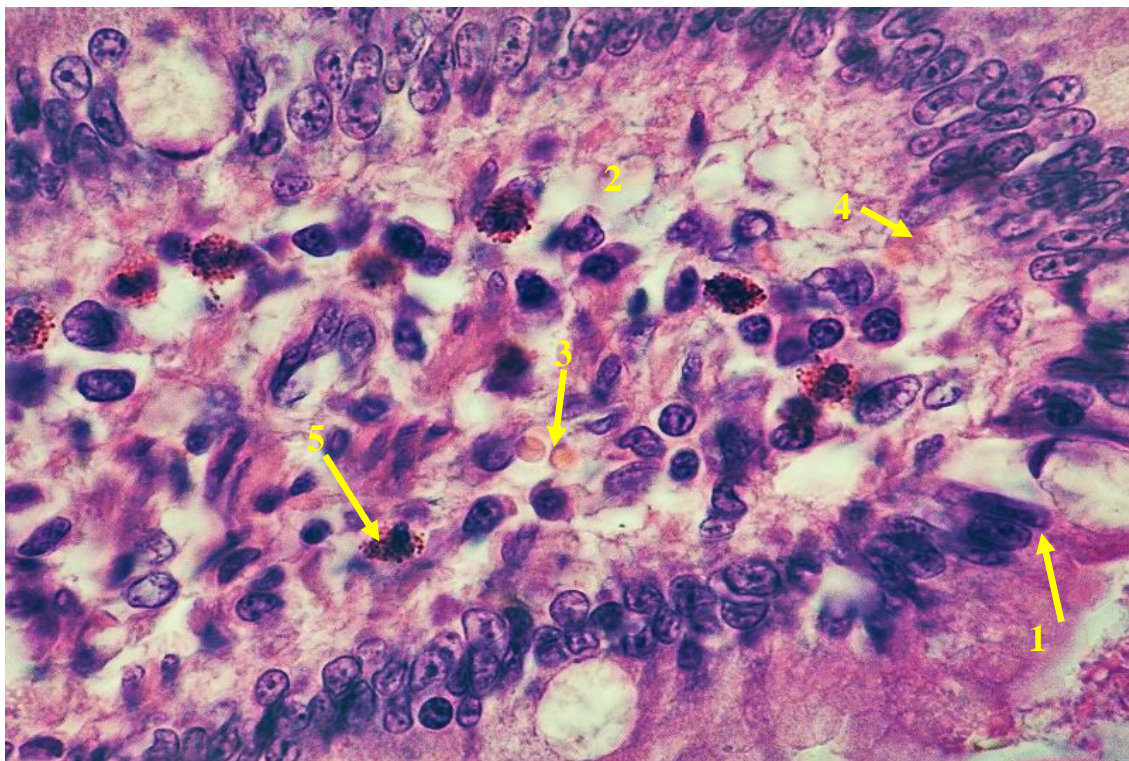


Рис. 4.2.12. Фрагмент ворсинки порожньої кишки собаки, що загинула від спонтанної кишкової форми парвовірусної інфекції: 1 – ентероцит; 2 – набряк строми; 3 – гіпохромні еритроцити; 4 – руйнування еритроцита; 5 – сидерофаг. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 1000$.

Частина еритроцитів, що знаходились у ворсинках, руйнувалась, а гемоглобін, що входив до їх складу, розпадався з утворенням гранул гемосидерину. При цьому невелика кількість поодиноких гранул цього пігменту вільно лежала у міжклітинній речовині окремих ворсинок. Проте переважна більшість таких гранул знаходилась у цитоплазмі сидерофагів, значна кількість яких локалізувалась у стромі більшості ворсинок тонкої кишки, переважно в їх верхній половині (див. рис. 4.2.12; рис. 4.2.13).

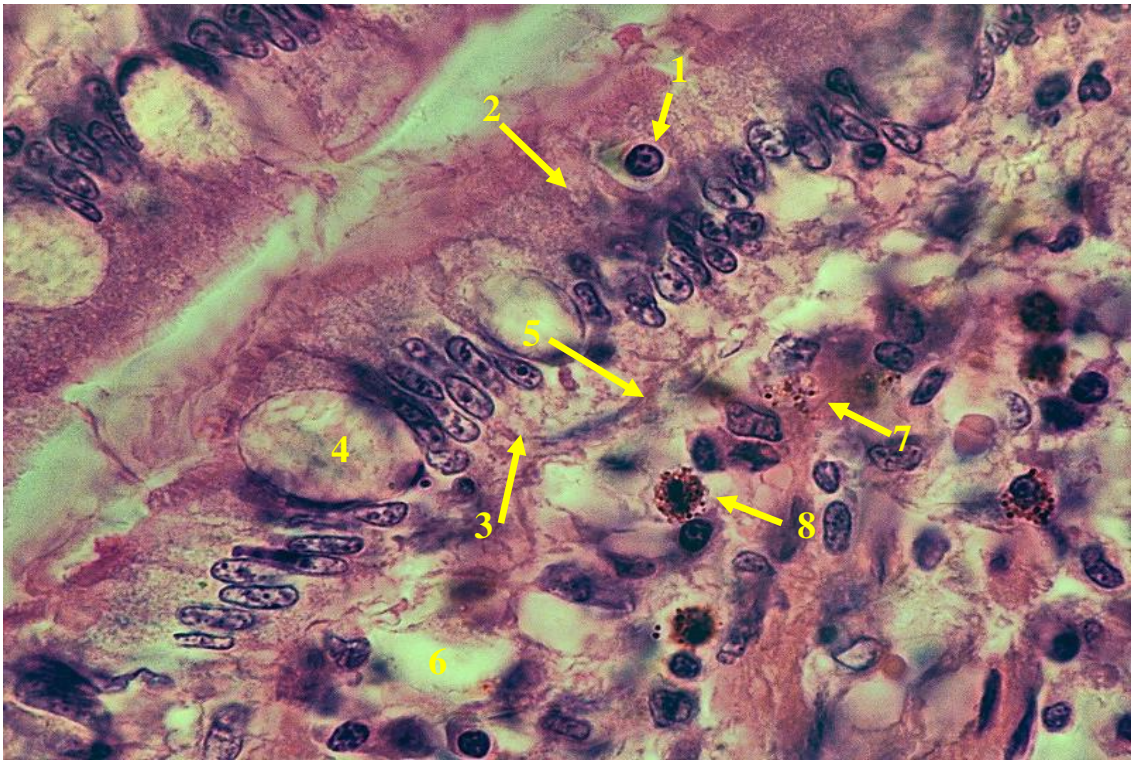


Рис. 4.2.13. Фрагмент ворсинки порожньої кишки собаки, що загнула від спонтанної кишкової форми парвовірусної інфекції: 1 – міжепітеліальний лімфоцит; 2 – зерниста дистрофія апікальної частини цитоплазми ентероцита; 3 – лізис базальної частини цитоплазми ентероцита; 4 – келихоподібна клітина; 5 – потовщення, гомогенізація й розпад базальної мембрани; 6 – набряк строми ворсинки; 7 – розпад еритроцита з утворенням гранул гемосидерину; 8 – сидерофаг. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 1000$.

В окремих ворсинках поодинокі сидерофаги локалізувалися між епітеліальними клітинами (рис. 4.2.14).

Набряк строми ворсинок призводив до досить виразних змін базальної мембрани їх епітелію (див. рис. 4.2.13). Вона була набрякала, її волокна потовщувались, втрачали чіткі контури (ставали розмитими) та зв'язок один з одним. Місцями виявляли осередки руйнування та лізису базальної мембрани епітелію ворсинок.

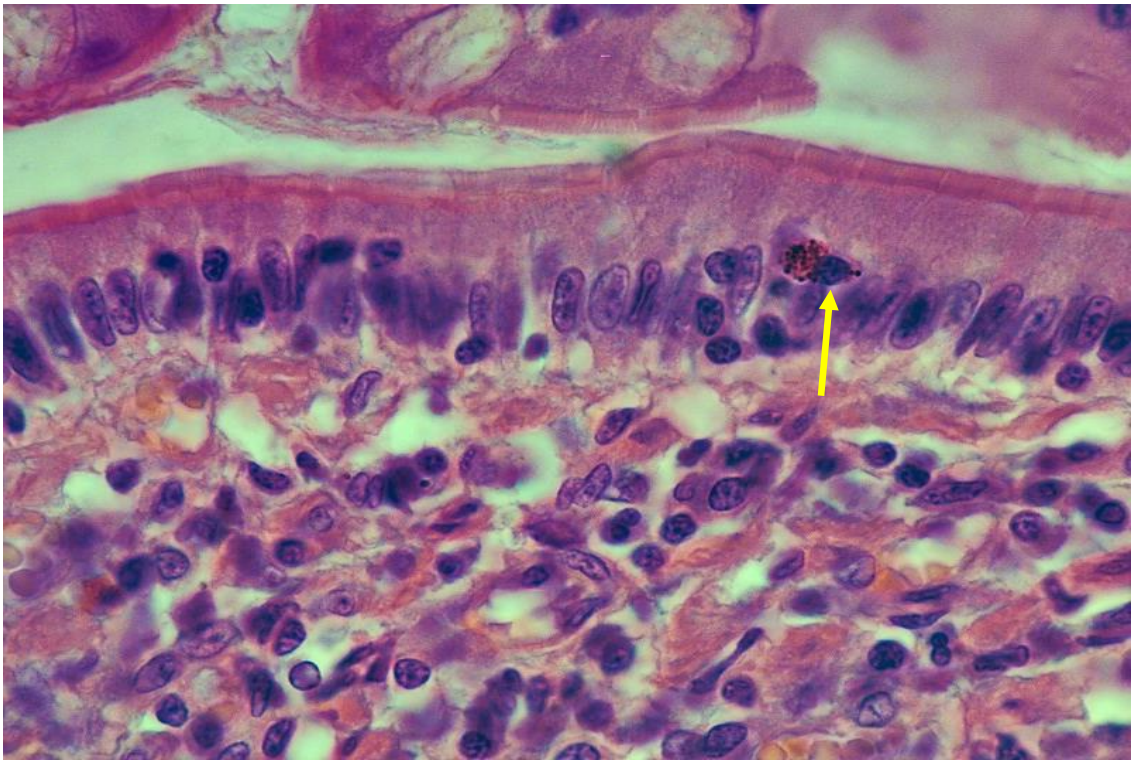


Рис. 4.2.14. Фрагмент ворсинки порожньої кишки собаки, що загнула від спонтанної кишкової форми парвовірусної інфекції: сидерофаг між ентероцитами (показано стрілкою). Гематоксилін Караці та еозин, $\times 1000$.

Епітеліоцити, що формували ворсинки, над ділянками набряку повністю чи частково втрачали зв'язок з базальною мембраною, а в їх цитоплазмі виявляли ознаки зернистої та гідропічної дистрофії (див. рис. 4.2.13). При цьому гідропічна дистрофія переважала у базальній ділянці цитоплазми цих клітин, а зерниста дистрофія – в апікальній. У базальній ділянці цитоплазми частини ентероцитів ворсинок знаходили частковий плазмолізис.

У окремих ворсинках у місцях вогнищового руйнування та лізису базальної мембрани зазнавали руйнування епітеліальні клітини, а за ними – й строма ворсинок (рис. 4.2.15). У такому разі відбувався відрив частини ворсинки у просвіт тонкої кишки. Частина ентероцитів ворсинок частково втрачала зв'язок з базальною мембраною. Окремі епітеліальні клітини чи їх невеликі групи, переважно на верхівках ворсинок, такий зв'язок втрачали повністю.

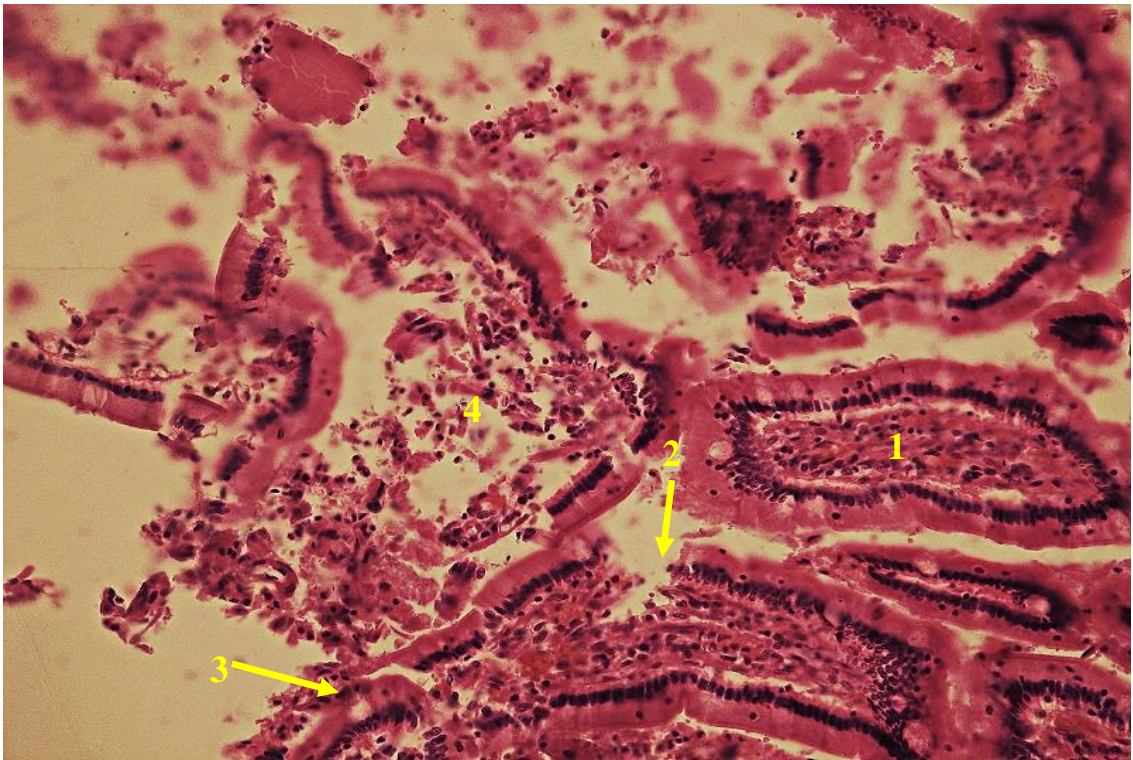


Рис. 4.2.15. Ворсинки клубової кишки собаки, що загинула від спонтанної кишкової форми парвовірусної інфекції: 1 – збережена ворсинка; 2 – вогнище руйнування епітелію та часткового руйнування строми ворсинки; 3 – руйнування верхівки ворсинки; 4 – зруйнований фрагмент ворсинки. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 100$.

У разі повної втрати зв'язку з базальною мембраною ентероцити ворсинок руйнувались або зазнавали некротичних змін (рис. 4.2.16). Безпосередньо над верхівками ворсинок виявляли невеликі фрагменти напівзруйнованих ворсинок (див. рис. 4.2.15) або ж суцільні поля клітинного детриту (див. рис. 4.2.16), велику кількість якого також виявляли у просвіті тонкої кишки (рис. 4.2.17).

Таким чином, враховуючи незначне руйнування ворсинок, слід зробити висновок, що клітинний детрит утворювався переважно за рахунок руйнування слизової оболонки, у першу чергу її епітелію, у ділянці крипт тонкої кишки. Крім того, незначне руйнування ворсинок, досить невеликі крововиливи в їх строми та наявність тут великої кількості сидерофагів означає, що кров у вмісті кишечника та фекаліях з'являється переважно за рахунок надходження еритроцитів із зони крипт слизової оболонки тонкої кишки.

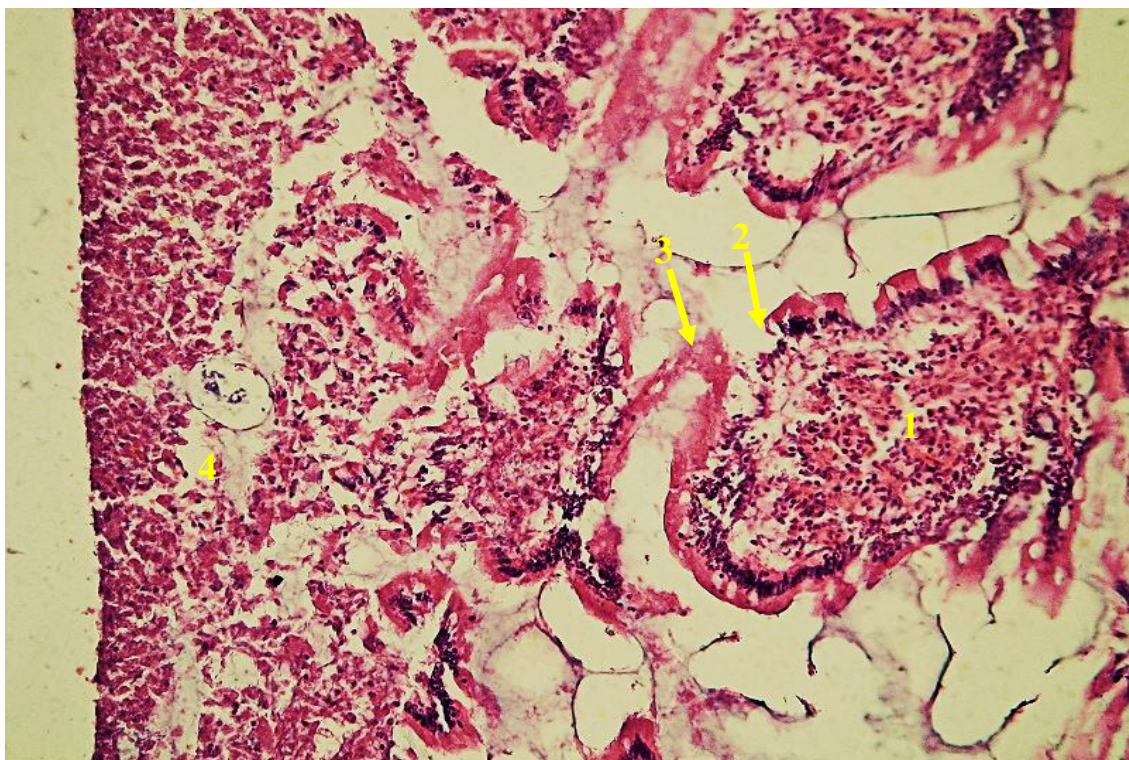


Рис. 4.2.16. Порожня кишка собаки, що загнула від спонтанної кишкової форми парвовірусної інфекції: 1 – верхівка ворсинки; 2 – руйнування епітелію ворсинки; 3 – некроз епітелію ворсинки; 4 – клітинний детрит. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 100$.

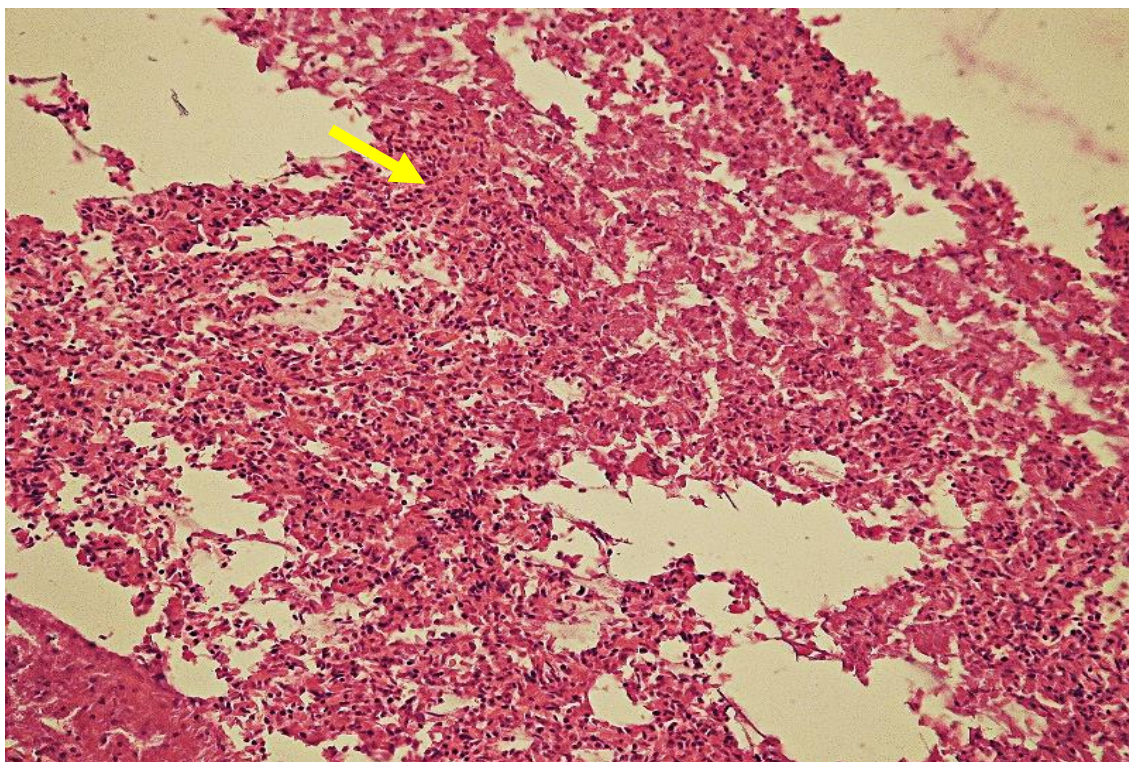


Рис. 4.2.17. Центральна частина порожньої кишки собаки, що загнула від спонтанної кишкової форми парвовірусної інфекції: клітинний детрит (показано стрілкою). Гематоксилін Караці та еозин, $\times 100$.

Крім інших змін ворсинок тонкої кишки, нами також було зареєстровано гіперплазію (збільшення кількості) келихоподібних клітин ворсинок тонкої кишки та їх гіперсекрецію (рис. 4.2.18).

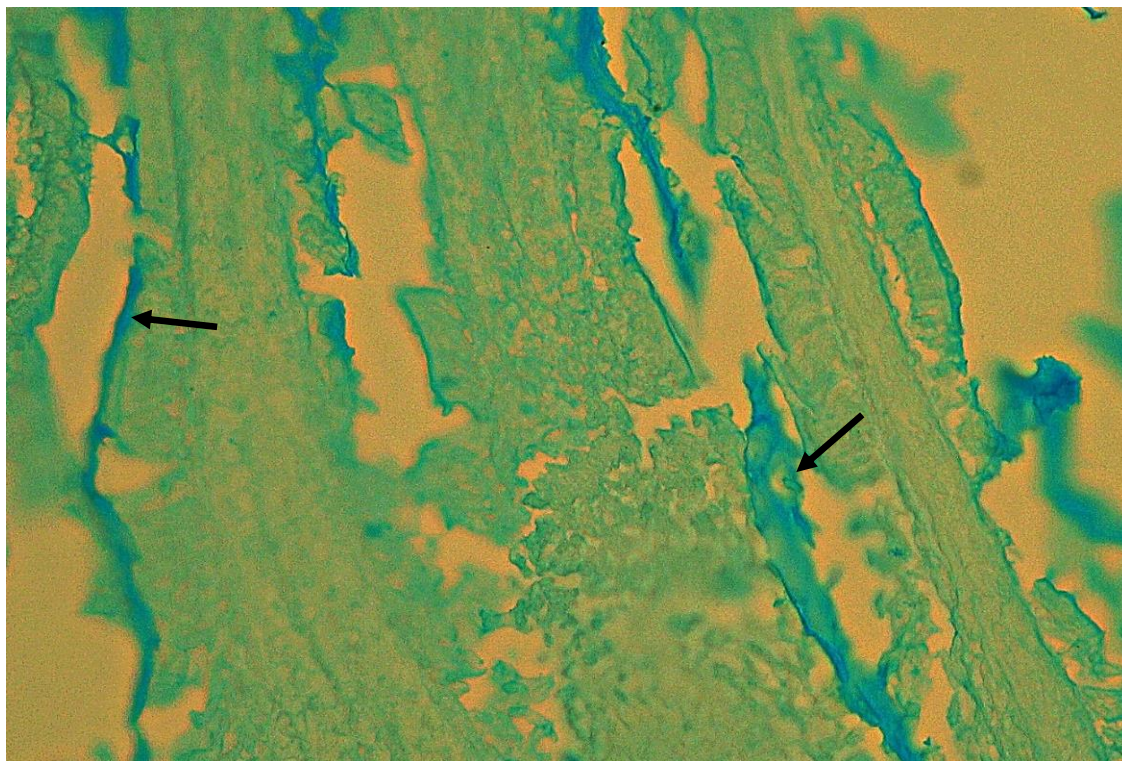


Рис. 4.2.18. Ворсинки клубової кишки собаки, що загинула від спонтанної кишкової форми парвовірусної інфекції: гіперсекреція слизу (показано стрілками). Альціановий синій, рН 2,5, $\times 400$.

Гістохімічними методами виявляли такі ж ознаки виснаження келихоподібних клітин, як і за експериментально відтвореної парвовірусної інфекції у цуценят. При цьому найбільш виразні мікроскопічні зміни локалізувались у криптах тонкої кишки. У деяких собак у частині крипт виявляли осередки некрозу камбіальних епітеліальних клітин. В одних криптах некротичних змін зазнавали поодинокі епітеліоцити, в інших – їх невеликі групи (від двох до семи суміжних клітин), у той час як у деяких криптах некротизованими були майже всі епітеліальні клітини. Некротизовані клітини зазвичай лишалися на базальній мембрані, а не відділялися від неї у просвіт крипт.

Але у більшості крипт тонкої кишки усіх без винятку собак, які загинули від кишкової форми парвовірусної інфекції, спостерігали руйнування епітеліальних клітин (див. рис. 4.2.9). У просвіті частини крипт виявляли досить значні крововиливи (рис. 4.2.19).

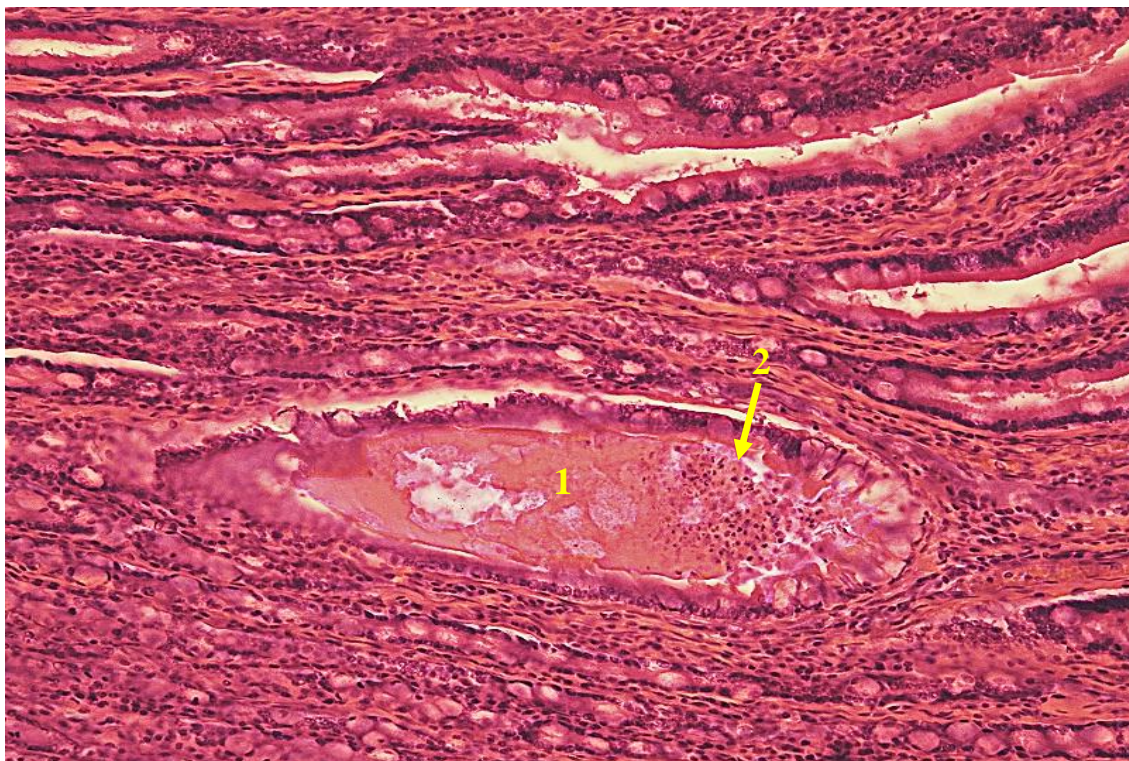


Рис. 4.2.19. Порожня кишка собаки, що загинула від спонтанної кишкової форми парвовірусної інфекції: 1 – гемолізована кров у просвіті крипти; 2 – залишки ядер зруйнованих ентероцитів. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 100$.

При цьому кров у просвіті крипт була повністю гемолізована, вірогідно внаслідок впливу травних ферментів. Серед гемолізованої крові знаходились залишки ядер зруйнованих епітеліальних клітин. У ядрах багатьох епітеліальних клітин крипт знаходили еозинофільні тільця-включення. У деяких випадках такі тільця-включення займали все або майже все ядро (рис. 4.2.20). Останнє було особливо характерно для ентероцитів, що вже руйнувалися (рис. 4.2.21).

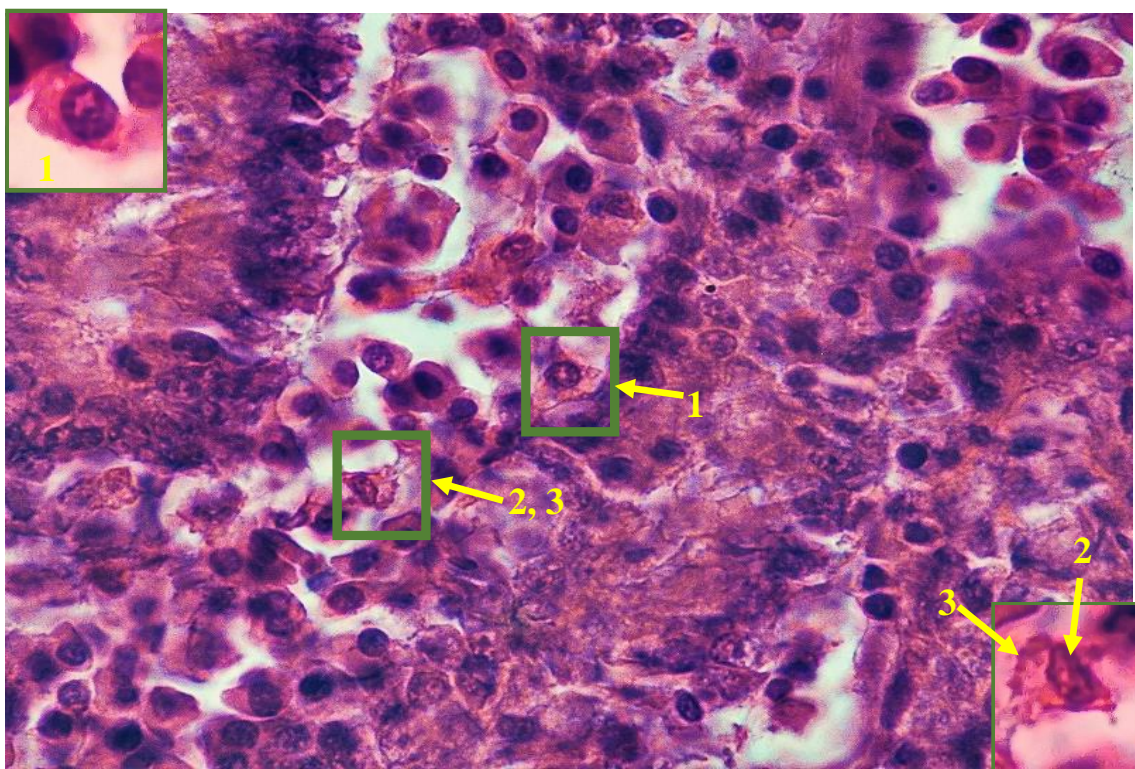


Рис. 4.2.20. Крипти клубової кишки собаки, що загинула від спонтанної кишкової форми парвовірусної інфекції: 1 – еозинофільне тільце-включення в ядрі ентероцита; 2 – майже повністю еозинофільне, деформоване ядро ентероцита; 3 – нерівномірно оксифільна цитоплазма ентероцита з виразно оксифільною ділянкою під клітинною оболонкою. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 600$.

Ядра з тільцями-включеннями нерідко втрачали свою правильну форму внаслідок утворення впинань і випинань ядерної оболонки, які у деяких випадках мали досить великі розміри (див. рис. 4.2.9; 4.2.20).

Поряд з цим у багатьох ядрах знаходили збільшення кількості еухроматинових структур (конденсація хроматину), що відображає інактивіацію активних ділянок транскрипції. У багатьох ядрах виявляли розпушення ядерця, або ж вони зменшувались у розмірах та набували більш інтенсивного забарвлення. На цей момент у цитоплазмі зазвичай реєструвались виразні дистрофічні зміни (див. рис. 4.2.20), або ж вона знаходилась на різних етапах руйнування (див. рис. 4.2.21). На нашу думку, такі дистрофічні зміни уражених вірусом клітин свідчили про реплікацію збудника в ядрах клітин, яка супроводжувалась значними порушеннями обміну речовин у цитоплазмі. Потім утворювався один чи кілька розривів ядерної оболонки і вміст ядра потрапляв у

цитоплазму, або ж, якщо на цей момент цитоплазма була частково чи повністю зруйнована – безпосередньо в оточуюче клітину середовище (див. рис. 4.2.9).

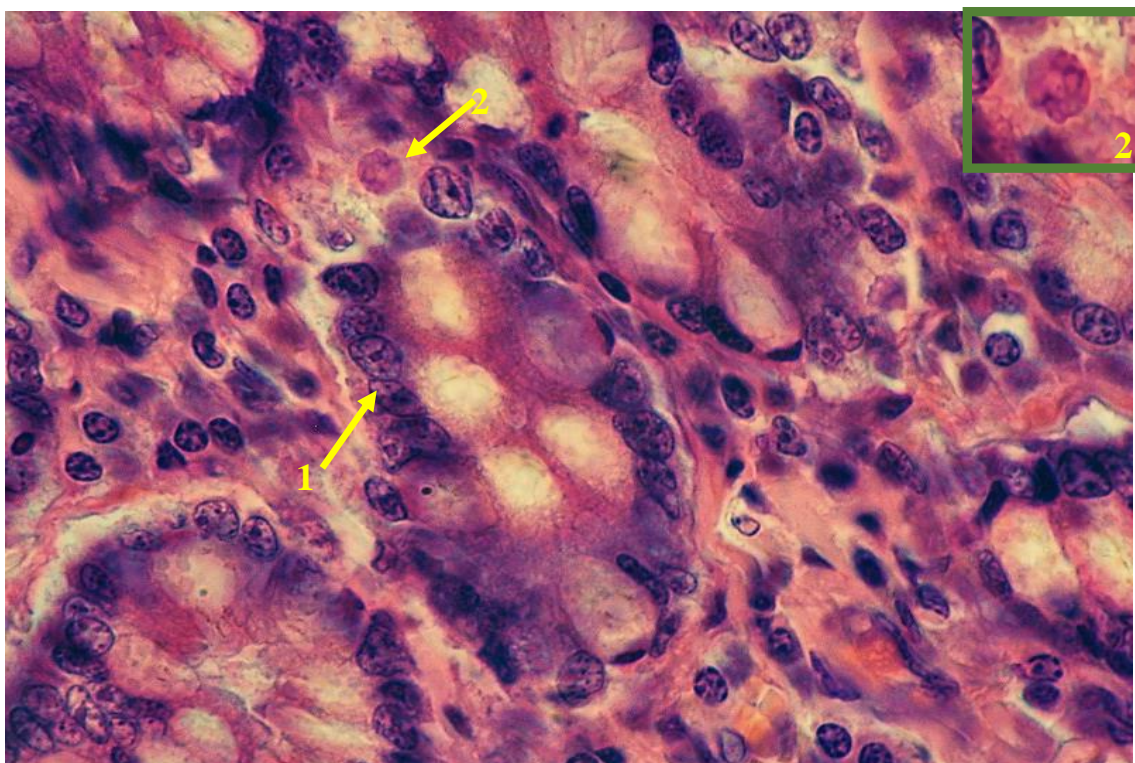


Рис. 4.2.21. Крипти голодної кишки собаки, що загинула від спонтанної кишкової форми парвовірусної інфекції: 1 – епітеліальні клітини, в ядрах яких еозинофільні тільця-включення відсутні; 2 – повністю нерівномірно еозинофільне ядро ентероцита, що руйнується. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 1000$.

Слід зазначити, що епітеліальні клітини крипт, в одних випадках впродовж усього вищеописаного процесу поступового руйнування внаслідок реплікації парвовірусу, залишались на базальній мембрані, а в інших – повністю чи частково втрачали з нею зв'язок на різних етапах цього процесу. Також слід зауважити, що у клітинах з тільцями-включеннями в ядрах ядерця при зафарбовуванні гематоксиліном Караці та еозином залишались базофільними та в більшості випадків чітко диференціювались аж до останніх стадій руйнування ядер. Це свідчить про повне чи достатньо повне збереження характерної будови цих ядерця.

Проте у криптах тонкої кишки собак, які загинули від кишкової форми парвовірусної інфекції, руйнування також зазнавали й епітеліоцити, в ядрах

яких характерні для цієї хвороби еозинофільних тілець-включень не виявляли. Як було встановлено під час проведення гістологічних досліджень, механізм руйнування таких клітин визначали зміни слизової оболонки як тканини в цілому, які виникали внаслідок ураження тонкої кишки вірусом.

Поряд з вищеописаною клітинною інфільтрацією, у слизовій оболонці в ділянці крипт швидко розвивався набряк. Він починався з незначного субепітеліального набряку, який поступово наростав (рис. 4.2.22).

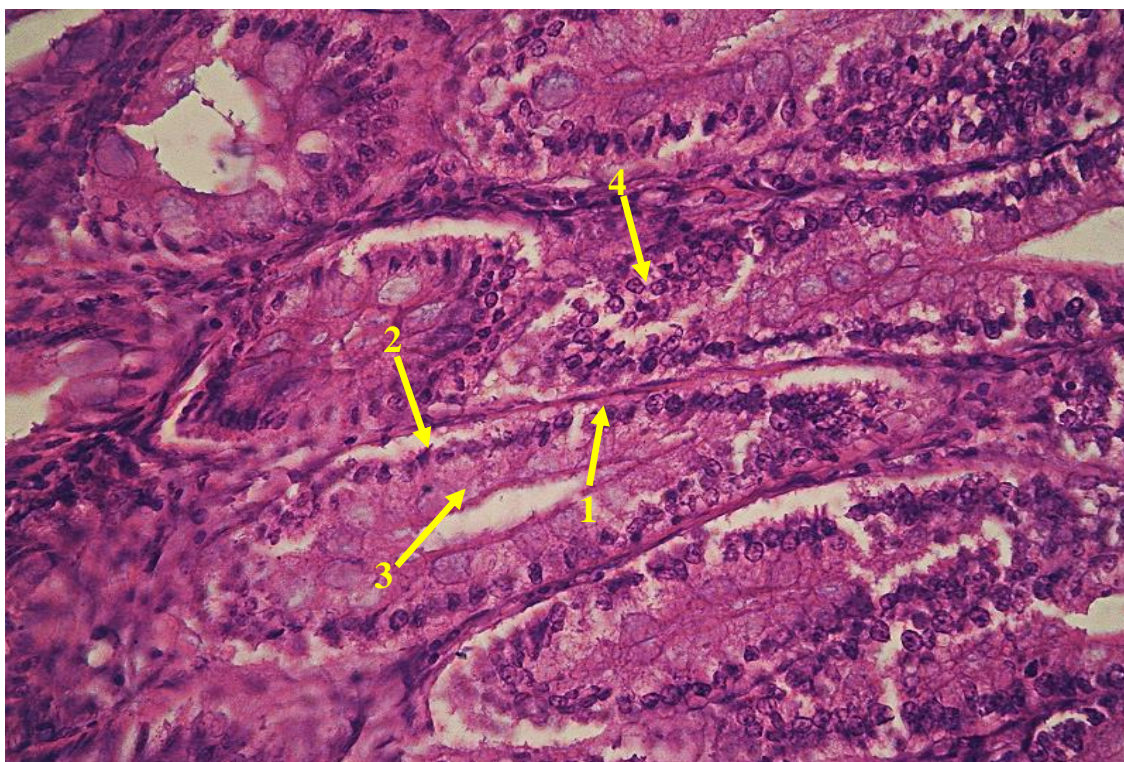


Рис. 4.2.22. Крипти дванадцятипалої кишки собаки, що загинула від спонтанної кишкової форми парвовірусної інфекції: 1 – інтактна базальна мембрана епітелію крипт; 2 – субепітеліальний набряк; 3 – дистрофічні зміни клітин епітелію крипт; 4 – руйнування епітеліальних клітин крипт. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 200$.

Епітеліоцити над ділянками набряку повністю чи частково втрачали зв'язок з базальною мембраною, а в їх цитоплазмі виявляли ознаки зернистої та гідропічної дистрофії. Проте клітини, що не містили внутрішньоядерних тілець-включень, руйнування не зазнавали. На цій стадії клітинна інфільтрація слизової оболонки була ще зовсім незначною, базальна мембрана залишалась інтактною, а багато епітеліальних клітин крипт зберігали свій зв'язок з

останньою та мали характерну мікроскопічну будову, включаючи й виразну посмуговану облямівку. Проте вже виявляли гіперергічну секрецію більшістю келихоподібних клітин крипт, внаслідок якої слиз виділявся ними не рівномірно на поверхню епітеліального шару, а виприскнувся у просвіт крипт, де накопичувався у великій кількості (рис. 4.2.23).

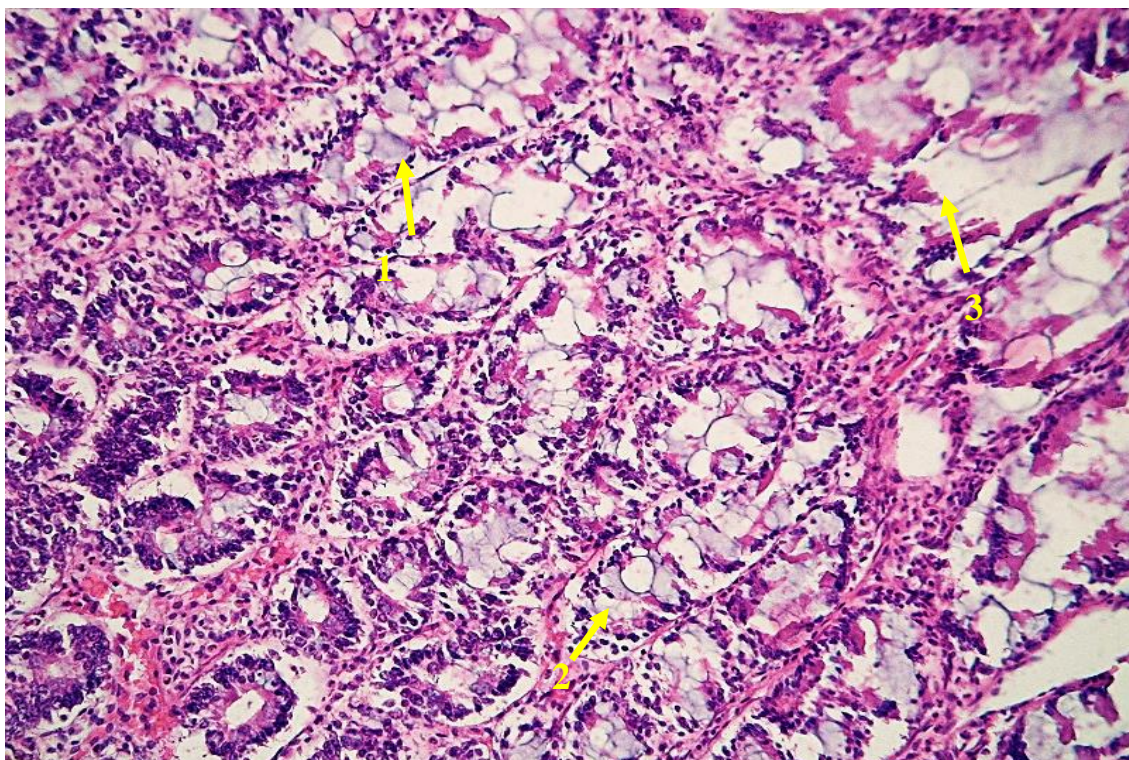


Рис. 4.2.23. Крипти порожньої кишки собаки, що загинула від спонтанної кишкової форми парвовірусної інфекції: 1 – базофільний слиз у просвіті крипт; 2 – руйнування епітелію крипти; 3 – руйнування крипт. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 100$.

Також змінювались і фізико-хімічні властивості слизу, який набував настільки кислої реакції, що виразно зафарбовувався у синій колір гематоксиліном Караці (див. рис. 4.2.23). Вже на цій стадії розвитку мікроскопічних змін у частині крипт відбувався набряк базальної мембрани. Її волокна потовщувались, втрачали чіткі контури (ставали розмитими) та зв'язок один з одним. Місцями спостерігали осередки руйнування та лізису базальної мембрани епітелію крипт (рис. 4.2.24). У подальшому ступінь виразності субепітеліального набряку в ділянці крипт значно зростав (рис. 4.2.25).

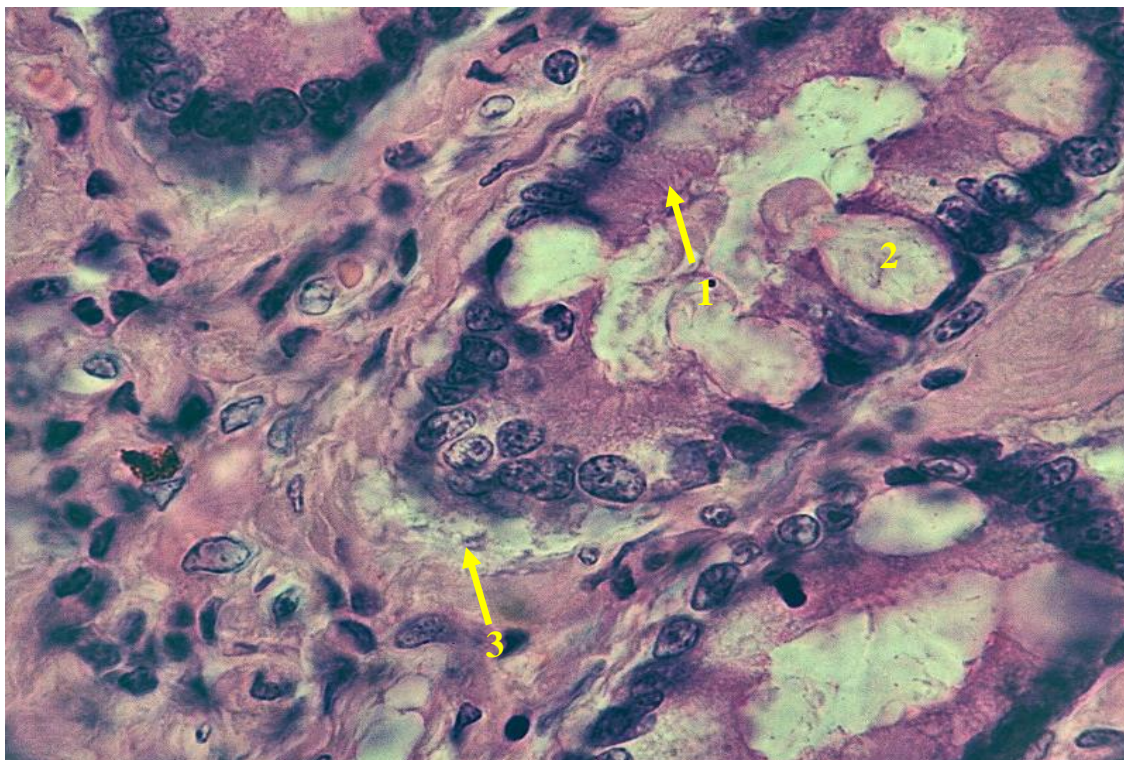


Рис. 4.2.24. Крипти порожньої кишки собаки, що загинула від спонтанної кишкової форми парвовірусної інфекції: 1 – ентероцити; 2 – келихоподібна клітина; 3 – руйнування базальної мембрани епітелію крипти. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 1000$.

Велика кількість епітеліальних клітин крипт перебувала у стані гідропічної дистрофії (див. рис. 4.2.25). Загальновідомо, що ця дистрофія виникає внаслідок гіпоксії тканин у зв'язку зі звільненням і затримкою у клітині зв'язаної води та надходженням води з тканинної рідини, крові й лімфи внаслідок підвищення колоїдно-осмотичного тиску та порушення проникності клітинних мембран. Виходячи з цього, слід зробити висновок, що дистрофічні зміни епітеліоцитів крипт розвивалися внаслідок порушення кровообігу та набряку тканин слизової оболонки. При цьому значна частина дистрофічно змінених клітин руйнувалась.

Таким чином, дистрофічні зміни епітеліальних клітин крипт, які не містили у своїх ядрах характерних для уражених парвовірусом клітин еозинофільних тілець-включень, були зумовлені запальним набряком слизової оболонки.

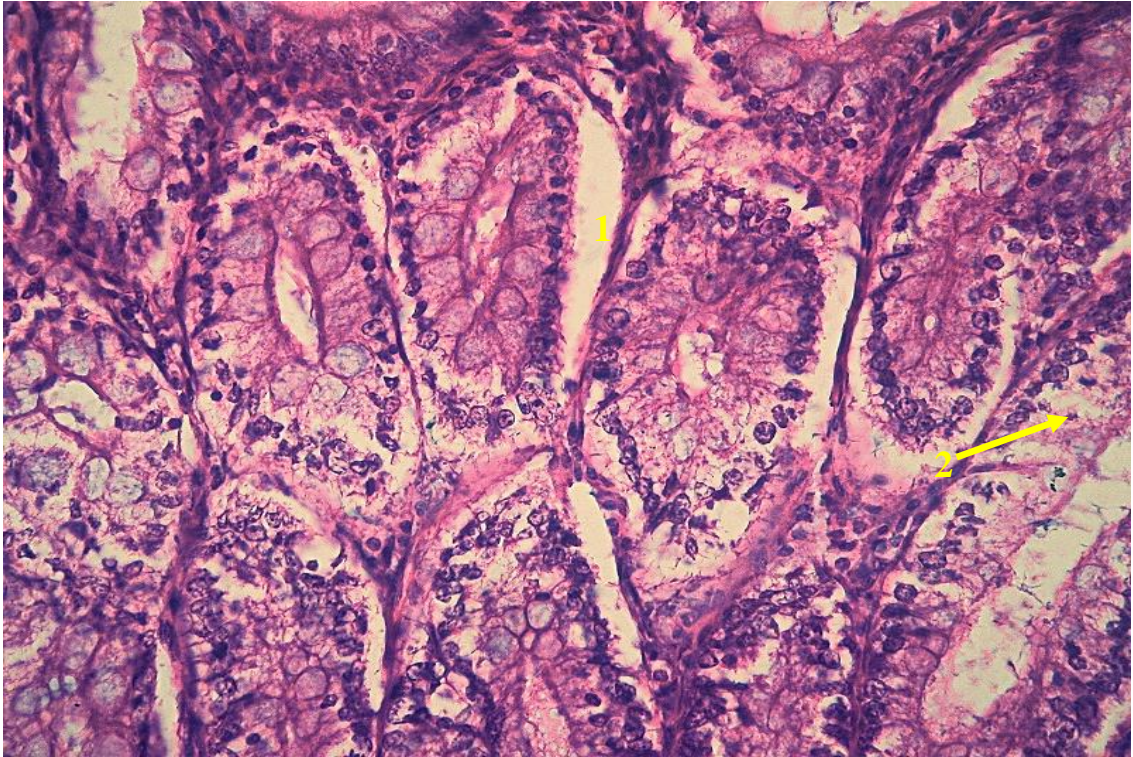


Рис. 4.2.25. Крипти порожньої кишки собаки, що загнула від спонтанної кишкової форми парвовірусної інфекції: 1 – виразний субепітеліальний набряк; 2 – гідропічна дистрофія епітеліоцитів. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 200$.

Мікроскопічні зміни в ядрах епітеліоцитів крипт виникали дещо пізніше, ніж зміни в їх цитоплазмі. Процес починався з парціального набряку ядра, який супроводжувався лізисом досить невеликої частини гетеро- та еухроматину. Потім розвивався дисфункціональний набряк ядра (рис. 4.2.26), який виникає у разі змін його колоїдно-осмотичного стану внаслідок порушення транспорту речовин через цитоплазматичну та ядерну оболонки за гіпоксії, звільнення чи затримки у клітині зв'язаної води тощо. Такі зміни супроводжувалися помітною деформацією ядер, оболонка яких утворювала впинання всередину та випинання в цитоплазму. Нерідко спостерігали конденсацію еухроматину біля ядерної оболонки (гіперхроматоз ядерної стінки). Вже на досить ранніх стадіях розвитку змін у ядрах епітеліальних клітин крипт їх ядерця втрачали характерну базофілію та набували оксифільних властивостей – при зафарбовуванні гематоксиліном Караці та еозином вони набували інтенсивно червоного чи рожевого кольору (див. рис. 4.2.26). При цьому навколоядерцевий хроматин здебільшого залишався виразно базофільним.

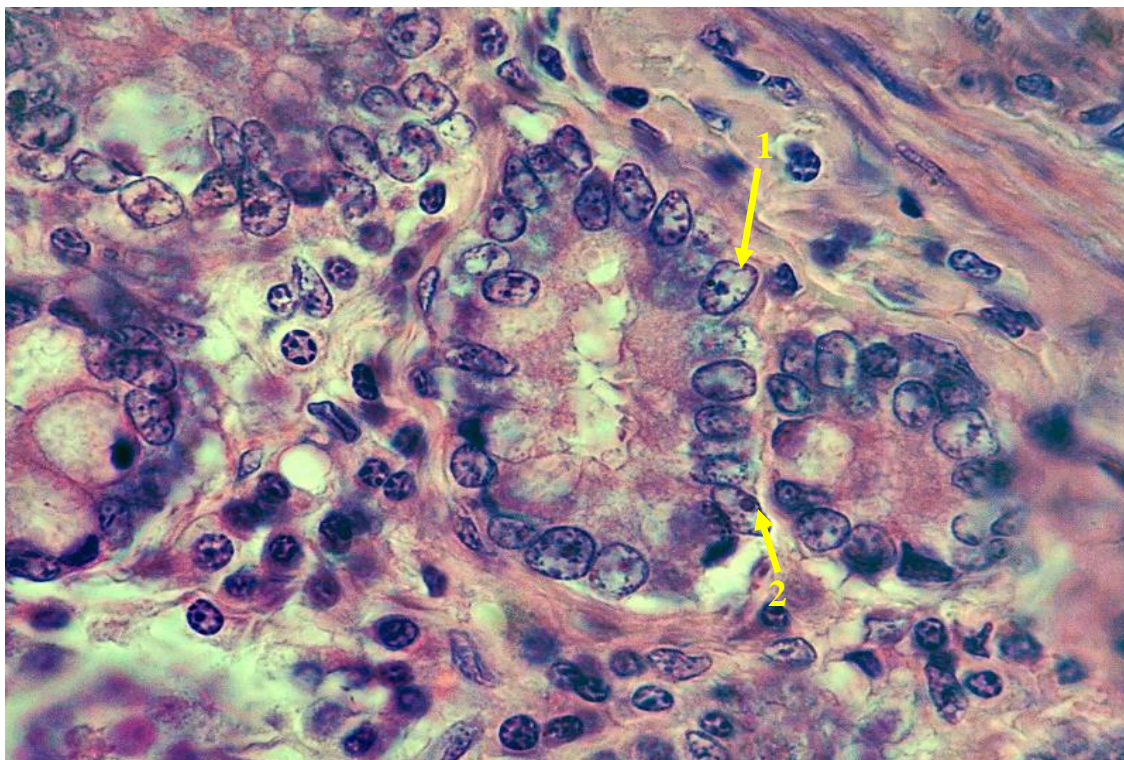


Рис. 4.2.26. Крипти порожньої кишки собаки, що загнула від спонтанної кишкової форми парвовірусної інфекції: 1 – дисфункціональний набряк ядра епітеліоцита крипти та оксифільне ядрецце; 2 – оксифільне ядрецце, оточене базофільною речовиною. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 1000$.

Оскільки в інтактних ядрцях переважають кислі сполуки (ДНК ядерцевого організатора, рибосомальна РНК (р-РНК) та кислі фосфопротеїди [72], можна припустити, що повна втрата базофілії є маркером повного чи майже повного розпаду або зникнення з ядрець цих сполук.

З огляду на це, у свою чергу, можна стверджувати, що в таких ядрцях руйнується ДНК ядерцевого організатора та, враховуючи той факт, що ядрецце є місцем утворення рибосом, припиняється формування останніх. Чому не відбувається руйнування навколядерцевого хроматину, який більшість дослідників вважає гетерохроматином ядерцевого організатора [148, 266], під час проведення гістологічних та гістохімічних досліджень нами з'ясовано не було.

Руйнування базальної мембрани крипт та їх епітелію в подальшому (у першу чергу у собак з підгострим перебігом хвороби) призводило до

часткового, а потім і повного руйнування частини крипт, внаслідок чого значно порушувалась організація слизової оболонки в їх ділянці. Зруйновані крипти заміщувалися волокнистою сполучною тканиною (рис. 4.2.27).

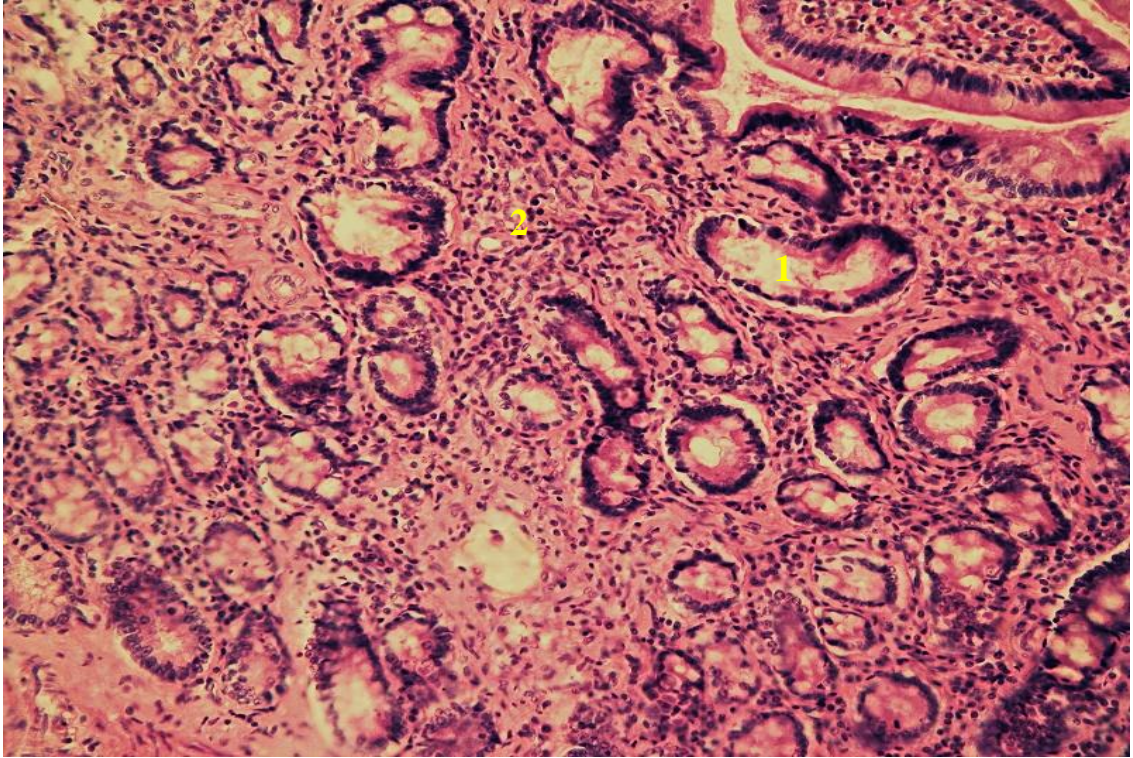


Рис. 4.2.27. Порожня кишка собаки, що загинула від спонтанної кишкової форми парвовірусної інфекції: 1 – крипта; 2 – розростання сполучнотканинної стромы слизової оболонки. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 200$.

Деякі епітеліоцити крипт, які залишилися інтактними, витягували вздовж базальної мембрани та набували видовженої форми. На нашу думку, така зміна форми епітеліальних клітин була компенсаторно-приспосувальною реакцією у відповідь на видалення із загального епітеліального пласту частини клітин.

У собак, що загинули від спонтанної кишкової форми парвовірусної інфекції, гістохімічні зміни в усіх шарах кишкової стінки були аналогічні таким як у собак за експериментального відтворення цієї хвороби.

При цьому у сліпій і ободовій кишках собак, які загинули від спонтанної кишкової форми парвовірусної інфекції, мікроскопічні зміни в серозній оболонці нами встановлені не були. Водночас у м'язовій оболонці, підслизовій

основі (включаючи поодинокі та скупчені лімфоїдні вузлики) мікроскопічні зміни були аналогічні таким як за експериментального відтворення хвороби.

Натомість мікроскопічні зміни у слизовій оболонці сліпої й ободової кишок собак, які загинули від спонтанної кишкової форми парвовірусної інфекції, кардинально відрізнялися від аналогічних змін у собак, що загинули за експериментального перебігу хвороби. Так, слизова оболонка була нерівномірно помірно інфільтрована лімфоцитами, меншою кількістю моноцитів та поодинокими нейтрофілами й еозинофілами. При цьому на окремих ділянках сліпої й ободової кишок така інфільтрація була майже повністю відсутня. Просвіти багатьох крипт були розширені (рис. 4.2.28). Спостерігали гіперплазію келихоподібних клітин, гіпертрофію частини з них та гіперсекрецію слизу, який не тільки вкривав поверхню епітелію слизової оболонки, але й у великій кількості знаходився у просвіті багатьох крипт. Руйнування та некроз слизової оболонки, які виявлялися за експериментального відтворення хвороби у собак, які загинули від спонтанної кишкової форми парвовірусної інфекції, нами в жодному випадку не встановлено. Також у жодному з випадків у ядрах епітеліальних клітин крипт сліпої й ободової кишок не було знайдено еозинофільних тілець-включень. Проте ці клітини перебували у стані зернистої, рідше – гідропічної дистрофії. Частина дистрофічно змінених клітин руйнувалась чи відділялась від базальної мембрани у просвіт. На нашу думку, такі дистрофічні зміни епітеліоцитів зумовлені розладами кровообігу, а саме – венозною гіперемією, яку спостерігали у підслизовій основі, що перешкоджало нормальному відведенню продуктів метаболізму клітин та надходженню поживних речовин і, особливо, кисню.

Поряд з дистрофічними змінами епітелію у багатьох криптах виявляли помірні набряки строми та субепітеліальні набряки. Частина дистрофічно змінених клітин руйнувалась чи відділялась від базальної мембрани у просвіт (див. рис. 4.2.28).

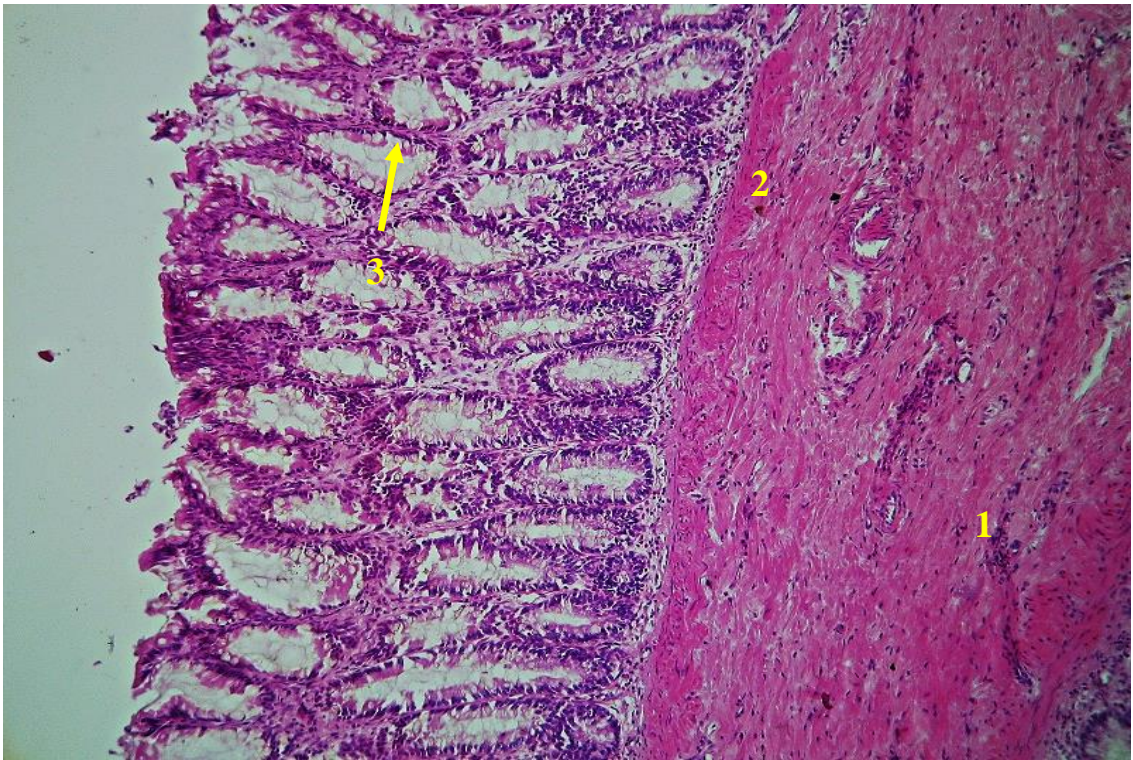


Рис. 4.2.28. Ободова кишка собаки, що загинула від спонтанної кишкової форми парвовірусної інфекції: 1 – зерниста дистрофія гладких м'язових клітин м'язової оболонки; 2 – зерниста дистрофія гладких м'язових клітин м'язової пластинки слизової оболонки; 3 – руйнування епітеліоцитів крипти. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 50$.

У просвіті ободової кишки поблизу поверхні слизової оболонки знаходили досить невелику кількість клітинного детриту та невеликі за розмірами фрагменти епітелію на різних стадіях некрозу й руйнування. Між такими фрагментами нерідко виявляли слиз.

У прямій кишці спостерігали зернисту дистрофію гладких м'язових клітин м'язового шару та розширення й переповнення кров'ю кровоносних судин.

4.2.2. Мікроскопічні зміни в інших органах

Під час проведенні гістологічних досліджень *т и м у с а* собак, які загинули від кишкової форми парвовірусної інфекції, встановлено, що всі кровоносні судини органа були розширені, переповнені кров'ю. Строма органа та часточки тимуса були виразно набряклі (рис. 4.2.29; 4.2.30).

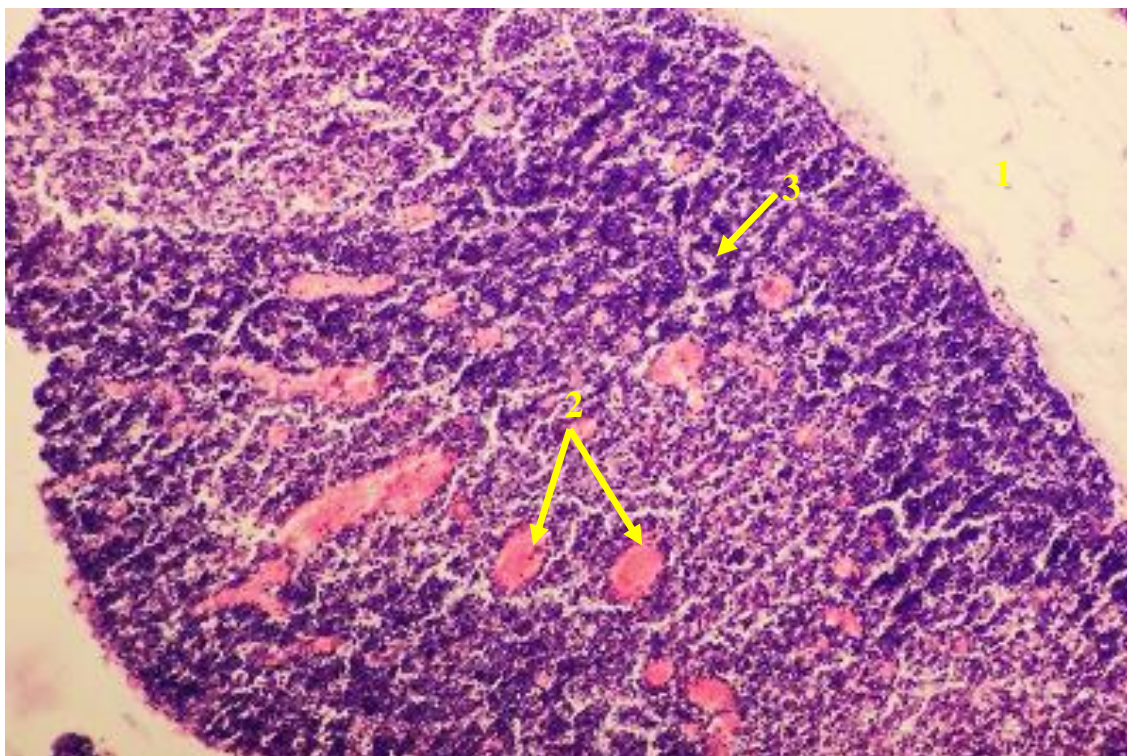


Рис. 4.2.29. Тимус собаки, що загинула від спонтанної кишкової форми парвовірусної інфекції: 1 – набряк строми; 2 – розширені, переповнені кров'ю кровоносні судини; 3 – набряк часточки тимуса. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 50$.

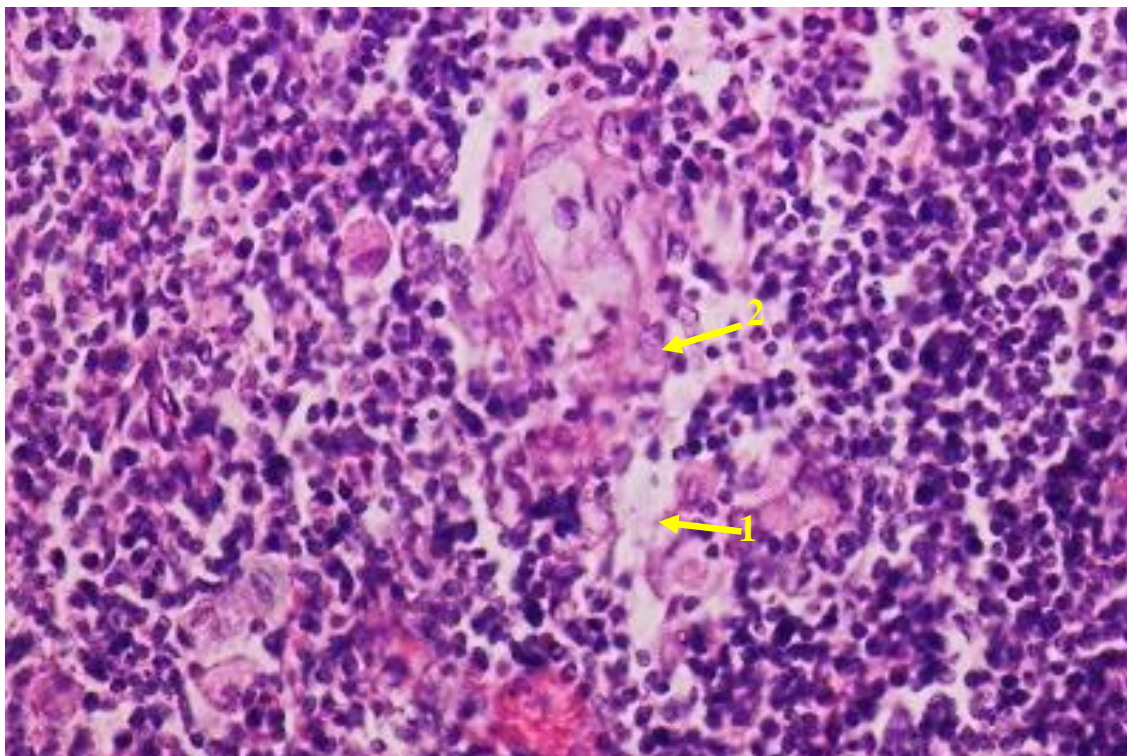


Рис. 4.2.30. Фрагмент часточки тимуса собаки, що загинула від спонтанної кишкової форми парвовірусної інфекції: 1 – набряк; 2 – дезорганізація тимічного тільця. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 400$.

Частина тимусних тілець була дезорганізована внаслідок дисконфлексії й руйнування частини клітин, що їх утворювали (див. рис. 4.2.30). У кірковій речовині тимусу окремих тварин виявляли невеликі за розмірами осередки некрозу лімфоцитів, які охоплювали 3 – 11 розташованих поряд клітин. Частина лімфоцитів містили внутрішньоядерні еозинофільні тільця-включення.

В усіх досліджених нами соматичних і вісцеральних *лімфатичних вузлах* мікроскопічні зміни були подібними. При цьому в капсулі таких змін встановлено не було. Хілярні та капсулярні трабекули також не були змінені. Всі кровоносні судини лімфатичних вузлів, навіть найдрібніші капіляри, виразно розширені (рис. 4.2.31). Стінки великих кровоносних судин як артеріальної, так і венозної частини кровоносного русла, були слабо чи помірно набрякли.

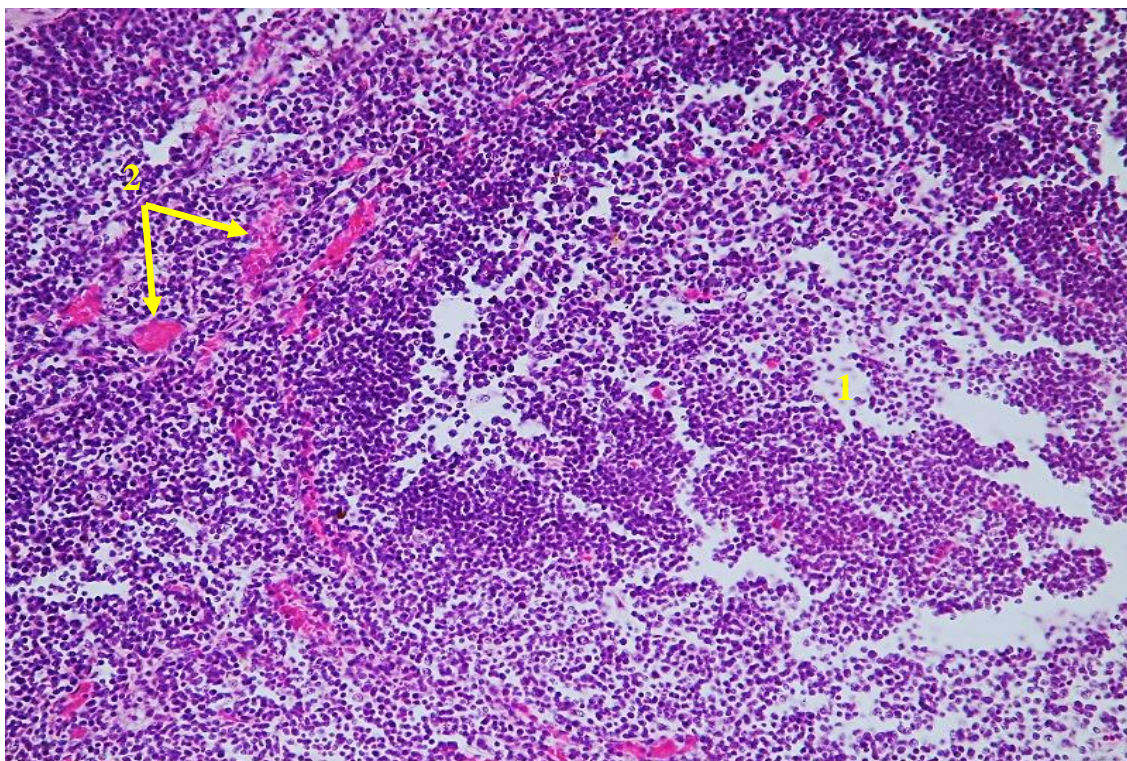


Рис. 4.2.31. Поверхневий шийний лімфовузол собаки, що загинула від спонтанної кишкової форми парвовірусної інфекції: 1 – лімфоїдний вузлик; 2 – розширені, переповнені кров'ю кровоносні судини. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 100$.

Воротний, субкапсулярний (рис. 4.2.32), проміжні кіркові та проміжні мозкові синуси були звужені, містили лімфоцити, а також моноцити та макрофаги. Кіркова речовина були дифузно слабо чи помірно набрякла (див. рис. 4.2.32). Ця речовина містила велику кількість лімфоцитів, серед яких виявлялися моноцити, макрофаги та еозинофіли, розташовані поодинокі чи невеликими групами (рис. 4.2.33).

При цьому переважна більшість лімфоїдних вузликів не мали світлих центрів. Натомість в центральній частині багатьох з них знаходили досить великі осередки некрозу лімфоцитів (рис. 4.2.34). Частина лімфоцитів лімфоїдних вузликів містила внутрішньоядерні еозинофільні тільця-включення.

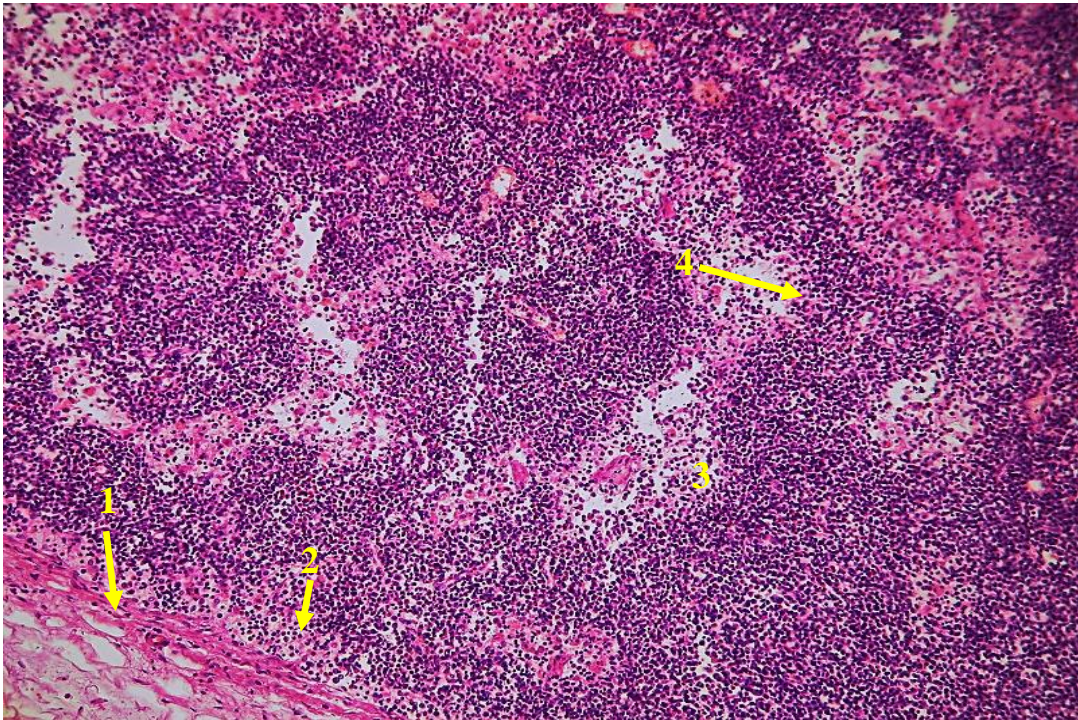


Рис. 4.2.32. Передлопатковий лімфовузол собаки, що загинула від спонтанної кишкової форми парвовірусної інфекції: 1 – капсула; 2 – субкапсулярний синус; 3 – кіркова речовина; 4 – набряк. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 100$.

У селезінці собак, які загинули від кишкової форми парвовірусної інфекції, мікроскопічних змін у капсулі та трабекулах не виявлено. Клітини їх щільної волокнистої та гладкої м'язової тканин помітних змін не мали. Водночас кровоносні судини червоної пульпи були виразно розширені, переповнені кров'ю. У цій пульпі спостерігали набряк і руйнування великої

кількості еритроцитів з відкладенням залізовмісного пігменту гемосидерину (див. рис. 4.2.35).

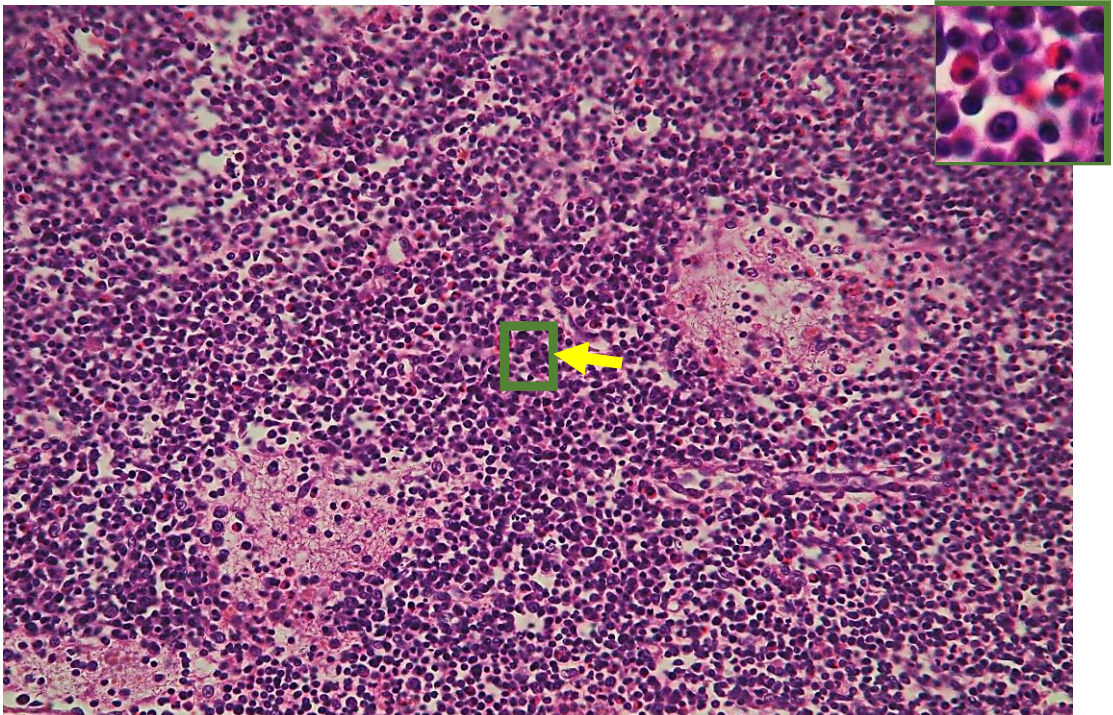


Рис. 4.2.33. Кіркова речовина печінкового лімфовузла собаки, що загинула від спонтанної кишкової форми парвовірусної інфекції: еозинофіли (показано стрілкою). Гематоксилін Караці та еозин, $\times 100$.

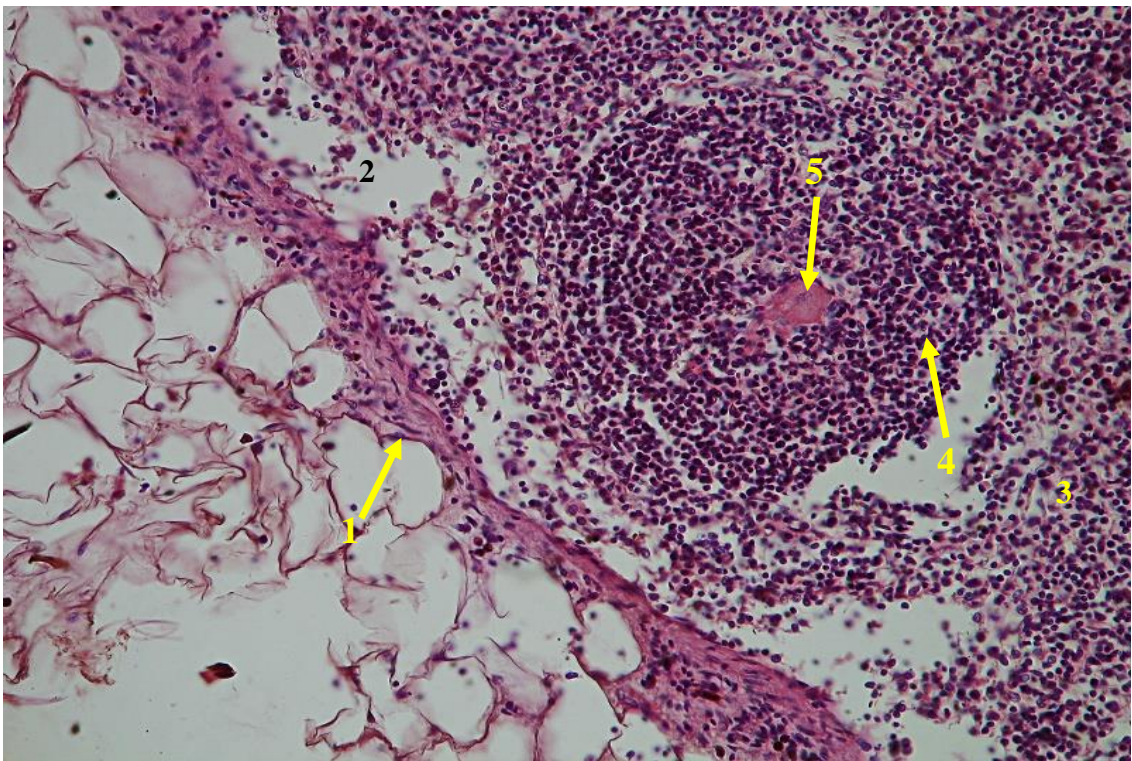


Рис. 4.2.34. Кишковий лімфовузол собаки, що загинула від спонтанної кишкової форми парвовірусної інфекції: 1 – капсула; 2 – субкапсулярний синус; 3 – кіркова речовина; 4 – лімфоїдний вузлик; 5 – вогнище некрозу лімфоцитів. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 100$.

У лімфоїдних вузликах селезінки виявляли руйнування й некроз частини лімфоцитів. У ядрах частини лімфоцитів спостерігали еозинофільні тільця-включення (рис. 4.2.36). Місцями виявляли еозинофіли, розташовані поодинокі або ж групками з 2 – 5 клітин.

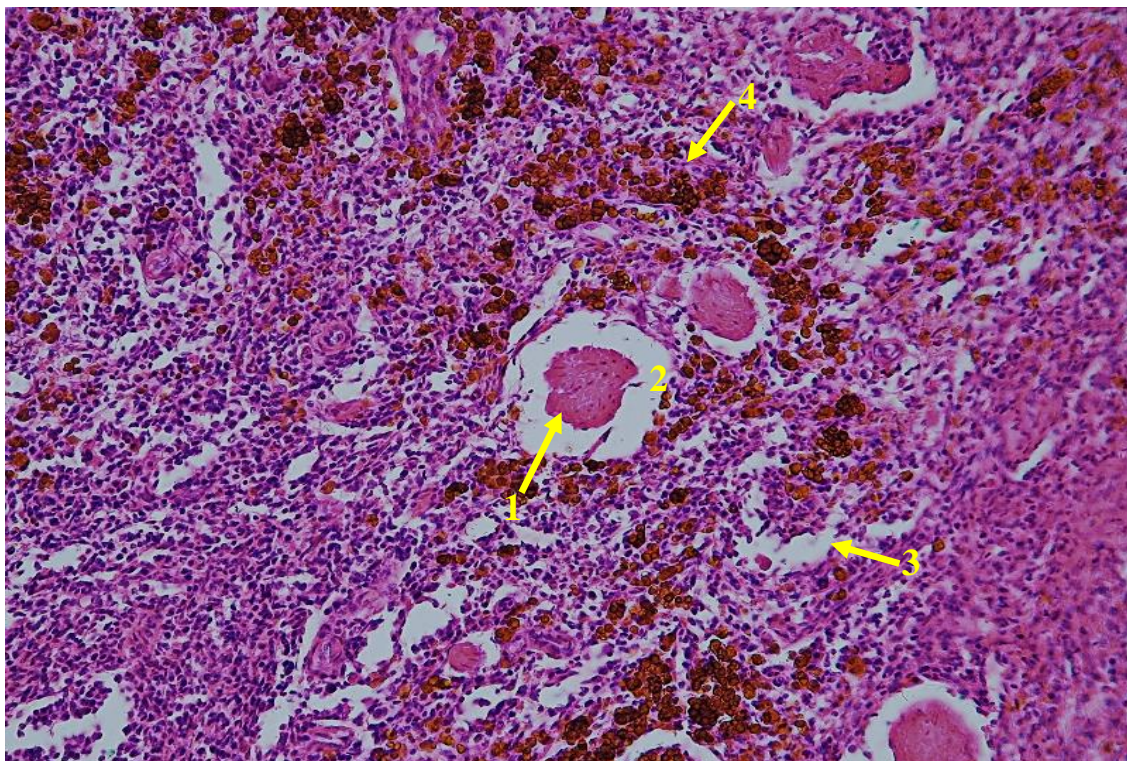


Рис. 4.2.35. Селезінка собаки, що загинула від спонтанної кишкової форми парвовірусної інфекції: 1 – трабекула; 2 – перитрабекулярний набряк; 3 – набряк червоної пульпи; 4 – руйнування еритроцитів із відкладенням гемосидерину. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 100$.

Під час проведення гістологічних досліджень *печінки* собак, які загинули від спонтанної кишкової форми парвовірусної інфекції, мікроскопічна будова її капсули не була змінена. Будь-які патологічні зміни з боку міжчасточкової сполучної тканини відсутні. Артерії, вени та жовчні протоки печінкових тріад також не мали мікроскопічних змін.

Проте досить виразних змін зазнавали гепатоцити. Частина цих клітин знаходилась у стані зернистої дистрофії (див. рис. 4.2.37). Вони були збільшені за рахунок збільшення об'єму цитоплазми, яка була тьмяною, мутною та містила білкові зернята різних розмірів та форми. У частині клітин ядра диференціювались погано чи взагалі не виявлялись.

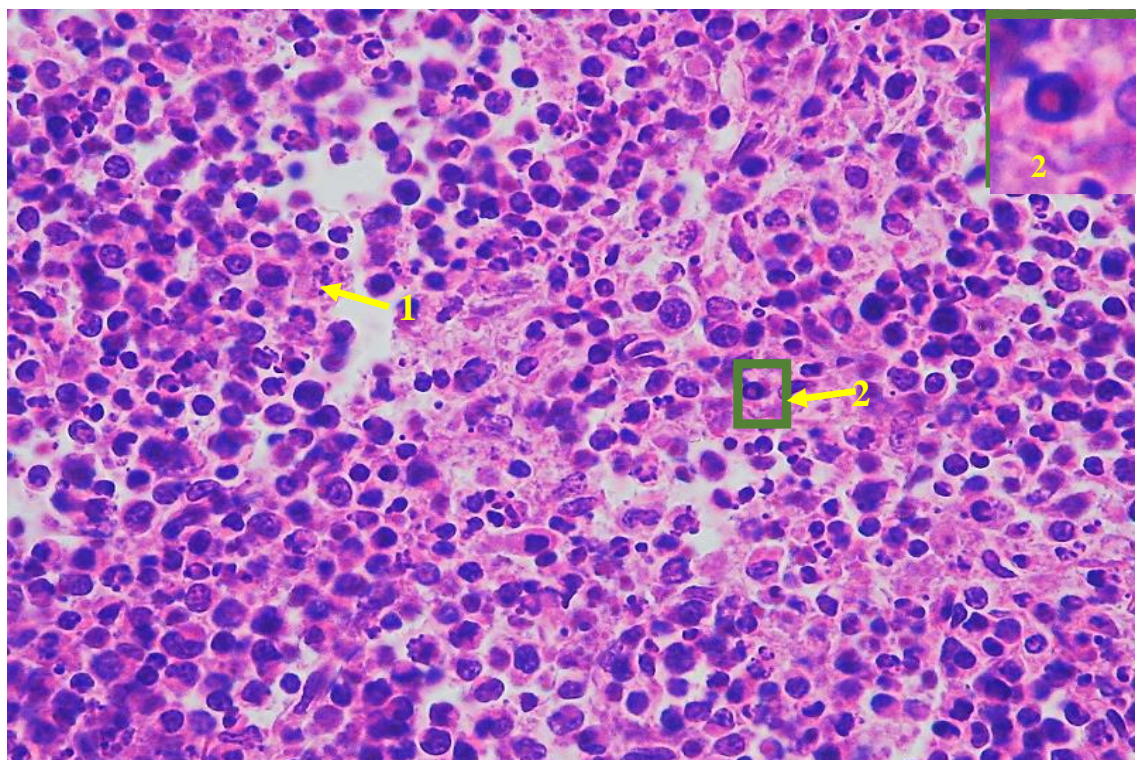


Рис. 4.2.36. Фрагмент лімфоїдного вузлика селезінки собаки, що загинула від спонтанної кишкової форми парвовірусної інфекції: 1 – руйнування та некроз лімфоцитів; 2 – еозинофільне тільце-включення в ядрі лімфоцита. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 1000$.

Частина гепатоцитів перебувала у стані гідропічної дистрофії (див. рис. 4.2.37), при якій у цитоплазмі утворювались вакуолі різних розмірів і форми, що не зафарбовувались еозином. Кількість і розміри таких вакуолей в різних клітинах була різною, а в окремих печінкових клітинах спостерігали повний їх плазмоліз.

Частина дистрофічно змінених гепатоцитів перебувала на різних стадіях руйнування. За рахунок збільшення розмірів дистрофічно змінених гепатоцитів відбувалося зменшення просвіту багатьох внутрішньочасточкових капілярів, аж до повного їх зникнення. Аналогічних змін зазнавали й простору Діссе. Збільшення розміру гепатоцитів та руйнування частини дистрофічно змінених клітин призводило до порушення впорядкованої пластинчастої будови печінкових часточок.

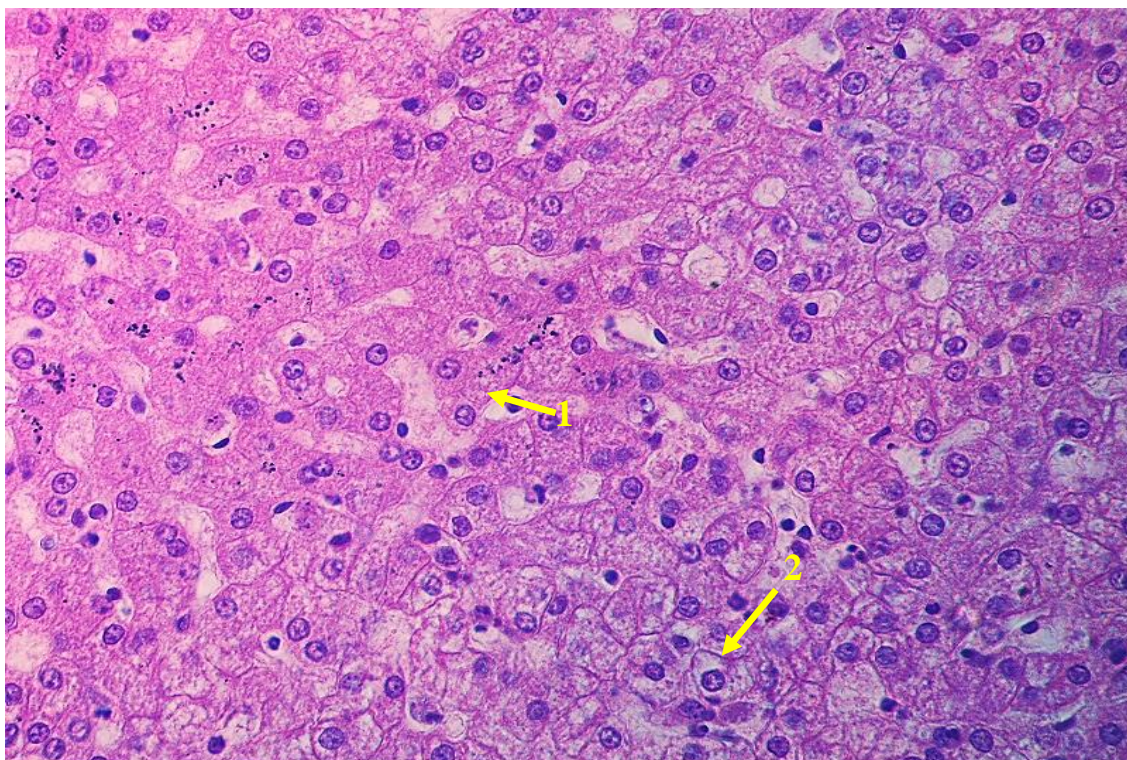


Рис. 4.2.37. Печінка собаки, що загинула від спонтанної кишкової форми парвовірусної інфекції: 1 – зерниста дистрофія гепатоцитів; 2 – гідропічна дистрофія гепатоцитів. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 1000$.

Змін з боку Купферових клітин, у тому числі їх гіпертрофію чи гіперплазію, встановлено не були.

У підшлунковій залозі хворих на парвовірусну інфекцію собак спостерігали розширення і переповнення кров'ю судин, виразний набряк міжчасточкової сполучної тканини, в якій місцями виявляли мікрокрововиливи невеликого розміру, чия локалізація яких не мала певної закономірності.

Всі ацинозні клітини перебували у стані виразної зернистої дистрофії. В інсулярних клітинах усіх типів (А-, В-, D-, D₁- і PP-) панкреатичних острівців спостерігали виразні дистрофічні зміни, які свідчили про порушення в них обміну білкових речовин (зерниста та гідропічна дистрофії). Частина клітин усіх типів руйнувалась (рис. 4.2.38).

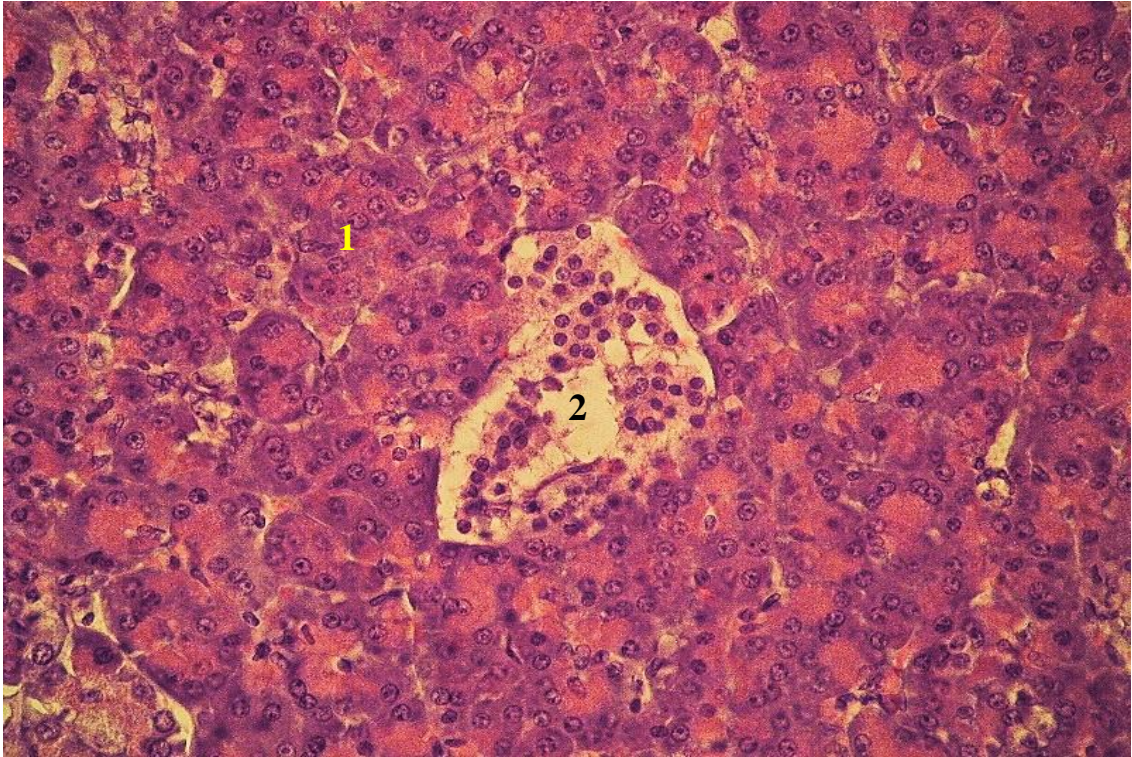


Рис. 4.2.38. Підшлункова залоза собаки при спонтанній кишковій формі парвовірусної інфекції: 1 – зерниста дистрофія панкреатоцитів; 2 – зерниста дистрофія та руйнування клітин всіх типів панкреатичного острівця. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 100$.

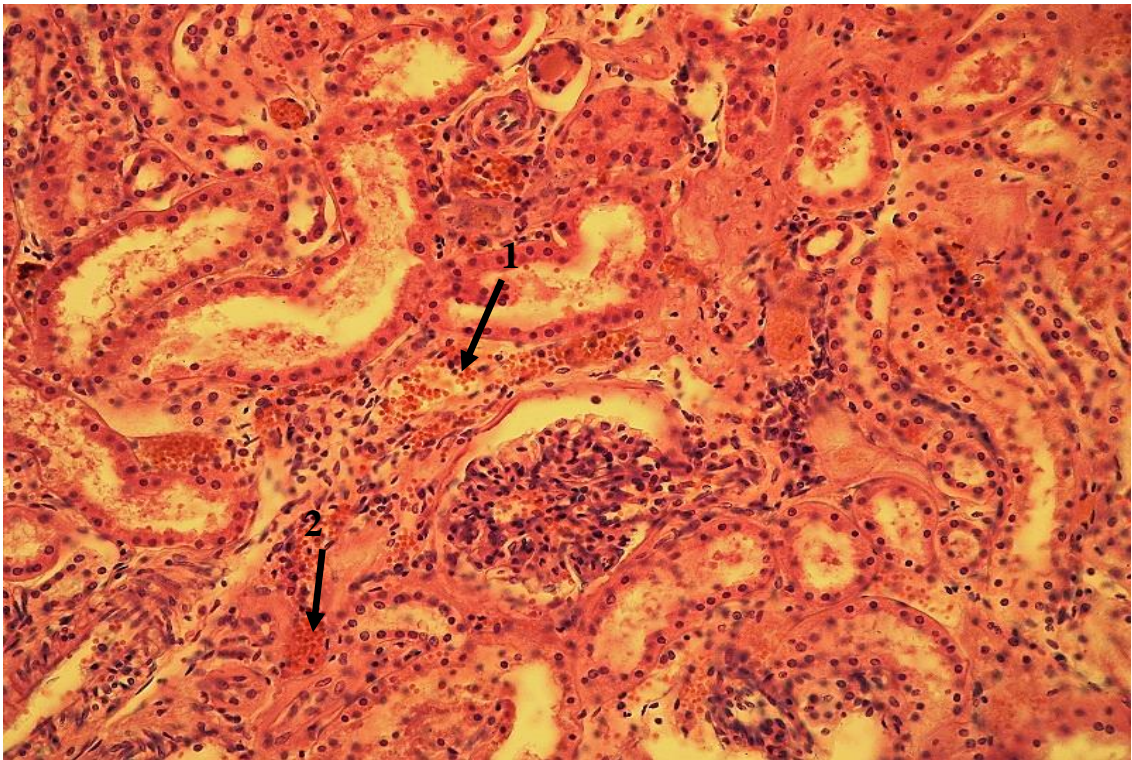


Рис. 4.2.39. Кіркова речовина нирки собаки за спонтанної кишкової форми парвовірусної інфекції: 1 – розширена, переповнена кров'ю вена; 2 – крововилив у струму нирки. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 100$.

У стромі *нирок* під час проведення гістологічних досліджень виявлено розширення й переповнення кров'ю вен і крововиливи в строму (рис. 4.2.39). У ниркових тільцях реєстрували екстракапілярний серозний гломерулїт. При цьому в деяких випадках, концентрація білків у ексудаті, який накопичувався у просвіті капсули ниркового тільця, була настільки великою, що він починав зафарбовуватися еозином. У клубочках виявляли розширення та переповнення кров'ю капілярів. Частина клубочків була повністю чи частково дезорганізована, поряд з чим реєструвалось потовщення зовнішнього листка капсули ниркового тільця (див. Рис. 4.2.40).

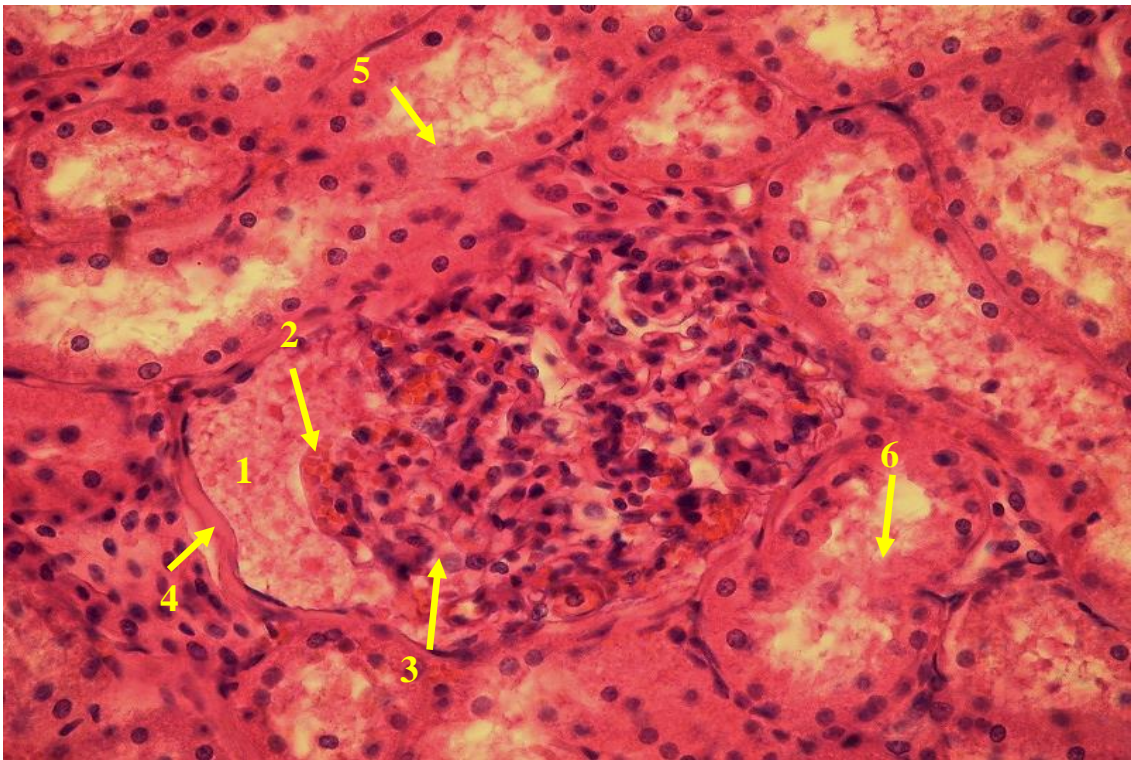


Рис. 4.2.40. Екстракапілярний фібринозний гломерулїт собаки за спонтанної кишкової форми парвовірусної інфекції: 1 – ексудат у порожнині капсули ниркового тільця; 2 – розширення та переповнення кров'ю капілярів клубочка; 3 – часткова дезорганізація клубочка; 4 – потовщення зовнішнього листка капсули ниркового тільця; 5 – зерниста дистрофія епітелію звивистого каналця; 6 – білкова речовина у просвіті звивистого каналця. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 400$.

У звивистих каналцях виявлено зернисту дистрофію епітеліоцитів та наявність у їх просвіті білкової речовини, яка досить інтенсивно

зафарбовувалась еозином (див. рис. 4.2.40). Аналогічні зміни встановлено і в прямих каналцях.

Під час проведення гістологічних досліджень *серця* було встановлено, що в епікарді та ендокарді мікроскопічні зміни були відсутні, тоді як будова міокарда дещо відрізнялася від такої як у контрольних тварин.

Тут спостерігали слабкий вогнищевий набряк строми і зернисту дистрофію кардіоміоцитів, а також розволокнення та фрагментацію м'язових волокон органа (рис. 4.2.41).

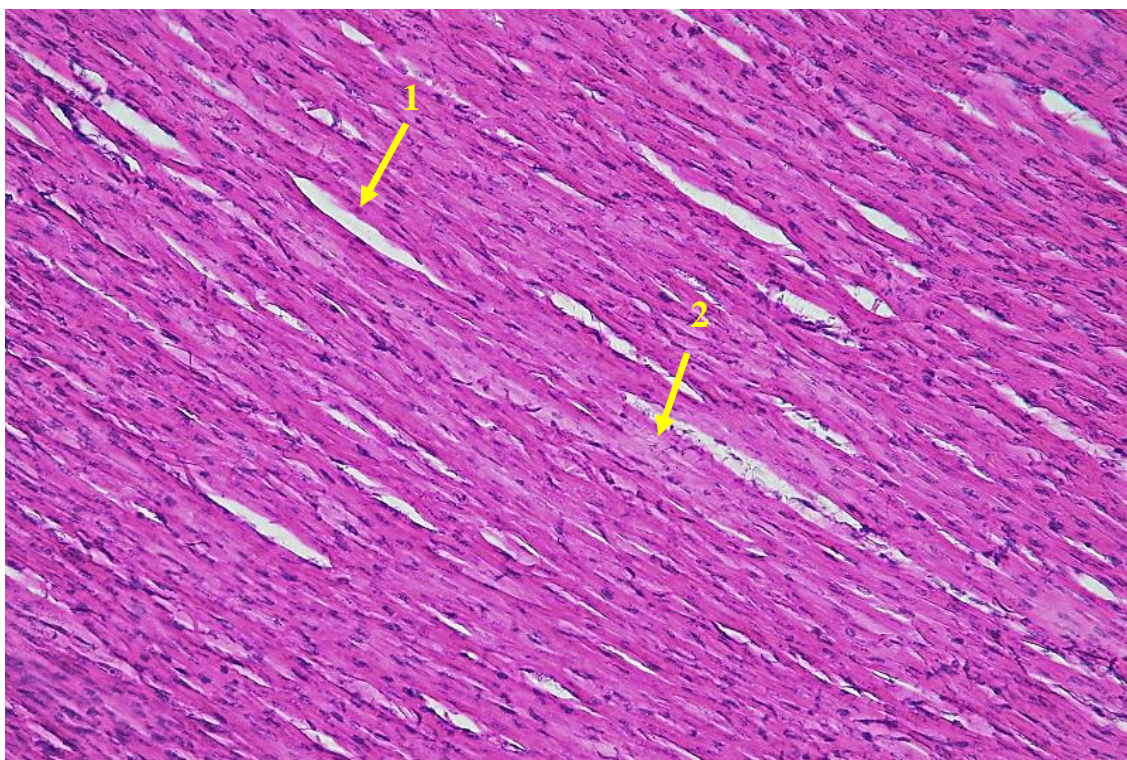


Рис. 4.2.41. Міокард собаки, що загинула від спонтанної кишкової форми парвовірусної інфекції: 1 – осередок набряку; 2 – зерниста дистрофія кардіоміоцитів. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 100$.

У *легенях* спостерігали наявність мікроскопічних змін, характерних для венозного застою та набряку цього органа. Всі вени паренхіми та строми були розширені, переповнені кров'ю. У просвіті багатьох з них виявлялись склеювання еритроцитів (сладж-феномен). Застій крові знаходили у кровоносних капілярах стінок альвеол (рис. 4.2.42). Стінки великих артерій та

вен були набряклими. Особливо виразно такий набряк проявлявся в адвентиції кровоносних судин і менш виразно – у медії.

Набряк медії супроводжувався появою морфологічних ознак зернистої дистрофії її гладких м'язових клітин, а набряк адвентиції – потовщенням, гомогенізацією й фрагментацією колагенових волокон, а також дисконлексацією та руйнуванням частини фіброцитів. Навколо багатьох кровоносних судин утворювалися порожнини різних розмірів, переважно округлої чи овальної форми, заповнені набряковою рідиною. У ділянках легень, розташованих поряд з такими порожнинами, спостерігали частіше частковий, рідше – повний компресійний ателектаз. У просвіті багатьох альвеол виявляли злушені альвеолоцити різних типів, а в окремих з них містилась набрякова рідина у вигляді гомогенної чи ніжно-зернистої зафарбованої еозином речовини (рис. 4.2.43). Краї таких ділянок часто не мали чітких границь.

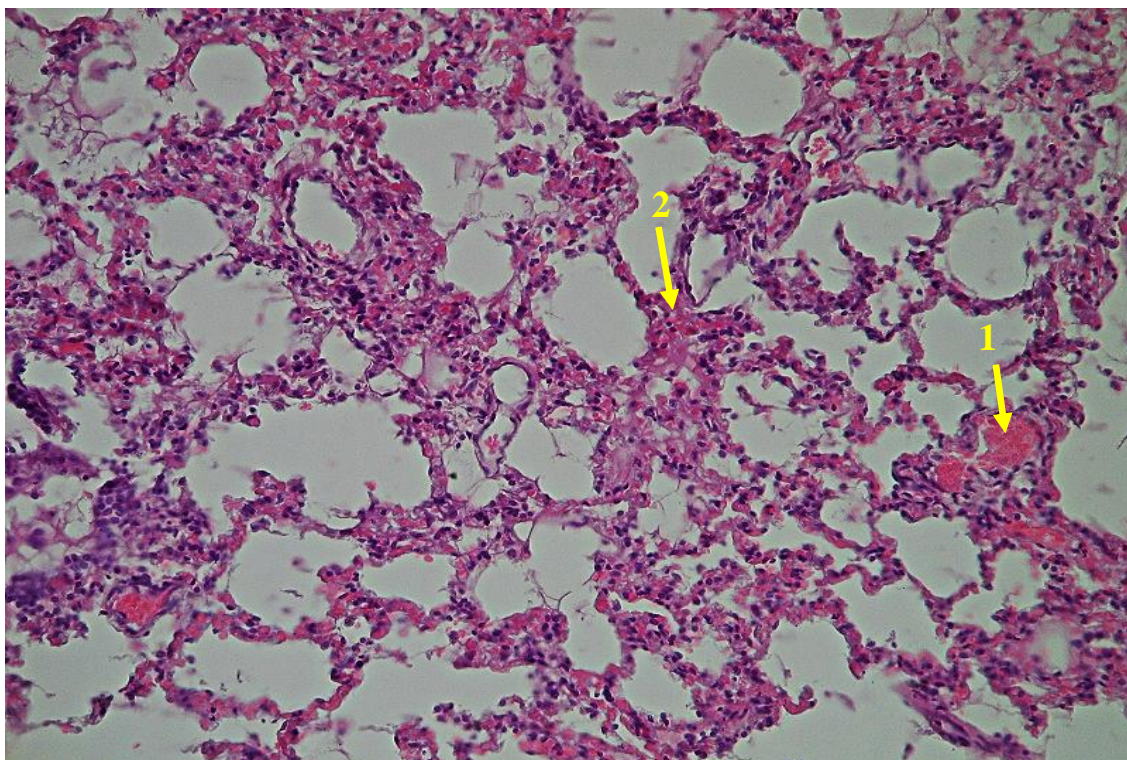


Рис. 4.2.42. Легені собаки, що загинула від спонтанної кишкової форми парвовірусної інфекції: 1 – розширена й переповнена кров'ю вена; 2 – застій крові у стінці альвеоли. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 100$.

У частини великих бронхів виявлено нерівномірний, помірний набряк їх стінок, а місцями – невеликі за розмірами осередки субепітеліального набряку. Бронхіальний хрящ під час проведення гістологічних досліджень в усіх випадках виглядав не зміненим. Особливо сильний набряк був виявлений у міжчасточковій сполучній тканині. При цьому проміжки між часточками були збільшені в декілька разів, а сполучнотканинні клітини та волокна розташовувались у вигляді окремих, не зв'язаних між собою досить тонких тяжів.

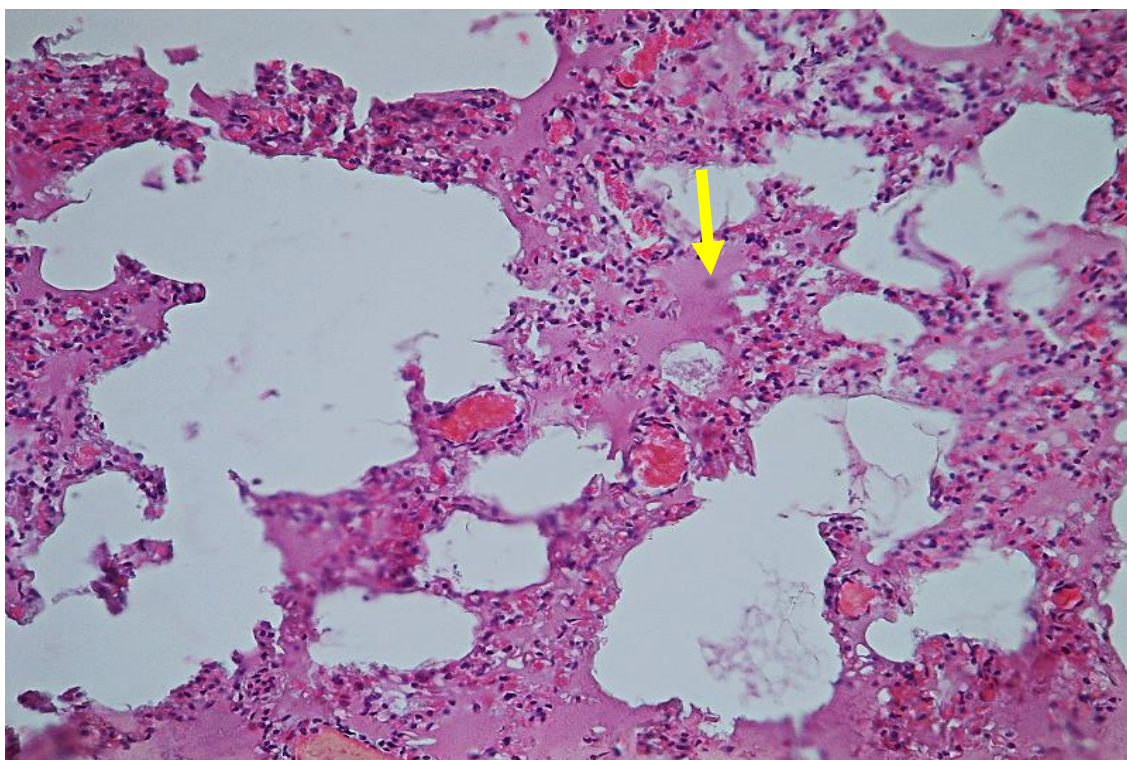


Рис. 4.2.43. Легені собаки, що загинула від спонтанної кишкової форми парвовірусної інфекції: набрякова рідина в просвіті альвеоли (показано стрілкою). Гематоксилін Караці та еозин, $\times 100$.

За гістологічного дослідження *г о л о в н о г о і с п и н н о г о м о з к у* собак, які загинули від спонтанної кишкової форми парвовірусної інфекції, зміни в них були аналогічними. Кровоносні судини м'якої мозкової оболонки розширені, переповнені кров'ю, а сама мозкова оболонка – виразно набрякла (рис. 4.2.44). У сірій і білій речовинах великих півкуль спостерігали периваскулярні набряки та розширення й переповнення кров'ю багатьох судин

(рис. 4.2.45). Цитоплазма ендотеліоцитів багатьох кровоносних капілярів нерівномірно зафарбована, внаслідок чого нерідко набувала пінистого вигляду. У частини таких ендотеліальних клітин у цитоплазмі виявляли базофільні ділянки. Внаслідок виразного перичелюлярного набряку багато нервових клітин втрачали зв'язок з глією (див. рис. 4.2.45). Частина нейроцитів великих півкуль головного мозку перебувала у стані базofilії, іноді виявляли нейронофагію.

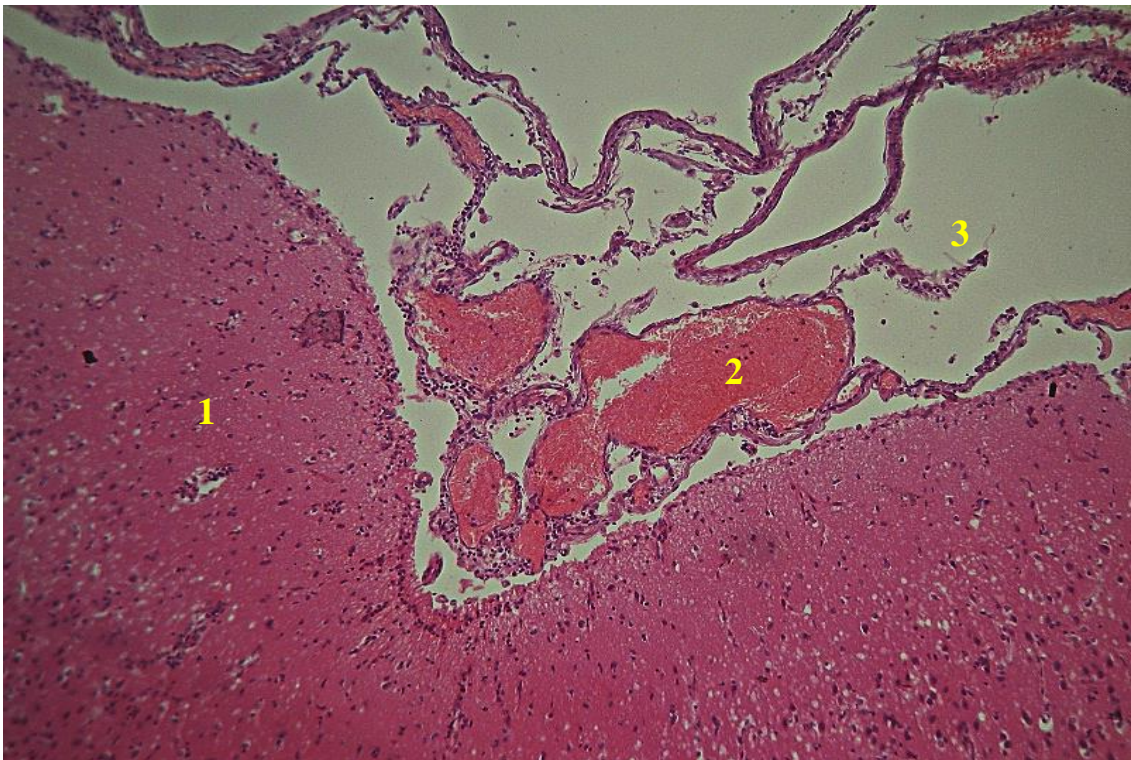


Рис. 4.2.44. Велика півкуля головного мозку собаки, що загинула від спонтанної кишкової форми парвовірусної інфекції: 1 – речовина мозку; 2 – розширення та переповнення кров'ю кровоносної судини м'якої мозкової оболонки; 3 – набряк м'якої мозкової оболонки. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 100$.

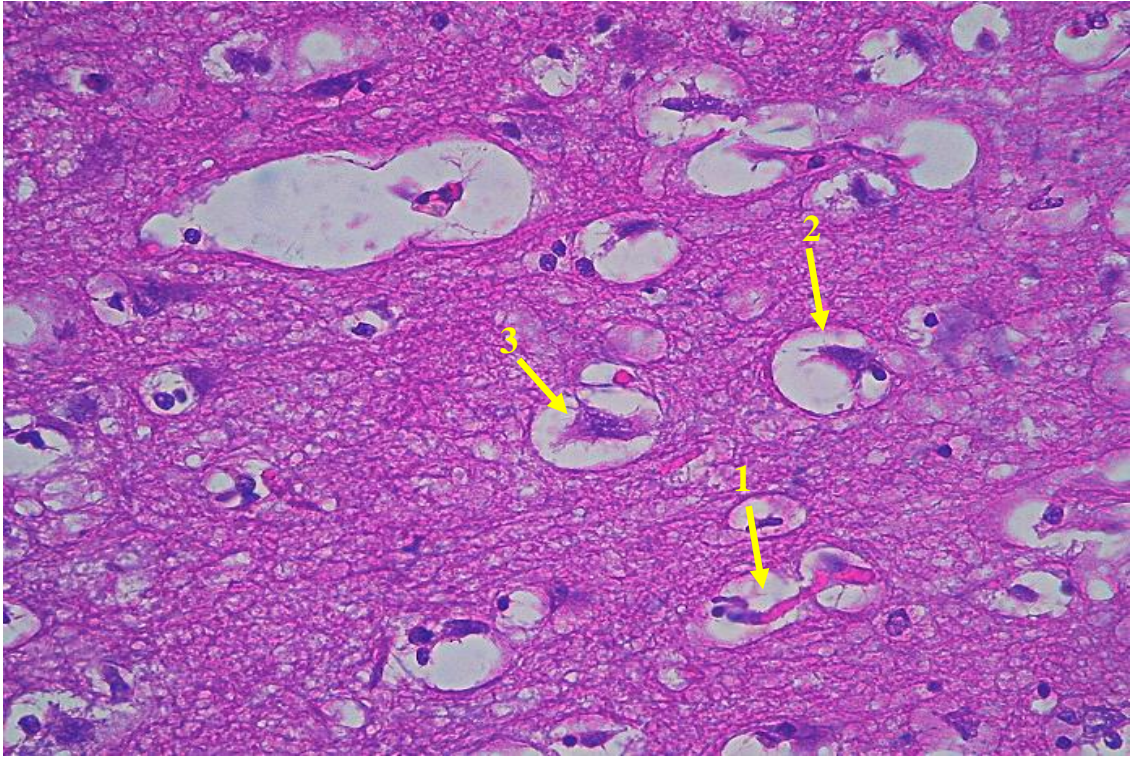


Рис. 4.2.45. Головний мозок собаки, що загинула від кишкової форми парвовірусної інфекції: 1 – периваскулярний набряк; 2 – перицелюлярний набряк; 3 – втрата зв'язку нервової клітини з прилеглою глією. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 80$.

Результати підрозділу 4.2 висвітлені в наукових працях [58, 157, 158, 227, 245, 251].

РОЗДІЛ 5. ЕКСПЕРЕМЕНТАЛЬНА ІНФЕКЦІЯ

5.1. Виділення польового ізоляту ПВС та КВС, підготовка вірусомісного патматеріалу для мікробіологічних і вірусологічних досліджень

У ветеринарних клініках у разі виявлення собак, яким за клінічним анамнезом (рис. 5.1) дозволяли зробити попередній діагноз – парвовірусна або коронавірусна інфекція, піддавали дослідженню у ІХА на вірусні інфекції, а саме парвовірусну, коронавірусну, аденовірусну, ротавірусну, пароміксовірусну.

Загальними клінічними ознаками парвовірусного ентериту були – інколи субфібрильна температура тіла на початку розвитку хвороби, погіршення апетиту, малорухливість, рідкі фекалії, тьмяність шерстного покриву (рис. 5.1.А), втрата апетиту тощо.

До специфічних ознак, на нашу думку, можна віднести блювоту з домішками жовчі, у фекаліях помітні слизові тягучі густої консистенції прозорі тяжі, у подальшому криваві, а в термінальну стадію хвороби вже з'являється геморагічний ентерит. Також спостерігали, що за парвовірусної інфекції геморагічні виділення (рис. 5.1.В) мають світло - червоний колір, а в разі захворювань іншого генезу, наприклад, паразитарного – темно - червоний.



А



В



С

Рис. 5.1 Зовнішній вигляд собак, інфікованих ПВЕ.

На нашу думку, можна вважати додатковою специфічною клінічною ознакою утягнутість черева (рис. 5.1.С). Також враховували стадію розвитку парвовірусної інфекції, яка певною мірою характеризувалась інтенсивністю забарвлення геморагічних виділень. За початку розвитку парвовірусного ентериту виявляли ураження в одному з первинних вогнищ локалізації та репродукції вірусу – у тонкому кишечнику. При цьому кров'яні виділення проходили через товстий відділ кишечника, за рахунок чого фекалії мали геморагічні тяжі темно - червоного забарвлення. За глобального ураження організму парвовірусом реєстрували ураження і товстого відділу кишечника, за рахунок чого виділення мали більш світле, червоно-коричнєве забарвлення.

Дослідження на виявлення моноінфекції парвовірусом проводили шляхом ІХА (тест смужки), використовуючи діагностичні тест-системи *VetExpert (CAV Ag, CDV Ag, CPV/CCV Ag та Rota Ag)* (рис. 5.2).



Рис. 5.2 Результат ІХА (1 - CDV Ag; 2 - CAV Ag; 3 - Rota Ag; 4 - CPV/CCV Ag).

За результатами досліджень ця собака знаходилась у термінальній стадії розвитку парвовірозу, коли лікування було неефективним, тому довелось провести гуманну евтаназію.

Коронавірус був виділений від собаки породи Французький бульдог віком 8 місяців. Власники тварини звернулись зі скаргами на клініку: собака останнім часом була малорухлива, погіршився апетит і часто спостерігали несформованість фекальних мас. Був проведений комплекс досліджень на наявність вірусного антигену за допомогою тест-систем, *VetExpert* (CAV Ag, CDV Ag, CPV/CCV Ag та Rota Ag) і виявлено наявність лише коронавірусу (рис 5.3). Від цієї тварини відібрали ректальний змив, відповідно до правил відбору подібного патологічного матеріалу, та помістили у морозильну камеру за температури t - мінус 24°C .

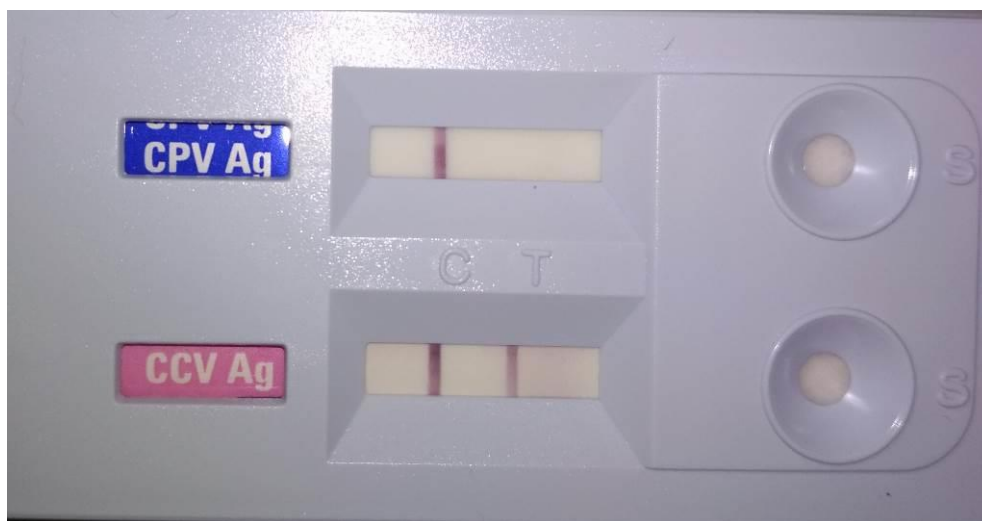


Рис. 5.3 Результат ІХА (CPV/CCV Ag)

Після переморожування у фізіологічному розчині і відтаювання ректальний змив піддавали необхідним антисептичним обробкам, згідно із правилами, щодо таких маніпуляцій. Провівши необхідний комплекс підготовчих робіт, отриманий вірусомісний біоматеріал використовували для вірусологічних досліджень.

5.2. Підготовка вірусомісного патологічного матеріалу для вірусологічних досліджень та мікробіологічний контроль вірусомісного матеріалу

Під час патологоанатомічного розтину трупа собаки, яка загинула від парвовірусної інфекції, відбирали фрагменти тонкого кишечника (довжиною 5 ± 1 см) з умістом від різних його відділів, зокрема дванадцятипалої, порожньої і клубової кишок. Патологічний матеріал поміщали в окремий стерильний пластиковий посуд із стерильним 0,85 % розчином натрію хлориду і наступним поступовим глибоким його заморожуванням. Завдяки поступовому процесу заморожування кристали солі, що утворюються в сольовому розчині, частково руйнують бактеріальну плівку і тим самим полегшують процес елімінації з неї мікробів, що має суттєвий вплив на кількісні та якісні показники мікробіоти шлунково-кишкового тракту собак. Після місячного терміну перебування

патологічного матеріалу в замороженому стані за температури t мінус 24°C з нього готували гомогенат для бактеріологічного дослідження.

Після неповного розморожування, для кращого подрібнення, від кожного відділу тонкого кишечника відрізали фрагменти довжиною $3\pm 0,5$ см і зважували. До кожного із відібраних зразків додавали розчин Хенкса у співвідношенні 1:10 і гомогенізували. З метою осадження грубих тканинних решток, отриману 10 % суспензію центрифугували за 3 тис. об./хв впродовж 15 хв. До надосадової рідини додавали суміш антибіотиків – пеніциліну 200 ОД/мл та стрептоміцину на 1 мг/мл) і витримували за $t + 4^{\circ}\text{C}$ впродовж 90 хв. Після такої обробки антибіотиками із гомогенатів по $0,2$ см³ на поживні середовища для аеробів (МПБ, МПА, Мак-Конкі, Ендо) та анаеробів (середовище Кітт-Тароцці, МПА, за умови інкубації чашок з посівами в анаеробних умовах) з метою встановлення ступеня бактеріальної контамінації гомогенатів, їх знову заморожували.

Гомогенати із значною (понад 150 КУО/см³) бактеріальною контамінацією утилізували, а за незначної контамінації (>5 КУО/см³) використовували для отримання вірусомісного матеріалу.

У попередніх дослідах було встановлено, що для отримання вірусної біомаси і подальших вірусологічних досліджень краще використовувати гомогенати кишечника після одноразової обробки сумішшю згаданих вище антибіотиків, тобто не піддавати їх додатковій обробці підтитрованими антибіотиками.

Дослідження патологічного матеріалу, що був відібраний для вірусологічних досліджень, на ступінь забруднення бактеріальною і грибовою мікрофлорою використовували мікробіологічні методи. Вони дають можливість встановити інтенсивність мікробної контамінації вірусомісного матеріалу і відповідно до цього вжити необхідних заходів, щоб ці мікроорганізми не змогли зіпсувати результати подальших вірусологічних досліджень, а саме накопичення вірусного ізоляту на культурі клітин.

З цією метою оброблені, як було описано вище, гомогенати висівали одночасно на 6–8 середовищах, що дозволяло максимально виділити весь спектр наявної кишкової мікробіоти. Отримані ізоляти кишкової мікробіоти досліджували на чутливість до антибіотиків класичним диско-дифузійним методом.

За результатами мікробіологічного дослідження інтенсивності контамінації гомогенатів кишечника проводили їх обробку відповідними антибіотиками з метою позбавлення гомогенатів від мікробів та їх негативного впливу на подальші вірусологічні дослідження.

У мікробіологічних дослідженнях використовували м'ясо-пептонний бульйон (МПБ) і м'ясо-пептонний агар (МПА) (рис. 5.2.1 та 5.2.8). Для виділення ентеробактерій – диференційно-діагностичне середовище Ендо, на якому їх колонії забарвлюються в малиново-червоний колір з металевим блиском або без нього (рис. 5.2.2, 5.2.7). Соево-казеїновий агар (СКА) використовували для виділення анаеробних мікроорганізмів (рис. 5.2.3).

Для виділення дріжджів та плісневих грибів використовували агар Сабуро (рис. 5.2.4). Для виділення сульфїтвідновлюючих клостридій – агар Вільсон-Блера (рис. 5.2.5), що водночас до певної міри є диференціальним для клостридій, які здатні відновлювати сульфїт натрію, що у високій концентрації входить до складу середовища, до сірководню, який у свою чергу реагує з іонами заліза і зумовлює почорніння середовища. Такої реакції ми не спостерігали, що і свідчить про відсутність клостридій у досліджуваному матеріалі (рис. 5.2.5).

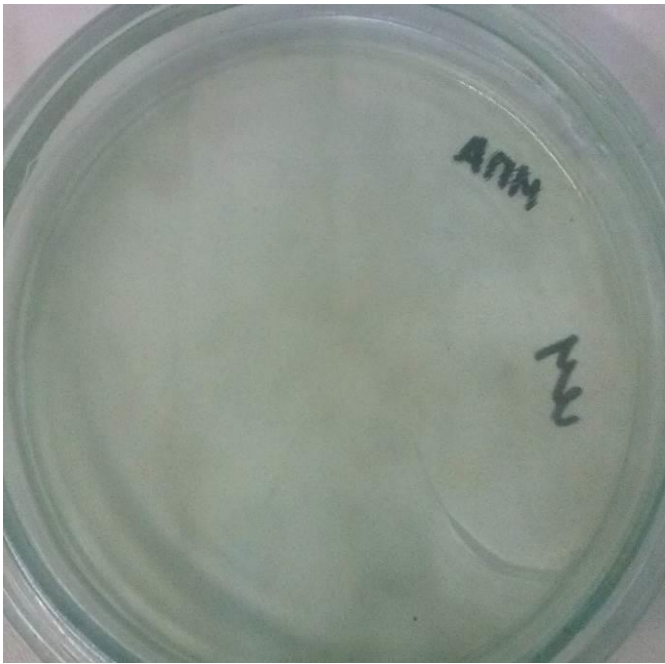


Рис. 5.2.1. Універсальне поживне середовище для контролю росту мікроорганізмів – МПА (м'ясо-пептонний агар).



Рис. 5.2.2. Диференціально-діагностичне середовище для виділення ентеробактерій – Ендо.

Для виділення ентерококів використовували МПА та ЖСА (жовточно-сольовий агар).

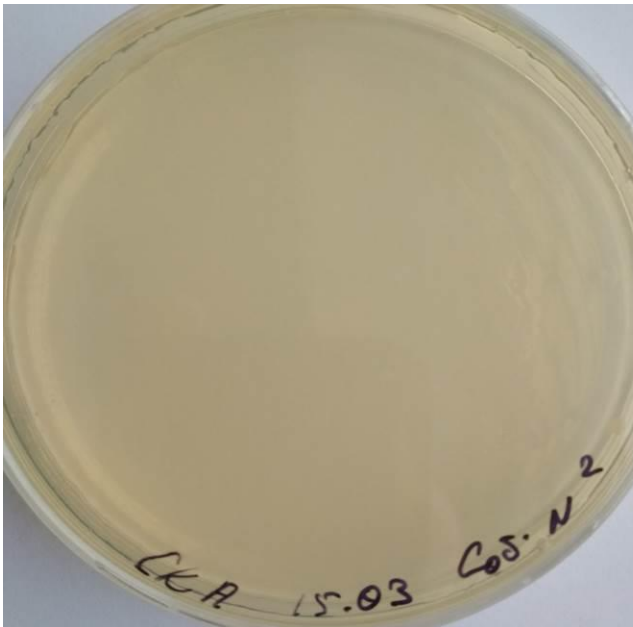


Рис. 5.2.3. Середовище для виділення анаеробів – ЖСА (соево-казеїновий агар).

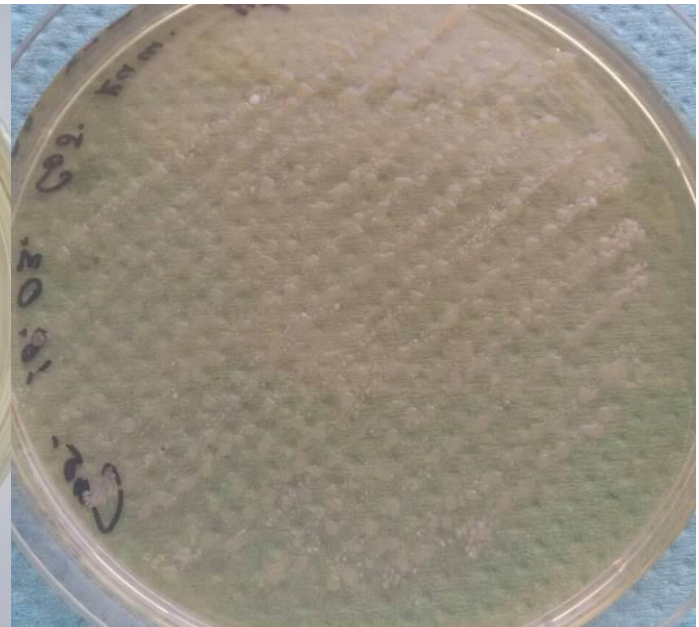


Рис. 5.2.4. Середовище для виділення грибів – агар Сабуро.

Для виділення анаеробних мікроорганізмів використовували регенероване середовище Кітта-Тароцці (рис. 5.2.6), що складається з

м'ясопептонного бульйону, збагаченого екстрактивними продуктами печінки ВРХ і містить шматочки вивареної печінки.

У випадках виявлення бактеріальної контамінації гомогенатів (рис. 5.2.7; рис 5.2.8) проводили визначення чутливості отриманих ізолятів до антибіотиків диско-дифузійним методом (рис. 5.2.9).

За незначної контамінації гомогенатів визначали антибіотикочутливість ізолятів, обробляли ці гомогенати підтитрованими антибіотиками, ще раз висівали на відповідні живильні середовища і лише у випадку отримання негативних результатів гомогенати кишечника використовували у вірусологічних дослідженнях.

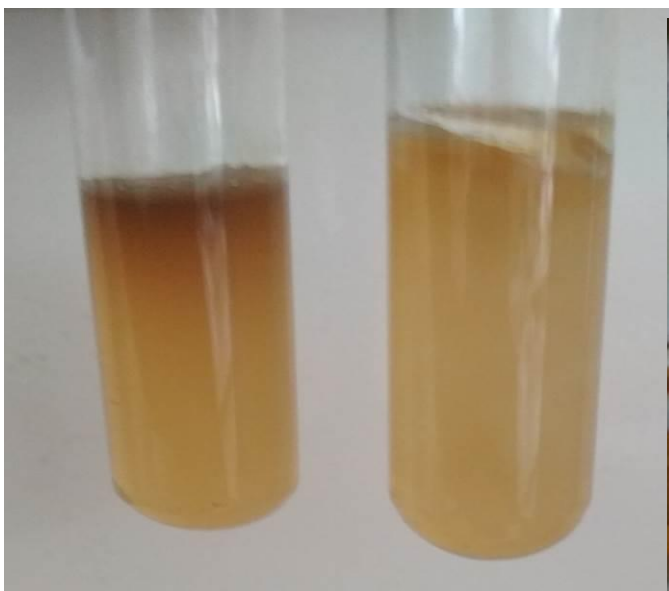


Рис. 5.2.5. Середовище для виявлення сульфитредукуючих клостридій – агар Вільсон-Блера.

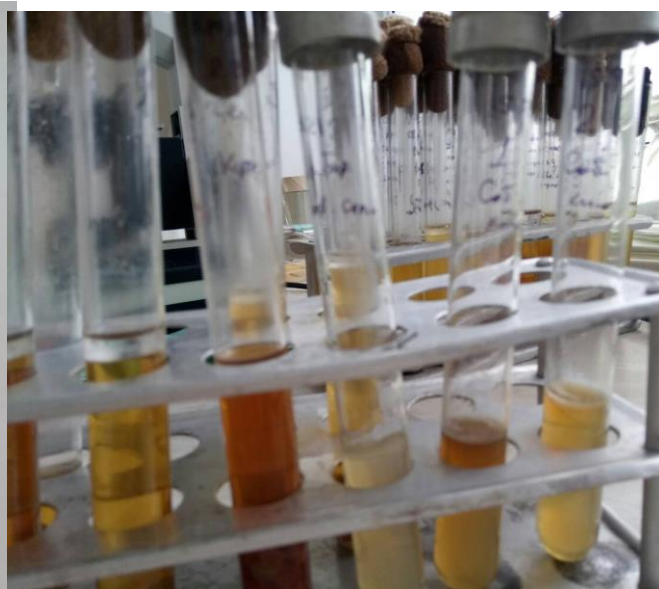


Рис. 5.2.6. Рідке поживне середовище для культивування анаеробних клостридій – Кітта-Тароцці з печінкою ВРХ.

За інтенсивного мікробного забруднення гомогенати утилізували (рис. 5.2.7 і 5.2.8).



Рис. 5.2.7. Ріст ентеробактерій на середовищі Ендо.

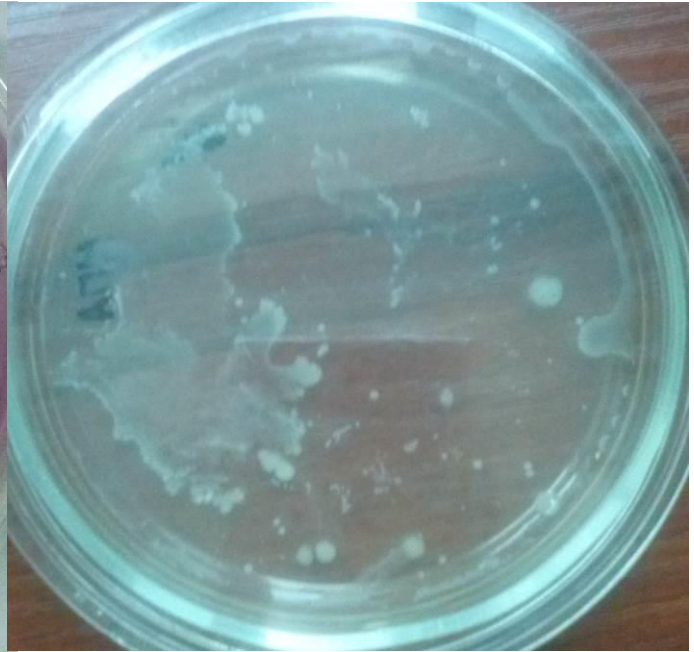


Рис. 5.2.8. Ріст ізольованих колоній мікроорганізмів на МПА.

Для дослідження чутливості отриманої мікрофлори до антибіотиків використовували агар Мюллер-Хінтона, який розливали у стерильні чашки Петрі по 25 мл, товщина агару не перевищувала 5 мм.

На поверхню підсушеного живильного середовища в чашці Петрі наносили 0,25 мл досліджуваної мікробної суспензії, рівномірно розподіляючи її по поверхні агару стерильним скляним шпателем.

Після посіву, для прикріплення мікробів до субстрату і подальшого утворення плівки, чашки підсушували за кімнатної температури впродовж 10 – 15 хв. Надлишок суспензії відсмоктували стерильною одноразовою піпеткою. Надалі на поверхню агару розміщали стерильним пінцетом паперові диски, просочені антибіотиками, на рівній відстані один від одного та на 2 см від краю чашки. Потім чашки інкубували в термостаті за температури $t = + 37^{\circ}\text{C}$

Через 24–48 годин аналізували результати антибіотикочутливості кишкової мікрофлори, а саме проводили облік, вимірюючи за допомогою лінійки діаметри зон затримки росту навколо дисків (рис. 5.2.9 табл. 5.2.1).

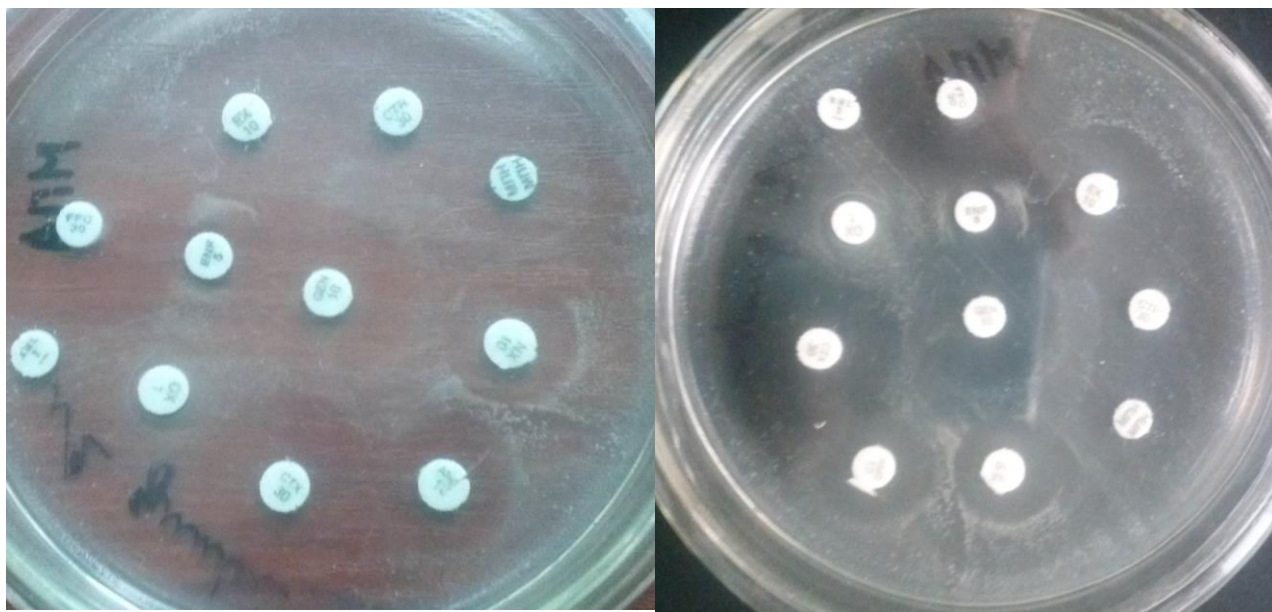


Рис 5.2.9. Визначення чутливості до антибіотиків диско-дифузійним методом на агарі Мюллер-Хінтона.

Таблиця 5.2.1.

Чутливість кишкової мікрофлори до антибіотиків за величиною діаметра зон затримки росту, у мм (n=6)

Антибіотик	Діаметр зон затримки росту, в мм
чутливі	
Цефатоксим - СТХ	24,0±1,2
Цефтріаксон - СТР	23,0±0,8
Флорон - FFC	34,0±1,1
Гентаміцин - GEN	19,7±0,6
Енрофлоксацин - ЕХ	28,0±1,2
Меропенем - МПН	18,0±0,7
слабочутливі	
Норфлоксацин - NX	10,4±0,5
Амоксицилін - АМХ	12,6±0,4
Енроксил - ENF	20,2±0,7
Оксацилін - ОКС	22,1±0,9

За результатами досліджень встановлено, що найвищу чутливість виділена нами кишкова мікрофлора виявила до таких антибіотиків, як гентаміцин ($19,7 \pm 0,6$ мм), енрофлоксацин ($28 \pm 1,2$ мм), меропенем ($18 \pm 0,7$ мм), цефтріаксон ($23 \pm 0,8$ мм), цефатоксим ($24 \pm 1,2$ мм) та флорон ($34 \pm 1,1$ мм), а найнижу – до амоксициліну, енроксилу, норфлоксацину та оксациліну (табл. 5.2.1). У якості еталону показників зони затримки росту на агарі використовували стандарт до дисків з антибіотиками фірми *Himedia Laboratories Pvt. Limited*, Індія.

За результатами нашого дослідження одним з найефективніших антибактеріальних препаратів є гентаміцин, що і було підставою для їх використання у подальшій нашій роботі. Також був врахований досвід роботи з різноманітними культурами клітин, де гентаміцин не проявляв токсичного впливу, на відміну від інших антибіотиків. Після бактеріологічного контролю вірусомісний гомогенат використовували для адаптації на перещеплювальні лінії культур клітин.



А



В

Рис. 5.2.10. Середовище ТГС для контролю стерильності (А – до експерименту, В – контамінована проба).

Отриманий очищений матеріал з умістом парвовірусу і окремо з умістом коронавірусу адаптували до перещеплювальних ліній культур клітин. Після накопичення вірусної біомаси *in vitro* вивчали вплив парвовірусу і коронавірусу *in vivo* на притаманний організму собаки, у вигляді біопроби.

Для експериментального відтворення парвовірусу і коронавірусу використовували заморожений культуральний антиген. Перед постановкою біопроби проводили додатково швидкий тест щодо наявності мікроорганізмів у культуральній рідині, використовуючи тіогліколеве середовище (ТГС), яке є універсальним для контролю стерильності за рахунок можливого швидкого культивування аеробних і анаеробних бактерій (див. рис. 5.2.10).

5.3. Культуральні властивості польового вірусу родини *Parvoviridae*

В експерименті використовували перещеплювальні лінії культур клітин: ВНК-21 – перещеплювальна моношарово-суспензійна лінія клітин нирки сирійського хом'яка, призначена для репродукції пікорновірусів (ящур) і рабдовірусів (сказ) (рис. 5.3.1). Лінія культур клітин РК-13 – перещеплювальна лінія епітеліальних клітин нирки кролика, яку використовують для репродукції герпесу, поксвірусу кролів, аденовірусу приматів та везикулярного стоматиту (рис. 5.3.2). Лінія культур клітин СПЕВ – перещеплювальна лінія епітеліальних клітин нирки свині призначена для репродукції ентеровірусів свиней, грипу, ротавірусів, коронавірусів і енцефаломіокардиту свиней, ящуру, арбовірусів та ринопневмонії коней (рис. 5.3.3). Лінія культур клітин MDBK – перещеплювальна лінія епітеліальних клітин нирки бика, яку використовують для репродукції альфавірусів, везикулярного стоматиту, аденовірусів, парагрипу-3 та герпесвірусів (рис. 5.3.4).

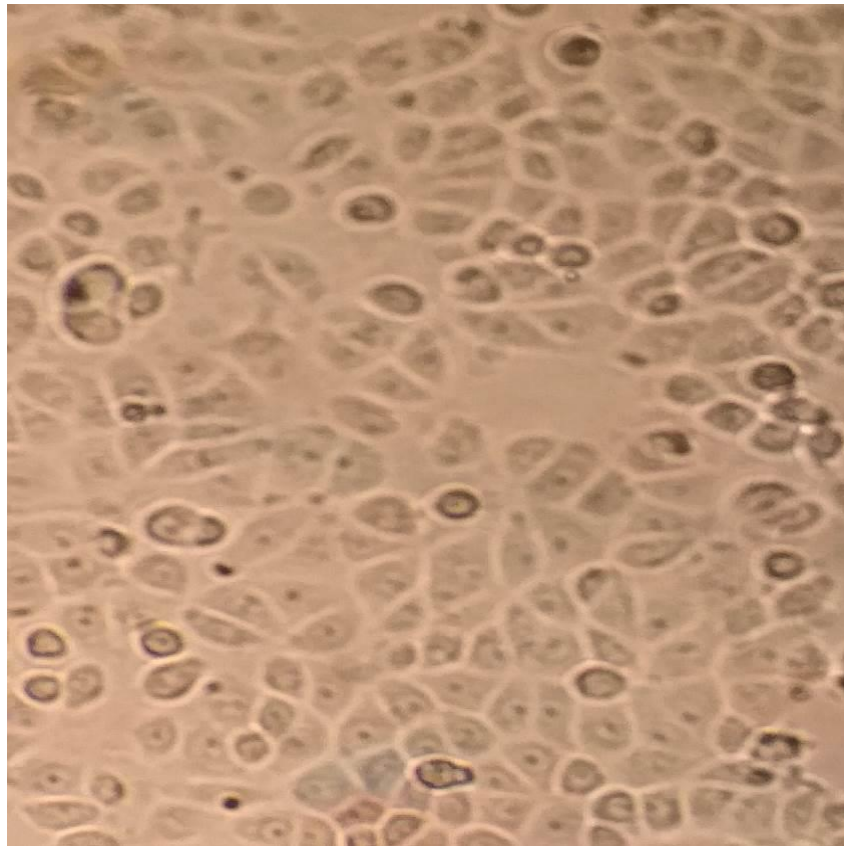


Рис. 5.3.1 – Культура клітин РК, 12 год після пересіву, ($\times 56$).

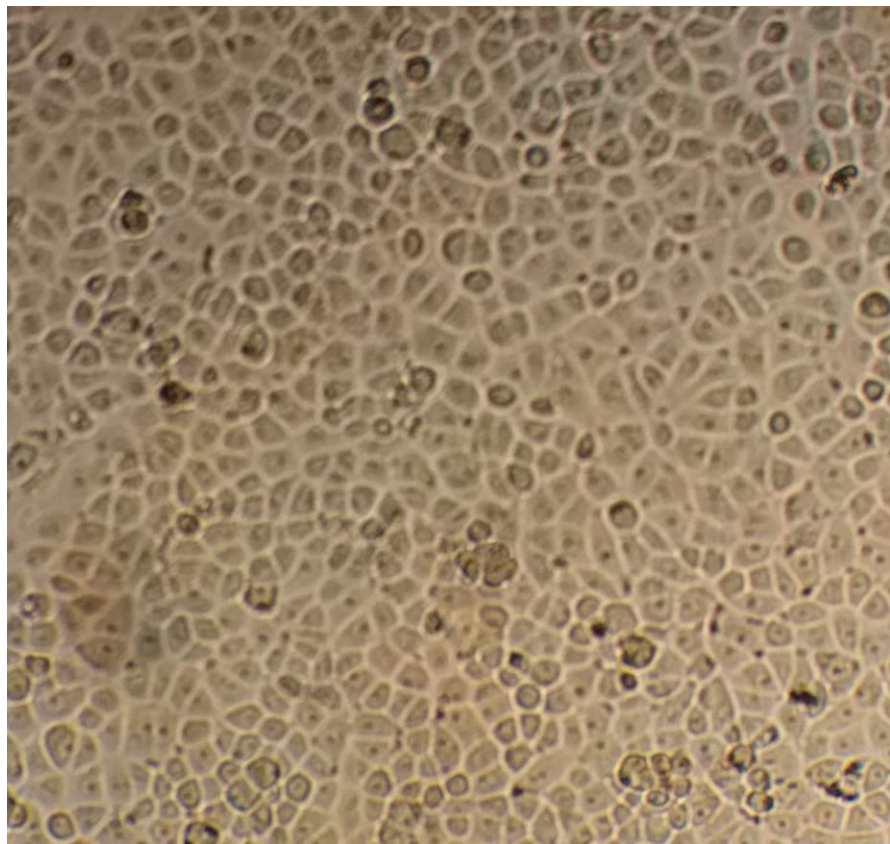


Рис. 5.3.2 – Культура клітин ВНК-21, 12 год після пересіву, ($\times 56$).

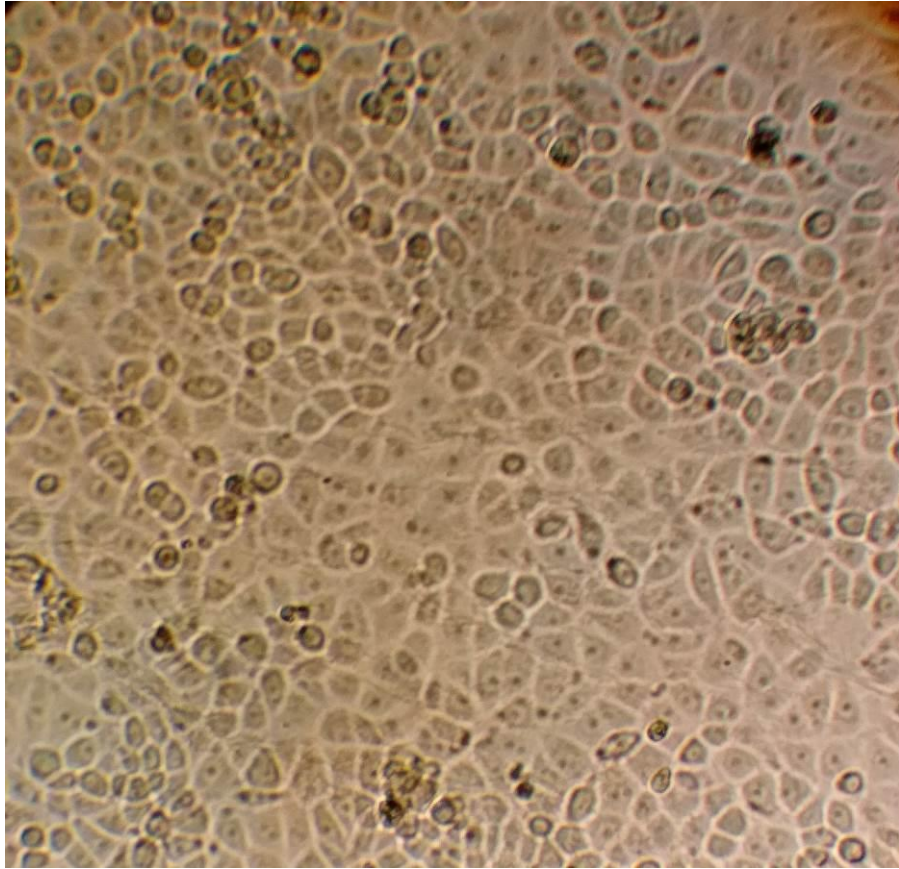


Рис. 5.3.3 – Культура клітин СПЕВ, 12 год після пересіву, ($\times 56$).

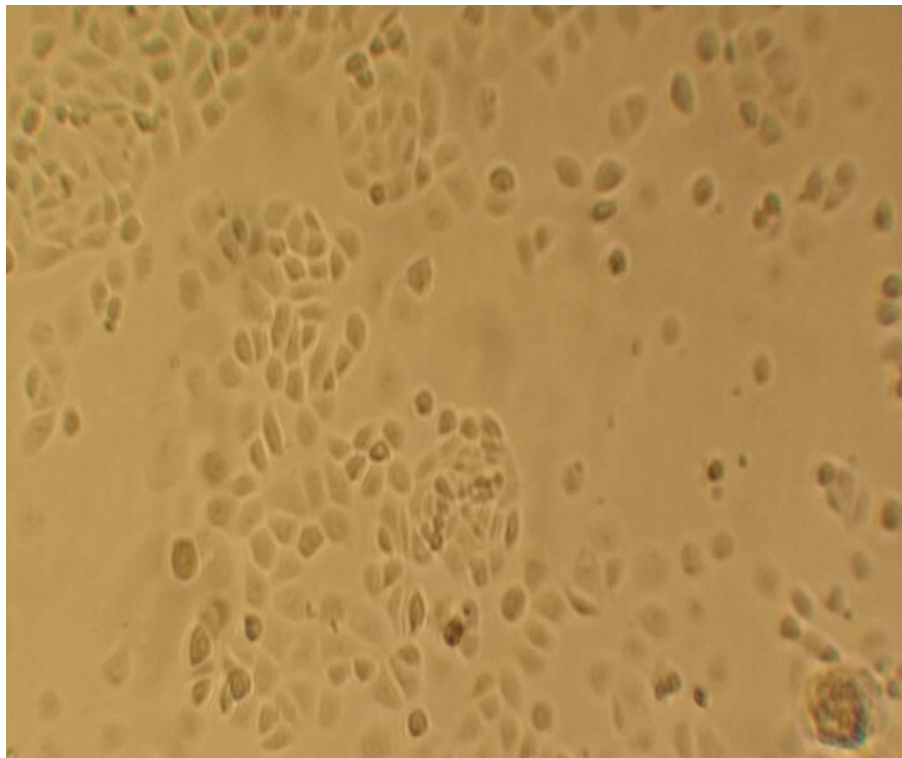


Рис. 5.3.4. – Культура клітин MDBK, 12 год після пересіву, ($\times 56$).

У організмі тварин ентеровіруси проявляють тропізм до молодих клітин, що швидко діляться, це епітеліальні клітини кишечника. Нами було проведено їх апробацію, різну за часом, після пересівання і клітинного заселення культур клітин. Встановлено, що для інкубації вірусомісного ізоляту найбільш чутливими виявилися щойно пересіяні, після 24 годинної інкубації, з не менше 70 % і не більше 80 % -вим моношаром клітин. Контроль за кількістю внесених клітин під час пересівання проводили з використанням камери з сіткою Горяєва. Найбільш оптимальною була посівна концентрація від $1,0 \times 10^5$ до $2,0 \times 10^5$ кл./мл. Для культивування перещеплювальних ліній культур клітин використовували живильне середовище, до складу якого входили середовища 199 і ДМЕМ – по 45 %, фетальної бичачої сироватки – 10 % і антибіотики.

Інкубацію культур клітин проводили в умовах термостату за $t = + 37,5$ °C не більше 10 діб. Для інтенсивного накопичення культурального матеріалу який можна буде використовувати для зараження і накопичення вірусомісного матеріалу, пересівали культури клітин кожні 72 години, це також стимулювало ріст клітин у більш інтенсивному ритмі, що необхідно для кращого контакту вірусу з клітиною. Для пересіву культури застосовували розчин трипсину і версену у співвідношенні від 1:6 до 1:3 та антибіотик. Концентрацію регулювали від стану «засіяності» матрацу клітинами.

Зараження проводили наступним чином: зливали ростове середовище з матраца і в нього вносили $2,5 - 3$ см³ вірусного матеріалу. Матрац ставили в термостат на годину за температури $+ 37,5$ °C. При цьому кожні 15 хвилин 4 – 5 разів повільно омивали моношар клітин вірусним матеріалом, після чого останній зливали і в матрац вносили підтримуюче середовище, яке для зараженої культури клітин було такого ж складу, як і поживне, тільки без сироватки. Культивування проводили за загальноприйнятими методиками, оцінюючи цитопатогенну дію (ЦПД) за системою чотирьох плюсів, під інвертованим мікроскопом за малого збільшення, щодо контролю.

Найпростішими ознаками, які вказували на розмноження вірусу, були дегенеративні зміни у клітинах, тобто прояв ЦПД вірусу. Утворення видимих

морфологічних змін у клітині називають цитопатогенним ефектом або дією. Цитопатогенні зміни в інфікованих культурах клітин залежать від біологічних властивостей і дози досліджуваного вірусу.

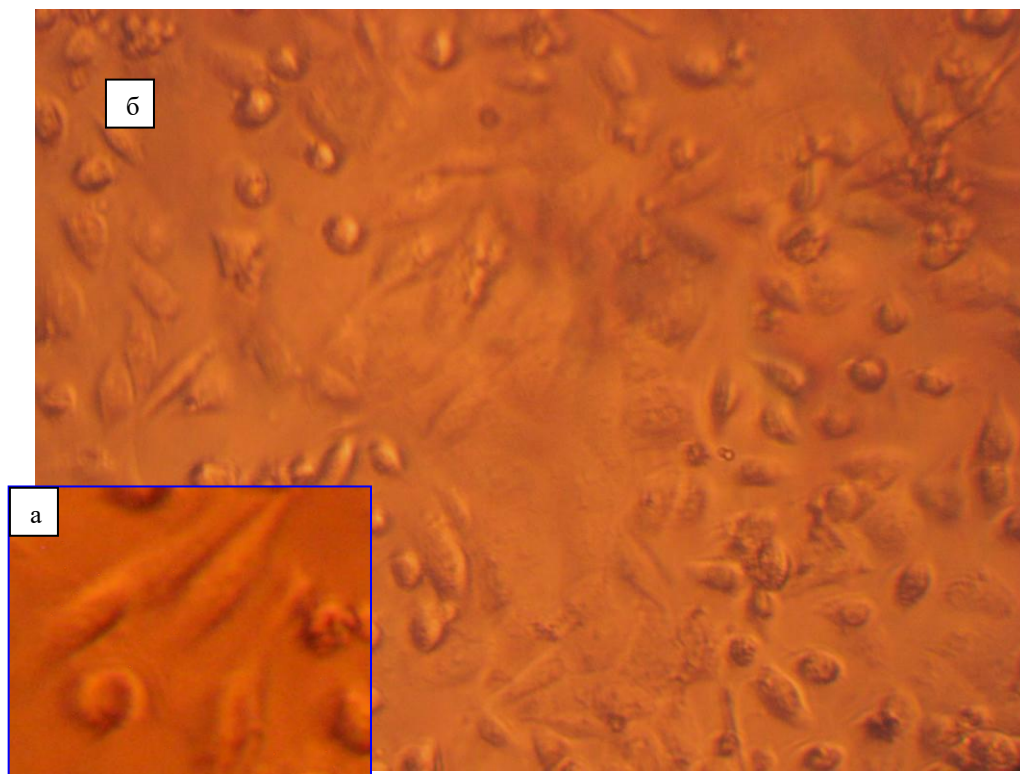


Рис. 5.3.5 Прояв ЦПД у вигляді зморщуваності і набухання клітин (а) та руйнації цілісності моношару (б) – 48 – 72 год. після зараження. $\times 120$.

Цитопатогенна дія парвовірусу проявлялася в такій послідовності: пригнічення процесів ділення клітин, часткове зморщування їх, часткове затемнення у вигляді аглютинації клітин. Згодом – розвиток класичних змін, а саме деструкція клітин шляхом їх витягування і набування форм «зірки», за чим слідував розрив стінки клітини (рис. 5.3.5 – 5.3.7).

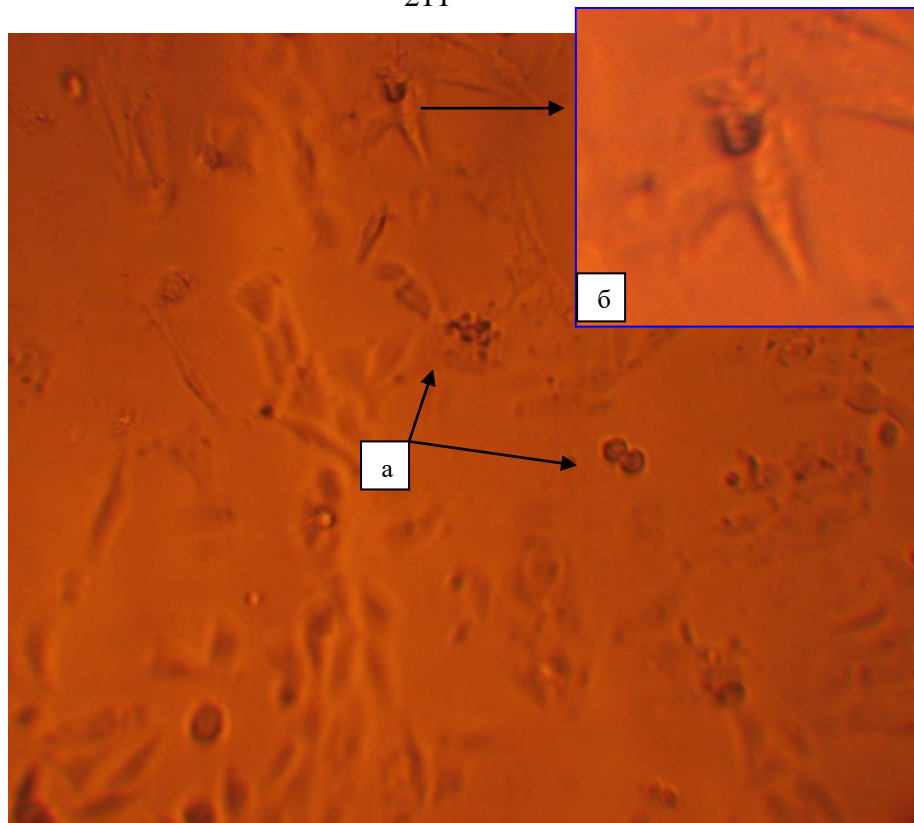


Рис. 5.3.6 Прояв ЦПД у вигляді аглютинації (а) та зіркоподібного розтягнення (б) – 4 – 5 доба після зараження. $\times 56$.

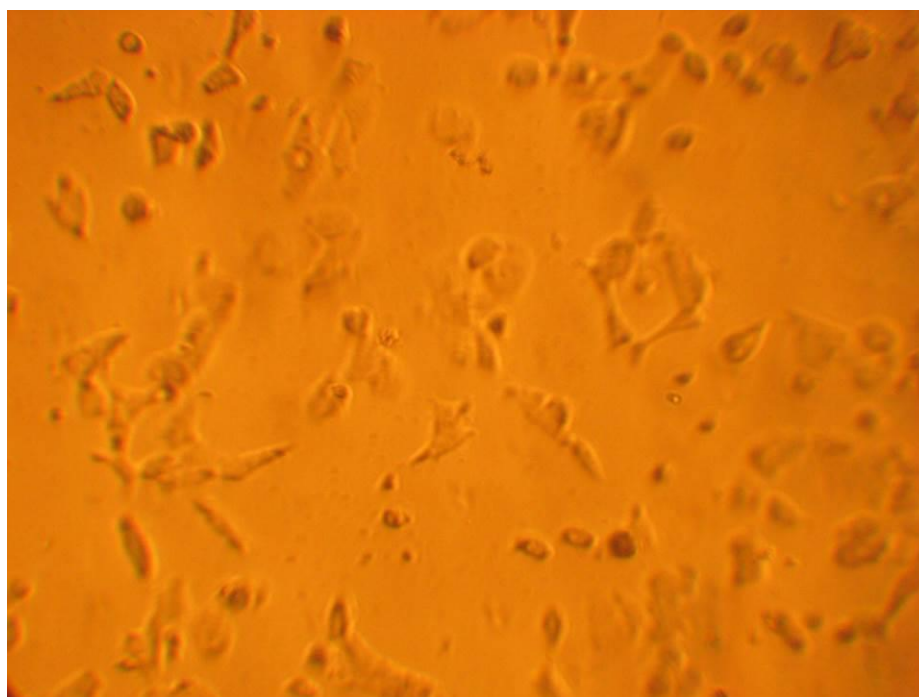


Рис. 5.3.7 Повна руйнація моношару клітин під впливом *CPV 7* – доба після зараження. $\times 56$.

Інкубацію вірусів на культурах клітин проводили не більше 10 діб за $t^0 + 37,5\text{ C}^0$, контролюючи стан моношару клітин кожні 24 години під мікроскопом за малих збільшень ($\times 56$) (рис. 5.3.5 – 5.3.7).

Таблиця 5.3.1

Чутливість клітинних культур до парвовірусу собак

Лінія культур клітин	1 – пасаж		3 – пасаж		5 – пасаж		7 – пасаж		9 – пасаж	
	Початок ЦПД, діб	90–100 % ЦПД, діб	Початок ЦПД, діб	70–80 % ЦПД, діб	Початок ЦПД, діб	90–100 % ЦПД, діб	Початок ЦПД, діб	90–100 % ЦПД, діб	Початок ЦПД, діб	90–100 % ЦПД, діб
ВНК-21	5	7–8	3–4	10–11	3	8–9	3	8–9	2–3	7–8
РК-13	5	7–8	3–4	10–11	2–3	8–9	3	8–9	2–3	7–8
СПЕВ	4	7	3–4	10–11	3	8–9	3	9–10	3	9–10
інфекційний титр	$1,5 \pm 0,01 \lg \text{ТЦД}_{50/\text{см}^3}$		$2,7 \pm 0,06 \lg \text{ТЦД}_{50/\text{см}^3}$		$3,8 \pm 0,08 \lg \text{ТЦД}_{50/\text{см}^3}$		не визначали		не визначали	

У результаті нашого експерименту встановлено, що найбільш чутливою лінією культур клітин для культивування польового ізоляту парвовірусу були: нирка кроля і дещо менш чутливою нирка хом'яка після третього пасажу, а в перші три пасажі чутливішою була культура клітин нирки свині. Репродукцію парвовірусу на культурі клітин контролювали за часом прояву ЦПД, що безпосередньо залежало від густоти моношару клітин: за 70 % - через 48 годин,

80 % - через 72 години, а якщо більше 90 % моношару - деструкція клітин відбувалась досить мляво, доводилося інкубувати культуру до 10 діб. У кінці періоду інкубації інфіковану культуру заморожували за температури мінус 24 С⁰ та піддавали відтаюванню, щоб зруйнувати структуру цілісності клітин за рахунок температурного «стресу» і забезпечити повний вихід вірусу.

Чутливість клітинних ліній визначали не тільки за проявом ЦПД вірусу на клітини, а й за рівнем накопичення вірусу в клітинній суспензії. Титр інфекційної активності матеріалу визначали шляхом титрування вірусного матеріалу в культурі клітин на стерильних 96-ямкових мікропланшетах. Розрахунок інфекційного титру виконували за методом Ріда і Менча. У ході досліду були отримані наступні результати: на початку експерименту титр інфекційної активності на культурі клітин нирки кроля становив у середньому $1,5 \lg \text{ТЦД}_{50/\text{см}^3}$, після третього пасажу – до $2,7 \pm 0,06 \lg \text{ТЦД}_{50/\text{см}^3}$, а після п'ятого – збільшився до $3,8 \pm 0,08 \lg \text{ТЦД}_{50/\text{см}^3}$. (див. табл. 5.3.1).

5.4. Культуральні властивості польового вірусу родини *Coronaviridae*

Після отримання негативного результату бактеріологічного контролю вірусомісний матеріал використовували для зараження культур клітин.

В експерименті використовували культури клітин: нирка хом'яка (ВНК-21), нирка кролика (РК-13), нирка свині (СПЕВ) і нирка бика (МДВК) (рис 5.3.1 – 5.3.4).

Для інкубації вірусомісного ізоляту найбільш чутливими виявилися щойно пересіяні, після 24 годинної інкубації, з не менше 70 % і не більше 80 % -вим моношаром клітин. Контроль за кількістю внесених клітин під час пересівання проводили з використанням камери з сіткою Горяєва. Найбільш оптимальною була посівна концентрація від $1,0 \times 10^5$ до $2,0 \times 10^5$ кл./мл. Для культивування перещеплювальних ліній культур клітин використовували живильне середовище, до складу якого входили середовища 199 і ДМЕМ – по 45 %, фетальної бичачої сироватки – 10 % і антибіотики. Підтримуюче середовище для зараженої культури клітин було такого ж складу, як і поживне,

тільки без сироватки. Культивування проводили за загальноприйнятими методиками, оцінюючи цитопатогенну дію за системою чотирьох плюсів під інвертованим мікроскопом за малого збільшення ($\times 56$), щодо контролю.

Найпростішими ознаками, які свідчать про розмноження вірусу, є дегенеративні зміни у клітинах, тобто прояв ЦПД вірусу. Утворення видимих морфологічних змін у клітині називають цитопатогенним ефектом або дією. Цитопатогенні зміни в інфікованих культурах клітин залежали від біологічних властивостей і дози досліджуваного вірусу (рис. 5.4.1 – 5.4.3).

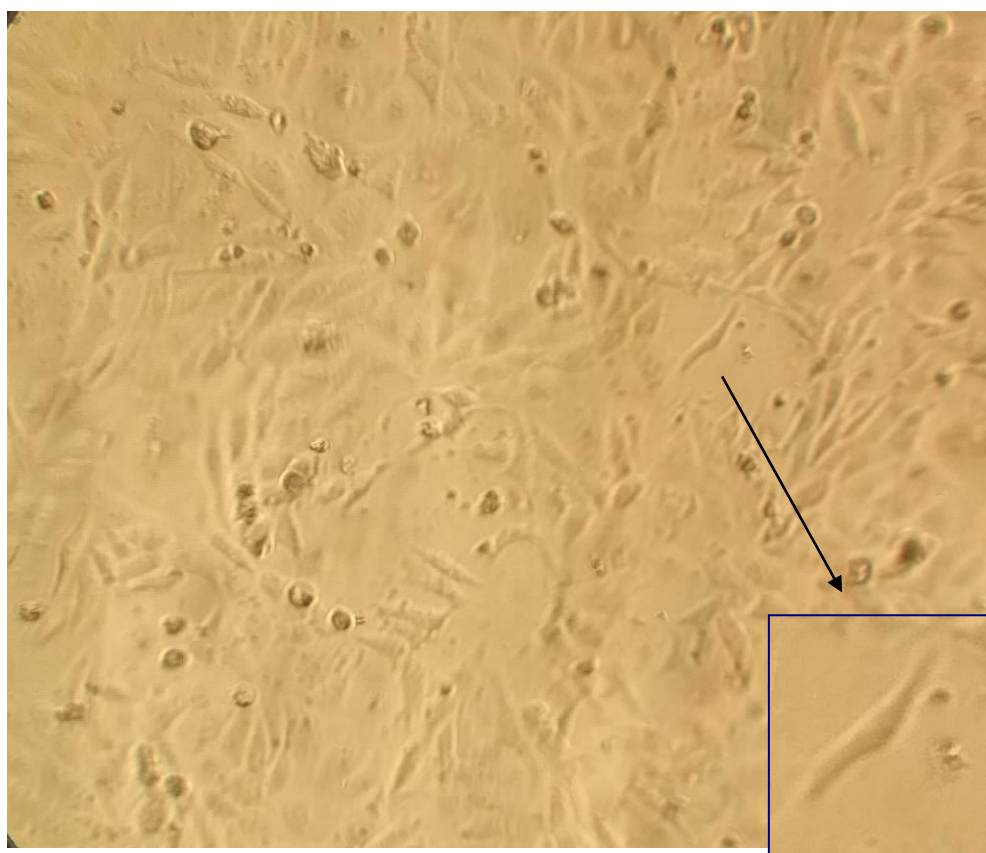


Рис. 5.4.1 Вплив коронавірусу на культуру клітин ВНК-21 (36–48 год після зараження, стан КК). $\times 56$.

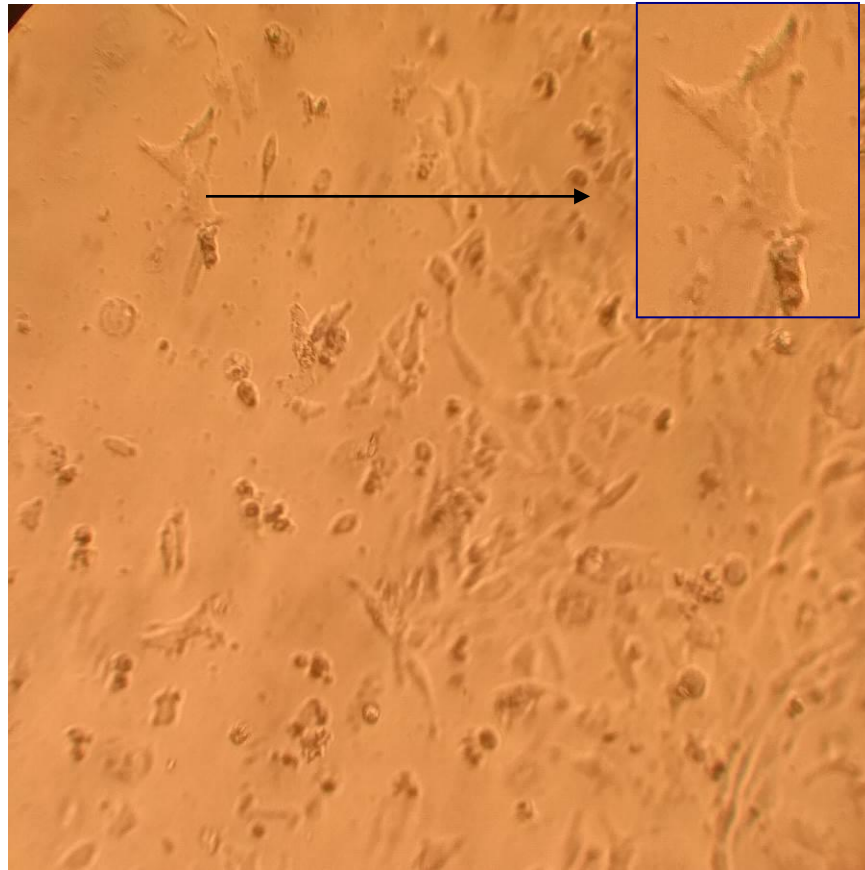


Рис. 5.4.2 Вплив коронавірусу на культуру клітин ВНК-21 (3–4-та доба після зараження, стан КК). $\times 56$.

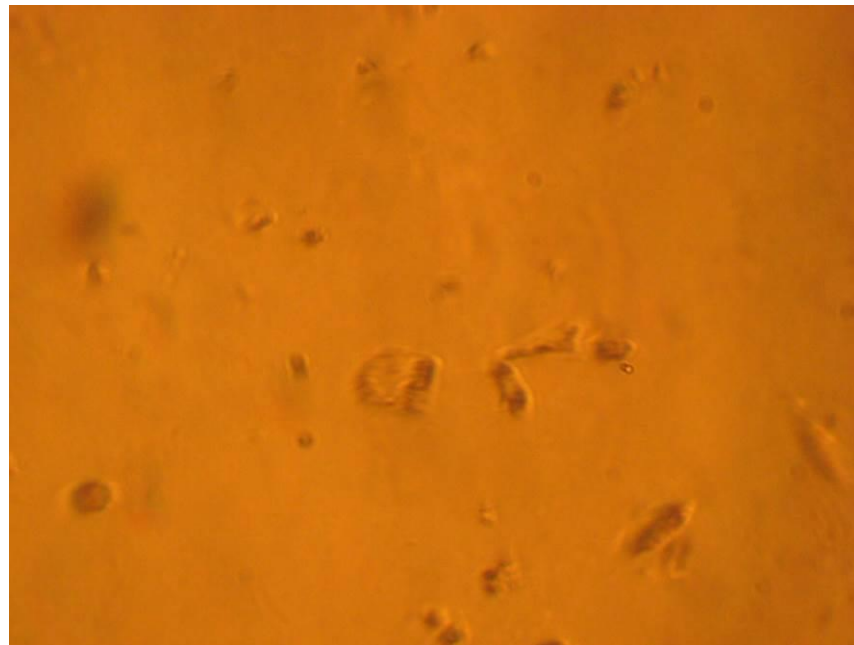


Рис. 5.4.3 Вплив коронавірусу на культуру клітин ВНК-21 (5 – 6 доба після зараження, стан КК). $\times 56$.

Цитопатогенна дія коронавірусу проявлялася в такій послідовності: пригнічення процесів ділення клітин, часткове їх зморщування, затемнення у вигляді аглютинації клітин, після чого розвивались класичні зміни: деструкція клітин шляхом їх витягування і набування форм “зірки”; за чим слідував розрив стінки клітини (див. рис. 5.4.1).

Інкубацію коронавірусів на культурах клітин проводили не більше 10 діб за температури $t = +37,5\text{ C}^0$, контролюючи стан моношару клітин кожні 24 год.

Таблиця 5.4.1.

Чутливість клітинних культур до коронавірусу собак

Лінія культур клітин	1 – пасаж		2 – пасаж		3 – пасаж		4 – пасаж		5 – пасаж	
	Початок ЦПД, діб	90–100 % ЦПД, діб	Початок ЦПД, діб	90–100 % ЦПД, діб	Початок ЦПД, діб	90–100 % ЦПД, діб	Початок ЦПД, діб	90–100 % ЦПД, діб	Початок ЦПД, діб	90–100 % ЦПД, діб
ВНК-21	3	7	2–3	8	2–3	6	2–3	5–6	2–3	5
РК-13	3	7	2–3	8	2–3	7	2–3	6	2–3	5–6
СПЕВ	3	6	2–3	9	3	7	3	6–7	3	6–7
інфекційний титр	1,2±0,02 Ig ТЦД ₅₀ /см ³		не визначали		3,7±0,03 Ig ТЦД ₅₀ /см ³		не визначали		4,8±0,04 Ig ТЦД ₅₀ /см ³	

Таким чином, у результаті нашого експерименту встановлено, що найбільш чутливою лінією культур клітин для культивування, польового ізоляту, коронавірусу собак була нирка хом'яка і дещо гірше – нирка кроля після третього пасажу, а перші три пасажі більш чутливою була культура клітин

нирки свині. Репродукцію коронавірусу на культурі клітин контролювали за часом прояву ЦПД, що безпосередньо залежало від густоти моношару клітин: 70 % – через 48 год. 80 % – через 72 год, у понад 90 % моношарі деструкція клітин перебігала досить мляво, доводилося інкубувати культуру до 10 діб. У кінці періоду інкубації інфіковану культуру заморожували за температури мінус 24 °С і розморозували, щоб зруйнувати структуру клітин і забезпечити повний вихід вірусу.

Чутливість клітинних ліній визначали не тільки за проявом ЦПД вірусу на клітини, а й за рівнем накопичення вірусу у клітинній суспензії. Титр інфекційної активності матеріалу визначали шляхом титрування вірусного матеріалу в культурі клітин на стерильних 96-лункових мікропланшетах. Інфекційний титр обчислювали за методом Ріда і Менча.

За інкубації коронавірусу собак на перещеплювальних лініях культур клітин ВНК-21 інфекційний титр становив у середньому від 1,2 lg ТЦД_{50/см}³ (перший пасаж), до 3,7±0,03 lg ТЦД_{50/см}³ (третій), а після п'ятого пасажу – до 4,8±0,04 lg ТЦД_{50/см}³ (табл. 5.4.1).

Результати підрозділу 5.1 – 5.3 висвітлені в наукових працях [61, 223, 239, 244, 249, 529].

5.5. Гемаглютинуючі властивості парво- та коронавірусу

Гемаглютинуючі властивості парвовірусу і коронавірусу, виділених від хворих собак, вивчали після пасажування їх на різних лініях культур клітин. Патологічний матеріал, згідно із вірусологічними маніпуляціями, вносили на культури клітин і проводили три «сліпих» пасажі, які характеризувались різною цитопатогенною дією.

Перед постановкою реакції вірусомісний матеріал очищали від великих часток центрифугуванням при 2 тис. об./хв (g=800) впродовж 15 – 30 хвилин. Для постановки реакції використовували 0,05 % суспензію еритроцитів. Щоб її отримати, їх за 2 – 4 години до використання відмивали ізотонічним розчином

NaCl. Відмивання повторювали 3-4 рази, кожен раз осаджуючи еритроцити центрифугуванням по 10 хвилин при 2 тис. об./хв. Після останнього відмивання надосадова рідина повинна бути безбарвна і прозора. Із осаду еритроцитів, який вважали за 100 % суспензією, готували суспензію від 0,03 до 0,05 %. Готова завесь еритроцитів зберігається впродовж 3 діб за температури + 6 С⁰.

Постановку реакції проводили на 96-лункових стерильних планшетах. У лунки з першої по восьму вносили фізіологічний розчин у дозі 0,02 см³. Потім у першу лунку вносили 0,02 см³ культурального вірусомісного дослідного матеріалу, у цій лунці отримували розведення 1:2. За допомогою автоматичної піпетки відбирали 0,02 см³ рідини і вносили у другу лунку і т. д., розтитровуючи вірусомісну рідину до розведення 1:256. Після цього у кожен лунку вносили по 0,02 см³ суспензії еритроцитів. Для виключення спонтанної аглютинації ставили такі контролі:

- фізіологічний розчин + суспензія еритроцитів;
- нативна вірусомісна рідина + фіз. розчин + суспензія еритроцитів;
- суспензія еритроцитів.

Постановку реакції виконували за різних температурних режимів, а облік реакції – через 3-6 годин. Під час проведення експерименту першим етапом визначали оптимальну концентрацію еритроцитів. Нами проведено дослідження таких концентрацій еритроцитів від 0,02 до 0,1% і встановлено, що оптимальною була 0,05 % концентрація. Стосовно температурних показників, у ході нашого експерименту результати істотно не змінювались і стабільно відбувалась реакція в діапазоні від 4 до 18 С⁰. Вище 20 С⁰ реакція мала некоректний хід і не специфічний прояв у вигляді спонтанної аглютинації (рис. 5.5.1).

Основним завданням експерименту було визначення видової належності еритроцитів до гемаглютининів культуральної парвовірусної рідини (табл. 5.5.1).

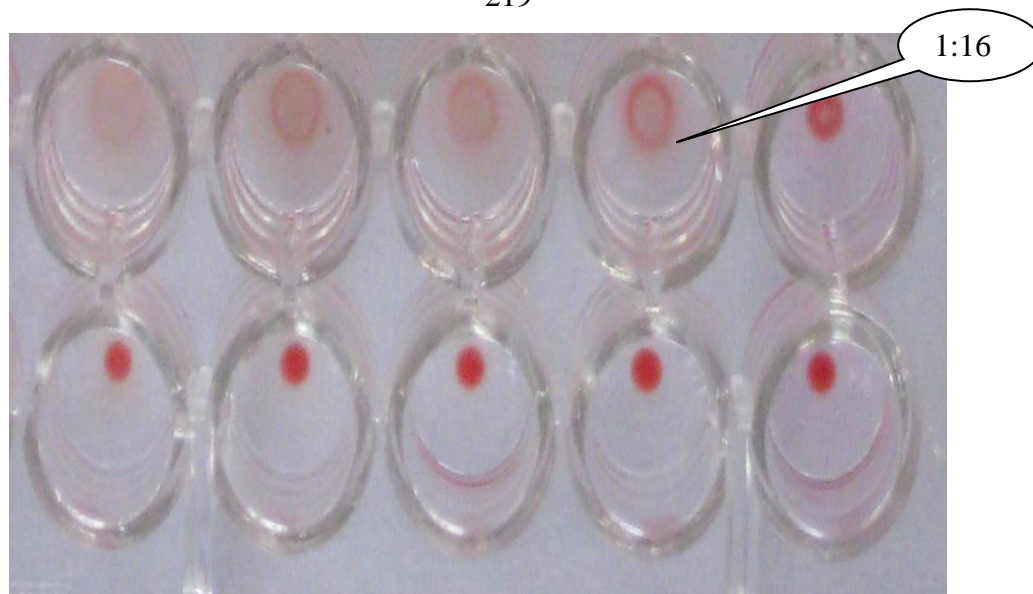


Рис. 5.5.1 Облік результату РГА через 3 год.

Титр аглютинації визначали у двох групах: перша – це нативні зразки культуральної рідини, друга – концентровані зворотним діалізом в 1:15.

Аналізуючи отримані результати, виявляємо, що культуральний парвовірус утворював зв'язки з еритроцитами свиней із достатнім гемаглютинуючим титром від 1:4 до 1:8 (табл. 5.5.1). Інші еритроцити тварин, що входили у першу групу, не мали або мали слабкий гемаглютинуючий зв'язок. У першій групі еритроцити коня, кроля, корови, вівці і собаки аглютинували еритроцити лише в нативному, тобто в не розведеному стані – це лунка контролю. Реакція гемаглютинації може мати специфічний прояв, тобто не всі види еритроцитів вступають однаково в контакт з вірусними частками, або для певних еритроцитів потрібна значна кількість вірусних частинок, щоб відбулась аглютинація.

Тому наступним етапом, для більш високого рівня аглютинінів, вірусомісну культуральну рідину концентрували зворотним діалізом з поліетиленглюколем. Наведені дані щодо активності гемаглютинінів у культуральному вірусомісному ізоляті майже не відрізнялись від даних до концентрування (див. табл. 5.5.1).

**Видова чутливість еритроцитів до гемаглютининів
культурального парвовірусу**

Еритроцити (вид тварини)	Титр в РГА 1 - група	Титр в РГА 2 - група
Коні	нативний	1:2
Вівці	нативний	1:2
Свині	1:4 – 1:8	1:16 – 1:32
Корови	нативний	1:2
Собаки	нативний	1:2
Білі миші	негативна реакція	негативна реакція
Кури	негативна реакція	негативна реакція
Кішки	негативна реакція	негативна реакція
Кролі	нативний	1:2

Отже, еритроцити білих мишей, курей і кішки не придатні для ідентифікації парвовірусних аглютининів у культурі клітин. Еритроцити коня, вівці, корови, собаки та кроля мають слабкий зв'язок з вірусом і не придатні для РГА. Аглютинуюча активність культурального ізоляту парвовірусу собак до еритроцитів свині після концентрування зросла у титрі 1:32 (див. табл. 5.5.1).

Враховуючи отримані результати, встановили, що для діагностики культурального парвовірусу собак потрібно використовувати 0,05 % суміш еритроцитів свині з постановкою реакції за температурних показників від 4 до 18 °С і обліком часу через 3–6 годин. Водночас слід зазначити, що під час дослідів визначено придатність тільки еритроцитів, отриманих з периферичних судин, формені елементи кров, яких, і відібрали з серця, відразу спричиняла спонтанну аглютинацію.

Також за вищеописаною схемою було проведено дослідження щодо визначення гемаглютинуючих властивостей культурального коронавірусу.

Аналізуючи отримані результати, виявляли, що культуральний коронавірус утворював зв'язки з еритроцитами свині і собаки тільки у нерозведеному стані тобто нативному титрі (табл. 5.5.2).

Наведені дані щодо активності гемаглютининів у культуральному вірусомісному ізоляті майже не відрізняються від даних до концентрування, а саме, відбувається аглютинація еритроцитів свині у титрі 1:2 – 1:4, собаки - 1:2, і кроля у нерозведеному (нативному стані) (табл. 5.5.2).

Таблиця 5.5.2

**Видова чутливість еритроцитів до гемаглютининів
культурального коронавірусу**

Еритроцити (вид тварини)	Титр в РГА 1 - група	Титр в РГА 2 - група
Коні	негативний	негативний
Вівці	негативний	негативний
Свині	нативний	1:2 – 1:4
Корови	негативний	негативний
Собаки	нативний	1:2
Кролі	негативний	нативний

Результати підрозділу 5.5 висвітлені в наукових працях [250].

5.6. Експериментальне відтворення парвовірусного і коронавірусного ентериту у собак

У досліді використаний власне отриманий польовий штам коронавірусу та парвовірусу собак. Для вивчення біологічних властивостей і накопичення вірусної біомаси його культивувували на гетерологічних культурах клітин. Отриманий культуральний коронавірусний і парвовірусний антиген був наданий для процесу депонування у Державний науково-контрольний інститут біотехнології і штамів мікроорганізмів, де пройшов процес реєстрації

(коронавірус), наказ № 66 від 17.12.2018 під назвою «*Nick*» і (парвовірус) під назвою «*Антей*».

У процесі виділення і накопичення культурального вірусного антигену необхідно було отриману вірус-суспензію піддати лабораторній діагностиці у ПЛР на підтвердження перебування в ній дослідного вірусу. Встановлено, що польовий штам, отриманий від хворої собаки (*in vivo*) і накопичений у культурах клітин (*in vitro*), не надавав діагностичної можливості на наявність парвовірусу або коронавірусу. Враховуючи вищесказане, було визнано за необхідне проведення біопроби на чутливих тваринах для підтвердження або спростування наявності у культуральній масі вірусного агента, та його активність щодо дослідних тварин. Найкращим біологічним об'єктом для відтворення парвовірусної та коронавірусної інфекції у собак є цуценята, як найбільш чутлива і менш імуногенно захищена вікова група тварин.

Перед проведенням експериментального відтворення парвовірусної і коронавірусної інфекції визначали оптимальний вік. Аналізуючи літературні джерела, а саме роботи М. Брошкова [28, 30], з'ясували, що, починаючи з 30 доби життя, у собак починається активна фаза імунореактивності, фагоцитарна активність. Можливо це пов'язане з активним ростом молочних зубів і пізнанням світу цуценятами через покусування різних предметів, звідки відбувається потрапляння різноманітних чужорідних агентів. Також, починаючи з 30 доби, відбувається активна фаза формування субпопуляцій лімфоцитів. Більшість показників клітинного і гуморального імунітету знижуються на 60 добу. Отже, враховуючи власні дослідження і літературні дані [29], було визначено найбільш оптимальним вік для біопроби, а саме цуценята 45- добового віку.

Для експериментального відтворення парвовірусної і коронавірусної інфекції було відібрано 13 цуценят (метис Лабрадора з безпородною) 45-добового віку. Були сформовані три групи: перша (5 цуценят використовували для зараження культуральним парвовірусом); друга (5 цуценят заражали культуральним коронавірусом); третя (3 цуценят використовували для

виявлення спонтанного виникнення хвороби на випадок інфікування до початку експерименту). На момент початку роботи тварини були у задовільному стані, без будь-яких ознак захворювання чи патології.

Для виключення впливу на дослід паразитарного агента на 21 та 34 добу від народження собак проводили їх дегельмінтизацію за допомогою мало токсичного антигельмінтика, що містить діючі речовини Пірантел у вигляді суспензії.

У 45- добовому віці цуценят вагою ~3 кг відлучили від суки і розділили на три групи, перша – заражали культуральним коронавірусом, друга – культуральним парвовірусом і третя – контрольна для виявлення спонтанного виникнення хвороби на випадок інфікування до початку експерименту.

Для зараження використовували виділений та підтверджений в ПЛР польовий парвовірус та коронавірус, отриманий від загиблої собаки. Інфікований біологічний матеріал культивували на гетерологічних культурах клітин, а саме перещеплювальних лініях культур клітин СПЕВ (нирки ембріона свині), ВНК-21 (нирки сирійського хом'яка), РК-13 (нирки кроля). В експерименті використовували культуральний вірусний ізолят, що мав 90 – 100 % прояв ЦПД впродовж 10 діб. Вірусомісний культуральний ізолят заморожували за мінус 24 °С. Перед використанням розморожували за кімнатної температури і час від часу, різкими рухами, матрац з культуральною рідиною струшували для покращення лопання клітин та виходу вірусу.

Для експериментального відтворення парвовірусної та коронавірусної інфекції було проведено інфікування дослідних тварин *per os* один раз на добу в дозі 5 мл/кг.

Перші загальні симптоми парвовірусної інфекції спостерігали на 4 добу, а початок специфічних клінічних ознак виявляли вже на шосту. У цей період провели діагностику ІХА, використовуючи тест-системи *VetExpert* на наявність антигену.

Першими клінічними ознаками були: погіршення апетиту, тварини забивались у темний куток і тиснулись одна до одної. Спостерігали

кашоподібні фекалії з фрагментами слизу, а через добу виявляли геморагічні тяжі. Проявлялась нечітко виражена блювота, блідість слизових оболонок.

Перші загальні симптоми коронавірусної інфекції спостерігали на 6 – 7 добу, а початок специфічних клінічних ознак виявляли на 8 – 9 добу. У цей час провели діагностику ІХА, використовуючи тест-системи *VetExpert* на наявність антигену.

У собак, інфікованих коронавірусом, спостерігали кашоподібні фекалії, тьмяність шерстного покриву, блідість із сіруватим відтінком слизової кон'юнктиви. Тварини мали гарний апетит, при цьому майже не набирали вагу, можливо за рахунок частих актів дефекації.

Отримавши позитивний результат, провели активну евтаназію, використовуючи внутрішньовенне введення препарату Тіопенат (діюча речовина - тіопентал натрію в дозі 60 мг на 1 кг маси тіла в 1 г порошку якого міститься тіопентал натрію – 950 мг [15, 104, 163, 178]. Це забезпечує швидке безболісне настання смерті відповідно до Європейської Конвенції із захисту хребетних тварин, що використовують для експериментальних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986).

5.7. Мікрофлора собак, експериментально уражених парвовірусом і коронавірусом

Для підтвердження «чистоти» експерименту щодо відтворення парвовірусного і коронавірусного ентериту, вивчали мікробний пейзаж кишечника дослідних тварин. Адже наявність патогенних мікроорганізмів може спотворити результати експериментальних досліджень.

Нормальна мікрофлора (індигенна) не може однозначно сприйматися як абсолютно безпечна, не шкідлива для макроорганізму. На сьогодні описано багато випадків, коли представники нормобіоти спричиняють розвиток патологічного процесу в організмі хазяїна. Нормальна мікрофлора може бути лише тоді, коли вона не тільки відповідає нормам за якісним і кількісним

складом, але й перебуває у відведених їй природою місцях макроорганізму, за умови нормального функціонування імунної системи.

Матеріалом для дослідження був патологічний матеріал, відібраний під час патологоанатомічного розтину. Для досліджень відібрано проби тонкого та товстого відділу кишечника з його вмістом. Проби (фрагменти кишечника довжиною 15–20 см з вмістом, перев'язані лігатурами з обох кінців) відібрали від п'яти собак, інфікованих парвовірусом (ПВС), та п'яти – інфікованих коронавірусом (КВС). Попередньо у дослідних тварин з допомогою ПЛР були підтверджено наявність ПВС в першій групі інфікованих собак і КВС – у другій.

В умовах лабораторії кафедри мікробіології, фармакології та епізоотології (ЖНАЕУ) проводили засіви 10 % суспензії кишечника з вмістом на відповідні для кожного збудника живильні середовища.

У тваринному організмі дуже велика кількість різних видів мікроорганізмів – симбіотів, що забезпечують найрізноманітніші фізіологічні процеси. Враховуючи постійну персистенцію індигенної мікрофлори в організмі тварин, у тому числі собак, ми вивчали мікроекологію кишечника дослідних тварин.

Одним з найчисленніших представників індигенної мікрофлори собак є біфідобактерії (рис. 5.7.1 В). Дещо у меншій кількості виявляли лактобактерії (рис. 5.7.1 А).

Біфідобактерії – найбільша (див. рис. 5.7.1 В) група індигенної мікрофлори кишечника собак. Це грампозитивні анаероби, симбіотична роль яких полягає у формуванні біоплівки на поверхні слизової кишечника. Біоплівка перешкоджає розмноженню патогенної мікрофлори, а також пригнічує виділення токсинів кормів і токсигенних грибів, послаблюючи цим навантаження на печінку. Біфідобактерії – природні імуномодулятори. Зменшення їх кількості сприяє розвитку дисбактеріозу, що ми спостерігали за експериментального відтворення парвовірозу, і меншою мірою – вираженості за коронавірусної інфекції.

За експериментального відтворення вірусних ентеритів у собак в кишечнику були представлені у значній кількості лактобактерії (рис. 5.7.1 А), основна роль яких бути антагоністами росту патогенної мікрофлори.

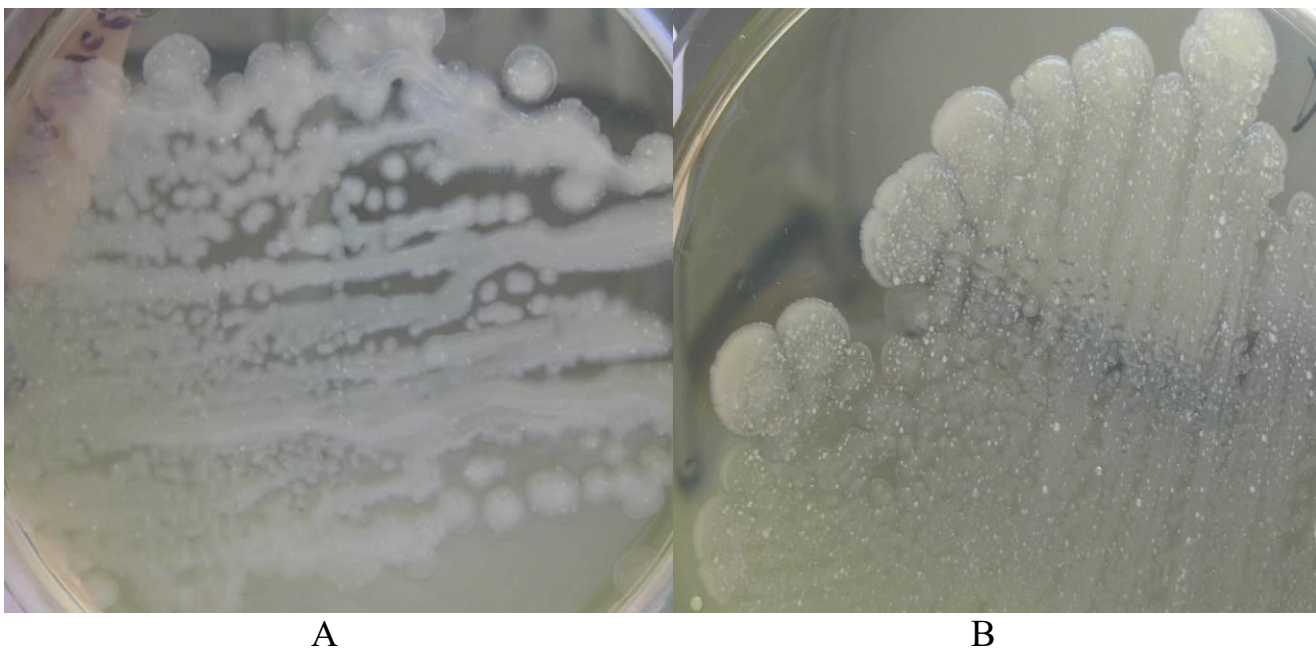


Рис. 5.7.1. Ріст А – лактобактерії і В – біфідобактерії на середовищі NiMedia.

Нами було проведено мікроскопію лактобактерій та біфідобактерій, що наведені на рисунку 5.7.2.

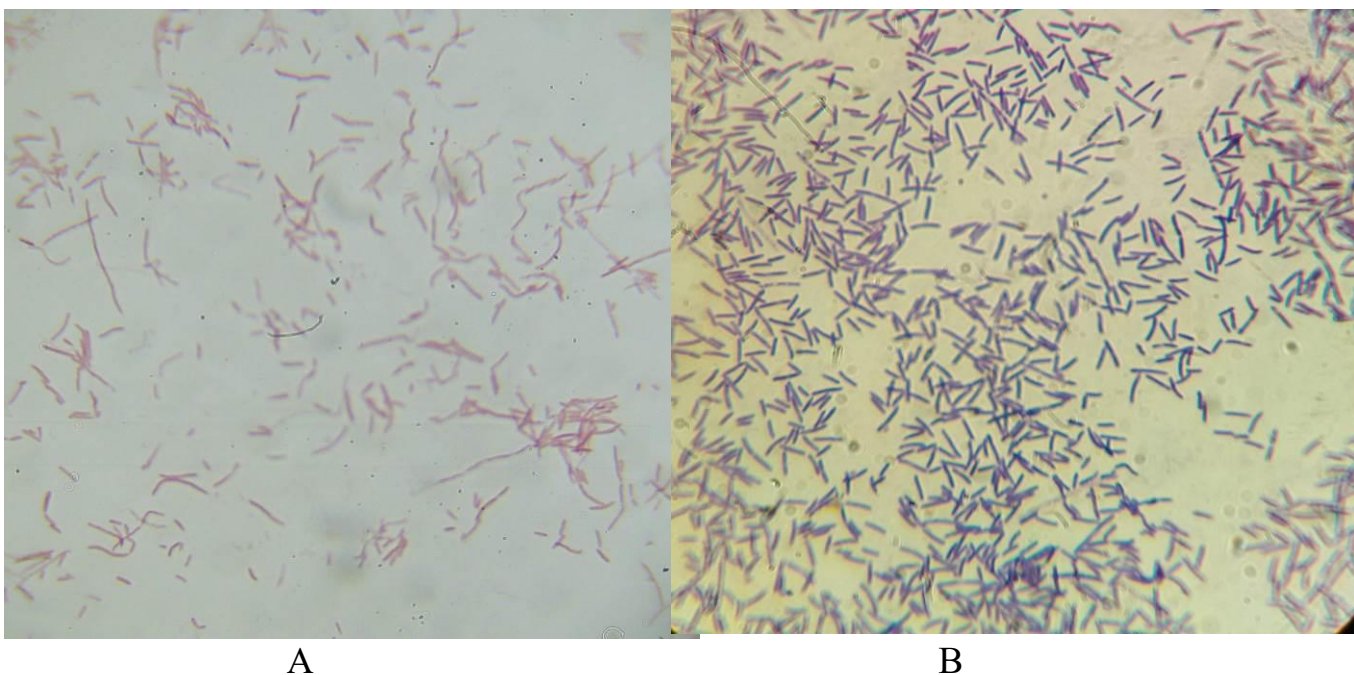


Рис. 5.7.2. Мікроскопія лактобактерій (А) і біфідобактерій (В) фарбування за Грамом ($\times 56$).

На рисунку 5.7.2. видно А – мікроорганізми з слабо вираженими тинкторіальними властивостями, грамнегативні, розміром 1×15 мкм., ниткоподібної форми, з дуже вираженою поліморфністю; В – грампозитивні мікроорганізми паличкоподібної форми, дещо зігнуті, розміром 2×10 мкм.

Крім біфідобактерій і лактобактерій, значною за чисельністю групою індигенної мікрофлори кишечника є ентеробактерії, а саме *Escherichia coli*. У дослідних тварин ми виявляли і відділяли *E. coli* (рис. 5.7.3.).

На рисунку 5.7.3. (А) бачимо ріст колоній *E. Coli* – круглі, випуклі, з рівними краями, гладкою блискучою поверхнею і металевим блиском.

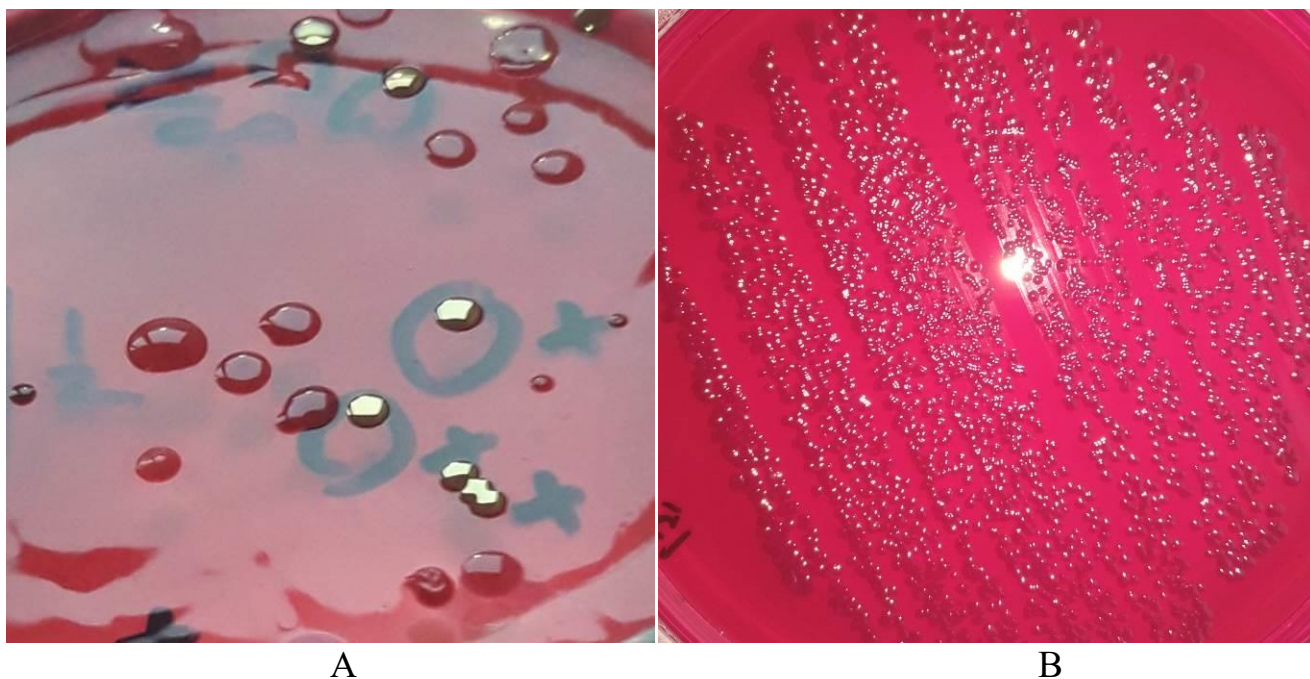


Рис. 5.7.3. Ріст *E. coli* на середовищі Ендо.

Патогенність отриманої культури *E. coli* визначали на трьох білих мишах живою масою 18 г, яким внутрішньочеревно вводили по 0,5 мл суспензії, що містила 500 млн мікробних тіл (за стандартом каламутності). Загибелі інфікованих мишей не спостерігали, що свідчить про непатогенність виділеної *E. coli*.

У разі значного ослаблення резистентності організму і зниження кількості лакто- та біфідобактерій, за довготривалого парвовірозу, ешерихії можуть проявляти патогенний вплив. Особливо небезпечно це тому, що ешерихії мають

RTF-плазмиди, за допомогою яких вони передають іншим ентеробактеріям стійкість до антибіотиків.

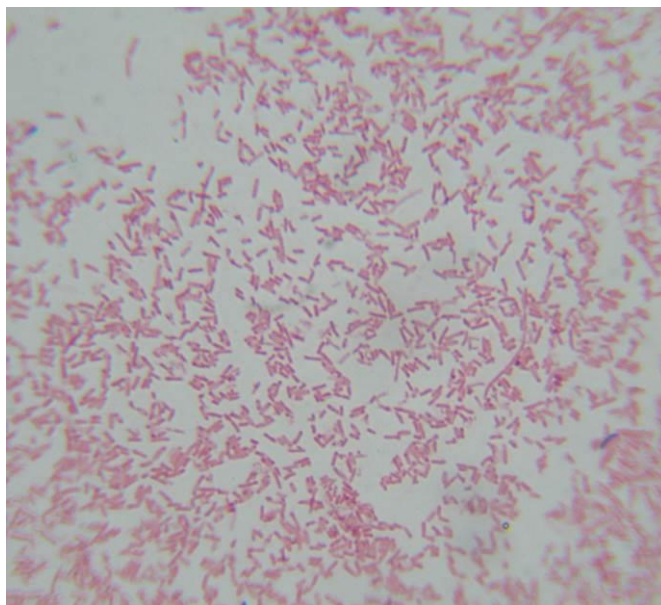


Рис. 5.7.4 Мікроскопія ентеробактерій (*E. coli*).

Певну частину кишкової мікробіоти собак, за експериментального відтворення ентеритів вірусної етіології, займали ентерококи, а саме стафілококи і стрептококи (рис. 5.7.5 та 5.7.6).

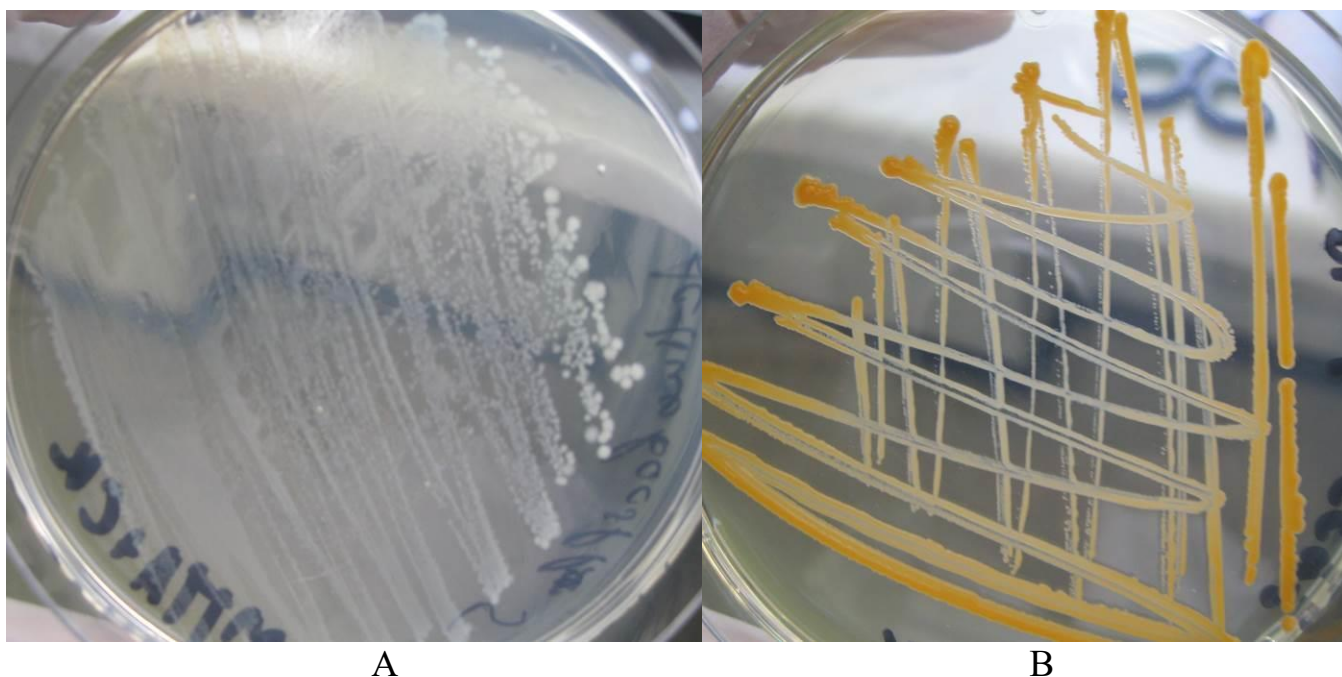


Рис. 5.7.5. Ріст ентерококів (А – на сироватковому МПА, В – на ЖСА (жовтково-сольовому агарі)).

Ентерококи проявляють антагоністичну активність до окремих представників патогенної мікрофлори, а також виконують імунокомпетентну функцію, як і більшість видів індигенної мікрофлори. Для виділення кокових форм мікроорганізмів використовували МПА з додаванням 10 % сироватки крові великої рогатої худоби і жовтково-сольовий агар (ЖСА) для стафілококів.

На рис. 5.7.6 (А) представлені стафілококи – грампозитивні кулясті мікроорганізми діаметром близько 1 мкм, які розташовані у вигляді скупчень, що нагадують грона винограду, а колонії не мали жодного забарвлення. Виділені від дослідних тварин штами стафілококів можна віднести до складу нормофлори, оскільки вони не проявляли ні гемолітичної (на кров'яному глюкозному МПА (КГМПА) не виявлено зон гемолізу), ні лецитиназної (на ЖСА не було зон помутніння навколо колоній) активності. До патогенних штамів стафілококів відносять такі, що мають або гемолітичну або лецитиназну активність.

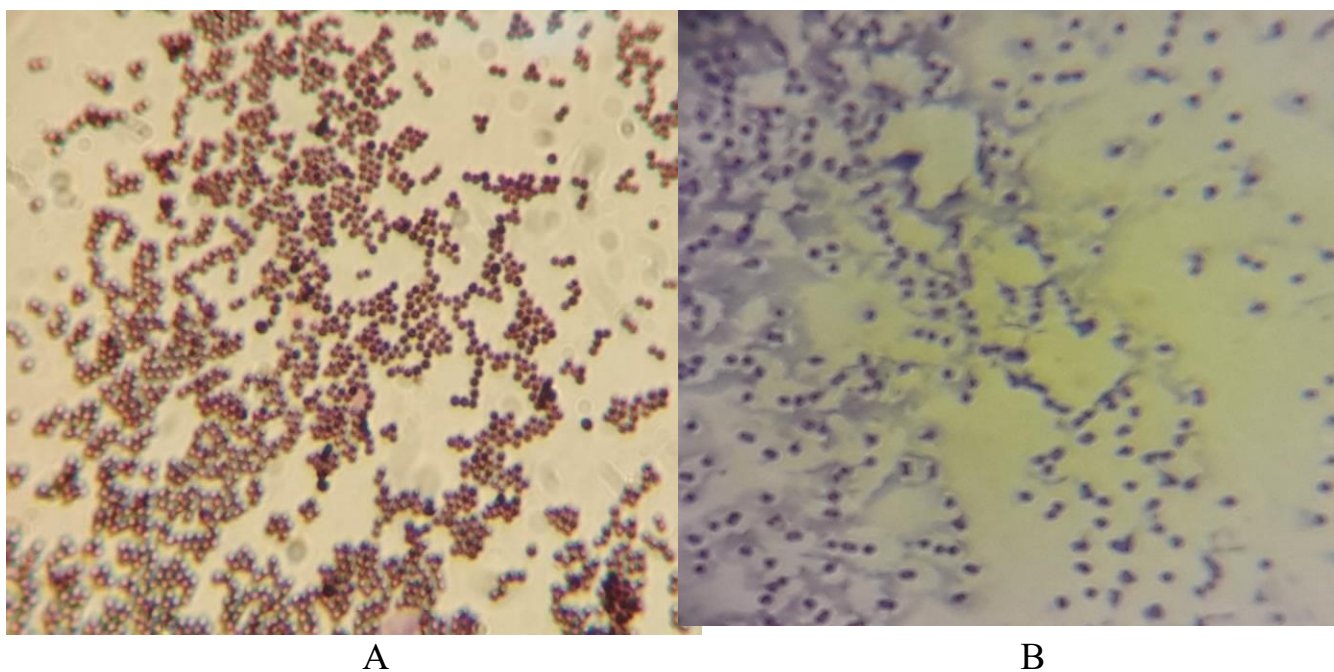


Рис. 5.7.6 А – стафілококи, В – ентерококи в мікропрепаратах із культур, виділених із вмісту кишечника.

За експериментального відтворення ентеритів вірусної етіології у всіх дослідних собак з кишечника висівали сульфїтвідновлюючі клостридії, яких

відносять до однієї із малочислених груп індигенної мікрофлори. Як і більшість умовно патогенної мікрофлори, кластридії проявляють синергічну функцію, а за патогенного впливу – токсиноутворювальну, що може проявлятися такою тяжкою патологією, як анаеробна ентеротоксемія, яка зазвичай має летальний кінець для макроорганізму.

Непатогенні кластридії належать до убіквітарних мікроорганізмів. Вони невибагливі до ростових властивостей живильних середовищ, а тому легко виділяються на таких середовищах як Кітт-Тароцці, Вільсон-Блера (рис. 5.7.7).

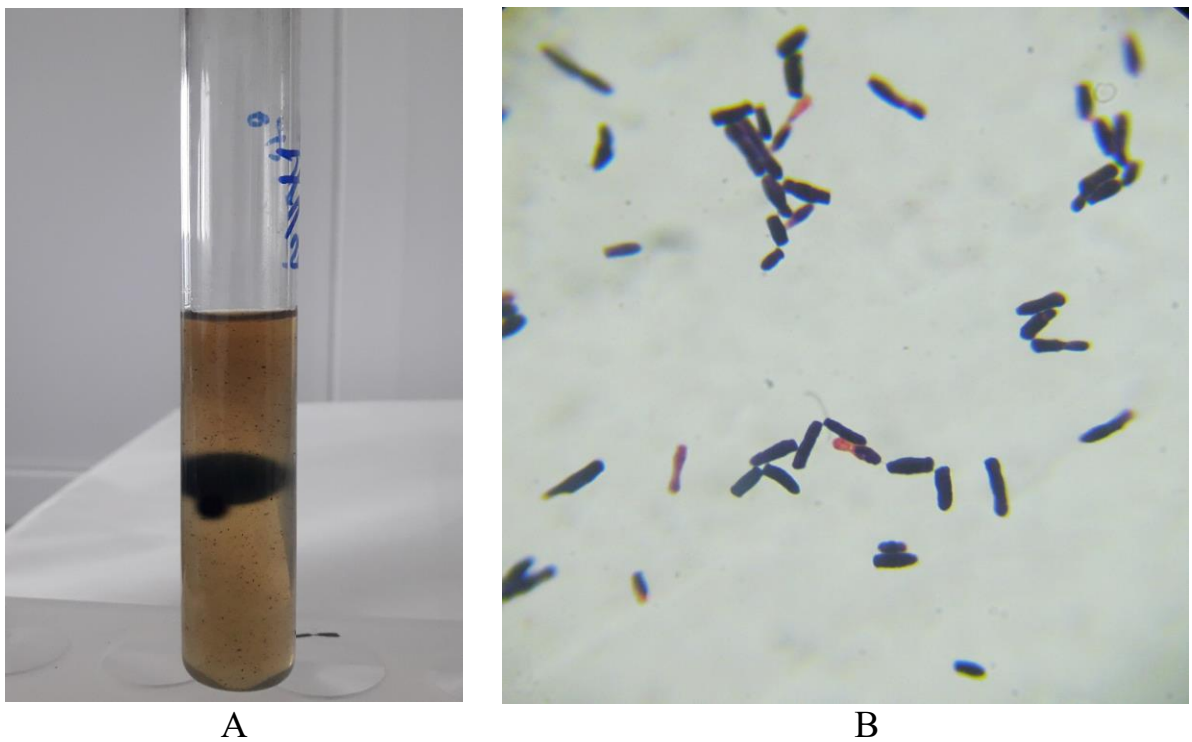


Рис. 5.7.7. Колонії сульфїтвідновлюючих кластридій у стовпчику агару на середовищі Вільсон-Блера (А) і ці ж кластридій у мікропрепараті, зафарбованому за Грамом (В).

Колонії сільфїтвідновлюючих кластридій на середовищі Вільсон-Блера, мають чорне забарвлення (рис. 5.7.7. А). Кластридії у мікропрепараті – це короткі товсті із дещо заокругленими кінцями, нерухомі (рухливість визначали у нативному мікропрепараті «висяча крапля» за допомогою фазово-контрастного пристрою КФ-4), грампозитивні палички (рис. 5.7.7. В).

Перед посівом суспензію досліджуваного матеріалу прогрівали на водяній бані за температури $t = + 80 \text{ }^\circ\text{C}$ протягом 10 хв і вносили 1 cm^3 у розплавлене й

охолоджене до $+ 50^{\circ}\text{C}$ середовище Вільсон-Блера. Через 24–36 год інкубації за $+ 37^{\circ}\text{C}$ виявляли зони почорніння у стовпчику середовища. Сульфїтвідновлюючі кластридії відновлюють сірку та перетворюють сульфїт натрію, який і входить до складу середовища, що сірководень, який у свою чергу реагує з іонами заліза, утворюючи сульфїт заліза, який має чорний колір і спричиняє почорніння середовища у тих місцях, де він утворюється, тобто у місцях росту колоній сульфїтвідновлюючих кластридій.

На рисунку 5.7.8., ще один представник умовно патогенної мікрофлори – гриби роду *Candida*, також завжди присутні в кишечнику та інших місцях організму.

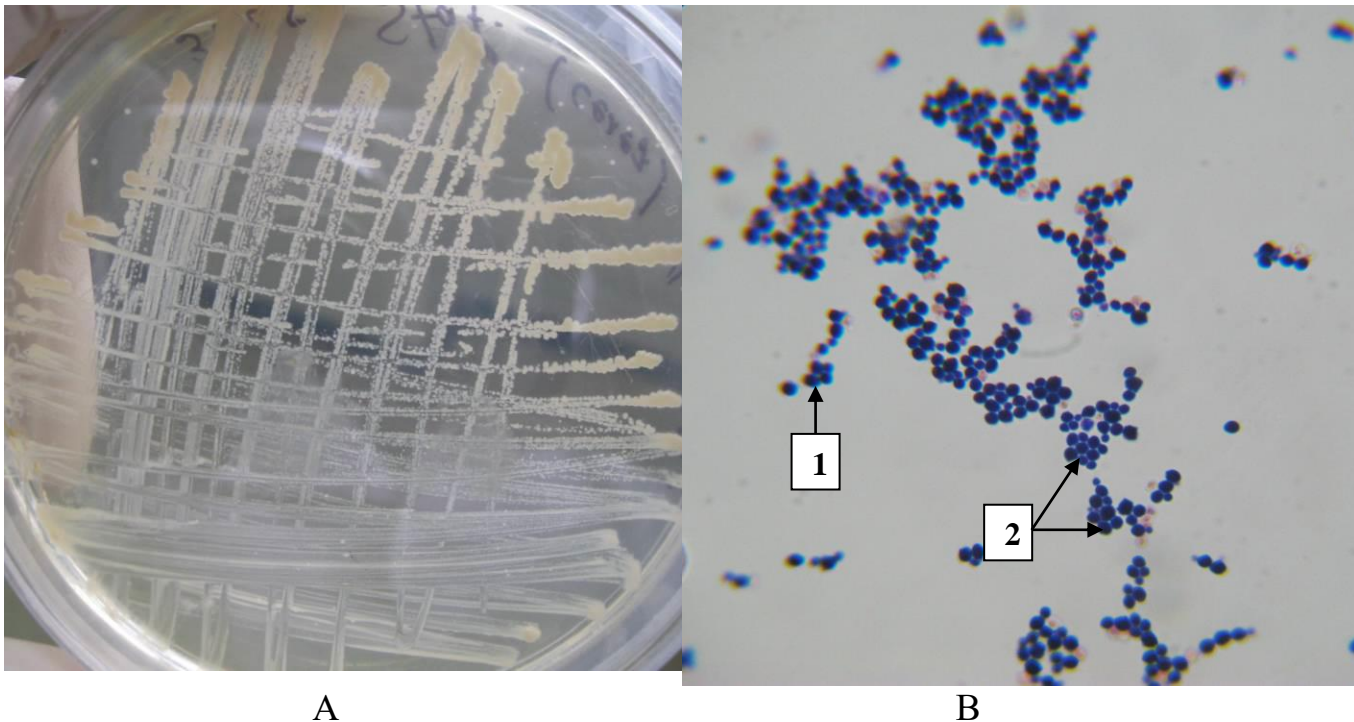


Рис 5.7.8. Культури грибів роду *Candida* на середовищі Сабуро (А) і ці ж мікроорганізми у мікропрепараті. Фарбування за Грамом (В).

На рисунку 5.7.8. (В) поліморфні мікроорганізми, а саме гриби роду *Candida*, що мають овоїдну форму, фаза їх росту – брунькування (показано стрілкою – 1) та брунькування в центрі (показано стрілкою 2)

Бактерії з роду *Proteus* відносять до числених представників індигенної мікрофлори кишечника собак. Вони беруть участь у синтезуючих процесах за

симбіотичного існування, а за патогенного впливу можуть спричиняти гнильні процеси та посилювати перебіг інших патологічних процесів кишечника.

Бактерії з роду *Proteus* виявляли в усіх дослідних собак за експериментального відтворення ентеритів вірусної етіології (рис. 5.7.9).

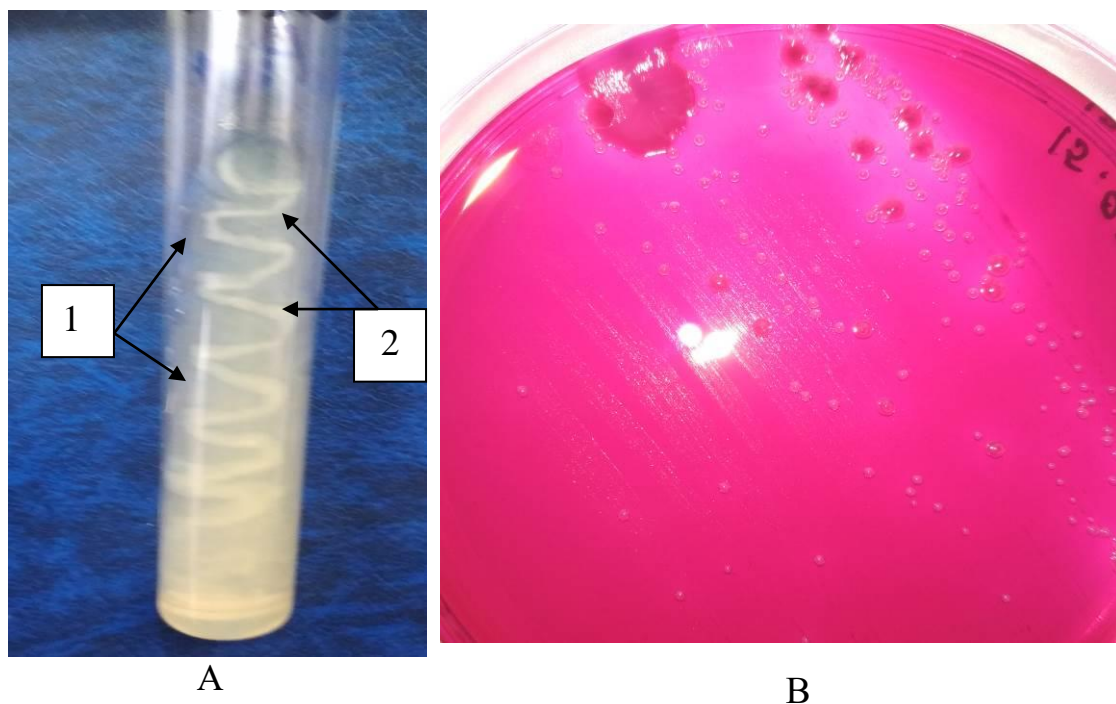


Рис. 5.7.9. Ріст колоній бактерії з роду *Proteus* на МПА (А) і на середовищі Ендо (В).

На рис. 5.7.9 (А) представлено чисту культуру ентеробактерій роду *Proteus* на МПА. Добре помітний типовий повзучий (1) ріст колоній (2), які є майже прозорими з ледь помітним блакитним відтінком.

За експериментального відтворення парвовірусної інфекції із асоціацій індигенної мікрофлори виділяли біфідо- та лактобактерії. У той же час не було виділено представників патогенної мікрофлори.

В цілому за парвовірозу у собак під час поділу виділених нами мікроорганізмів більшість становила бактеріальні асоціації ~ 88 %, меншість ~ 12 % – бактеріально-грибкові асоціації.

За експериментального відтворення коронавірусної інфекції у складі бактеріальних асоціацій більшість становили представники індигенної мікрофлори. Представників патогенної мікрофлори за проведення

експерименту з відтворення корона вірусної інфекції у собак не було виявлено. За ознаками таксономічної належності мікроорганізмів до різних груп більшість асоціацій були представлені бактеріями (~ 90 %) і бактеріально-грибковими асоціаціями – біля 10 %.

Зважаючи на те, що у процесі проведених бактеріологічних досліджень виділені нами штами мікробів були віднесені до індигенної мікрофлори, то можна стверджувати, що виявлені мікроорганізми, будучи природними симбіонтами кишечника собак, не мали посилювального впливу на гостроту перебігу та тяжкість прояву вірусних ентеритів собак.

Результати підрозділу 5.7 висвітлені в наукових працях [234].

ВИСНОВКИ ДО РОЗДІЛУ 5

Виділення парвовірусного та коронавірусного польового ізоляту проводили шляхом культивування на культурах клітин. У результаті нашого експерименту було встановлено, що найбільш чутливою лінією культур клітин для культивування польового ізоляту парвовірусу були нирка кроля і дещо гірше нирка хом'яка після третього пасажі, у перші три пасажи чутливішою була культура клітин нирки свині. Найбільш чутливою лінією культур клітин для культивування польового ізоляту коронавірусу собак була нирка хом'яка.

Отриманий культуральний парвовірус проявляв неспецифічну реакцію у ході діагностичного дослідження у стандартному ПЛР. Було проведено підбір праймерів і корекцію режимів реакції, що розширило можливості діагностики парвовірусної інфекції у собак.

Для вивчення патоморфологічних особливостей та специфіки патогенезу за парвовірусної і коронавірусної інфекції проведено експериментальне відтворення вищезгаданих хвороб на 45- добових цуценятах. Для інфікування був використаний власне отриманий польовий штам коронавірусу та парвовірусу собак, що культивувували на гетерологічних культурах клітин. Особливості патогенезу та патоморфологічні особливості наведені у розділі 6.

РОЗДІЛ 6. ПАТОМОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ ЗА ЕКСПЕРЕМЕНТАЛЬНОЇ ІНФЕКЦІЇ

6.1. Макроскопічні зміни у цуценят за експериментального зараження ізолятом парвовірусу, культивованим у гетерологічній культурі клітин

Під час проведення патологоанатомічного розтину трупів цуценят, які були експериментально заражені ізолятом парвовірусу, культивованим у гетерологічній культурі клітин, виявлено, що макроскопічні зміни дещо відрізняються від таких як у собак, що загинули за спонтанного перебігу цієї хвороби.

Трупи цуценят мали слабку вгядованість. Шкіра та підшкірна клітковина були сухуваті, що свідчило про зневоднення організму. Видимі слизові оболонки – ціанотичні.

Шлунок макроскопічно не був змінений. Слизова оболонка його мала блідо-рожевий колір, його вміст був пінистий (рис. 6.1.1).

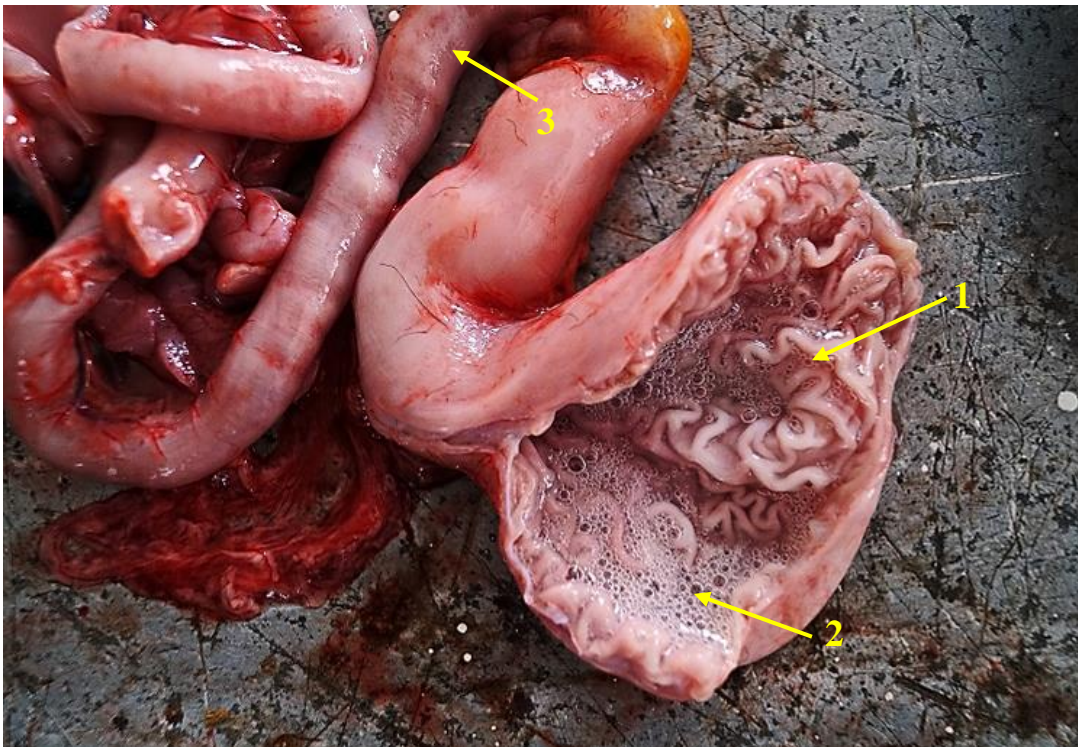


Рис. 6.1.1. Шлунок цуценяти за експериментального зараження парвовірусом: 1 – не змінена слизова оболонка; 2 – пінистий вміст; 3 – дванадцятипала кишка.

Основні макроскопічні зміни локалізувались у *тонкій кишці*. Проте геморагічний ентерит, типовий для спонтанної парвовірусної інфекції, макроскопічно не реєструвався. Натомість ззовні тонка кишка була нерівномірно гіперемійована, місцями розширена. Кровоносні судини брижі та кишкової стінки були виразно розширені та переповнені кров'ю (рис. 6.2). По всій своїй довжині тонка кишка в просвіті містила досить велику кількість рожевуватого кольору рідини з досить великою домішкою слизу (рис. 6.3).

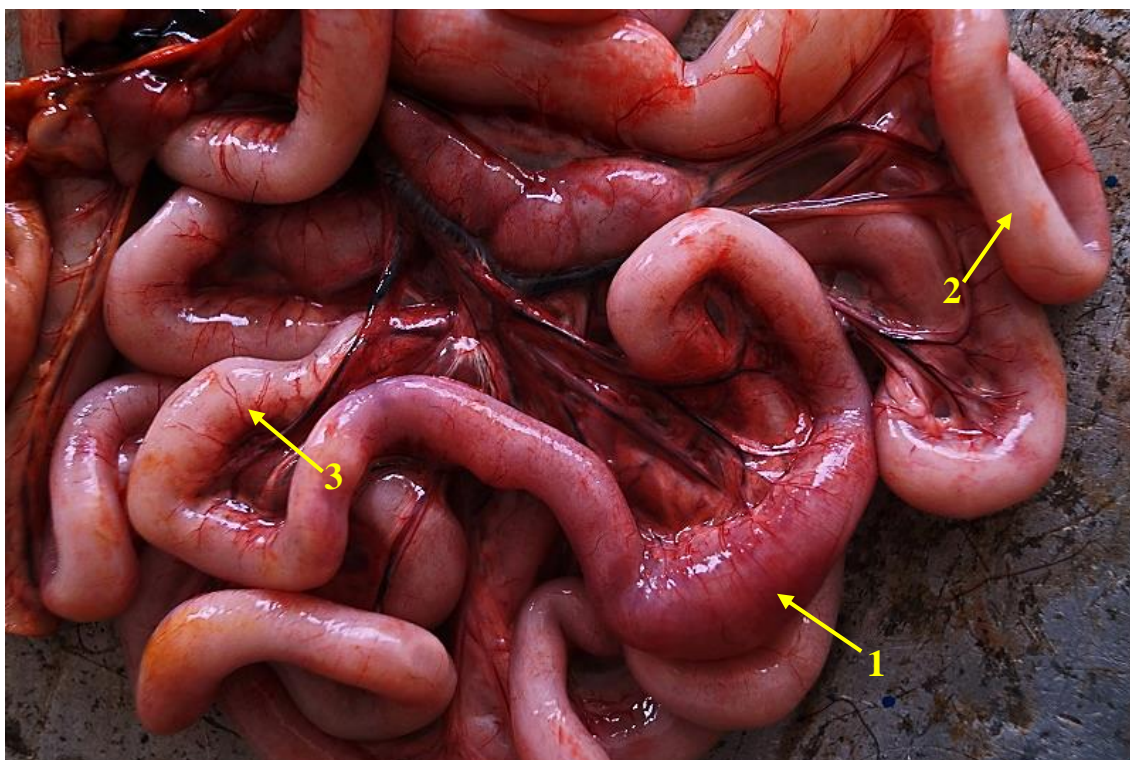


Рис. 6.1.2. Тонка кишка цуценяти за експериментального зараження парвовірусом: 1 – більш запалена, розширена ділянка; 2 – менш запалена ділянка; 3 – розширення й переповнення кров'ю кровоносних судин.

Виразні мікроскопічні зміни також виявлені у *підшлунковій залозі*. Вона сильно гіперемійована й набрякла, внаслідок чого добре була помітна часточковість її будови (рис. 6.1.4). Кровоносні судини органа виразно розширені та переповнені кров'ю.

Печінка мала нерівномірний темно-червоний колір (рис. 6.1.5). З поверхні розрізу виділялася значна кількість темно-червоної крові. Малюнок органа на розрізі був дещо згладженим.

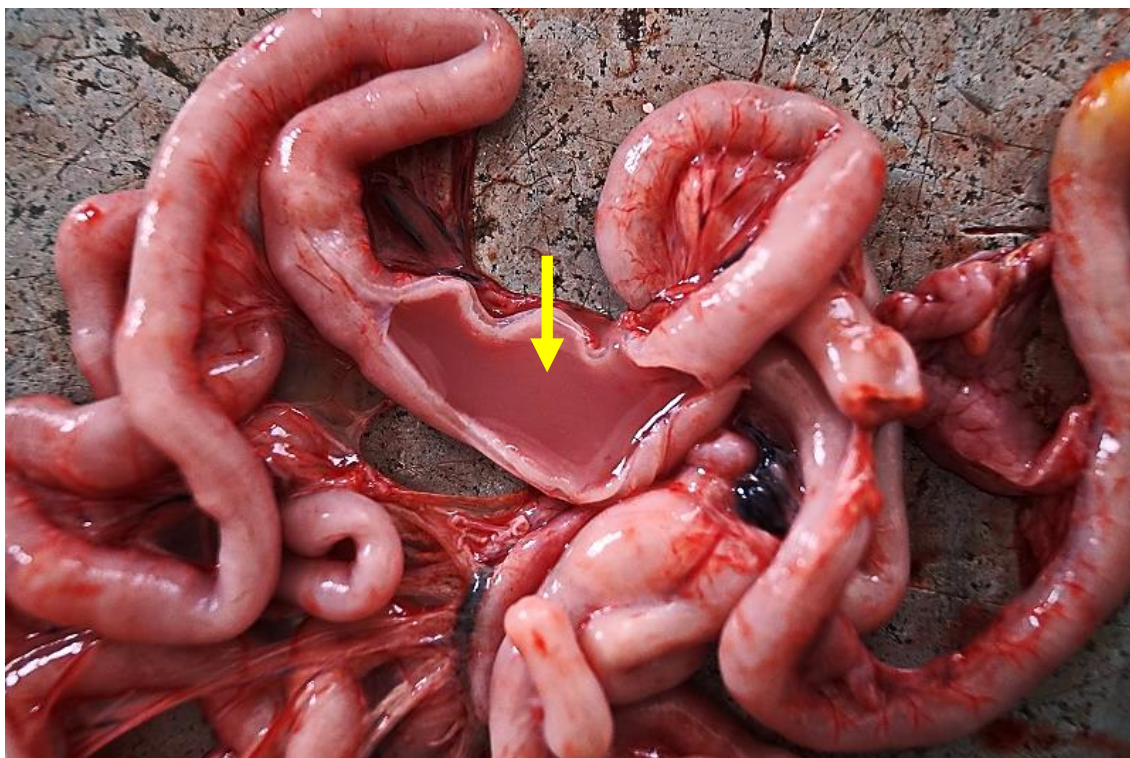


Рис. 6.1.3. Тонка кишка цуценяти за експериментального зараження парвовірусом: рожевий колір умісту (показано стрілкою).

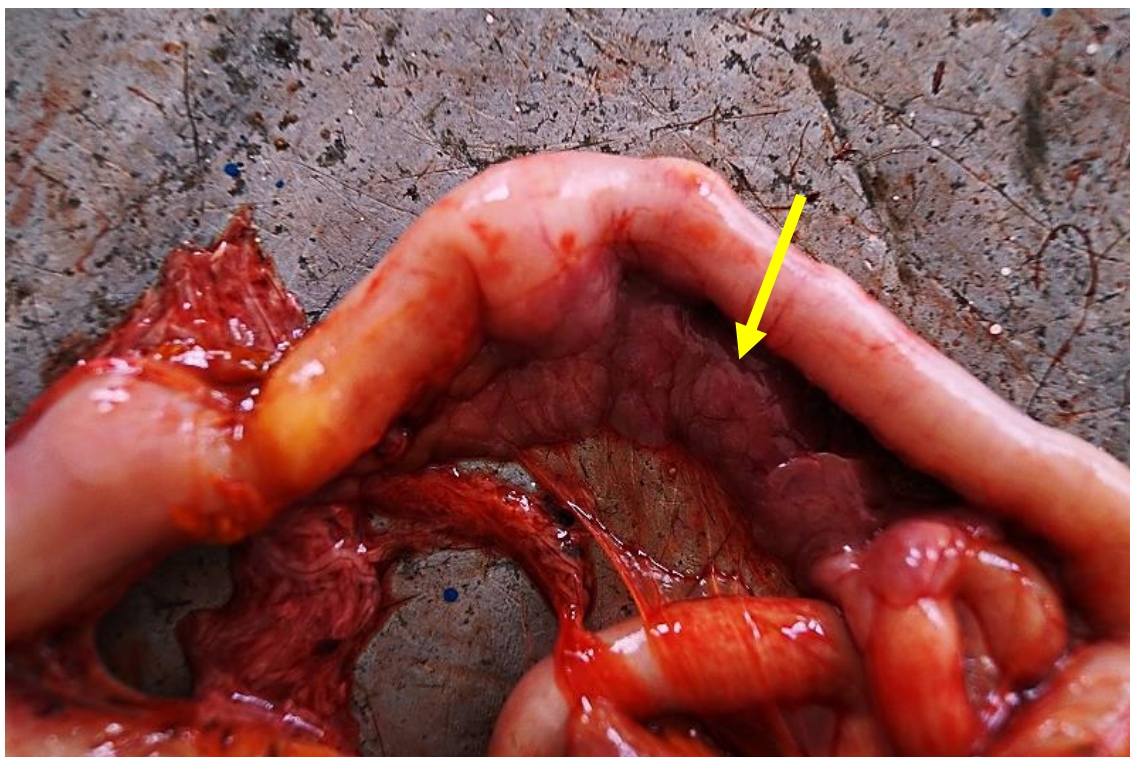


Рис. 6.1.4. Підшлункова залоза цуценяти за експериментального зараження парвовірусом: гіперемія, набряк (показано стрілкою).

Н и р к и з поверхні мали нерівномірний колір – на нерівномірно синюшному фоні виявляли плями глинистого кольору різних розмірів і форми

(рис. 6.1.6). На розрізі межа між кірковою й мозковою речовинами була згладжена, у мозковій речовині спостерігали виразний венозний застій (рис. 6.1.7).



Рис. 6.1.5. Печінка цуценяти за експериментального зараження парвовірусом: темно-червоний колір органу (показано стрілкою).

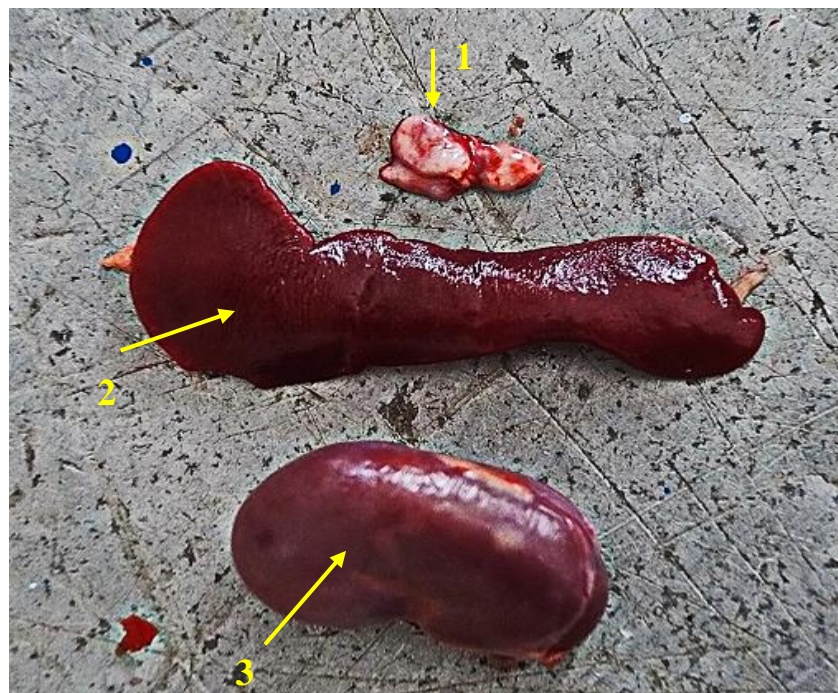


Рис. 6.1.6. Тимус, селезінка й нирка цуценяти за експериментального зараження парвовірусом: 1 – набряк і нерівномірна гіперемія тимусу; 2 – дещо зморщена капсула селезінки; 3 – нерівномірне забарвлення нирки з поверхні.



Рис. 6.1.7. Нирка цуценяти за експериментального зараження парвовірусом на розрізі: 1 – венозна гіперемія мозкової речовини; 2 – згладжена границя між кірковою й мозковою речовинами.

Селезінка була трохи зменшена, внаслідок чого її капсула дещо зморщена (див. рис. 6.1.6).

Тимус нерівномірно гіперемійований і набряклий, внаслідок чого окремі ділянки органа виразно збільшені й виступали над його загальною поверхнею (див. рис. 6.1.6).

В усіх досліджених *лімфовузлах* виявляли ознаки серозно-геморагічного лімфаденіту. Вони були збільшені (капсула напружена, паренхіма на розрізі випиналась), підвищеної вологості, з поверхні й на розрізі мали нерівномірний рожевий колір.

Серце мало округлу форму за рахунок виразного розширення правого шлуночка, рідше – всієї правої його половини. Серцевий м'яз був в'ялий, нерівномірно забарвлений – з ділянками сіруватого кольору, на яких м'язова тканина нагадувала ошпарене м'ясо.

Легені мали тістувату консистенцію, рівномірне рожеве забарвлення. Шматочки органа важко плавали у воді. З поверхні розрізу виділялась піниста

рідина червонуватого кольору. Така ж рідина знаходилась у трахеї та просвіті великих бронхів.

Судини *г о л о в н о г о м о з к у* і його оболонки були розширені, переповнені кров'ю. В інших органах і тканинах макроскопічні патологоанатомічні зміни не виявлені.

6.2. Мікроскопічні зміни

6.2.1. Мікроскопічні зміни у тонкій кишці цуценят за експериментального зараження ізолятом парвовірусу, культивованим у гетерологічній культурі клітин

Під час проведення гістологічних досліджень *т о н к о ї к и ш к и* цуценят, експериментально заражених виділенням нами ізолятом парвовірусу, культивованим у гетерологічній культурі клітин, було встановлено, що в просвіті дванадцятипалої, порожньої та клубової кишок знаходиться велика кількість клітинного детриту, серед якого виявляли окремі фрагменти епітелію та напівзруйновані клітини. Ядра клітин епітелію, які знаходились серед клітинного детриту у просвіті різних відділів тонкої кишки, мали округлу, овальну чи витягнуту форму. У багатьох з них спостерігали еозинофільні тільця-включення, а частина ядер були повністю еозинофільними (рис. 6.2.1). Раніше було встановлено, що за гістологічних досліджень маркером наявності парвовірусу в ядрах уражених ним клітин є утворення внутрішньоядерних еозинофільних тілець-включень [198, 269, 296, 329, 351, 558].

Проте, якщо раніше за наявністю внутрішньоядерних і внутрішньоцитоплазматичних тілець-включень ставили діагноз на певні вірусні хвороби (класичний приклад – тільця Бабеша-Негрі у разі сказу), то сьогодні тільця-включення не розглядають як остаточне підтвердження ураження клітин вірусами.

Мікроскопічні зміни у різних відділах тонкої кишки були подібними, проте дещо різними за своєю інтенсивністю – найменш ураженою була дванадцятипала кишка, у той час як у порожній і клубовій кишках ступінь

ураження був подібним. Поряд з цим ступінь ураження слизової оболонки тонкої кишки був різним навіть у поряд розташованих її сегментах (тобто ураження слизової оболонки були сегментарними).

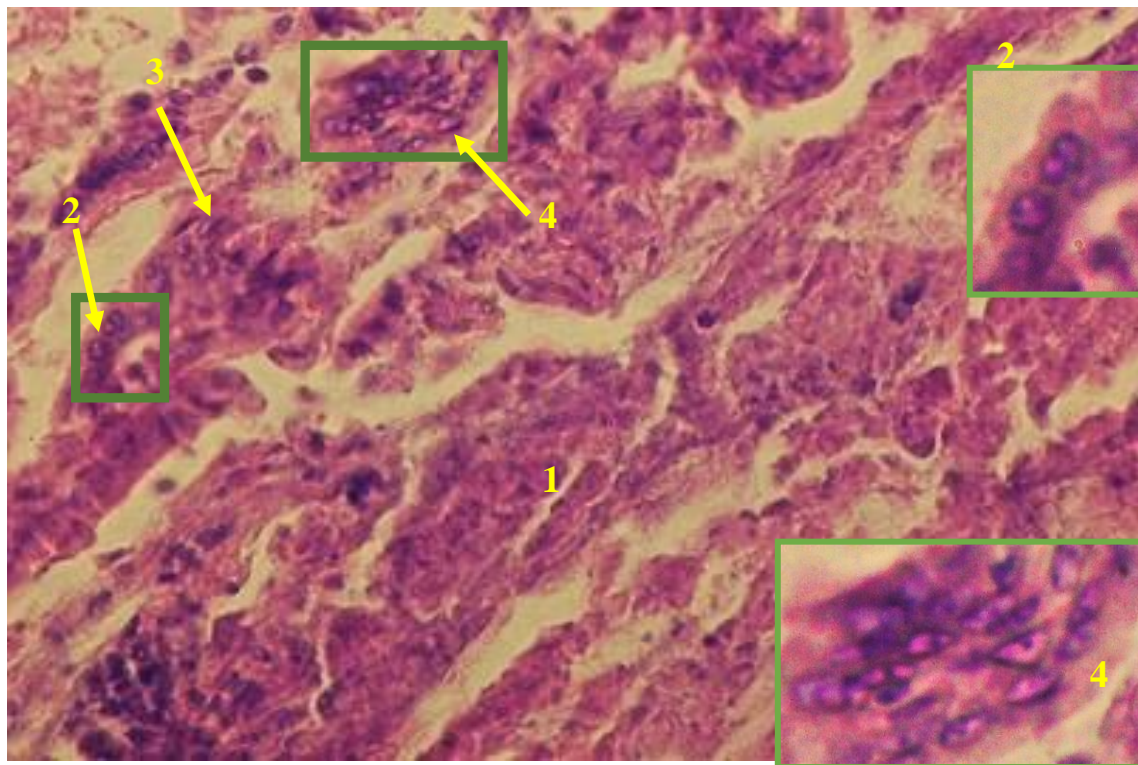


Рис. 6.2.1. Просвіт порожньої кишки експериментально зараженого цуценяти: 1 – клітинний детрит; 2 – фрагмент епітелію з еозинофільними ядрами округлої форми; 3 – фрагмент епітелію з еозинофільними ядрами овальної форми; 4 – клітини з еозинофільними ядрами витягнутої форми. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 400$.

Так, на одних ділянках ворсинки і клітини епітелію (ентероцити), які їх формували, були добре збереженими. Спостерігали лише досить помітне збільшення келихоподібних клітин, розширення й переповнення кров'ю кровоносних капілярів ворсинок, вогнищеве збільшення кількості міжепітеліальних лімфоцитів і помірний або незначний набряк строми (рис. 6.2.2 – 6.2.4). У стромі більшості таких ворсинок виявляли крововиливи (див. рис. 6.2.3). На таких ділянках у верхній частині багатьох ворсинок спостерігали досить виразні субепітеліальні набряки (див. рис. 6.2.3).

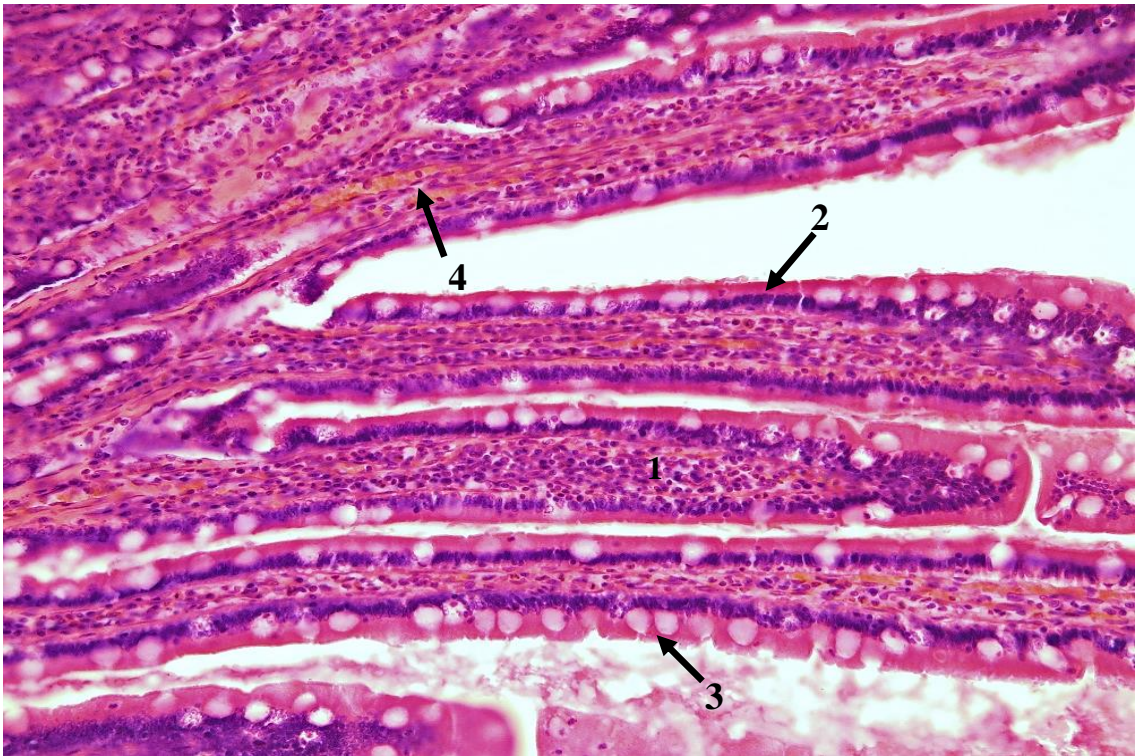


Рис. 6.2.2. Ворсинки порожньої кишки експериментально зараженого цуценяти: 1 – строма ворсинки; 2 – ентероцити; 3 – келихоподібна клітина; 4 – розширений, переповнений кров'ю капіляр. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 100$.

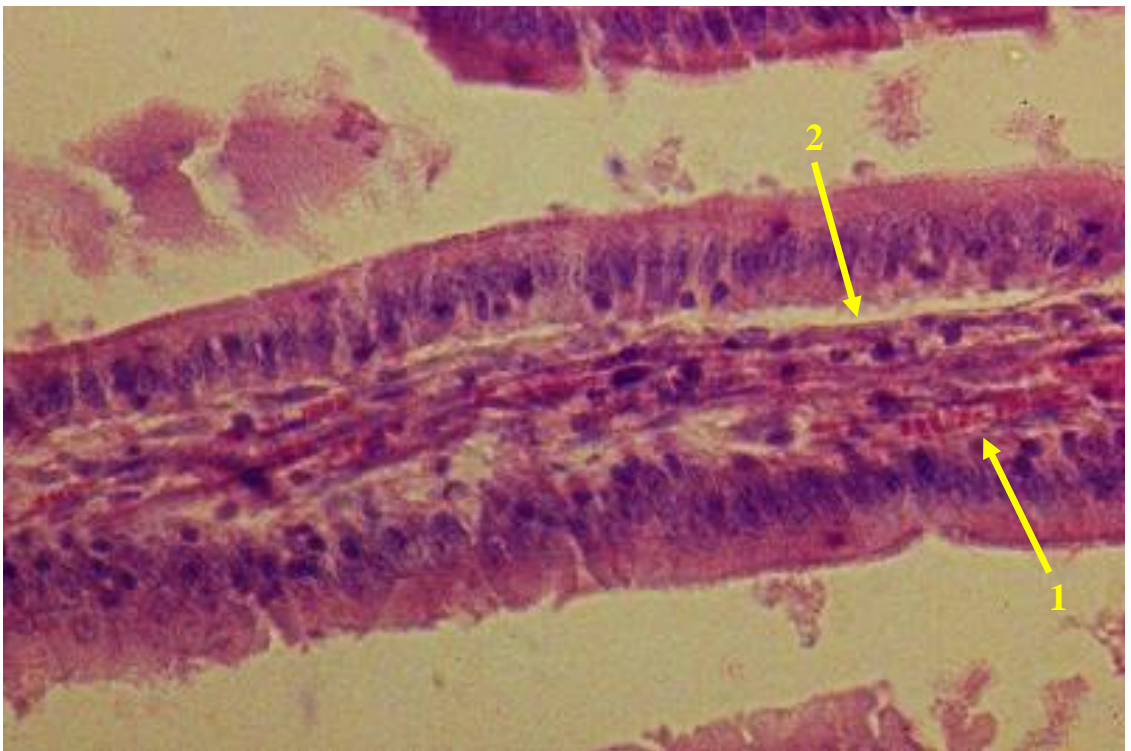


Рис. 6.2.3 Ворсинка порожньої кишки експериментально зараженого цуценяти: 1 – розширений, переповнений кров'ю капіляр; 2 – субепітеліальний набряк. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 200$.

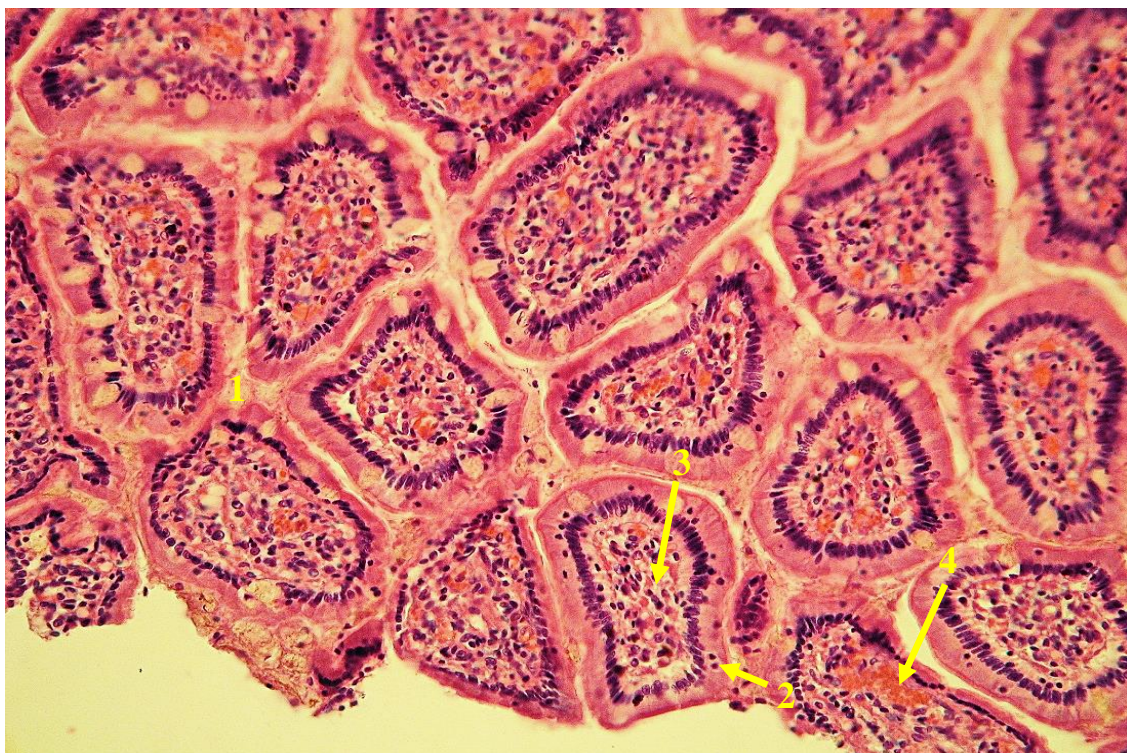


Рис. 6.2.4. Поперечний зріз через середню частину ворсинок клубової кишки експериментально зараженого цуценяти: 1 – епітелій; 2 – міжепітеліальні лімфоцити; 3 – набряк строми; 4 – крововиливи. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 100$.

На зрізах, зафарбованих гістохімічними методами – альціановим синім і за постановки ШЙК-реакції, надзвичайно виразно виявляли гіперплазію келихоподібних клітин (рис. 6.2.5).

При зафарбовуванні гістопрепаратів альціановим синім враховували, що за рН 2,5 вибірково зафарбовуються сіаломуцини, тобто протеоглікани, до складу яких входять групи сілової кислоти. У той же час за використання для гістологічних зрізів альціанового синього за рН 1,0 забарвлюються лише протеоглікани, до складу яких входять сульфатовані глікозаміноглікани [164]. При зафарбовуванні ШЙК-реакцією зафарбовуються глікопротеїни, які містять аміноглікани завдяки наявності в них гліколевих груп [152].

Слід зауважити, що результати зафарбовування келихоподібних клітин тонкої кишки цуценят альціановим синім за рН 2,5 і 1,0 були подібними. Різниця полягала лише в тому, що секрет цих клітини за рН 2,5 зафарбовувався більш інтенсивно. Це означає, що у складі секрету келихоподібних клітин сіаломуцини переважали над сульфатованими глікозаміногліканами. Водночас

секрет цих одноклітинних залоз містив велику кількість аміногліканів, внаслідок чого досить інтенсивно зафарбовувався за постановки ШЙК-реакції.

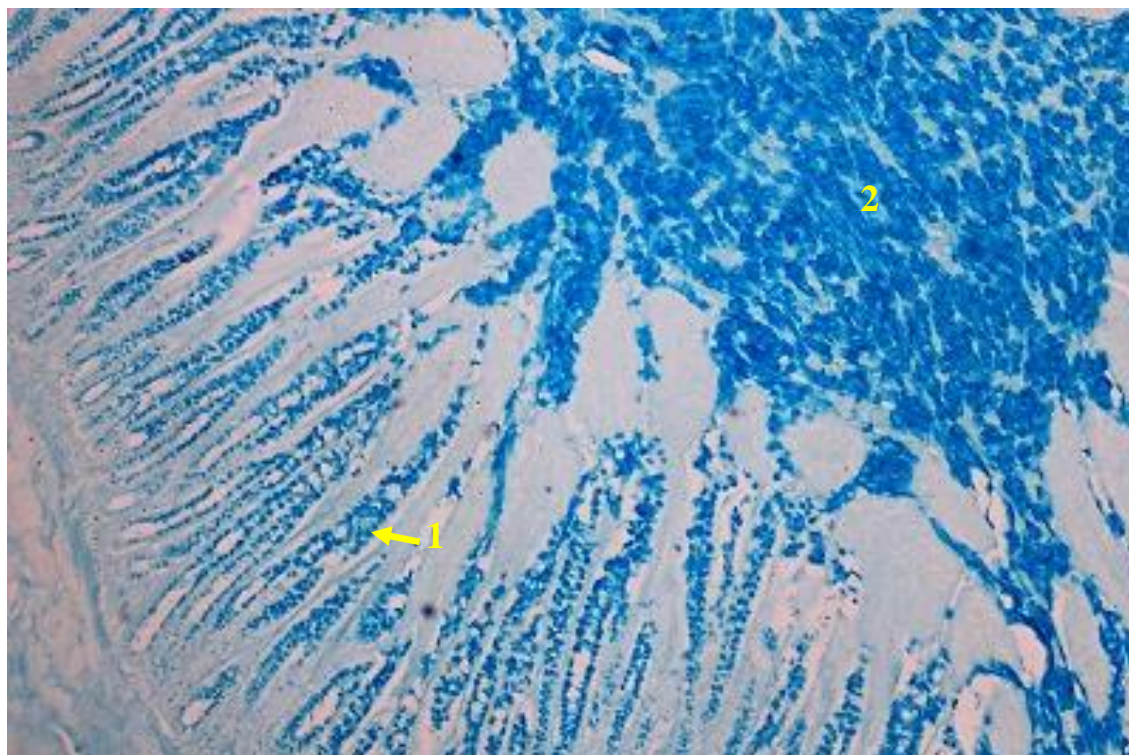


Рис. 6.2.5. Порожня кишка експериментально зараженого цуценяти: 1 – келихоподібні клітини; 2 – вміст голодної кишки. Альціановий синій, рН 2,5, $\times 50$.

Гістохімічними дослідженнями встановлено, що характер гістохімічних змін у келихоподібних клітинах в усіх відділах тонкої кишки був подібним, але ступінь їх виразності дещо менший у дванадцятипалій кишці. Поряд з гіперплазією келихоподібних клітин спостерігали ознаки їх гіперсекреції та виснаження. Переважна більшість цих клітин виділяла надзвичайно велику кількість секрету з великою інтенсивністю, внаслідок чого секрет виприскувався у просвіт тонкої кишки (рис. 6.2.6). Глікокалекс, який відіграє вирішальну роль у процесах пристінкового травлення, на поверхні ентероцитів у таких ділянках не виявляли, що свідчить про неможливість нормального пристінкового травлення у таких ділянках.

Така неможливість нормального пристінкового травлення, на нашу думку, полягає в тому, що відсутність глікопротеїнової та протеогліканової матриці на поверхні ентероцитів унеможливорює остаточне ферментативне розщеплення

поживних речовин і, відповідно, їх всмоктування ентероцитами, оскільки ферменти, що беруть участь у пристінковому травленні, вбудовуються саме в цю матрицю. Крім ферментативного розщеплення поживних речовин, глікопротеїнова та протеогліканова матриця на поверхні ентероцитів регулює проходження молекул, у тому числі різних вуглеводів, білків і ліпідів до поверхні ентероцитів, які в подальшому всмоктують ці молекули. Відсутність глікопротеїнової та протеогліканової матриці на поверхні ентероцитів також суттєво знижує місцевий імунітет, оскільки імуноглобуліни класу А, які захищають, також вбудовуються у матрицю.

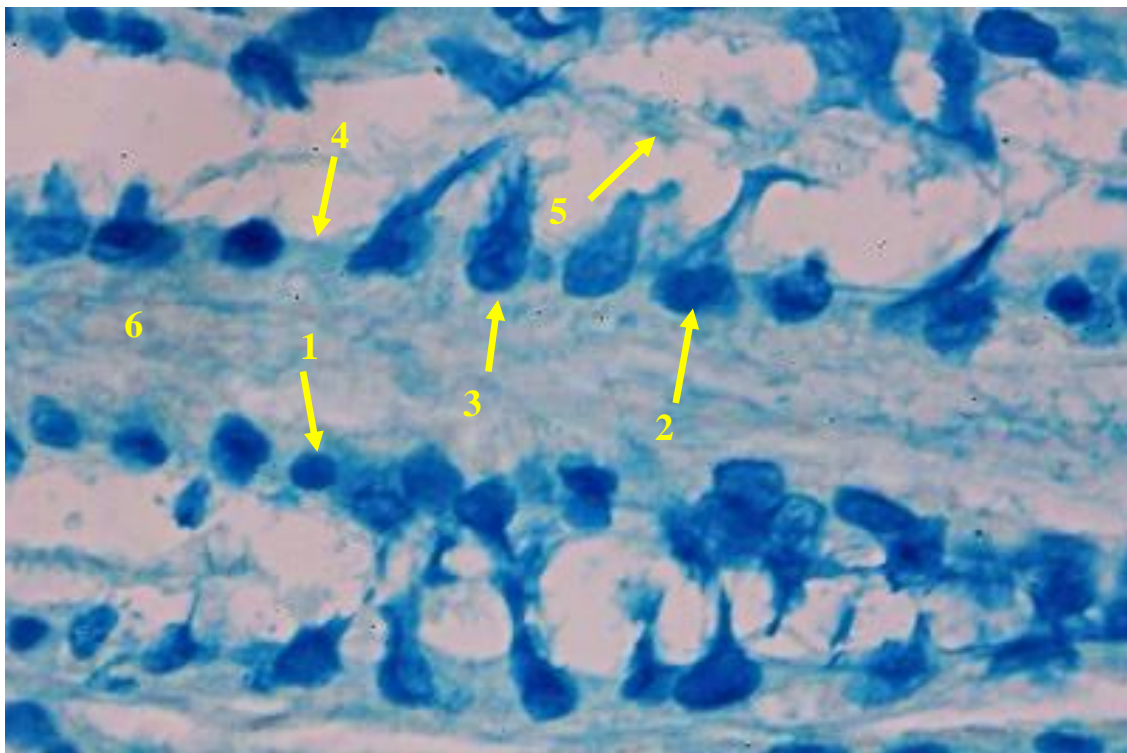


Рис. 6.2.6. Порожня кишка експериментально зараженого цуценяти: 1 – келихоподібна клітина у стані накопичення секрету; 2 – келихоподібна клітина у стані гіперергічної секреції; 3 – нерівномірне зафарбовування секрету келихоподібних клітин; 4 – відсутність глікокалексу на поверхні ентероцитів; 5 – секрет келихоподібних клітин у просвіті кишки; 6 – накопичення протеогліканів у стромі ворсинки. Альціановий синій, рН 2,5, $\times 1000$.

Лише поодинокі келихоподібні клітини виділяли секрет з меншою інтенсивністю, внаслідок чого він, як у нормально функціонуючій кишці,

досить рівномірно розтікався по поверхні сусідніх ентероцитів, формуючи шар глікокалексу (рис. 6.2.7).

У експериментально інфікованих цуценят нами також встановлено порушення гістохімічного складу секрету, який накопичувався у келихоподібних клітинах. Цей секрет у переважній більшості таких клітин нерівномірно зафарбовувався альціановим синім за рН 2,5 (див. рис. 6.2.6) і рН 1,0. Це вказує на порушення синтезу протеогліканів, як тих, що містять групи сіалової кислоти, так і тих, що мають сульфатовані глікозаміноглікани.

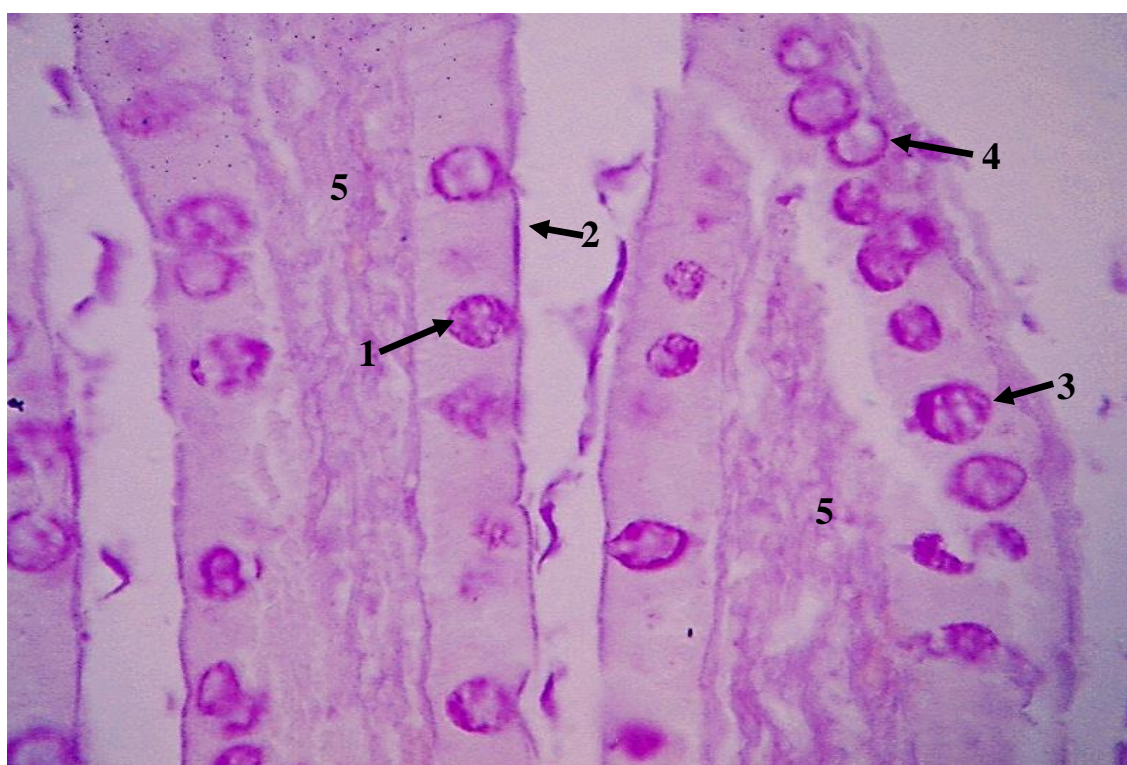


Рис. 6.2.7. Порожня кишка експериментально зараженого цуценяти: 1 – келихоподібна клітина у стані нормергічної секреції; 2 – глікокалекс на поверхні ентероцитів; 3 – нерівномірне зафарбовування секрету келихоподібної клітини; 4 – виразне зменшення умісту глікопротеїнів у секреті келихоподібної клітини; 5 – накопичення глікопротеїнів у стромі ворсинки. ШІК-реакція, $\times 1000$.

Під час постановки ШІК-реакції секрет багатьох келихоподібних клітин також зафарбовувався нерівномірно, або ж майже не зафарбовувався, що свідчить про порушення синтезу цими одноклітинними залозами глікопротеїнів (див. рис. 6.2.7). При цьому, за даними проведених нами досліджень за

експериментально відтвореної парвовірусної інфекції, синтез глікопротеїнів порушувався більш значною мірою, ніж протеогліканів.

Також слід зазначити, що вміст тонкої кишки інтенсивно зафарбовувався альціановим синім при рН 2,5 (див. рис. 6.2.5) і рН 1,0. Це означає, що у складі запального ексудату, який виділявся у просвіт тонкої кишки, досить значна частка припадала на слиз, багатий на сіаломуцини та протеоглікани, до складу яких входять сульфатовані глікозаміноглікани.

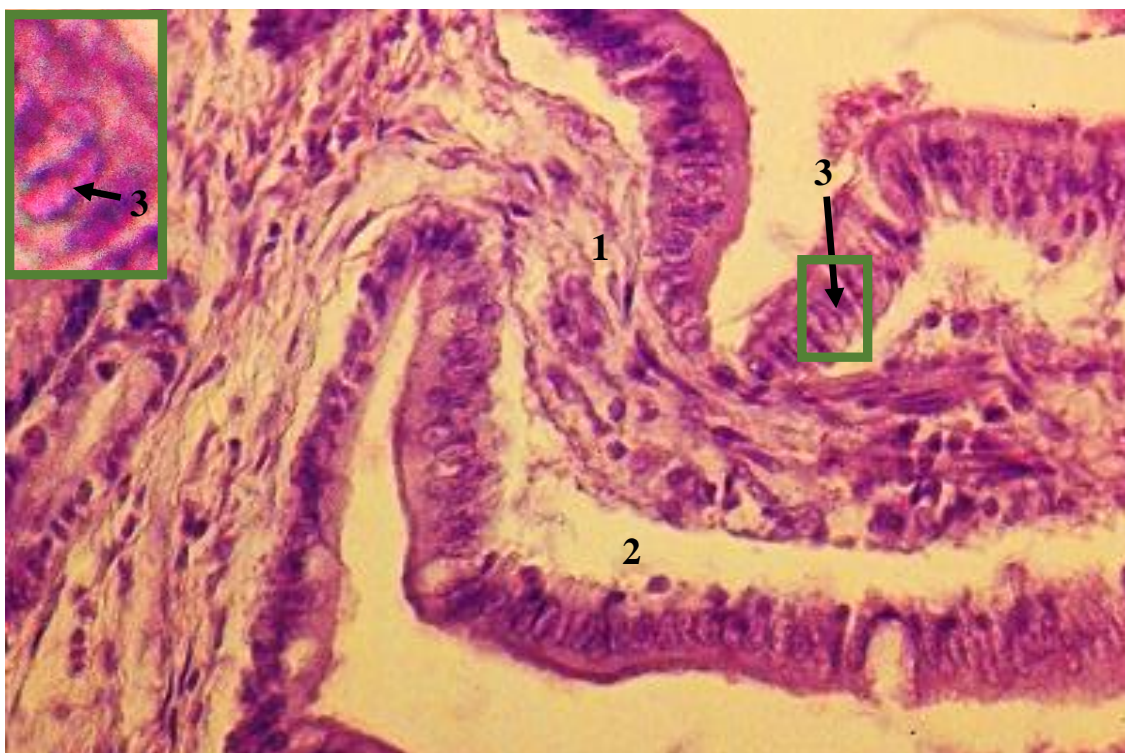


Рис. 6.2.8. Викривлена й деформована ворсинка клубової кишки експериментально зараженого цуценяти: 1 – набряк строми; 2 – субепітеліальний набряк; 3 – еозинофільне тільце-включення в ядрі ентероцита. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 400$.

Гістологічними дослідженнями встановлено, що на розтягнутих ділянках тонкої кишки ворсинки були викривлені та, нерідко, деформовані внаслідок виразного набряку їх строми і субепітеліального набряку (рис. 6.2.8). У частині ядер ентероцитів виявляли еозинофільні тільця-включення різних розмірів і форми (див. рис. 6.2.8). Такі тільця-включення мали різні розміри та форму, займаючи від частини ядра до майже повністю всього ядра. На інших ділянках

спостерігали відсутність епітеліоцитів на апікальній частині ворсинок (рис. 6.2.9) та їх часткове руйнування (рис. 6.2.10).

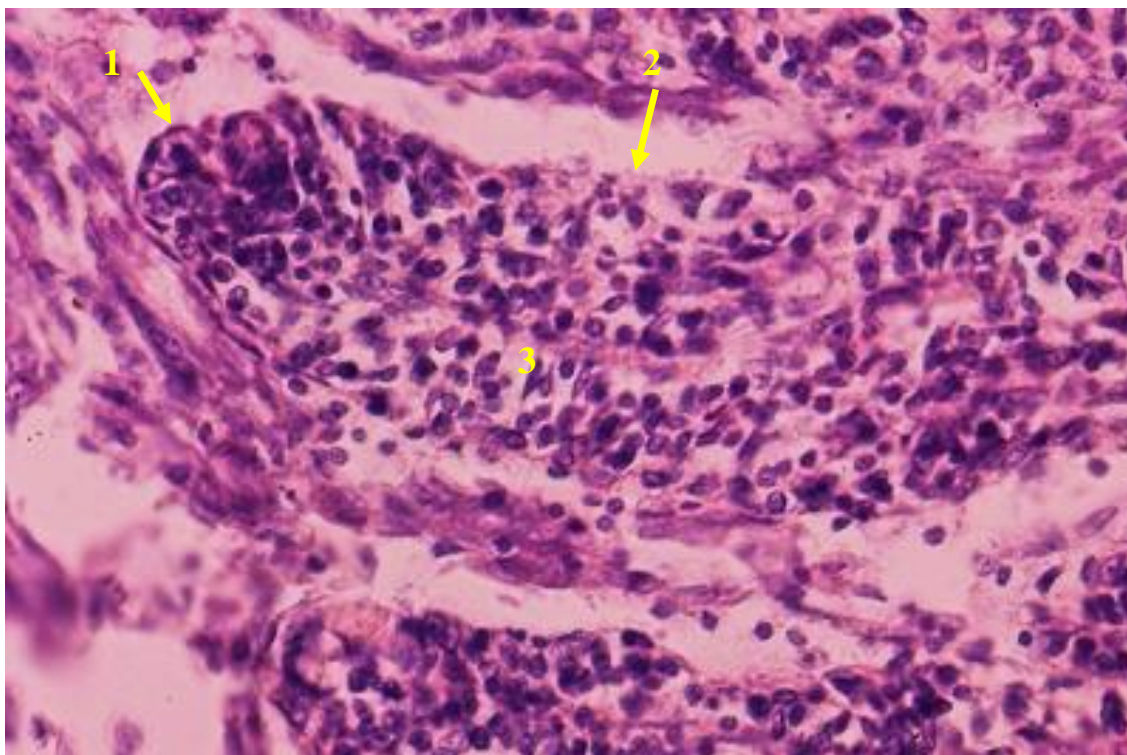


Рис. 6.2.9. Ворсинки клубової кишки експериментально зараженого цуценяти: 1 – відсутність епітелію; 2 – відсутність базальної мембрани; 3 – набряк строми ворсинки. Гематоксилін Караці та і еозин, $\times 400$.

За відсутності епітеліоцитів на апікальній поверхні ворсинок, на досить значних їх ділянках базальна мембрана епітелію була відсутня. Строма таких ворсинок набрякла (див. рис. 6.2.9). У разі часткового руйнування ворсинок найбільш виразним воно було у ділянці їх верхівок. При цьому на місці верхівок ворсинок виявляли залишки зруйнованої їх строми, досить значні пласти їх епітелію та хаотичні скупчення епітеліальних клітин з частково чи повністю зруйнованою цитоплазмою але з достатньо добре збереженими ядрами. У ядрах епітеліоцитів спостерігали еозинофільні тільця-включення, більшість ядер були переважно еозинофільними (див. рис. 6.2.10).

Оскільки, як зазначалося вище, маркером наявності парвовірусу в ядрах уражених ним клітин є утворення внутрішньоядерних еозинофільних тілець-включень, можна зробити висновок, що в експериментально заражених

ізолятом парвовірусу собак, культивованим у гетерологічній культурі клітин, цуценят скупчення збудника знаходилися в ядрах ентероцитів ворсинок.

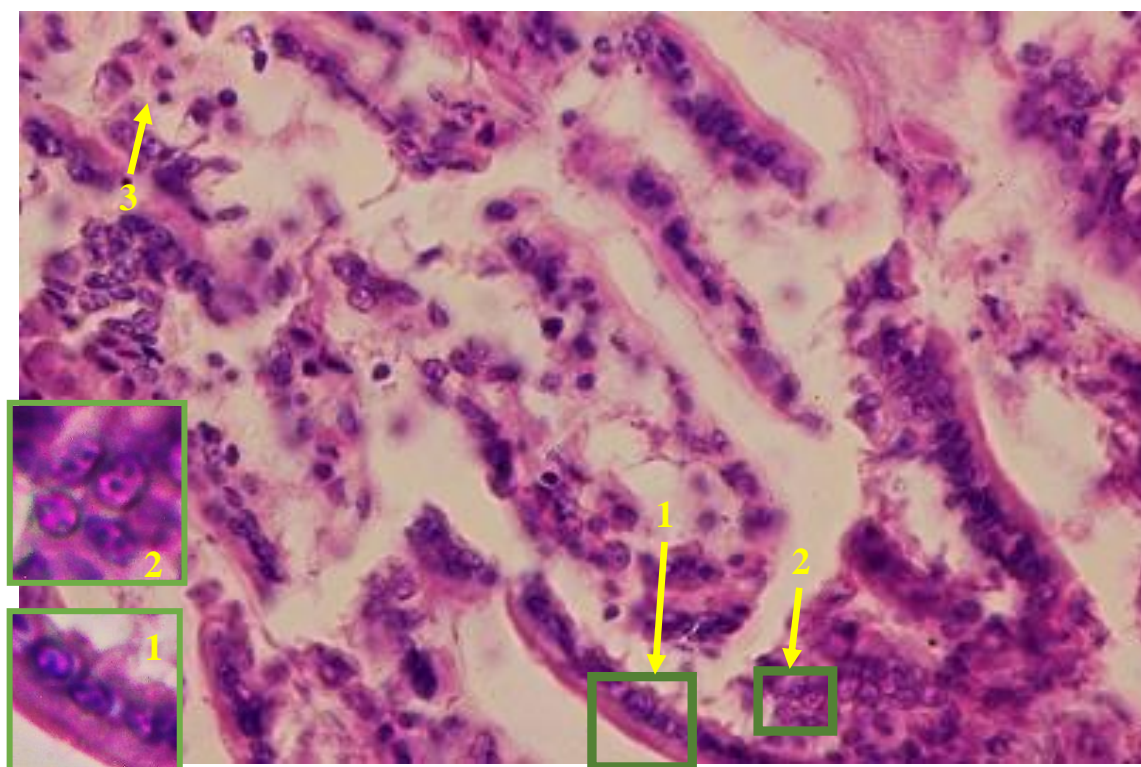


Рис. 6.2.10. Ділянка верхівок ворсинок дванадцятипалої кишки експериментально зараженого цуценяти: 1 – еозинофільне ядро й еозинофільні тільця-включення в ядрі ентероцита у складі суцільного пласту епітелію; 2 – еозинофільне ядро й еозинофільні тільця-включення в ядрі в безладному скупченні клітин; 3 – зруйнована строма ворсинки. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 400$.

Раніше було встановлено, що парвовірус собак, як і інші парвовіруси, має односпіральну ДНК, внаслідок чого здатний розмножуватися тільки у проліферуючих клітинах, оскільки для його реплікації необхідні компоненти ДНК-синтезувального апарату клітини, особливо α - і γ -ДНК-полімерази, які синтезуються в S-фазі клітини [350, 558]. Також було показано, що здатність збудника розмножуватися в клітинах, які активно діляться, зумовлює розвиток того або іншого синдрому за парвовірусної інфекції у собак, що пов'язано з віком тварин. У цуценят до 3-тижневого віку активно діляться клітини міокарда, після досягнення цього віку – клітини крипт кишечника [257].

Враховуючи одержані нами результати та раніше відомі факти, можна зробити висновок, що парвовірус собак, культивований нами в гетерологічній культурі клітин, або ж набув здатності більш повільно розмножуватись у клітинах, внаслідок чого уражені клітини крипт встигали переміщуватися аж на верхівки ворсинок, або ж (що менш ймовірно, але теоретично можливо) використовувати для своєї реплікації якісь інші клітинні механізми.



Рис. 6.2.11. Верхівка ворсинки клубової кишки експериментально зараженого цуценяти: 1 – строма ворсинки; 2 – субепітеліальний набряк; 3 – сплющений ентероцит; 4 – прозорі вакуолі в ядрі ентероцита; 5 – еозинофільне ядерце; 6 – еозинофільні тільця-включення в ядрі ентероцита; 7 – велетенське ядро ентероцита з еозинофільними тільцями-включеннями; 8 – базофільне ядерце; 9 – лімфоцит. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 1000$.

У поодиноких ентероцитах ядра з еозинофільними тільцями-включеннями набували велетенських розмірів, вірогідно за рахунок накопичення в них частинок збудника хвороби (рис. 6.2.11). Також слід зазначити, що в переважній більшості ядер епітеліоцитів, які містили еозинофільні тільця-включення, ядерця вирізнялися чіткою базофілією. З такими клітинами чи безпосередньо з їх ядрами (за часткового руйнування цитоплазми) нерідко контактували лімфоцити.

Базофілія ядерець з еозинофільними тільцями-включеннями в ядрах, на нашу думку, вказувала на переважання у складі таких ядерець рибонуклеопротеїну, що відображало активізацію процесів синтезу у клітині (найвірогідніше – синтезу структурних компонентів вірусних частинок).

У ядрах частини ентероцитів ворсинок, які не містили еозинофільних тілець-включень, внаслідок часткового розчинення (чи лізису) хроматину виявлялися прозорі та напівпрозору вакуолі (див. рис. 6.2.11). Ядерця таких клітин зазвичай мали оксифільні властивості, що відображало домінування в їх складі білкового компонента. На нашу думку це свідчило про інгібіцію синтетичних процесів у таких клітинах.

У середній і нижній частинах ворсинок, верхівки яких руйнувалися, епітелій також зазнавав досить виразних мікроскопічних змін. Зміни ентероцитів починалися з утворення клиноподібного дефекту між посмуговою облямівкою поряд розташованих клітин (рис. 6.2.12).

Надалі такий клиноподібний дефект поширювався на апікальну ділянку між сусідніми ентероцитами, що свідчить про руйнування щільних контактів і замикаючих пластин між сусідніми клітинами. Потім відбувалося повне роз'єднання бокових частин сусідніх ентероцитів, що вказує на порушення десмосом, замків, а також простих, щілинних і проміжних контактів між сусідніми клітинами. Після відокремлення ентероцита від поряд розташованих клітин він втрачав посмуговану облямівку та характерну стовпчасту форму (рис. 6.2.13). Такі зміни свідчили про порушення клітинної мембрани та цитоскелета ентероцита, відокремленого від загального епітеліального шару. Чим були зумовлені такі зміни ентероцитів ворсинок, ми не встановили.

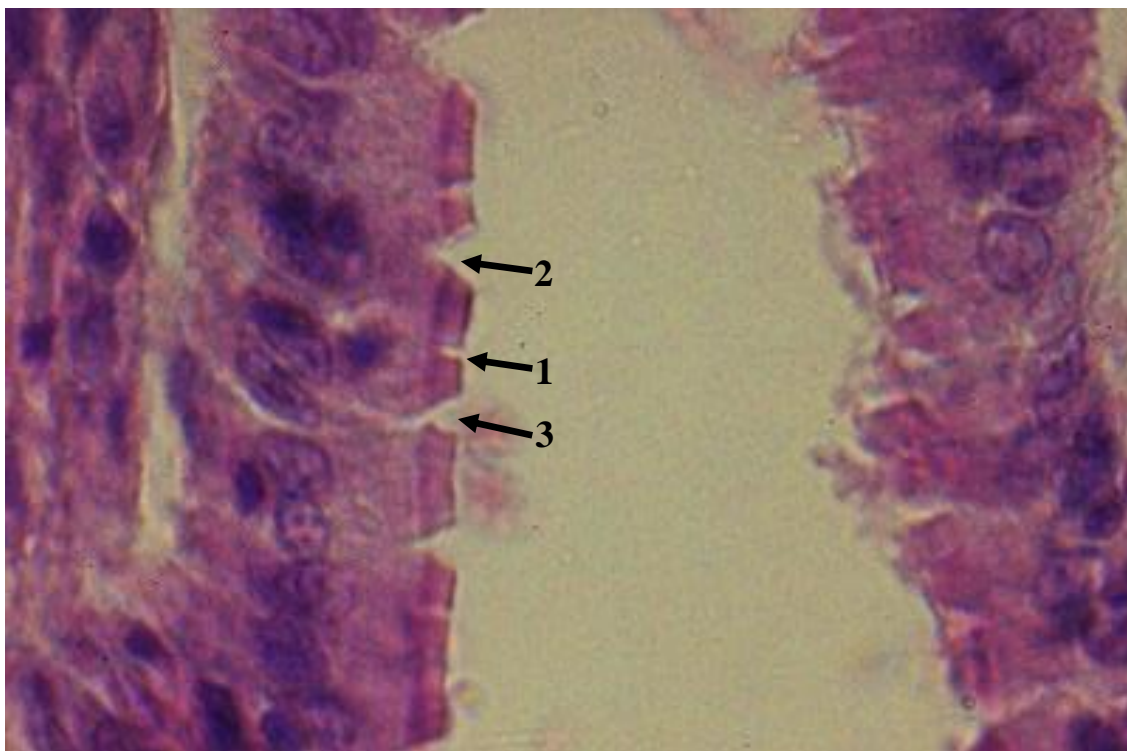


Рис. 6.2.12. Середня частина ворсинки клубової кишки експериментально зараженого цуценяти: 1 – клиноподібний дефект між посмугованою облямівкою сусідніх ентероцитів; 2 – поширення клиноподібного дефекту на апікальну ділянку між сусідніми ентероцитами; 3 – відокремлення бокових частин сусідніх ентероцитів. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 1000$.

На окремих ділянках порожньої й клубової кишок відбувалося майже повне руйнування ворсинок. На їх місці виявлялися невеликі за розмірами залишки ворсинок без епітелію та з набряклою стромою (рис. 6.2.14). Частина таких залишків ворсинок була повністю дезорганізована, а на їх поверхні виявляли частково зруйновані клітини, ядра яких містили еозинофільні тільця-включення, а також ядра без цитоплазми з еозинофільними тільцями-включеннями (рис. 6.2.15). У частині з вищеописаних залишків ворсинок спостерігали крововиливи з розпадом еритроцитів (рис. 6.2.16).

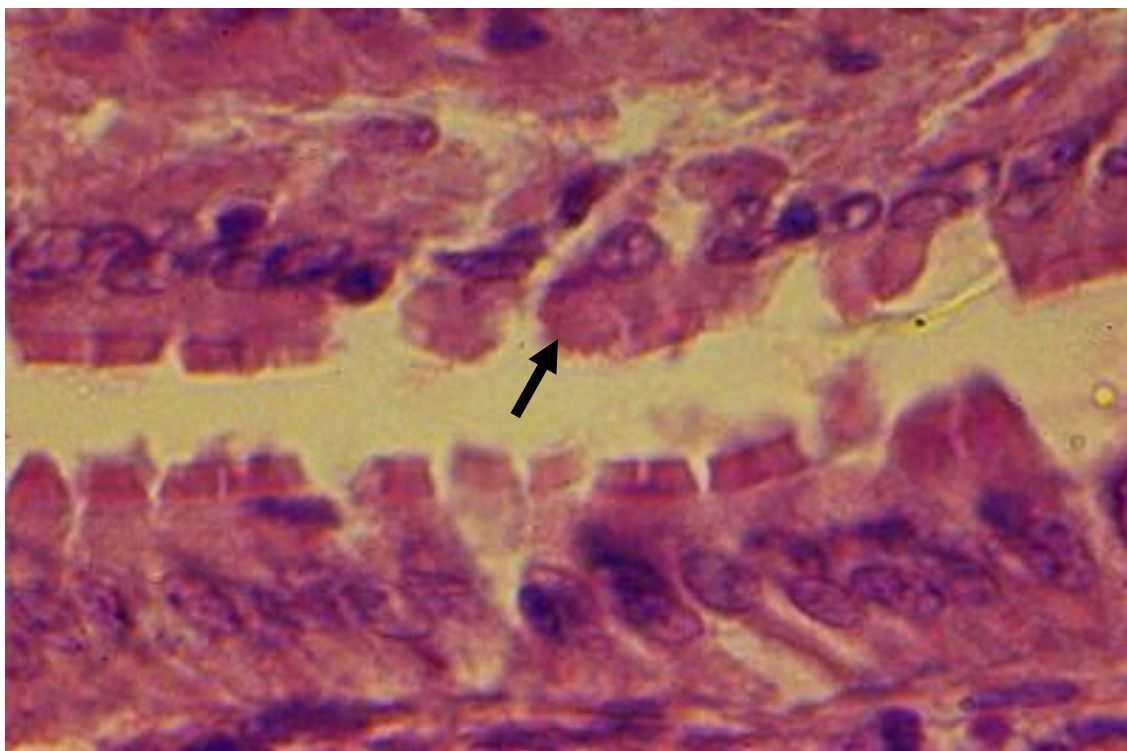


Рис. 6.2.13. Середня частина ворсинки клубової кишки експериментально зараженого цуценяти: втрата посмугованої облямівки і форми в цілому відокремленого ентероцита (показано стрілкою). Гематоксилін Караці та еозин, $\times 1000$.

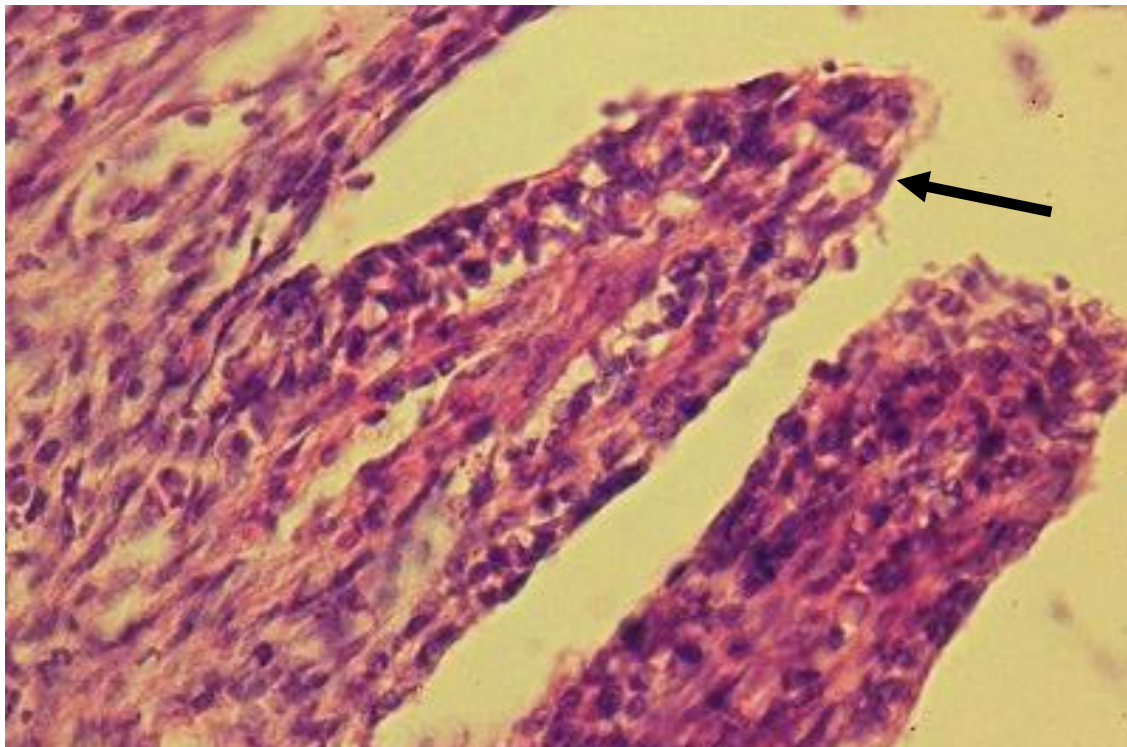


Рис. 6.2.14. Не вкриті епітелієм залишок ворсинки порожньої кишки експериментально зараженого цуценяти (показано стрілкою). Гематоксилін Караці та еозин, $\times 400$.

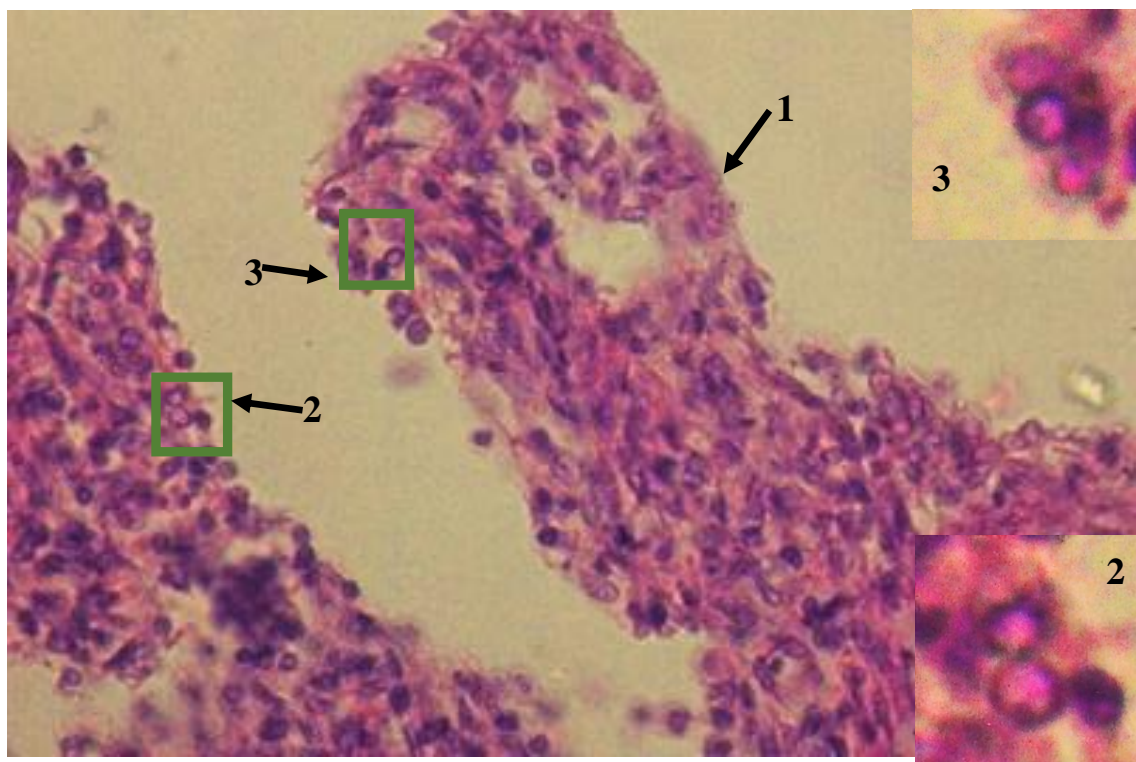


Рис. 6.2.15. Не вкритий епітелієм дезорганізовані залишки ворсинок порожньої кишки експериментально зараженого цуценяти: 1 – залишок ворсинки; 2 і 3 – частково зруйновані клітини, ядра яких містять еозинофільні тільця-включення та ядра без цитоплазми з еозинофільними тільцями-включеннями. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 400$.

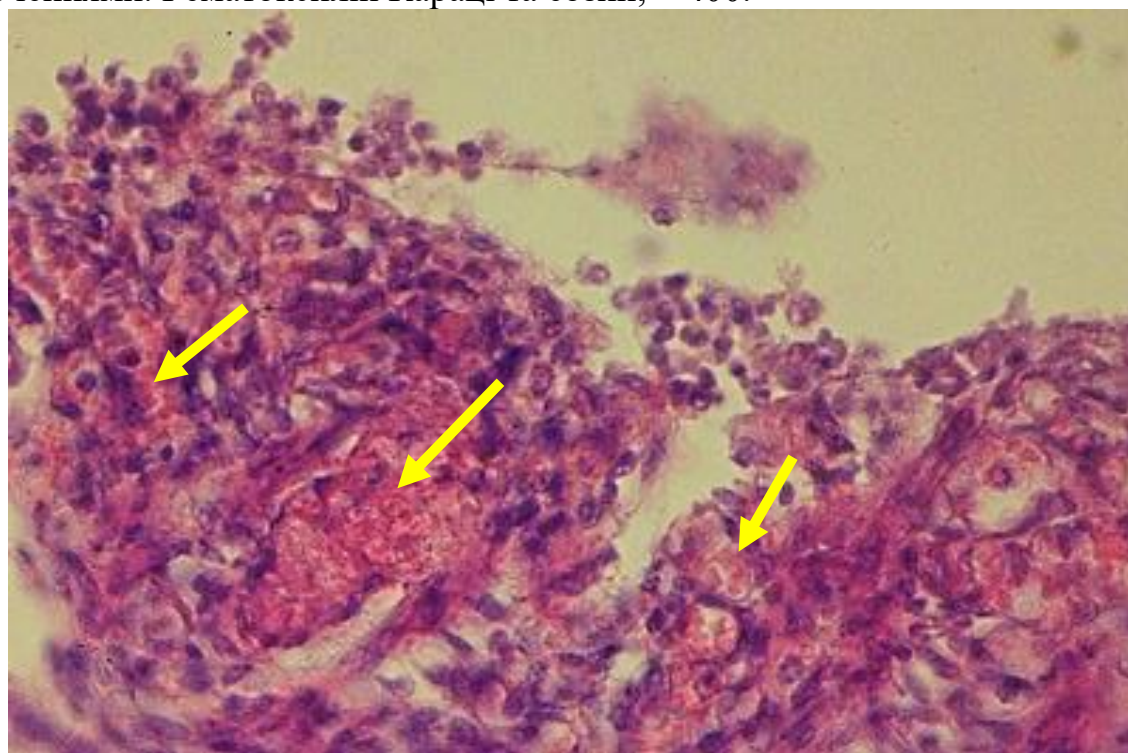


Рис. 6.2.16. Крововиливи з розпадом еритроцитів у не вкритих епітелієм дезорганізованих залишках ворсинок клубової кишки експериментально зараженого цуценяти (показано стрілками). Гематоксилін Караці та еозин, $\times 400$.

Також спостерігали явище, яке у доступній літературі за парвовірусної інфекції собак раніше описано не було. У базальній цитоплазмі частини ентероцитів із мікроскопічними ознаками гідропічної дистрофії, які вкривали ворсинки тонкої кишки, зрідка виявляли поодинокі еритроцити (рис. 6.2.17).

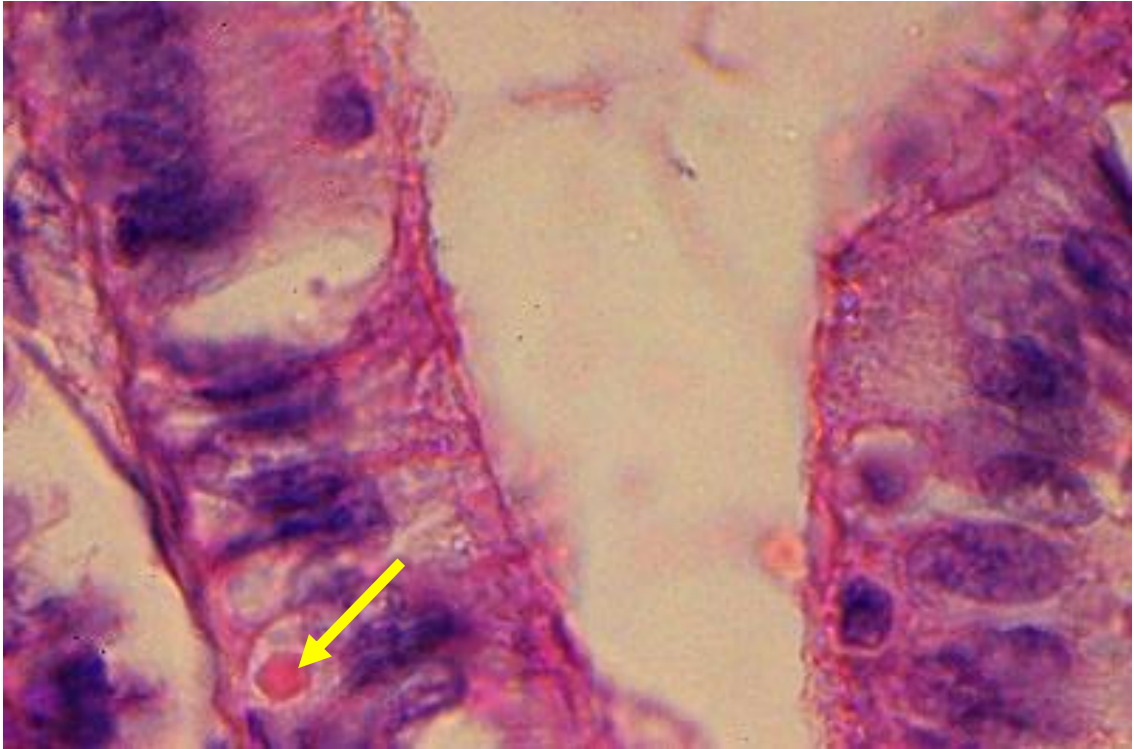


Рис. 6.2.17. Еритроцит у базальній частині цитоплазми ентероцита ворсинки клубової кишки експериментально зараженого цуценяти (показано стрілкою). Гематоксилін Караці та еозин, $\times 1000$.

Якщо крововиливи у слизову оболонку тонкої кишки у хворих на кишкову форму парвовірусної інфекції собак раніше описували багато авторів [27, 355, 358], то проникнення поодиноких еритроцитів у клітини епітелію ворсинок ніким зафіксовано не було. Враховуючи той факт, що еритроцити здатні проходити через стінки кровоносних судин, у разі зміни їх проникності за запального процесу шляхом діapedезу [291], можна припустити, що проникнення еритроцита через мікроскопічно інтактну базальну мембрану та клітинну оболонку ентероцита відбувалося внаслідок різної здатності їх проникності.

Гістохімічними дослідженнями встановлено наявність змін у ворсинках тонкої кишки експериментально інфікованих цуценят. Так у разі виявлення

нуклеїнових кислот (ДНК і РНК) шляхом зафарбовування гістологічних зрізів галлоціанін – хромовими галунами ми враховували, що цей барвник зв'язується з ДНК і РНК у стехеометричному співвідношенні, тобто відповідно до кількісного вмісту цих кислот [128]. При цьому нами встановлено, що багато ядер ентероцитів ворсинок зафарбовується слабо, що свідчило про зменшення вмісту в них ДНК (рис. 6.2.18). Це могло бути зумовлено відносним зменшенням кількості цієї нуклеїнової кислоти або внаслідок набряку ядра, або ж через накопичення в ядрах вірусних частинок і збільшення внаслідок цього вмісту в ядрі білків (головним чином білків капсиду).

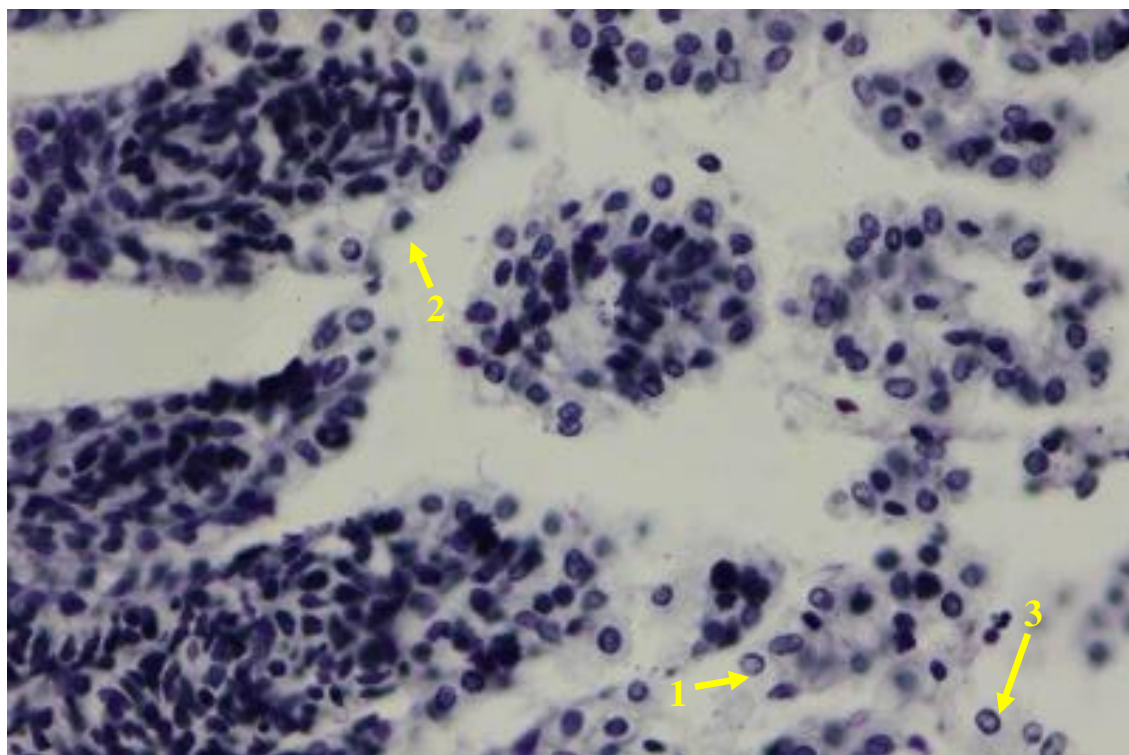


Рис. 6.2.18. Ворсинки порожньої кишки експериментально зараженого цуценяти: 1 – слабо зафарбоване ядро ентероцита; 2 – слабо зафарбована цитоплазма ентероцита; 3 – не зафарбована цитоплазма ентероцита. Галлоціанін – хромові галуни, $\times 200$.

У той же час цитоплазма багатьох ентероцитів зафарбовувалась слабо, а частини ентероцитів – взагалі не зафарбовувалась (див. рис. 6.2.18). Це вказувало на зменшення аж до повного зникнення (чи зменшення нижче порогу чутливості реакції) РНК в цитоплазмі цих клітин, що відображало суттєве

зменшення (можливо аж до повного припинення) процесів синтезу в цих клітинах білків.

При зафарбовуванні гістологічних зрізів за методом Мікель-Кальве показало, що ядра частини ентероцитів ворсинок зафарбовувались помітно більш інтенсивно в синій колір і частково – у фіолетовий колір. Це свідчило про накопичення в ядрах переважно основних білків і меншою мірою – кислих. Ми вважаємо, що такі гістохімічні зміни могли бути зумовлені накопиченням у ядрах вірусіндукованих білків. Крім того, строма ворсинок досить виразно зафарбовувалась альціановим синім за рН 2,5 і 1,0, а також у разі постановки ШЙК-реакції (див. рис. 6.2.6; 6.2.7). Такі зміни означали накопичення у стромі ворсинок глікопротеїнів та протеогліканів і документували її мукоїдне набрякання. Водночас найбільш виразні зміни слизової оболонки в тонкій кишці були встановлені в ділянці крипт. Всі без винятку крипти дванадцятипалої, порожньої й клубової кишок були дезорганізованими (рис. 6.2.19; 6.2.20).

Проте на різних, нерідко поряд розташованих ділянках тонкої кишки ступінь дезорганізації крипт був різним (див. рис. 6.2.19; 6.2.20). При цьому ступінь дезорганізації крипт чітко корелювала зі ступенем руйнування ворсинок – чим більш дезорганізованими були крипти, тим більш зруйнованими були ворсинки.

На нашу думку певна сегментарність ураження слизової оболонки тонкої кишки експериментально інфікованих парвовірусом цуценят була зумовлена нерівномірною локалізацією сайтів реплікації збудника. Це підтверджувалось тим, що на ділянках з більшим руйнуванням крипт, особливо там, де одночасно реєструвалось і руйнування ворсинок, виявляли більше епітеліоцитів з внутрішньоядерними еозинофільними тільцями-включеннями та повністю чи майже повністю еозинофільними ядрами.

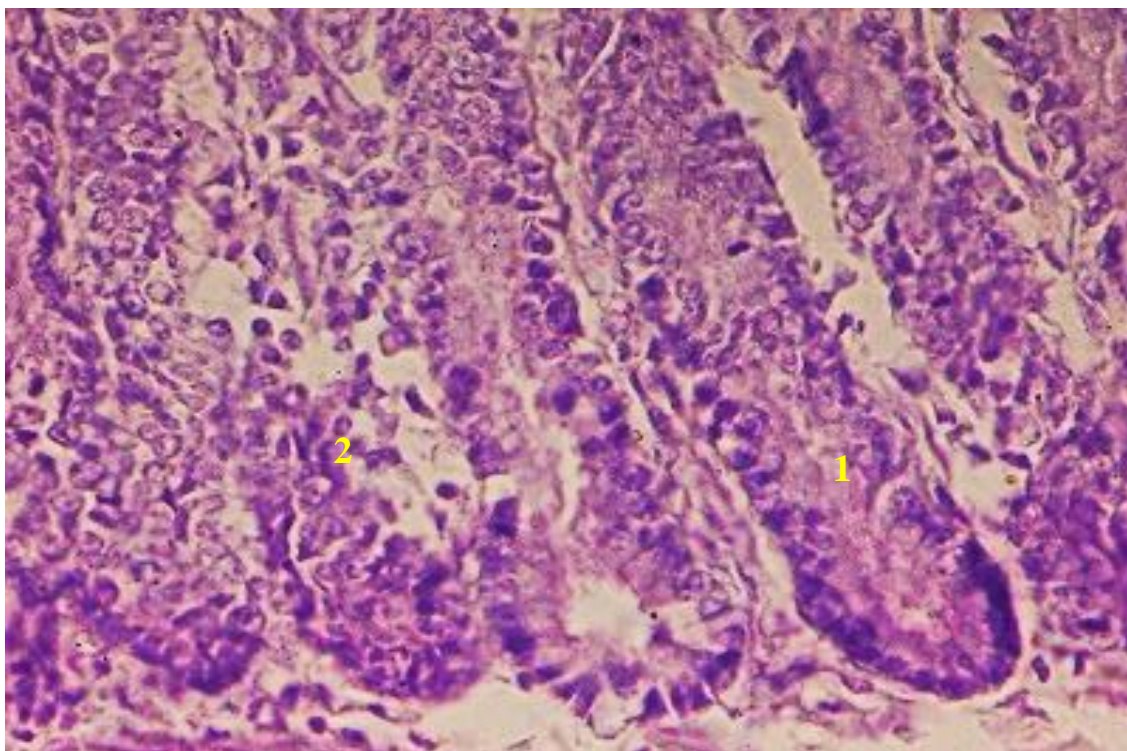


Рис. 6.2.19. Крипти порожньої кишки експериментально зараженого цуценяти: 1 – менш дезорганізована крипта; 2 – більш дезорганізована крипта. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 200$.

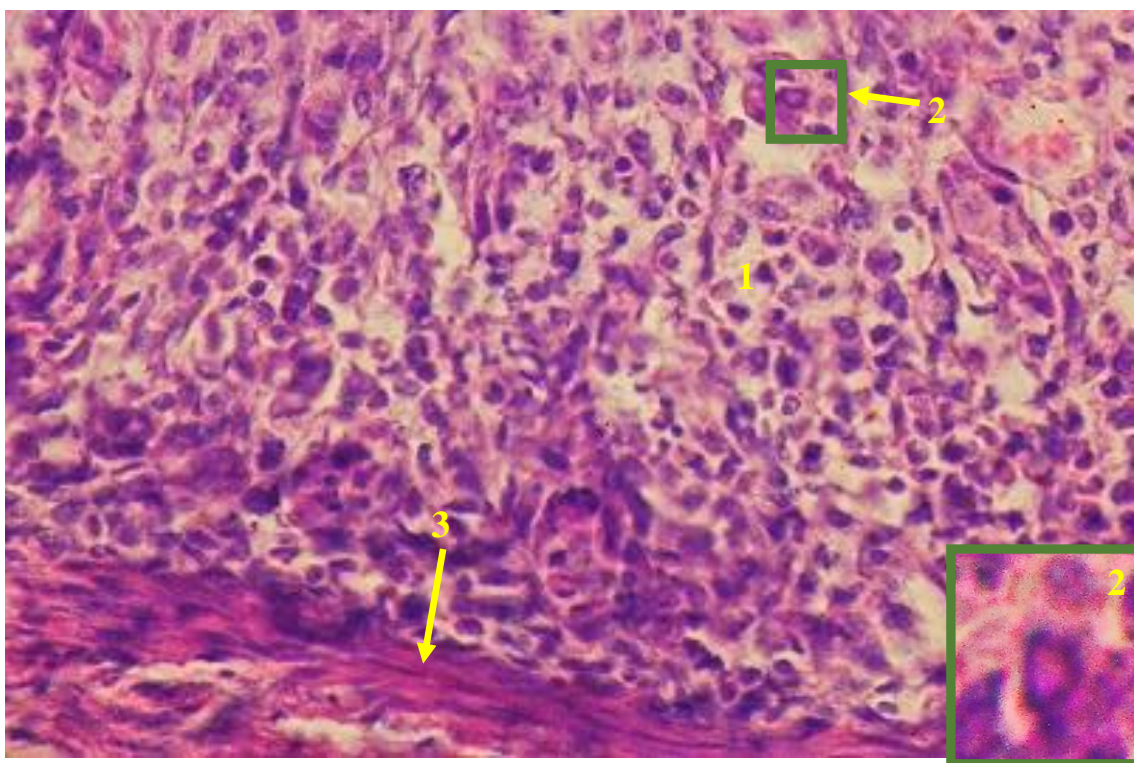


Рис. 6.2.20. Крипти порожньої кишки експериментально зараженого цуценяти: 1 – повна дезорганізація крипт; 2 – еозинофільне тільце-включення в ядрі частково зруйнованої клітини; 3 – зерниста дистрофія клітин м'язової пластинки слизової оболонки. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 200$.

У криптах мікроскопічні зміни також виявляли в усіх ентероцитах, ядра яких не містили еозинофільних тілець-включень. Проте такі зміни в різних клітинах були різними, що відображало різні стадії їх пошкодження. У частини епітеліоцитів виявляли мікроскопічні ознаки зернистої дистрофії, яка супроводжувалась повним зникненням посмугованої облямівки (рис. 6.2.21). При цьому в ядрах частини епітеліальних клітин конденсований хроматин у вигляді невеликих за розмірами глибок скупчувався біля ядерної оболонки. Базальна мембрана епітелію була повністю збережена. Подекуди в місцях локалізації ентероцитів з ознаками зернистої дистрофії спостерігали субепітеліальний набряк. У ділянках такого набряку базальна мембрана була потовщена й розпушена (рис. 6.2.22).

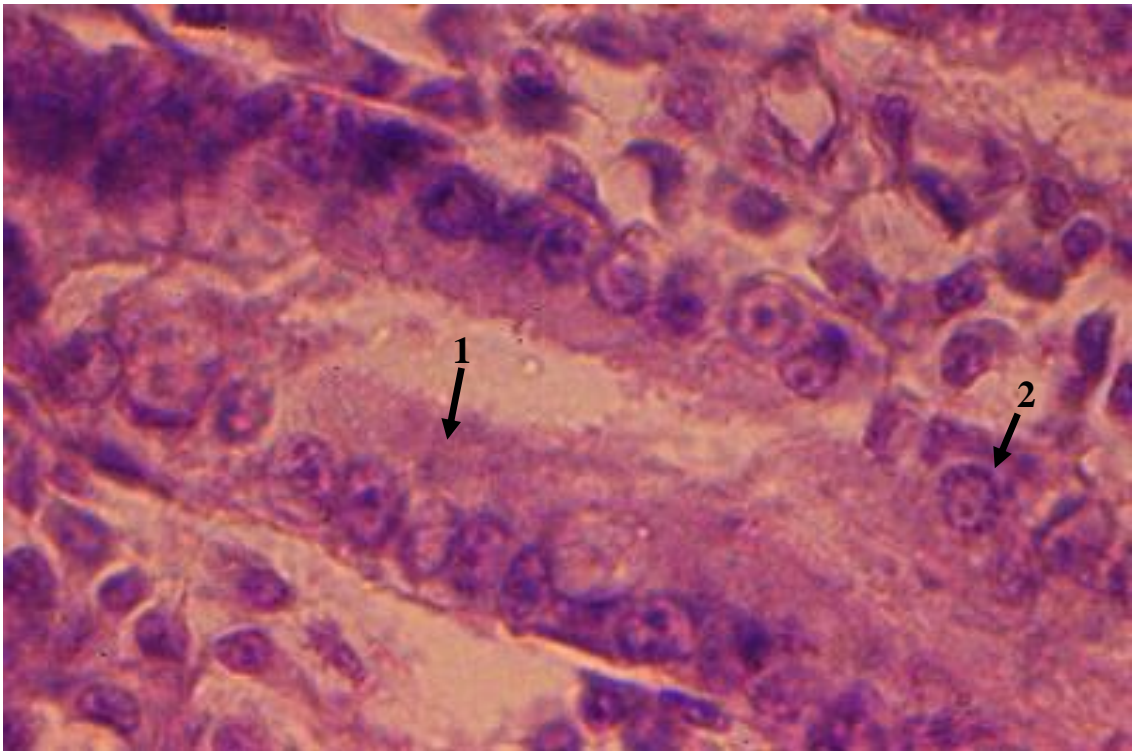


Рис. 6.2.21. Крипта дванадцятипалої кишки експериментально зараженого цуценяти: 1 – зерниста дистрофія епітеліоцитів; 2 – глибоки конденсованого хроматину біля ядерної оболонки; 3 – базальна мембрана. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 1000$.

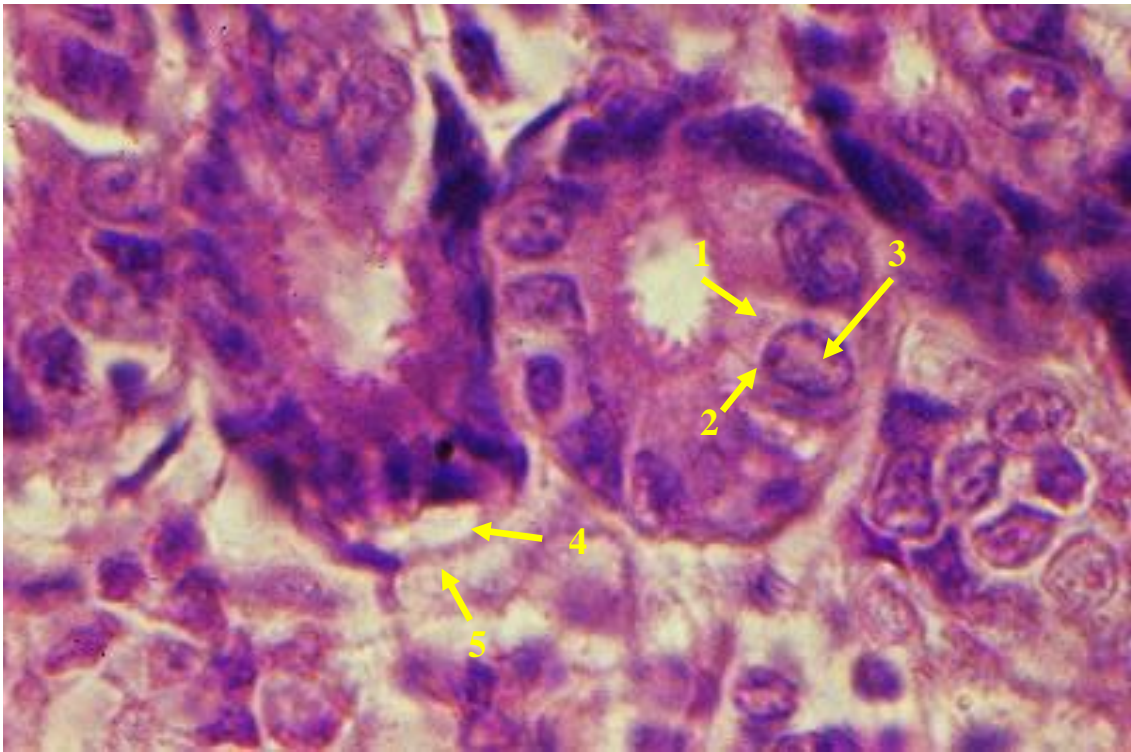


Рис. 6.2.22. Крипти клубової кишки експериментально зараженого цуценяти: 1 – частковий лізис цитоплазми ентероцита; 2 – клітинна оболонка; 3 – ділянка просвітлення хроматину ядра; 4 – субепітеліальний набряк; 5 – потовщення й розпушення базальної мембрани епітелію. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 1000$.

У частини епітеліоцитів виявляли мікроскопічні ознаки гідропічної дистрофії. При цьому спочатку спостерігали частковий лізис цитоплазми, за збереженої оболонки клітини, внаслідок чого остання зберігала свою форму (див. рис. 6.2.22). У таких ентероцитах знаходили виразне просвітлення частини хроматину ядра, що, на нашу думку, було початковою стадією лізису хроматину. У подальшому відбувалося руйнування клітинної оболонки, внаслідок чого встановити межі такої клітини і, відповідно, її форму та розміри було вже неможливо (рис. 6.2.23). Частково лізована й повністю дезорганізована цитоплазма ентероцита не мала якоїсь чіткої межі. Хроматин в усьому ядрі виразно нерівномірно просвітлювався, проте ядерце ще досить чітко диференціювалось. У ділянках ентероцитів з такими змінами часто знаходили розволокнення й руйнування базальної мембрани епітелію крипти (див. рис. 6.2.23).

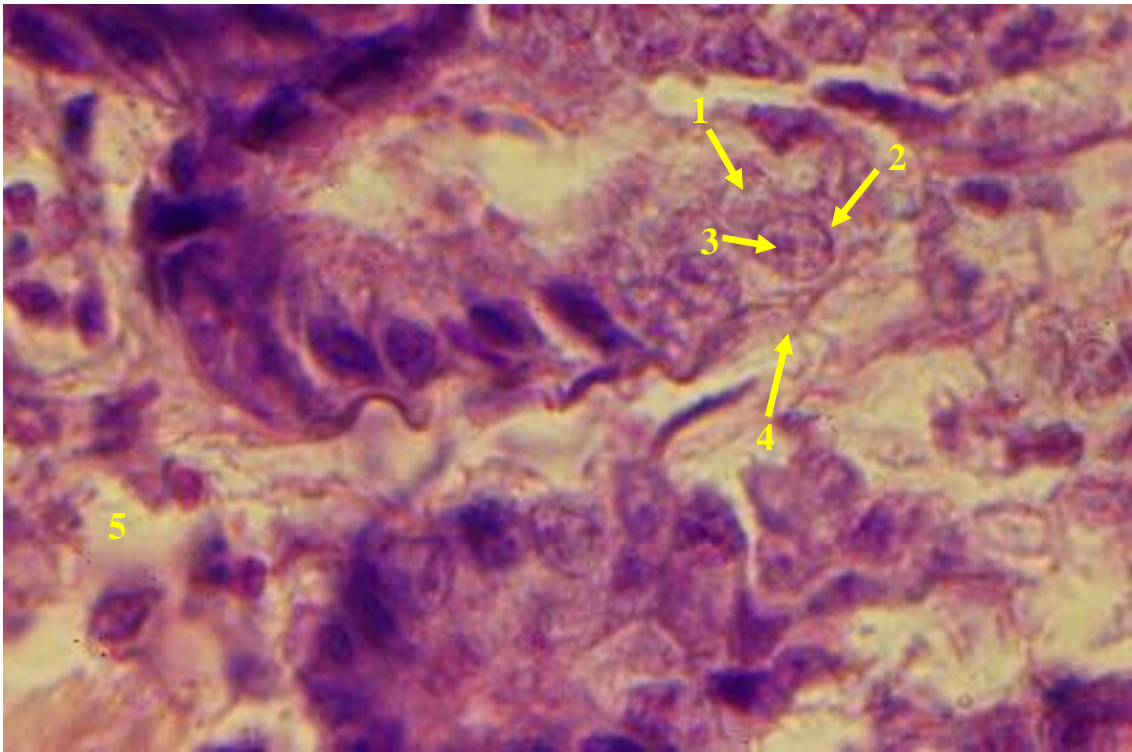


Рис. 6.2.23. Крипти порожньої кишки експериментально зараженого цуценяти: 1 – частковий лізис і повна дезорганізація цитоплазми ентероцита; 2 – ядро з нерівномірно просвітленим хроматином; 3 – ядерце; 4 – розволокнення й руйнування базальної мембрани; 5 – набряк слизової оболонки. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 1000$.

Процес закінчувався повним лізисом цитоплазми – на місці клітини залишалося тільки її ядро (рис. 6.2.24). При цьому в більшості випадків у ядрі відбувалося майже повне розчинення хроматину (ядро майже не зафарбоване). Ядерце нерідко не виявляли. Іноді спостерігали розриви ядерної оболонки.

В ентероцитів крипт з ознаками зернистої й гідропічної дистрофії у деяких випадках виявляли деформацію їх ядер (рис. 6.2.25). Ядерна оболонка при цьому утворювала впинання й випинання різних розмірів і форми.

Також слід зазначити, що в частини ентероцитів з ознаками зернистої та початкової стадії гідропічної дистрофії спостерігали клазмацитоз (відділення оточених клітинною оболонкою невеликих частинок апікальної цитоплазми), який призводив до утворення в цих клітин мінус-мембрани (рис. 6.2.26).

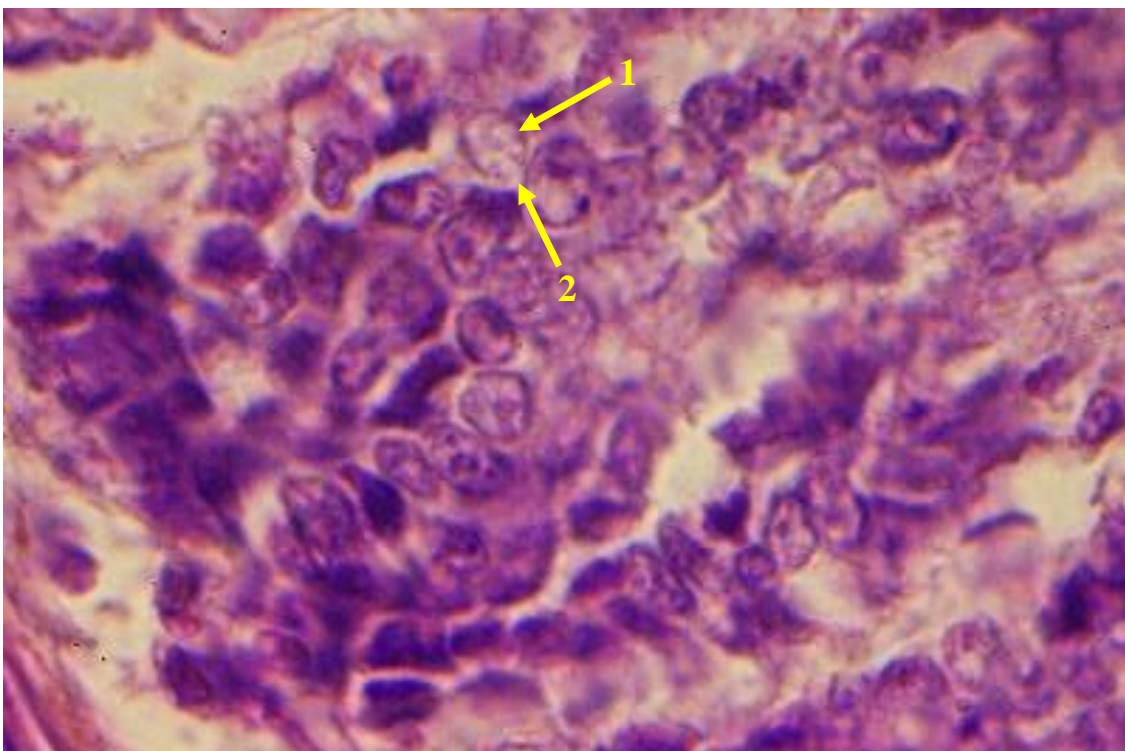


Рис. 6.2.24. Крипта порожньої кишки експериментально зараженого цуценяти: 1 – майже повністю не зафарбоване ядро без цитоплазми; 2 – руйнування ядерної оболонки. Караці та еозин, $\times 1000$.

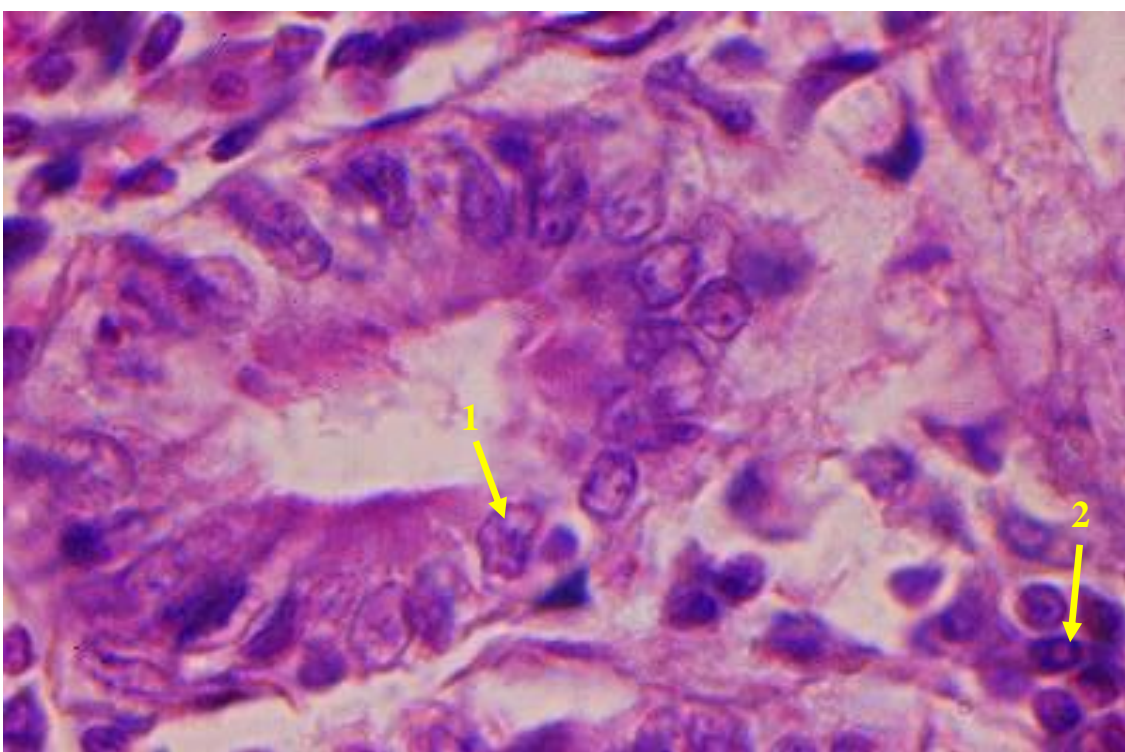


Рис. 6.2.25. Крипта порожньої кишки експериментально зараженого цуценяти: 1 – деформація ядра ентероцита; 2 – лімфоцит із внутрішньоядерним еозинофільним тільцем-включенням. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 1000$.

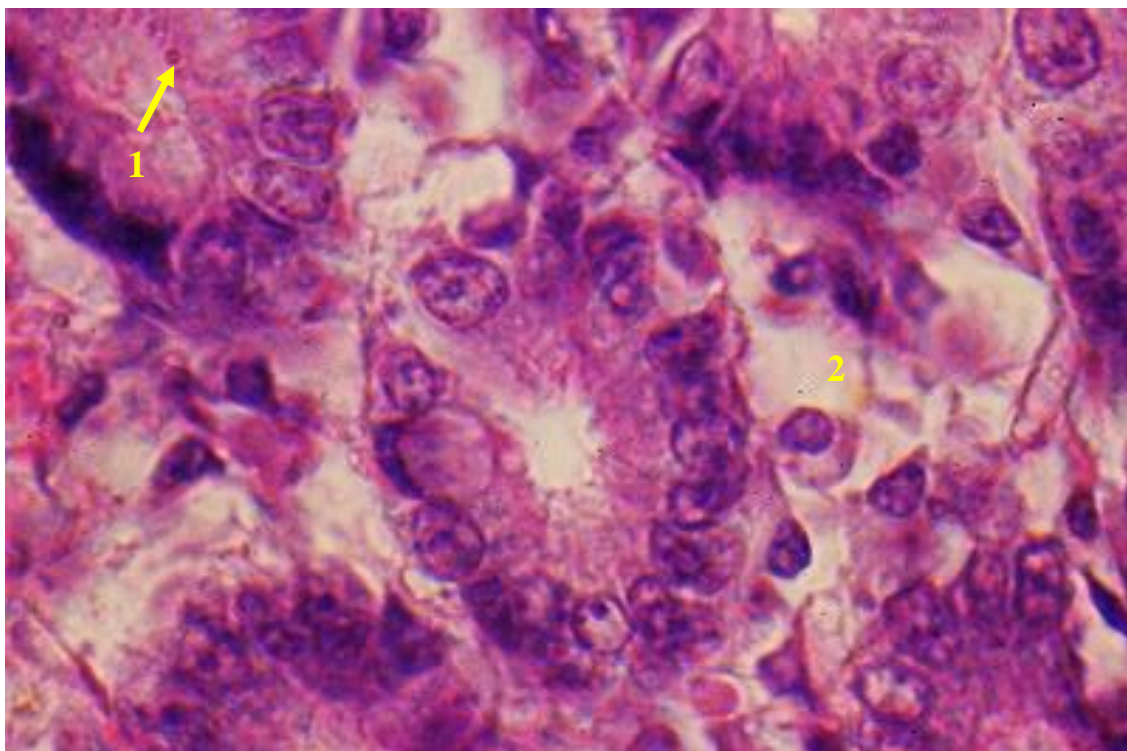


Рис. 6.2.26. Крипти клубової кишки експериментально зараженого цуценяти: 1 – відділення оточеної клітинною оболонкою невеликої частинки апікальної цитоплазми ентероцита; 2 – набряк слизової оболонки. Караці та еозин, $\times 1000$.

При цьому кількість таких відділених фрагментів апікальної цитоплазми, оточених клітинною мембраною, нерідко була досить великою й вони виявлялися вільно розташовувались у просвіті частини крипт (рис. 6.2.27).

Слизова оболонка в ділянці крипт набрякла (див. рис. 6.2.23; 6.2.26), інфільтрована відносно невеликою кількістю лімфоцитів і поодинокими моноцитами й макрофагами. В ядрах частини лімфоцитів, які інфільтрували слизову оболонку між криптами, виявляли еозинофільні тільця-включення (див. рис. 6.2.25).

Раніше було встановлено, що за кишкової форми хвороби після періоду віремії збудник парвовірусної інфекції собак знаходять в ентероцитах крипт тонкого відділу кишечника та лімфоїдній і кровотворній тканинах (тимус, селезінка, лімфатичні вузли та червоний кістковий мозок). За серцевої форми хвороби збудник також виявлено у м'язових клітинах міокарда [198].

Під час проведення гістохімічних досліджень встановили, що гістохімічні зміни в ділянці крипт тонкої кишки в цілому були аналогічні таким, які

знаходилися в ділянці ворсинок. Тут також виявлено гіперплазію келихоподібних клітин крипт (рис. 6.2.28) та гіперсекрецію й виснаження цих клітин.

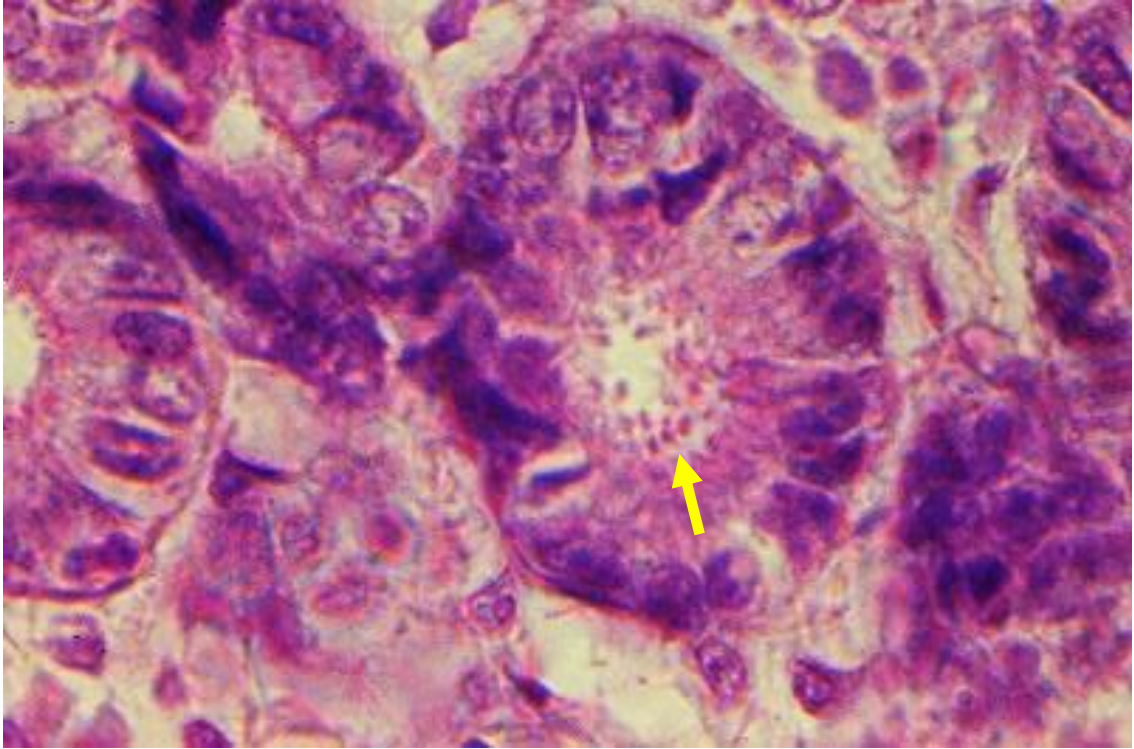


Рис. 6.2.27. Крипти голодної кишки експериментально зараженого цуценяти: фрагменти апікальної цитоплазми, оточені клітинною мембраною у просвіті крипти (показано стрілкою). Гематоксилін Караці та еозин, $\times 1000$.

Як і на ворсинках, переважна більшість келихоподібних клітин виділяла надзвичайно велику кількість секрету з великою інтенсивністю, внаслідок чого секрет виприскувався у просвіт крипт (рис. 6.2.29). Лише поодинокі келихоподібні клітини виділяли секрет з меншою інтенсивністю, через що він, як у нормально функціонуючій кишці, досить рівномірно розтікався по поверхні сусідніх ентероцитів. У експериментально інфікованих цуценят виявлено порушення гістохімічного складу секрету, який накопичувався у келихоподібних клітинах крипт. Цей секрет у переважній більшості таких клітин нерівномірно зафарбовувався альціановим синім при рН 2,5 і 1,0 (див. рис. 6.2.29). Тобто, як і в келихоподібних клітинах на ворсинках тонкої кишки, у келихоподібних клітинах крипт виявляли порушення синтезу протеогліканів,

як тих, що містять групи сіалової кислоти, так і тих, що містять сульфатовані глікозаміноглікани.

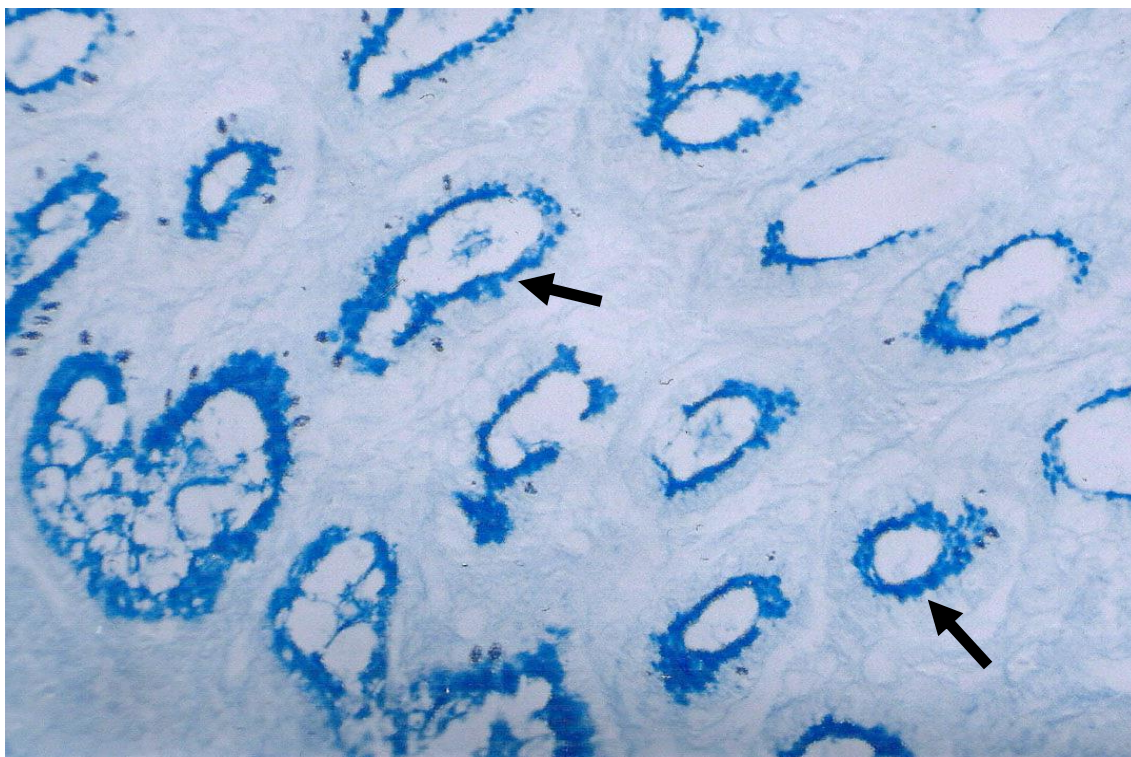


Рис. 6.2.28. Гіперплазія келихоподібних клітин у криптах порожньої кишки експериментально зараженого цуценяти: (показано стрілками). Альціановий синій рН 2,5, $\times 100$.

Деякі келихоподібні клітини, які не виділяли секрет у просвіт крипт, містили його невелику кількість, внаслідок чого втрачали свою характерну форму. На нашу думку це свідчило про певний ступінь виснаження таких одноклітинних залоз (див. рис. 6.2.29).

За постановки ШІК-реакції секрет багатьох келихоподібних клітин також зафарбовувався нерівномірно, або майже не зафарбовувався, що вказує на порушення синтезу цими одноклітинними залозами глікопротеїнів (рис. 6.2.30). За результатами проведених нами досліджень у келихоподібних клітинах крипт, як і в аналогічних клітинах на ворсинках тонкої кишки синтез глікопротеїнів порушувався значно частіше, ніж протеогліканів.

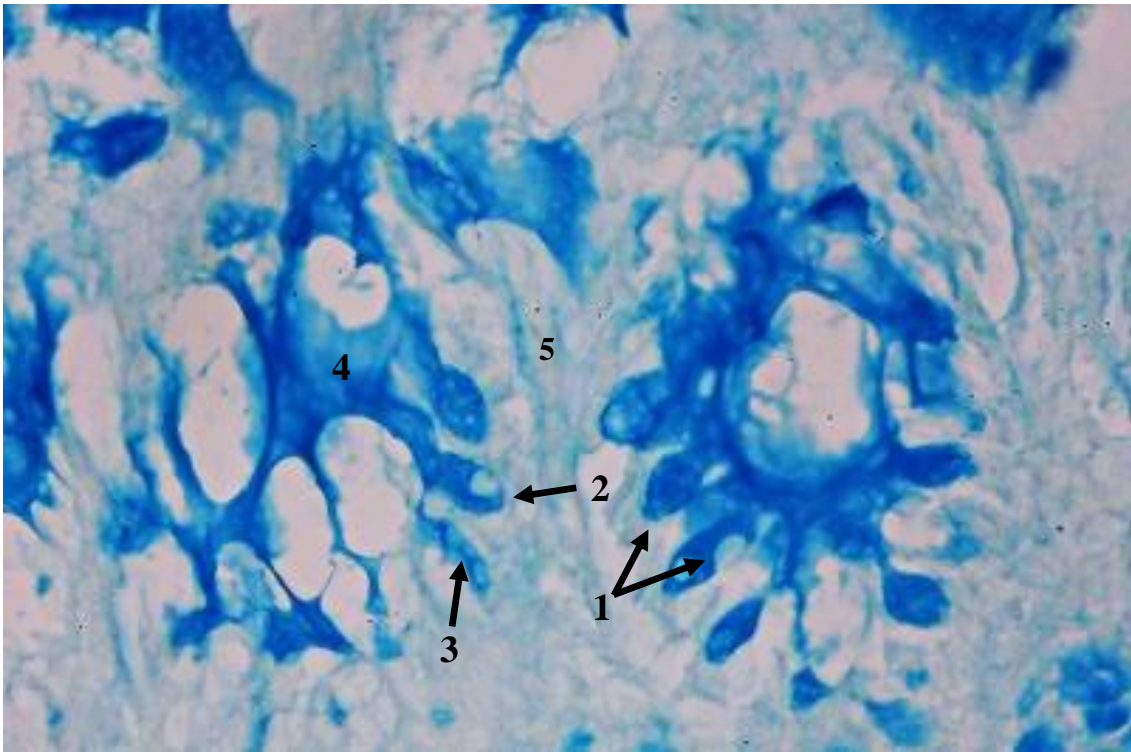


Рис. 6.2.29. Крипти клубової кишки експериментально зараженого цуценяти: 1 – келихоподібні клітини у стані гіперергічної секреції; 2 – нерівномірне зафарбовування секрету келихоподібної клітини; 3 – «виснажена» келихоподібна клітина; 4 – секрет келихоподібних клітин у просвіті крипти; 5 – накопичення протеогліканів у стромі ворсинки. Альціановий синій рН 1,0, $\times 1000$.

При зафарбовуванні гістологічних зрізів галлоціанін – хромовими галунами встановлено, що багато ядер ентероцитів крипт, як і ентероцитів ворсинок, зафарбовується слабо, що означає зменшення вмісту в них ДНК (рис. 6.2.31). Це могло бути зумовлено відносним зменшенням кількості цієї нуклеїнової кислоти або через набряк ядра, або ж внаслідок накопичення в ядрах вірусних частинок і збільшення через це вмісту в ядрі білків (головним чином білків капсиду). Так само слабо зафарбовувалась і цитоплазма багатьох ентероцитів. Це вказувало на зменшення РНК в цитоплазмі цих клітин, що відображало суттєве зменшення процесів синтезу білків.

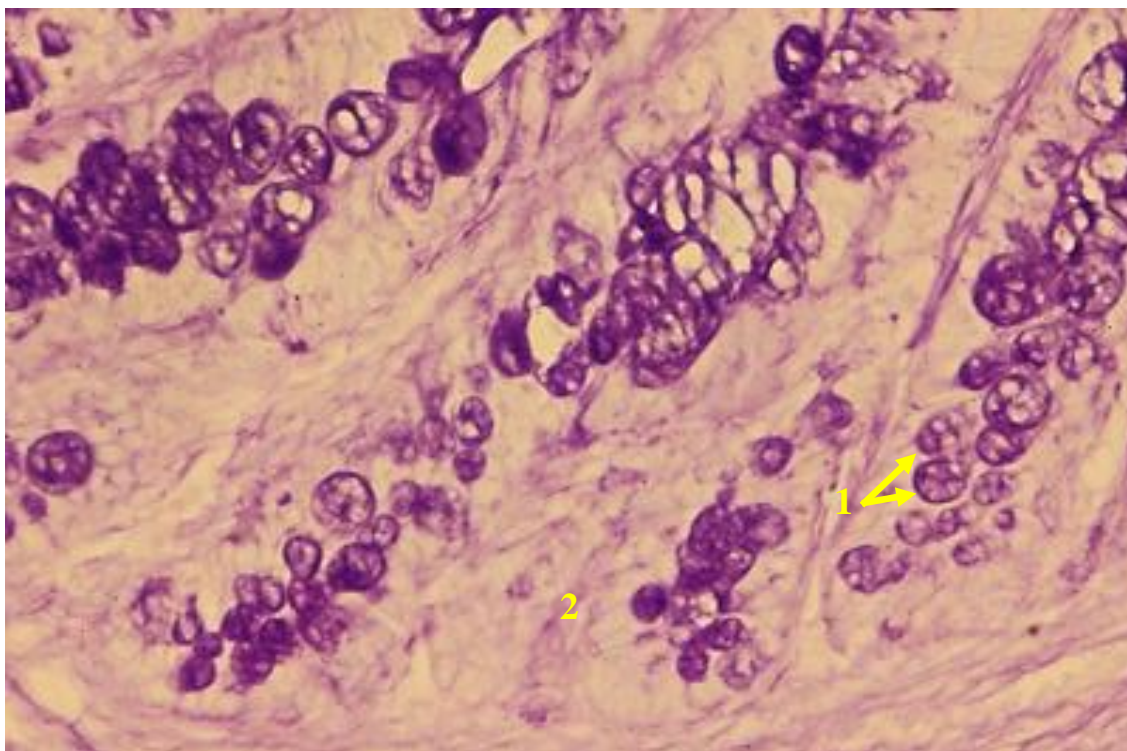


Рис. 6.2.30. Крипти порожньої кишки експериментально зараженого цуценяти: 1 – нерівномірне зафарбовування секрету келихоподібних клітин; 2 – накопичення глікопротеїнів у міжклітинній речовині слизової оболонки. ШІК-реакція, $\times 1000$.

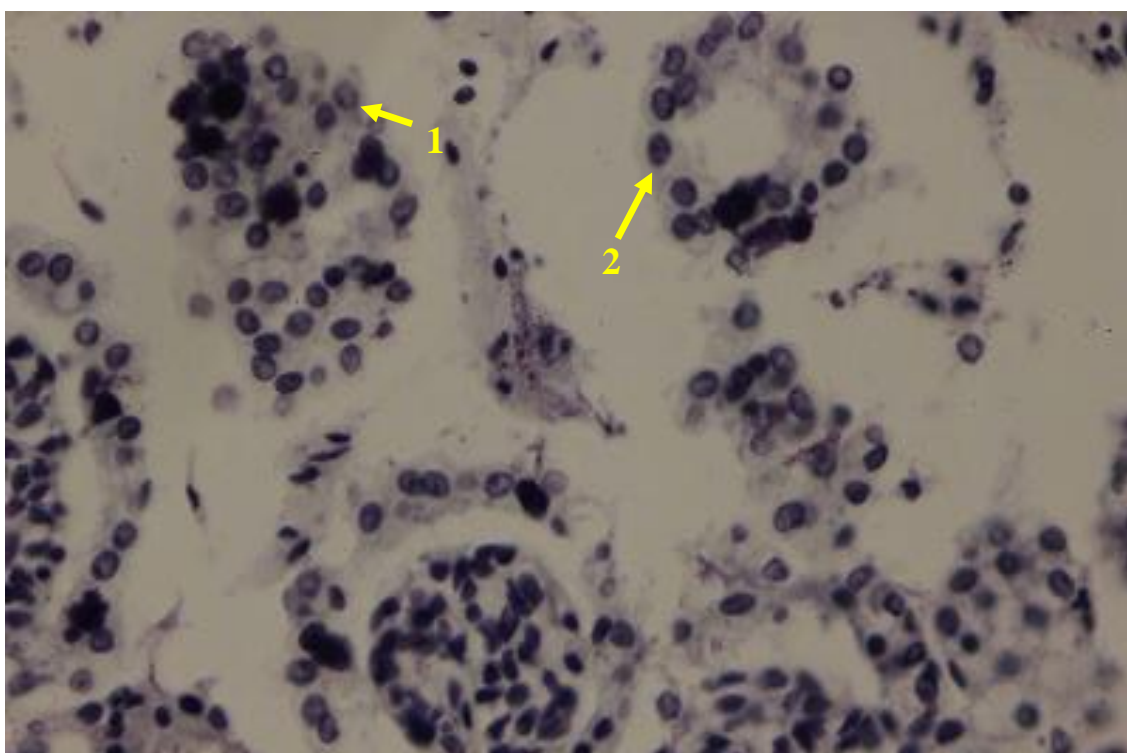


Рис. 6.2.31. Крипти клубової кишки експериментально зараженого цуценяти: 1 – слабо зафарбоване ядро ентероцита; 2 – слабо зафарбована цитоплазма ентероцита. Галлоціанін – хромові галуни, $\times 200$.

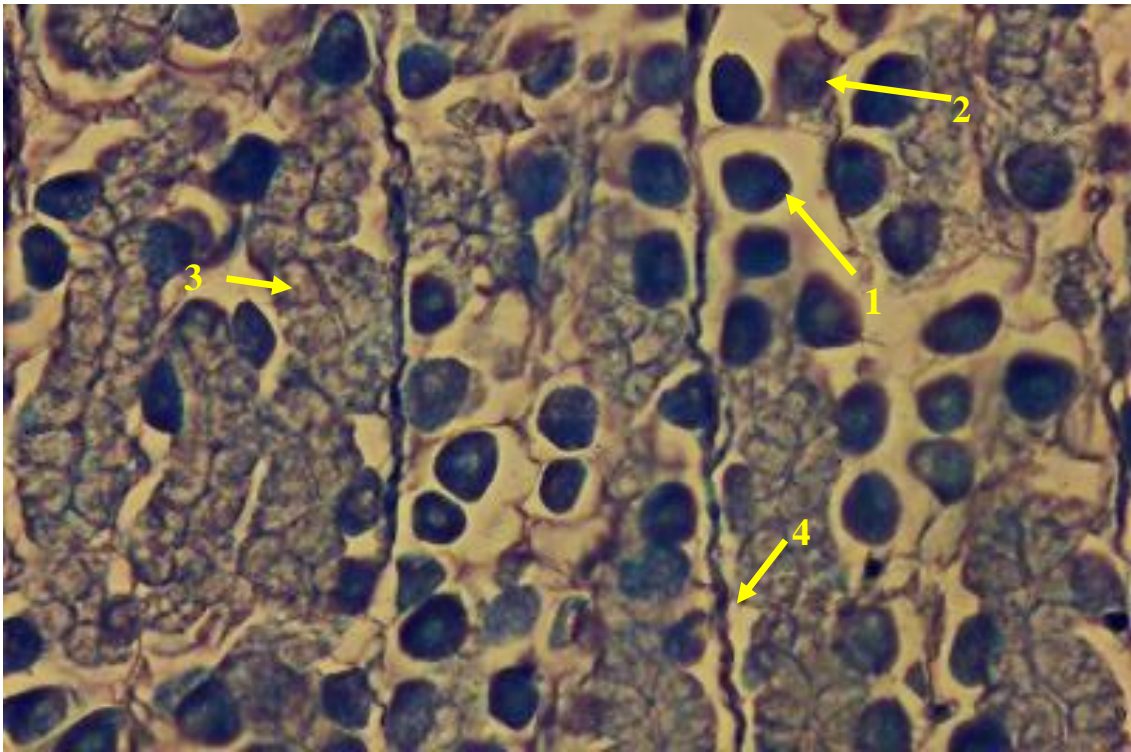


Рис. 6.2.32. Розподіл білків у клітинах і тканинних елементах крипт клубової кишки експериментально зараженого цуценяти: 1 – інтенсивно зафарбоване в синій колір ядро ентероцита; 2 – фіолетовий колір умісту ядра; 3 – нерівномірно зафарбована в синій і червоний кольори цитоплазма ентероцита; 4 – потовщена, гомогенна, інтенсивно зафарбована в синій і червоний кольори базальна мембрана епітелію крипти. Метод Мікель-Кальве, $\times 1000$.

При зафарбовуванні гістологічних зрізів за Мікель-Кальво ядра частини ентероцитів ворсинок зафарбовувались помітно більш інтенсивно в синій колір, а частина ядер частково – у фіолетовий (рис. 6.2.32). Це свідчило про накопичення в ядрах переважно основних білків і меншою мірою – кислих. Ми вважаємо, що такі гістохімічні зміни могли бути зумовлені накопиченням у ядрах вірусіндукованих білків.

Цитоплазма на білки забарвлювалась нерівномірно – з ділянками синього та червоного кольорів, а також з незафарбованими ділянками (див. рис. 6.2.32). Це свідчить про розвиток гідропічної дистрофії з виразним перерозподілом білкових речовин у цитоплазмі ентероцитів.

Встановлено, що базальна мембрана епітелію крипт була просочена білками, через, що стала інтенсивно забарвленою, потовщеною, досить гомогенною та у разі застосування методу Мікель-Кальво зафарбовувалась

нерівномірно – з ділянками синього та червоного кольорів (див. рис. 6.2.32). Це означає, що в ній локалізувалися як кислі, так і основні білки, найвірогідніше у результаті її плазматичного просочування.

Крім того, міжклітинна речовина слизової оболонки в ділянці крипт, як і строма ворсинок, досить виразно зафарбовувалась альціановим синім за рН 2,5 і 1,0, а також у разі постановки ШЙК-реакції (див. рис. 6.2.29; 6.2.30). Такі зміни свідчили про накопичення у стромі ворсинок глікопротеїнів та протеогліканів і документували її мукоїдне набрякання.

Також слід зазначити, що зафарбовування на ліпіди не дозволило виявити ці сполуки в цитоплазмі ентероцитів ворсинок і крипт, оскільки в цих клітинах мала місце саме гідропічна дистрофія.

Під час проведення гістологічних досліджень також було встановлено, що на поодиноких ділянках каудальної третини порожньої та в клубовій кишці відбувалось повне руйнування крипт, внаслідок чого будь-яких структур, які були б схожі на клітини епітелію крипт чи інші клітини слизової оболонки не виявляли. На місці зруйнованих крипт спостерігали нещільно розташовані фібробласти, які продукували пучки колагенових волокон, що формували сіткоподібну структуру (рис. 6.2.33).

Гладкі м'язові клітини м'язової пластинки слизової оболонки перебували у стані зернистої дистрофії (див. рис. 6.2.20; рис. 6.2.34). У ділянці поодиноких і скупчених лімфоїдних вузликів ця пластинка була фрагментована (рис. 6.2.35).

Мікроскопічні зміни підслизової основи в різних частинах тонкої кишки були подібними, проте ступінь їх виразності у дванадцятипалій кишці була дещо менший, ніж у порожній і клубовій кишках. Кровоносні судини підслизової основи були виразно розширені, переповнені клітинами крові, особливо капіляри, венули та вени.

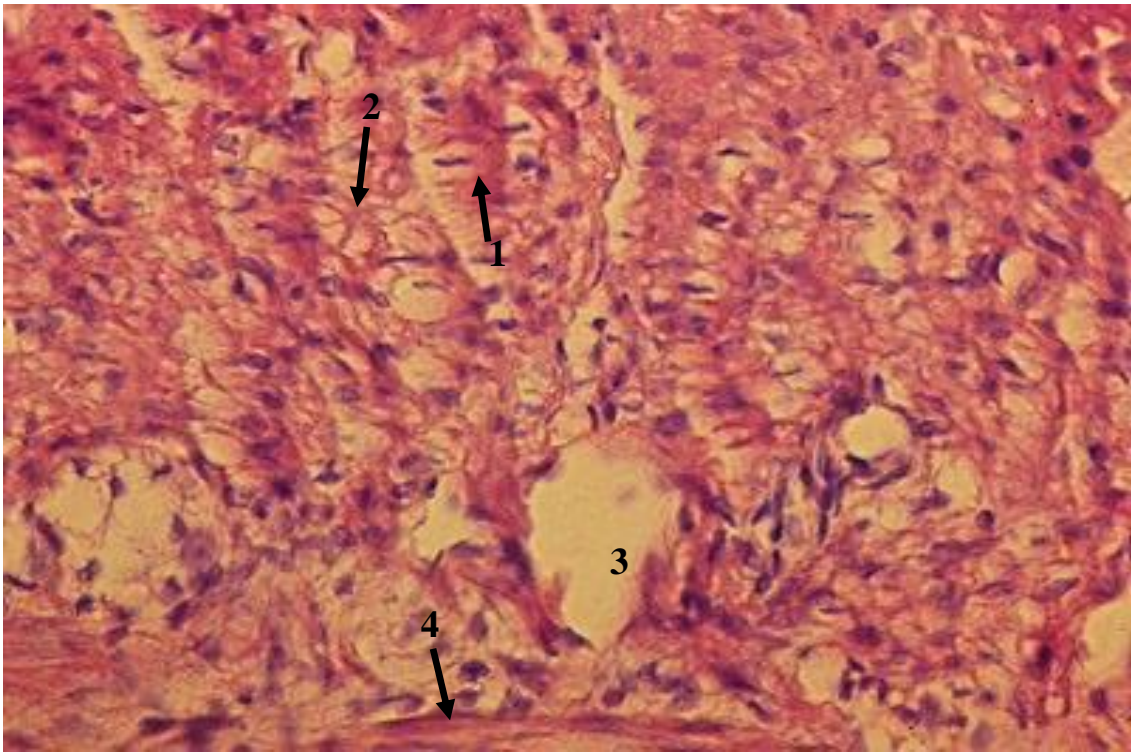


Рис. 6.2.33. Ділянка крипт клубової кишки експериментально зараженого цуценяти: 1 – фібробласт; 2 – пучки колагенових волокон; 3 – порожнина на місці крипти; 4 – м'язова пластинка слизової оболонки. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 200$.

Підслизова оболонка досить виразно набрякла, спостерігали фрагментації та розпад пучків колагенових волокон (див. рис. 6.2.34). Також виявляли нерівномірну інфільтрацію підслизової основи лімфоцитами та поодинокими моноцитами й макрофагами. Особливо виразною така інфільтрація була поблизу поодиноких і скупчених лімфоїдних вузликів.

Під час проведення гістохімічних досліджень встановлено зменшення вмісту глікопротеїнів і протеогліканів у пучках колагенових волокон, а також накопичення кислих білків у м'язовій пластинці слизової оболонки на досить великих її ділянках та в окремих ділянках пучків колагенових волокон підслизової основи, які при цьому набували гомогенного вигляду, і їх контури ставали досить розмитими (рис. 6.2.36). На нашу думку, ці зміни могли свідчити про розвиток на окремих ділянках слизової оболонки місцевого ацидозу.

Поодинокі й скупчені лімфоїдні вузлики були помітно гіпертрофовані за рахунок гіперплазії лімфоцитів, що їх утворювали. Проте в центральній частині

цих вузликів лімфоцити зазвичай розташовувались розріджено. Іноді те ж явище спостерігали і в периферичних частих поодиноких і скупчених лімфоїдних вузликах (див. рис. 6.2.35). У ядрах багатьох лімфоцитів виявляли еозинофільні тільця-включення (рис. 6.2.37). Їх кількість складала від 1 до 6. Такі тільця-включення були відділені одне від одного прошарками базофільного хроматину. Ядра при цьому різною мірою збільшувались у розмірах.

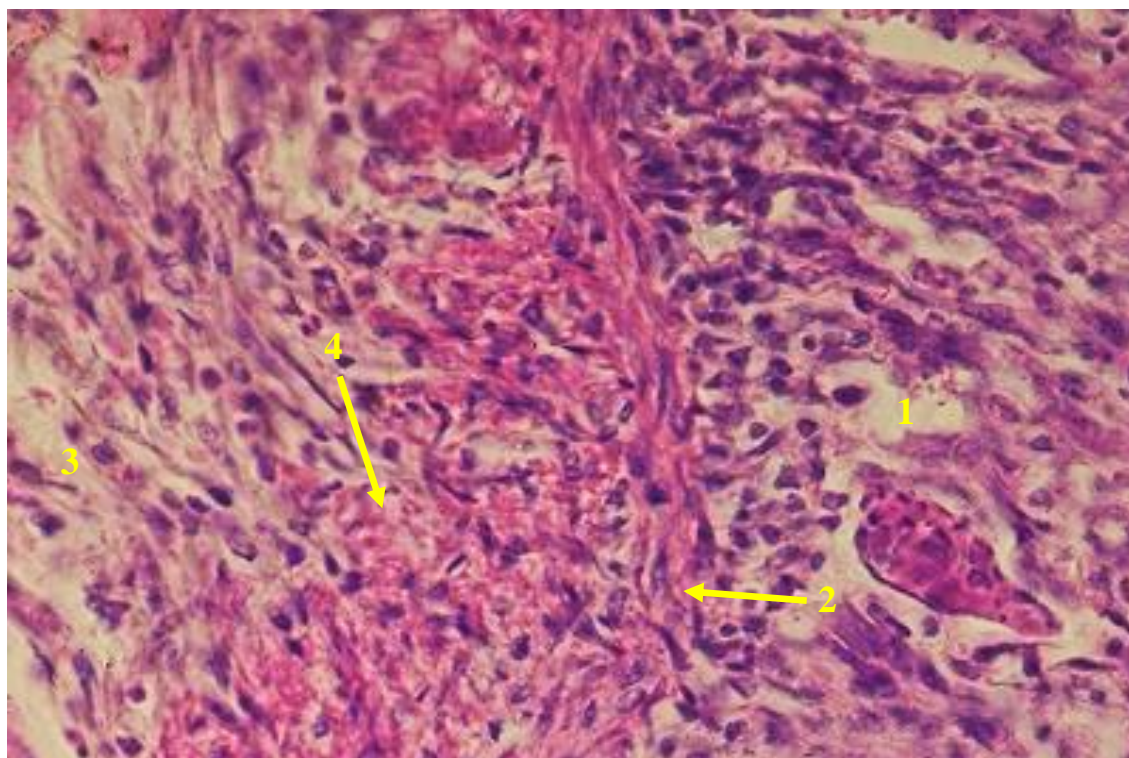


Рис. 6.2.34. Порожня кишка експериментально зараженого цуценяти: 1 – дезорганізовані крипти; 2 – зерниста дистрофія клітин м'язової пластинки слизової оболонки; 3 – набряк підслизової основи; 4 – фрагментація й розпад пучків колагенових волокон. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 200$.

У ядрах поодиноких лімфоцитів знаходили одне велике еозинофільне тільце-включення, яке займало більшу частину або все ядро. Такі ядра нерідко були збільшені. Частина ядер з еозинофільними тільцями-включеннями деформована. Місцями спостерігались невеликі за розмірами осередки некрозу лімфоцитів (рис. 5.2.38).

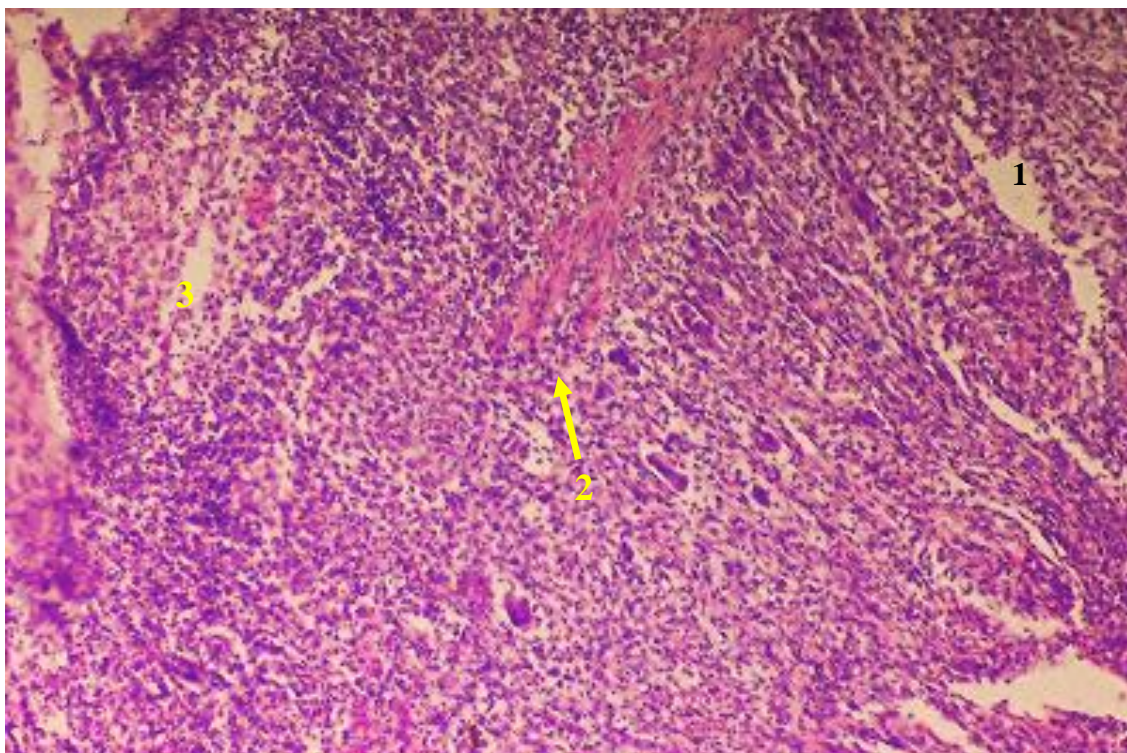


Рис. 6.2.35. Клубова кишка експериментально зараженого цуценяти: 1 – слизова оболонка; 2 – фрагментація м'язової пластинки слизової оболонки; 3 – скупчений лімфоїдний вузлик. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 50$.

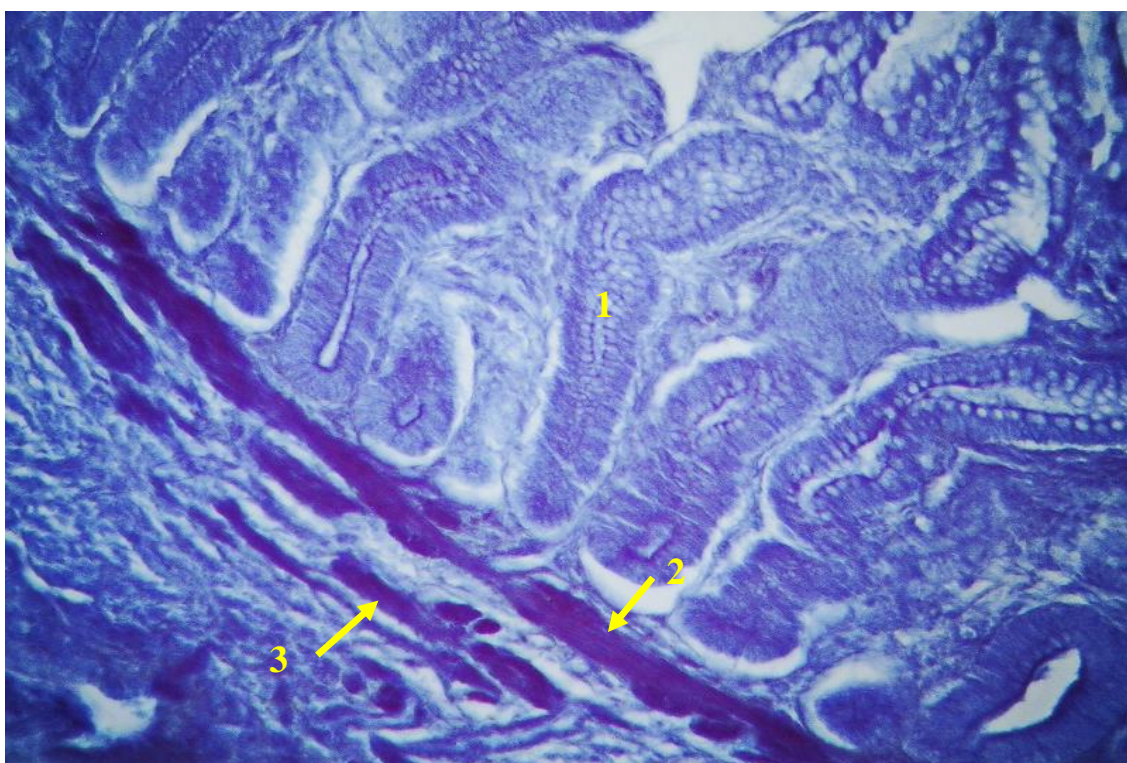


Рис. 6.2.36. Клубова кишка експериментально зараженого цуценяти: 1 – слизова оболонка; 2 – накопичення кислих білків у м'язовій пластинці слизової оболонки; 3 – накопичення кислих білків у пучках колагенових волокон підслизової основи. Метод Мікель-Кальво, $\times 50$.

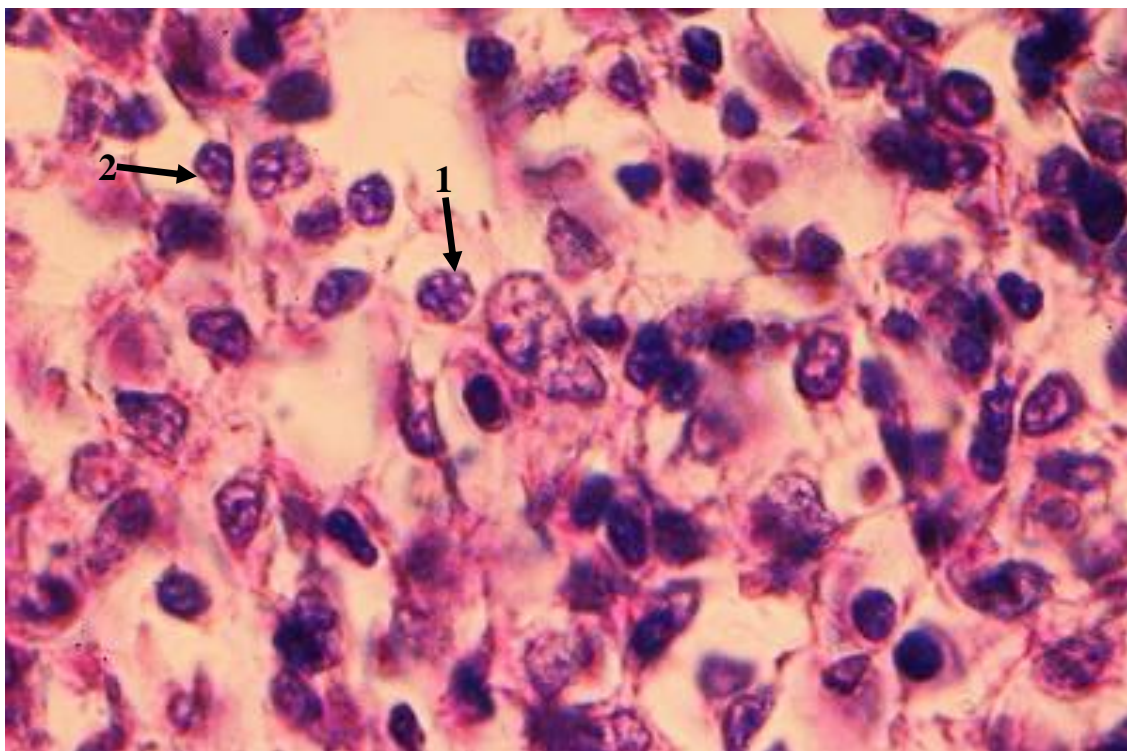


Рис. 6.2.37. Скупчений лімфоїдний вузлик клубової кишки експериментально зараженого цуценяти: 1 – ядро лімфоцита з п'ятьма еозинофільними тільцями-включеннями округлої форми; 2 – деформоване ядро лімфоцита з чотирма еозинофільними тільцями-включеннями. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 1000$.

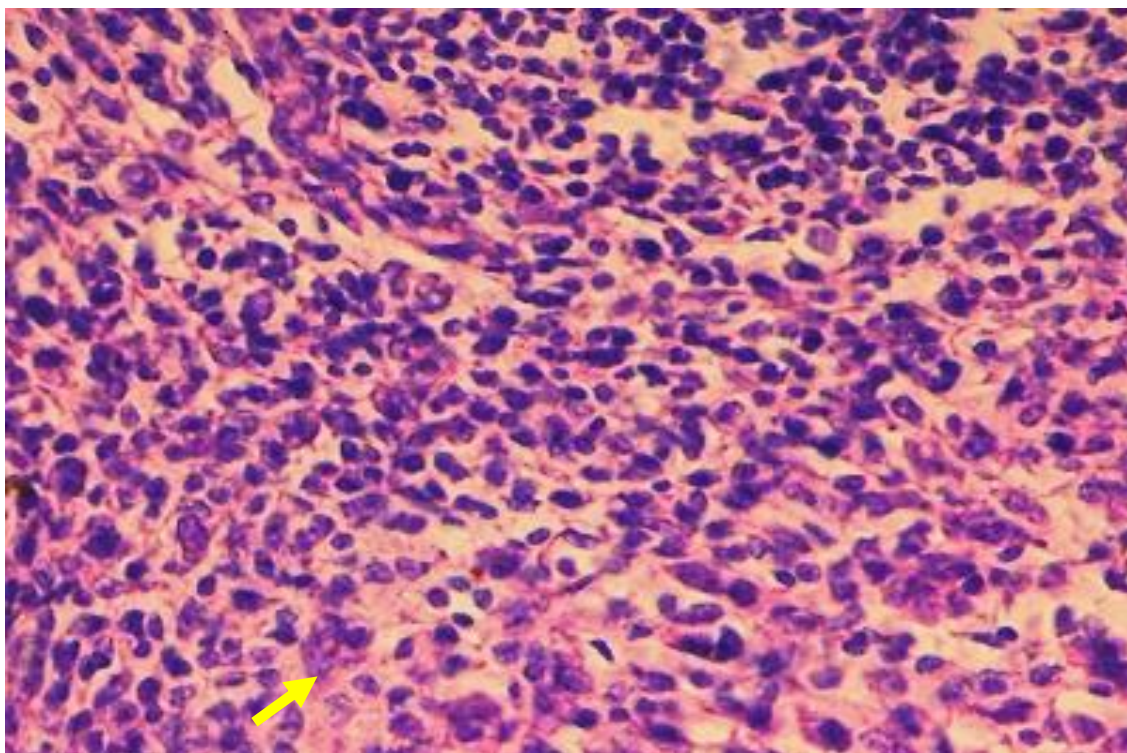


Рис. 6.2.38. Фрагмент лімфоїдного вузлика клубової кишки експериментально зараженого цуценяти: осередок некрозу лімфоцитів (показано стрілкою). Гематоксилін Караці та еозин, $\times 400$.

У м'язовій оболонці тонкої кишки на всіх її ділянках також були виявлені виразні мікроскопічні зміни. Проте їх характер на різних ділянках тонкої кишки був різним. Він визначався не конкретним сегментом тонкої кишки, а залежав від того, чи була кишка розтягнена, чи ні. На ділянках, де тонка кишка не була розтягнена, реєструвалась зерниста дистрофія внутрішнього й зовнішнього шарів її м'язової оболонки. Частина дистрофічно змінених клітин руйнувалась (рис. 6.2.39). На ділянках, де кишка була значно розтягнута (просвіт її виразно розширений, а товщина стінки – виразно зменшена) мікроскопічні зміни внутрішнього та зовнішнього шарів м'язової оболонки мали кардинально інший характер. Внутрішній шар був нерівномірно забарвлений внаслідок чергування більш темних та більш світлих смуг різних розмірів і зазвичай не зовсім правильної форми, які на поперечних зрізах стінки тонкої кишки знаходилися впоперек цього шару м'язової оболонки (рис. 6.2.40). Це було добре видно за малого збільшення мікроскопа (до $\times 200$).

У ході дослідження гістологічних препаратів тонкої кишки цуценят, експериментально заражених ізолятом парвовірусу, культивованим у гетерологічній культурі клітин, під імерсією, було виявлено, що така нерівномірність забарвлення зумовлена тим, що одні групи гладких м'язових клітин знаходились у стані виразного скорочення. У той же час розташовані між ними інші групи гладких м'язових клітин були розтягнені та мали ознаки зернистої дистрофії, або ж надзвичайно слабо зафарбовані ядро й цитоплазму. Частина таких клітин руйнувалась (рис. 6.2.41).

Місцями в цитоплазмі розтягнутих гладких м'язових клітин спостерігали поперечну посмугованість через наявність більш інтенсивно забарвлених смужок і глибок. Частина таких клітин руйнувалась, що супроводжувалось розпадом їх цитоплазми на окремі досить інтенсивно зафарбовані глибки та штрихоподібні фрагменти (рис. 6.2.42).

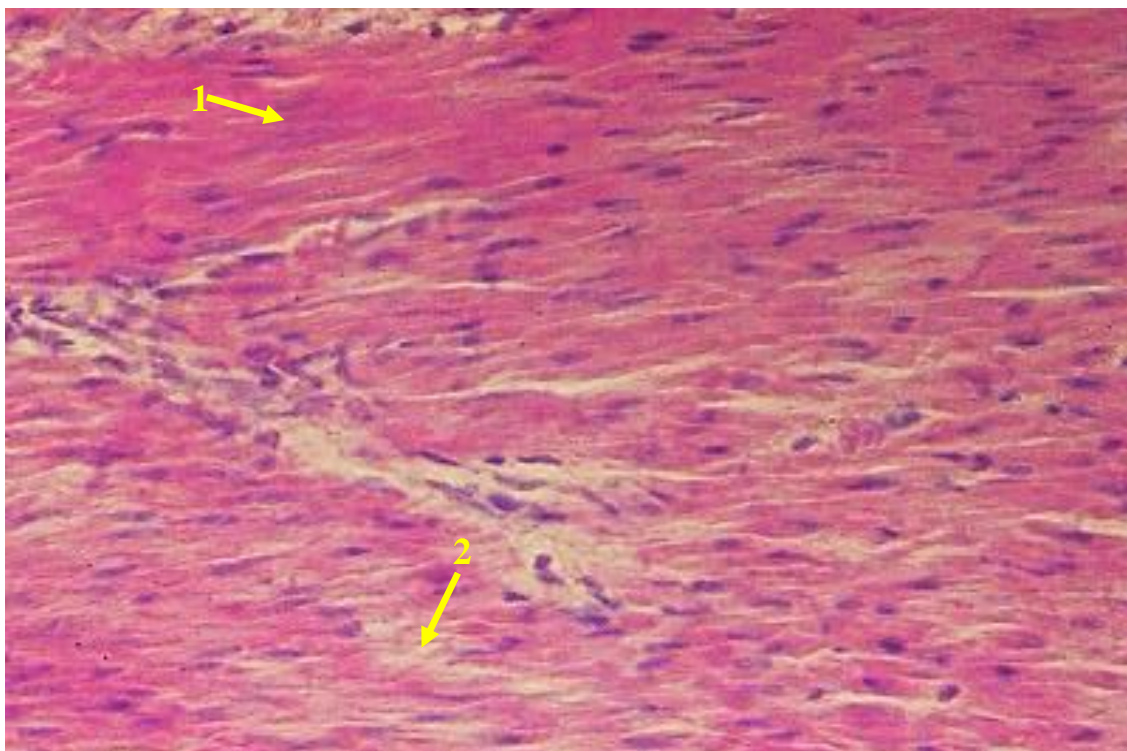


Рис. 6.2.39. Внутрішній шар м'язової оболонки порожньої кишки експериментально зараженого цуценяти: 1 – зерниста дистрофія гладких м'язових клітин; 2 – руйнування гладких м'язових клітин. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 100$.

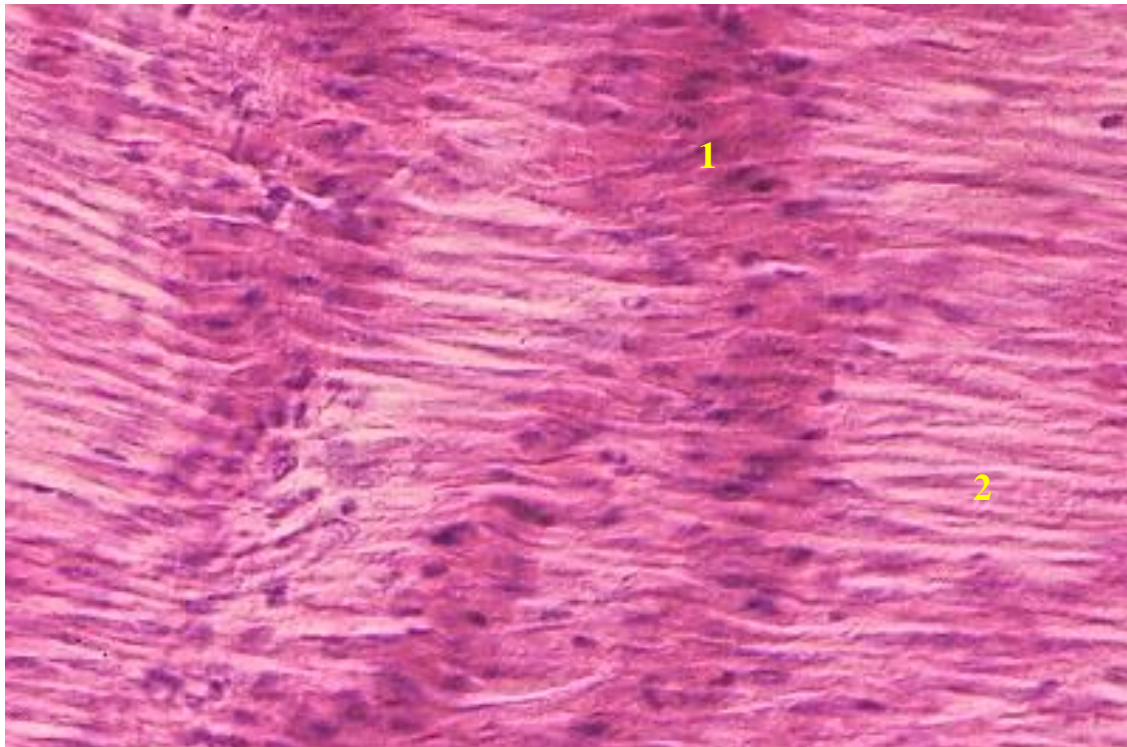


Рис. 6.2.40. Внутрішній шар м'язової оболонки порожньої кишки експериментально зараженого цуценяти: 1 – більш темна ділянка; 2 – більш світла ділянка. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 200$.

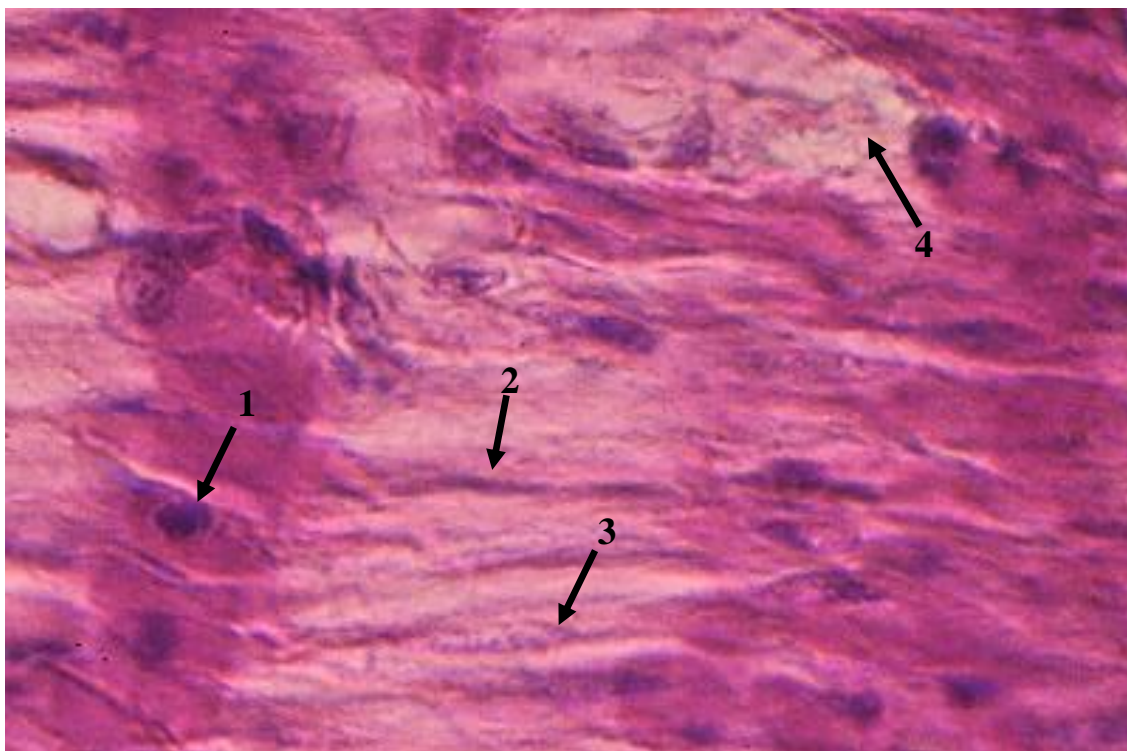


Рис. 6.2.41. Внутрішній шар м'язової оболонки порожньої кишки експериментально зараженого цуценяти: 1 – гладка м'язова клітина у стані скорочення; 2 – витягнута дистрофічно змінена гладка м'язова клітина; 3 – витягнута гладка м'язова клітина зі слабо зафарбованими ядром і цитоплазмою; 4 – руйнування гладкої м'язової клітини. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 1000$.

Проведені нами гістохімічні дослідження дозволили встановити, що в цитоплазмі гладких м'язових клітин внутрішнього шару м'язової оболонки тонкої кишки, які перебували у стані скорочення, накопичувалась велика кількість кислих білків, тоді як у цитоплазмі витягнутих гладких м'язових клітин цього шару м'язової оболонки переважали основні білки (рис. 6.2.43).

У зовнішньому шарі м'язової оболонки тонкої кишки за гістологічних досліджень спостерігали набряк, зернисту дистрофію гладких м'язових клітин, а також руйнування частини дистрофічно змінених гладких м'язових клітин (рис. 6.2.44). Визначені мікроскопічні зміни м'язової оболонки стінки тонкої кишки, на нашу думку, відображали енергетичне виснаження гладких м'язових клітин з наступним розвитком дистрофічних змін, які іноді закінчувалися руйнуванням клітини.

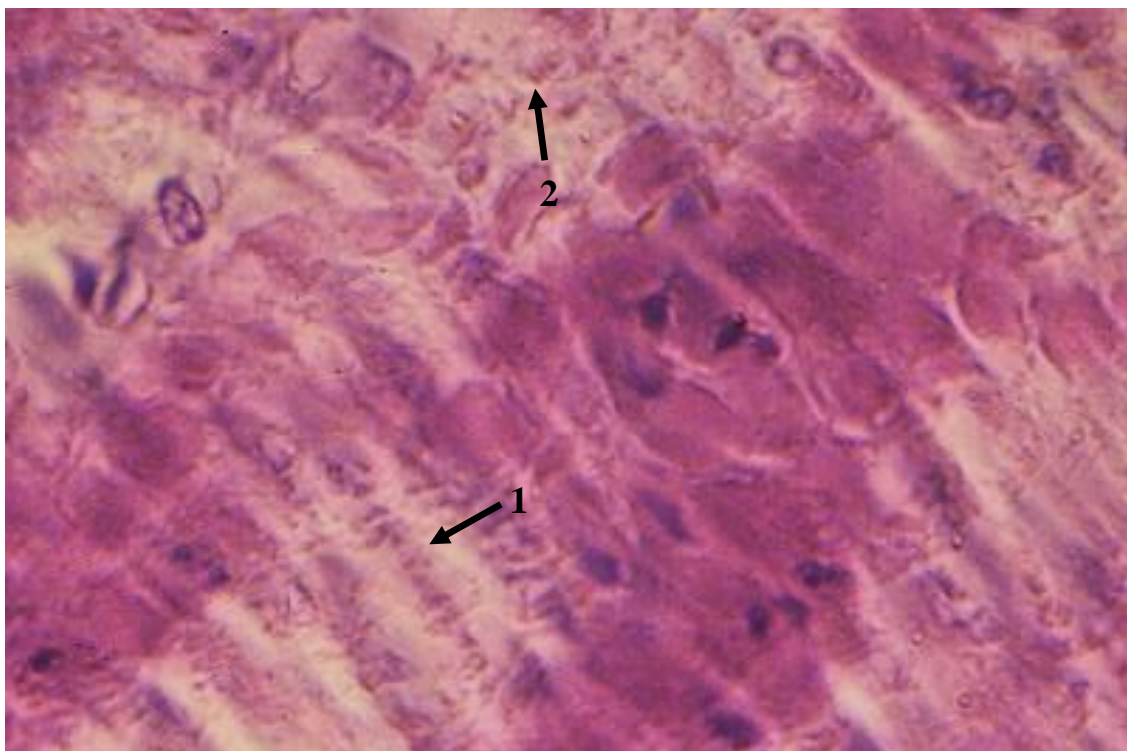


Рис. 6.2.42. Внутрішній шар м'язової оболонки порожньої кишки експериментально зараженого цуценяти: 1 – поперечна посмугованість цитоплазми витягнутої гладкої м'язової клітини; 2 – розпад цитоплазми витягнутої гладкої м'язової клітини на окремі глибки та штрихоподібні фрагменти. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 1000$.

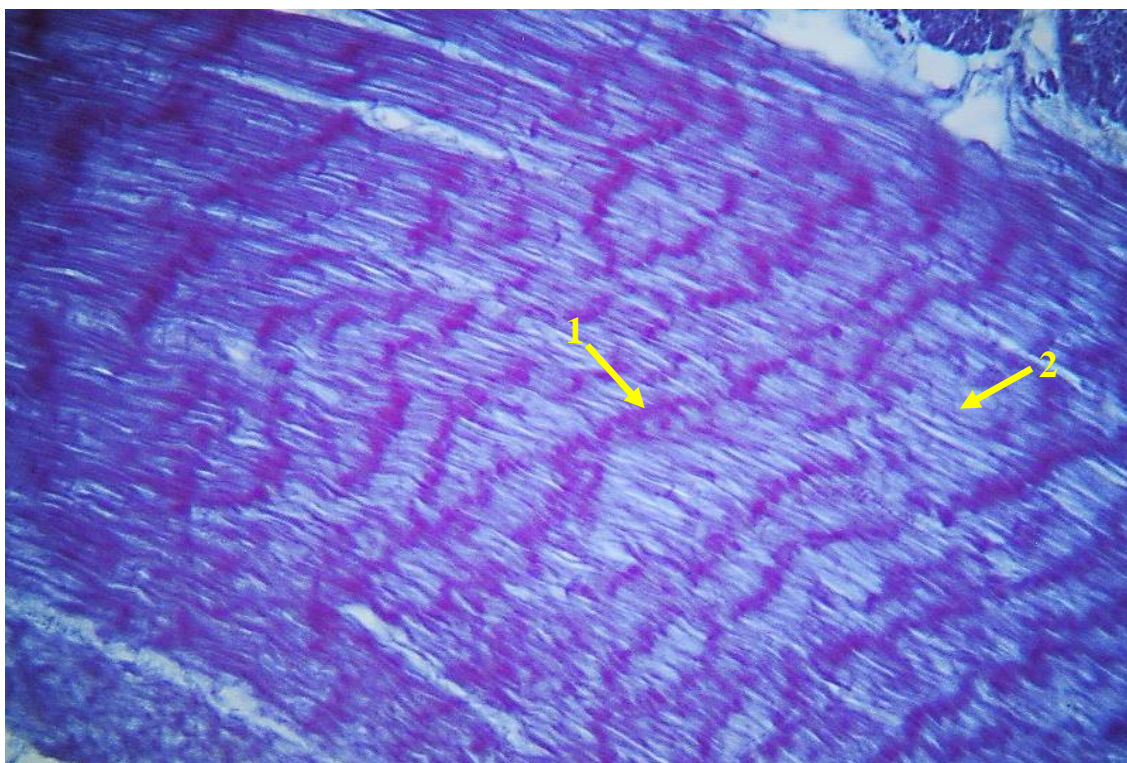


Рис. 6.2.43. Внутрішній шар м'язової оболонки порожньої кишки експериментально зараженого цуценяти: 1 – гладкі м'язові клітини у стані скорочення; 2 – витягнуті гладкі м'язові клітини. Метод Мікель-Кальво, $\times 100$.

Одержані нами результати та зроблені на підставі їх висновки дозволяють зробити ще одне припущення. Вважаємо досить вірогідним, що розтягнення окремих сегментів тонкої кишки цуценят, експериментально заражених ізолятом парвовірусу, культивованим у гетерологічній культурі клітин, зумовлено не одним лише накопиченням в її просвіті газів, а й відсутністю накопичення газів взагалі. Оскільки в цуценят мали місце мікроскопічні ознаки виразного виснаження клітин м'язової оболонки кишкової стінки, одні лише такі зміни могли призводити до повної чи майже повної втрати тонусу стінки кишки, що саме по собі, або ж у поєднанні з накопиченням у порожнині кишки газів, спричиняло до розширення просвіту окремих сегментів тонкої кишки.

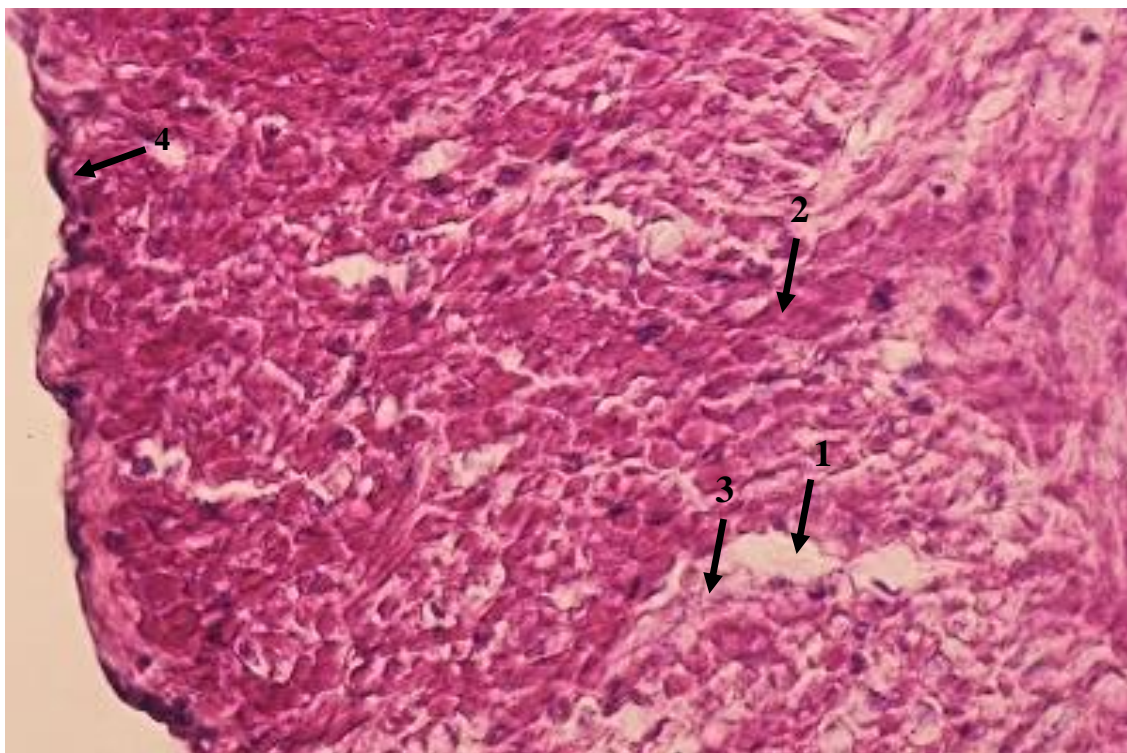


Рис. 6.2.44. Зовнішній шар м'язової оболонки голодної кишки експериментально зараженого цуценяти: 1 – набряк; 2 – зерниста дистрофія гладких м'язових клітин; 3 – руйнування гладких м'язових клітин; 4 – серозна оболонка. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 200$.

Втраті тонусу кишкової стінки також могло сприяти й порушення нервової регуляції роботи м'язової оболонки кишкової стінки, оскільки нервові сплетіння, розташовані в цій оболонці, були набряклі й дезорганізовані (рис. 6.2.45).

Серозна оболонка в різних ділянках тонкої кишки експериментально інфікованих цуценят також виглядала неоднаково. Як і в м'язовій оболонці, наявність мікроскопічних змін у ній залежала від того, чи була кишка розтягнена, чи ні. Так, на не розтягнутих ділянках мікроскопічних змін з боку серозної оболонки не спостерігали (див. рис. 6.2.44), у той час як на розтягнутих ділянках виявлено виразне потовщення серозної оболонки внаслідок її набряку (див. рис. 6.2.45).

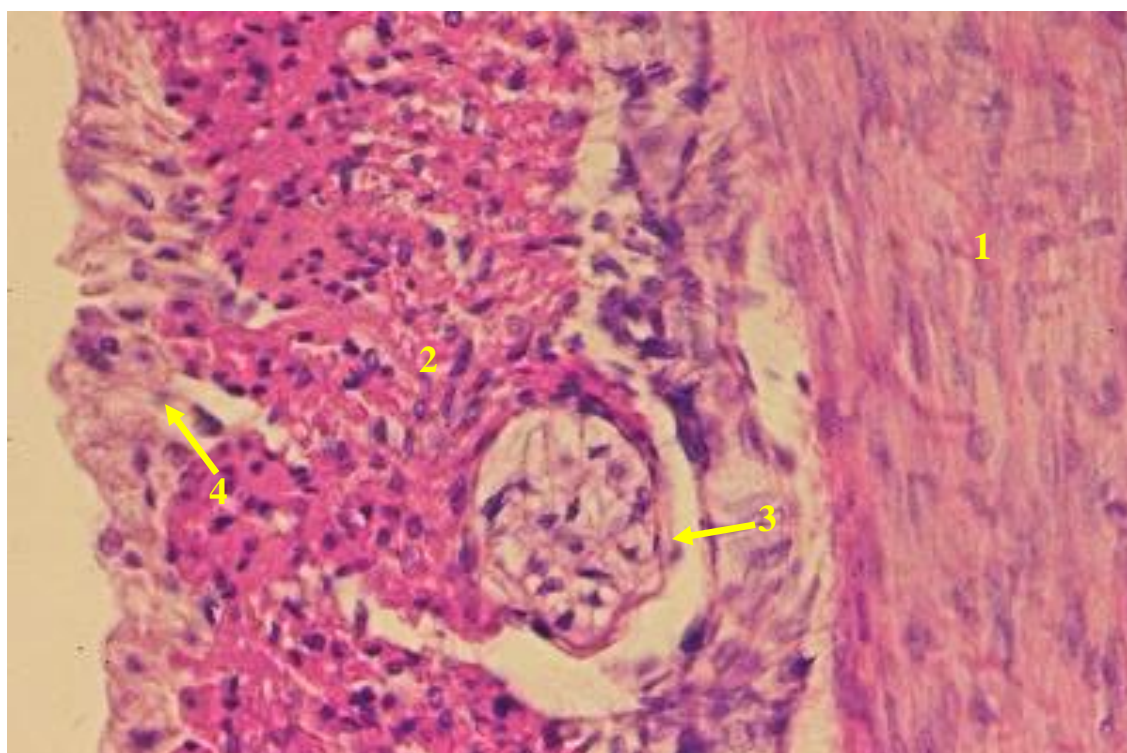


Рис. 6.2.45. М'язова оболонка клубової кишки експериментально зараженого цуценяти: 1 – внутрішній шар; 2 – зовнішній шар; 3 – набряк і дезорганізація нервового сплетіння; 4 – набряк серозної оболонки. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 200$.

6.2.2. Мікроскопічні зміни у товстій кишці цуценят за експериментального зараження ізолятом парвовірусу, культивованим у гетерологічній культурі клітин

Мікроскопічні зміни у сліпій і ободовій кишках цуценят за експериментального зараження ізолятом парвовірусу, культивованим у

гетерологічній культурі клітин, були подібними. Також ці зміни за своїм характером досить таки подібні до мікроскопічних змін у тонкій кишці.

У просвіті сліпої й ободової кишок знаходилась велика кількість клітинного детриту, серед якого виявляли окремі фрагменти епітелію та напівзруйновані клітини. У ядрах окремих клітин у просвіті цих кишок спостерігали еозинофільні тільця-включення, а частина ядер були повністю еозинофільними (рис. 6.2.46).

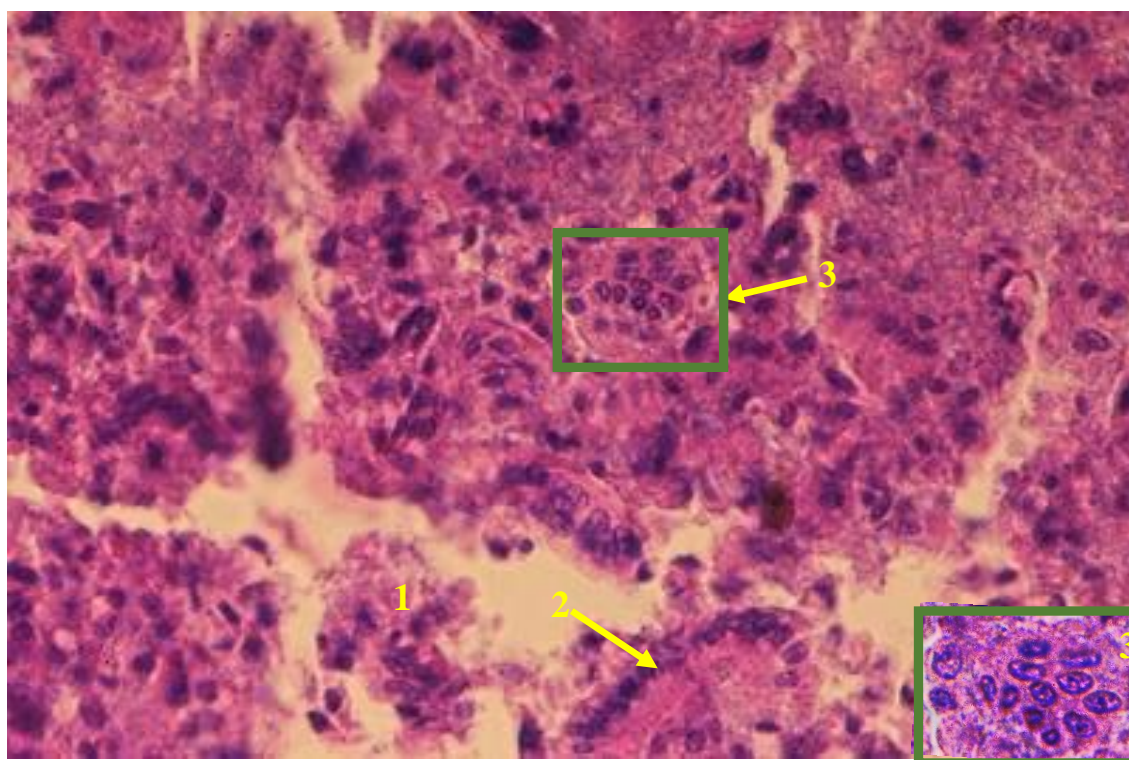


Рис. 6.2.46. Просвіт ободової кишки експериментально зараженого цуценяти: 1 – клітинний детрит; 2 – фрагмент епітелію; 3 – клітини з еозинофільними ядрами. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 400$.

Як і в тонкій кишці, мікроскопічні зміни на різних ділянках сліпої й ободової кишок були різними, на деяких – незначними (рис. 6.2.47). Крипти були добре збережені (рис. 6.2.48). Виявляли лише помірний нерівномірний набряк підслизової основи, розширення її кровоносних судин (див. рис. 6.2.47), а також набухання і частковий лізис пучків колагенових волокон (див. рис. 6.2.48).

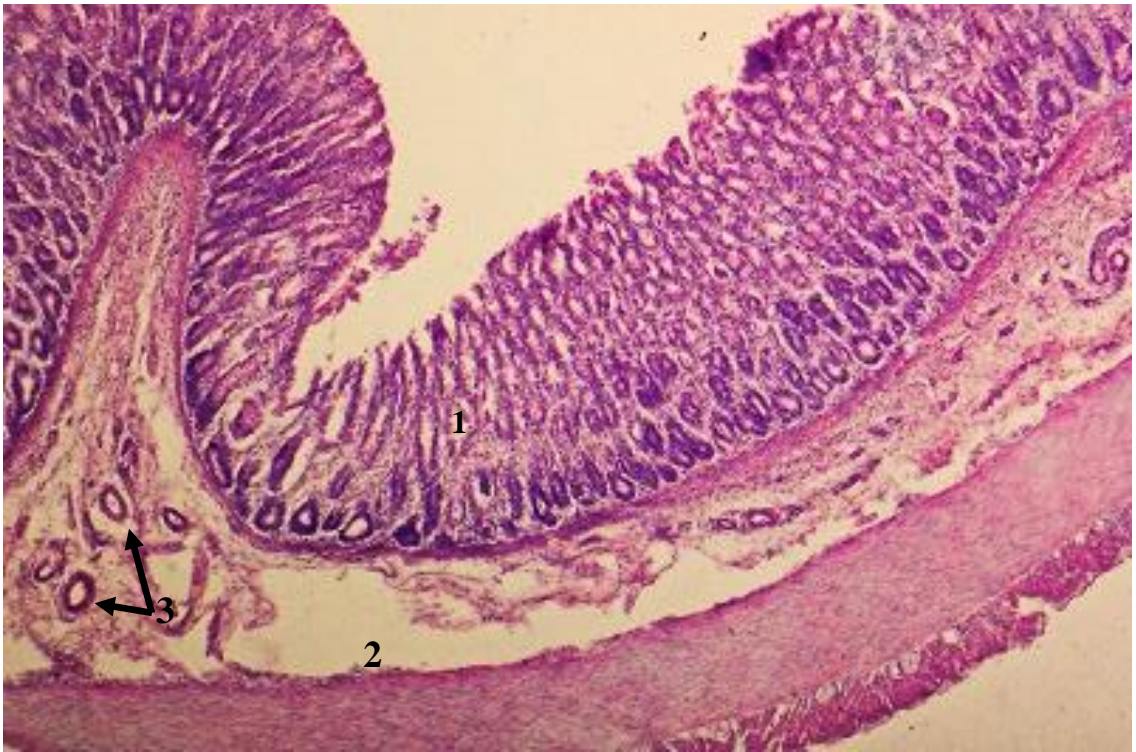


Рис. 6.2.47. Просвіт ободової кишки експериментально зараженого цуценяти: 1 – крипти; 2 – набряк підслизової основи; 3 – розширені кровоносні судини. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 50$.

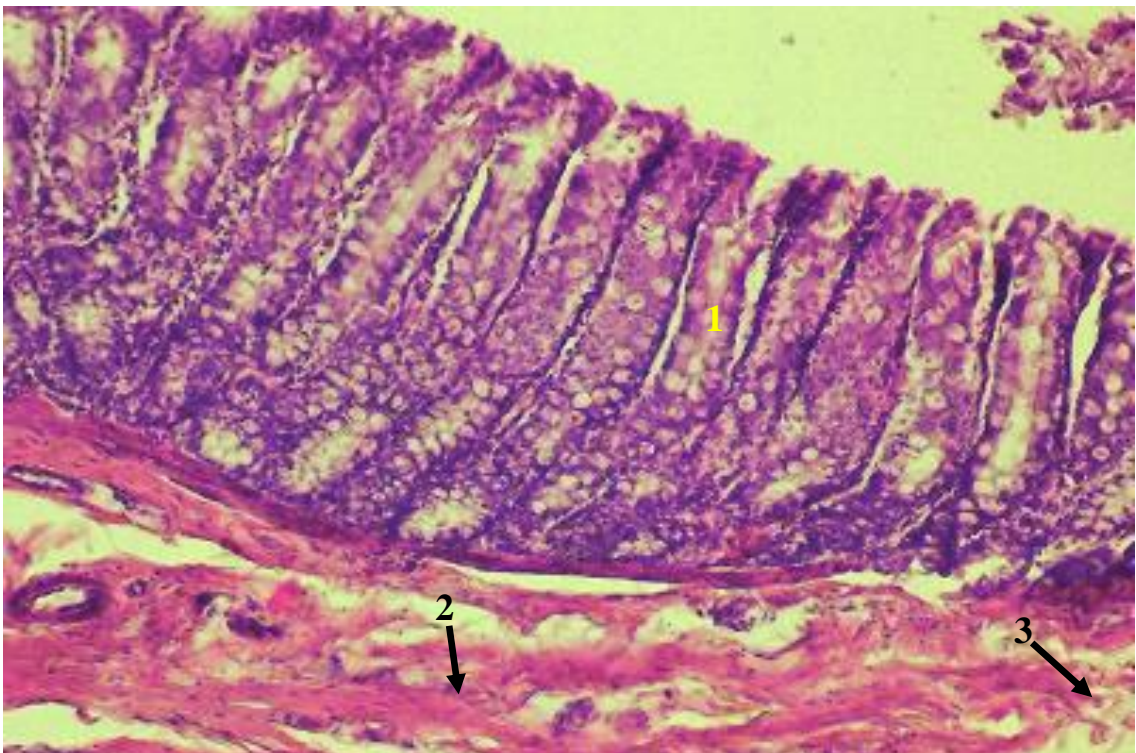


Рис. 6.2.48. Просвіт ободової кишки експериментально зараженого цуценяти: 1 – крипти; 2 – набухання пучків колагенових волокон; 3 – частковий лізис пучків колагенових волокон. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 200$.

У внутрішньому шарі м'язової оболонки виявлялася зерниста дистрофія гладких м'язових клітин, а в зовнішньому – ще й виразний набряк (рис. 6.2.49).

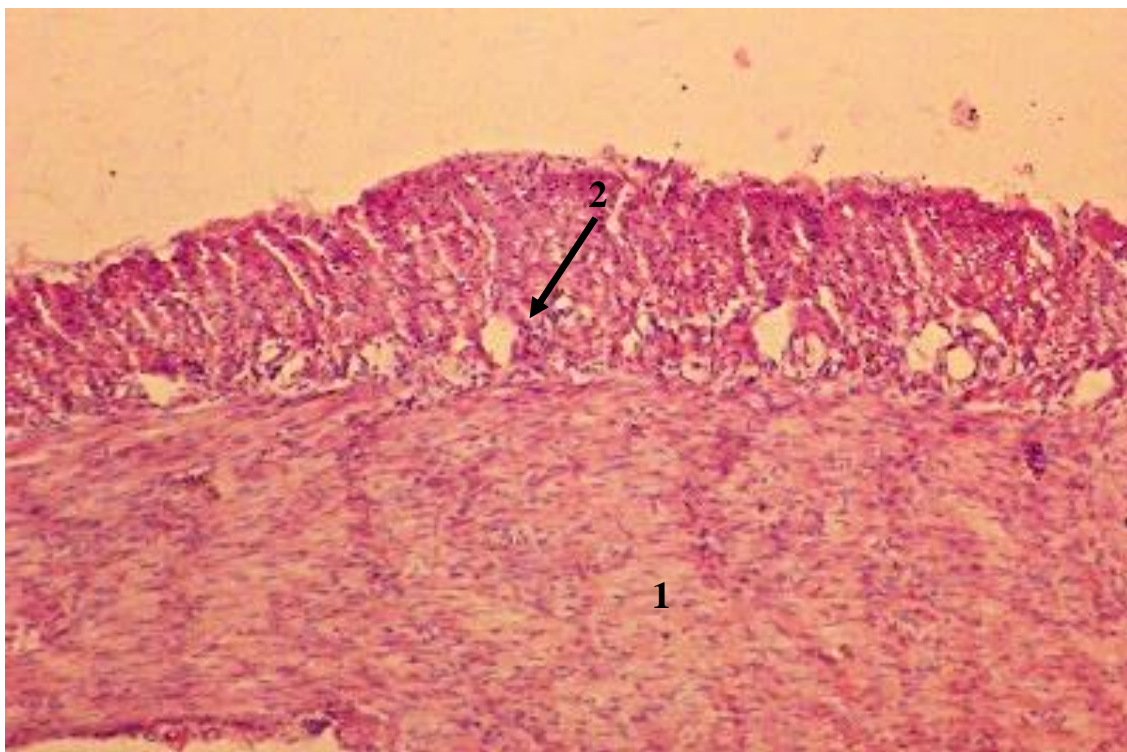


Рис. 6.2.49. М'язова оболонка сліпої кишки експериментально зараженого цуценяти: 1 – зерниста дистрофія гладких м'язових клітин внутрішнього шару; 2 – набряк зовнішнього шару. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 100$.

На інших ділянках сліпої й ободової кишок спостерігали руйнування крипт. У деяких випадках руйнувалась тільки верхня частина крипт (рис. 6.2.50). Строма крипт при цьому була дезорганізована й набрякла, а в ядрах досить великої кількості епітеліальних клітин, у верхніх ділянках крипт, містились еозинофільні тільця-включення (рис. 6.2.51). У поодиноких епітеліоцитах крипт сліпої й ободової кишки виявляли велетенські, повністю еозинофільні ядра (рис. 6.2.52). Такі ядра зазвичай були нерівномірно зафарбовані еозином і мали досить великі, виразно базофільні ядерця, що свідчило про їх високу синтетичну активність. Клітини з велетенськими ядрами зазвичай також мали великий об'єм цитоплазми. За рахунок виразного збільшення ядра й цитоплазми такі клітини значно збільшувались у розмірах.

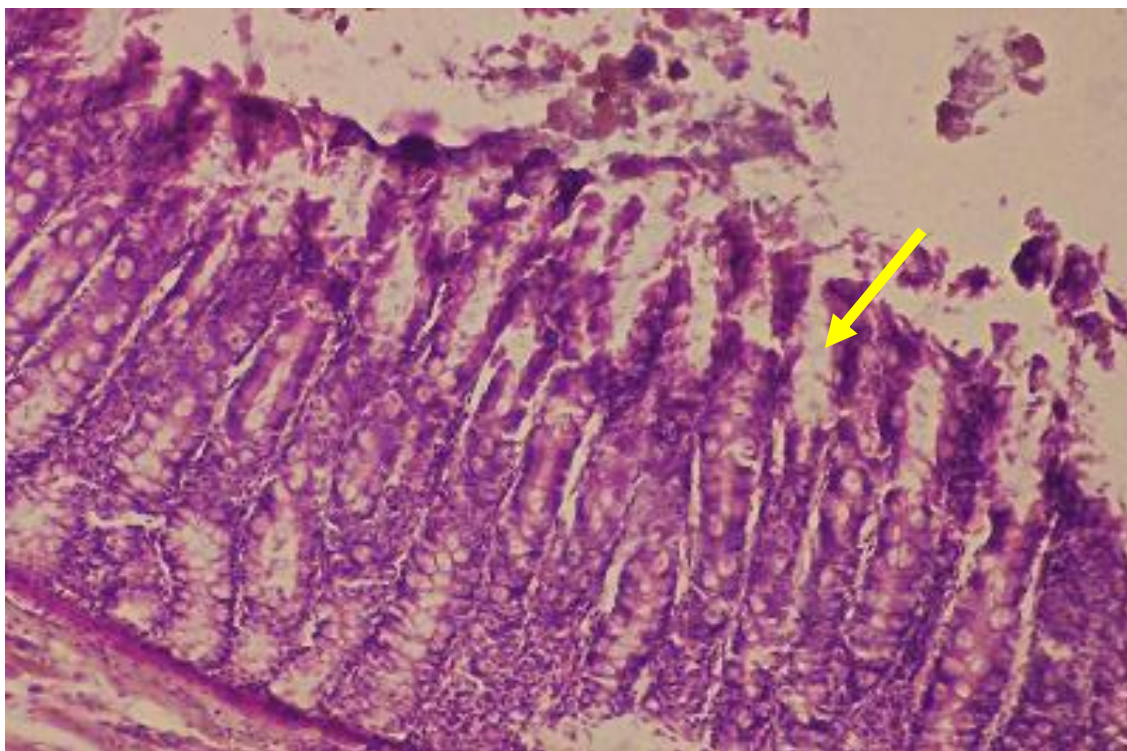


Рис. 6.2.50. Руйнування верхньої частини крипт ободової кишки експериментально зараженого цуценяти (показано стрілкою). Гематоксилін Караці та еозин, $\times 100$.

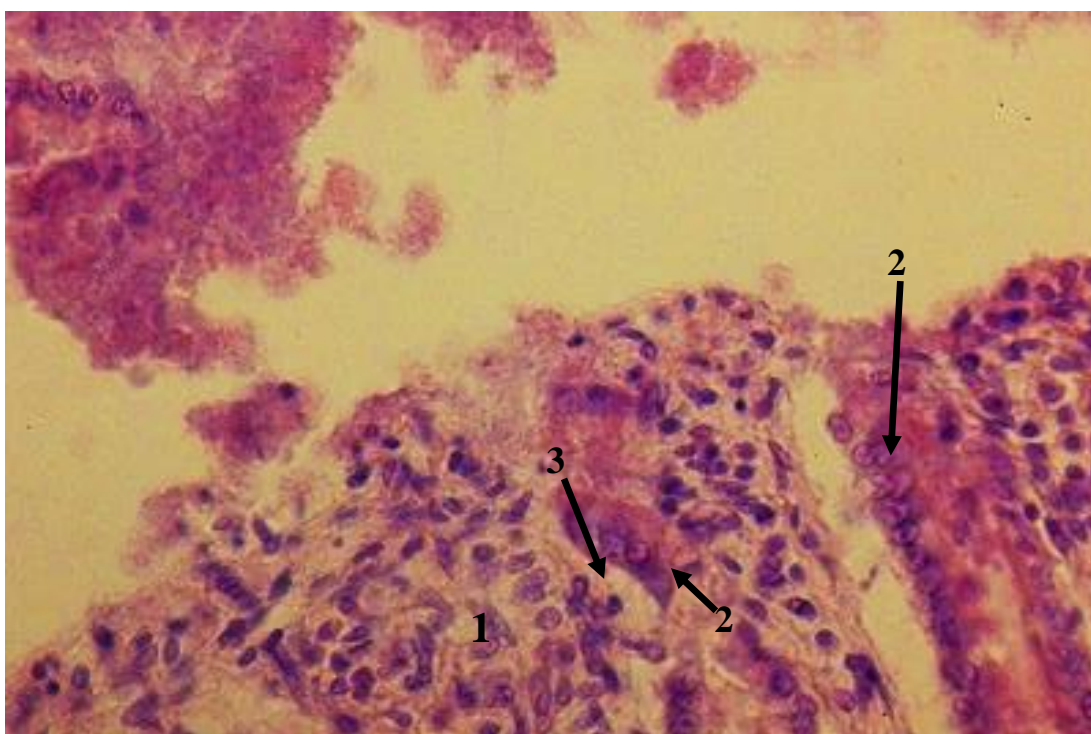


Рис. 6.2.51. Верхівки крипт ободової кишки експериментально зараженого цуценяти: 1 – дезорганізація та набряк строми крипти; 2 – еозинофільні тільця-включення в ядрах епітеліальних клітин; 3 – лімфоцит. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 400$.

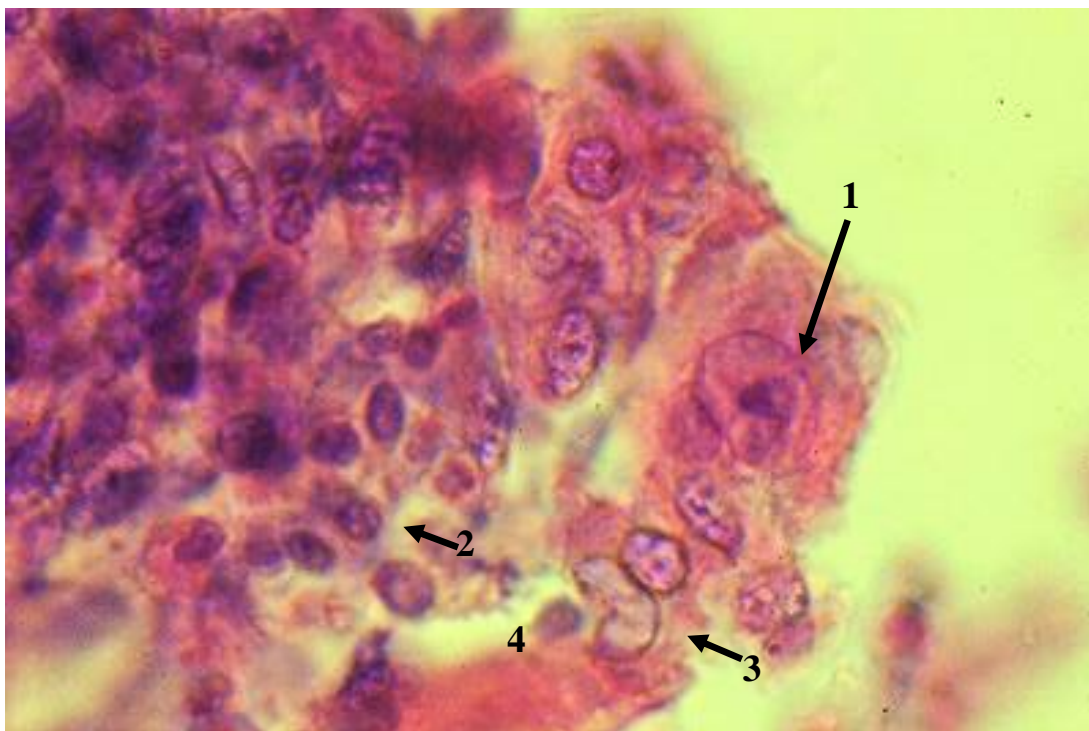


Рис. 6.2.52. Верхівка крипти сліпої кишки експериментально зараженого цуценяти: 1 – велетенське еозинофільне ядро з великим базофільним ядерцем; 2 – еозинофільні тільця-включення в ядрі епітеліоцита; 3 – набрякле, збільшене в розмірах, деформоване ядро; 4 – субепітеліальний набряк. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 1000$.

У експериментально інфікованих цуценят у ділянці верхньої частини крипт сліпої й ободової кишок, як і в тонкій кишці, спостерігали ознаки гіперсекреції та виснаження келихоподібних клітин, переважна більшість яких виділяла надзвичайно велику кількість секрету з великою інтенсивністю, внаслідок чого він виприскувався у просвіт кишки (рис. 6.2.53). Глікокалекс на поверхні ентероцитів виявляли.

Також було встановлено порушення гістохімічного складу секрету, який накопичувався в келихоподібних клітинах верхньої частини крипт сліпої й ободової кишок. Цей секрет у переважній більшості цих клітин нерівномірно зафарбовувався альціановим синім за рН 2,5 і 1,0 (див. рис. 6.2.53), що вказує на порушення синтезу в келихоподібних клітинах протеогліканів, як тих, що містять групи сілової кислоти, так і тих, що містять сульфатовані глікозаміноглікани. Крім того, частина келихоподібних клітин була виснажена, що пояснюється накопиченням у них невеликої кількості нерівномірно

зафарбованого секрету та нехарактерною формою клітини в цілому (див. рис. 6.2.53). Кількість келихоподібних клітин у ділянці верхівок крипт сліпої й ободової кишок виразно зменшена.

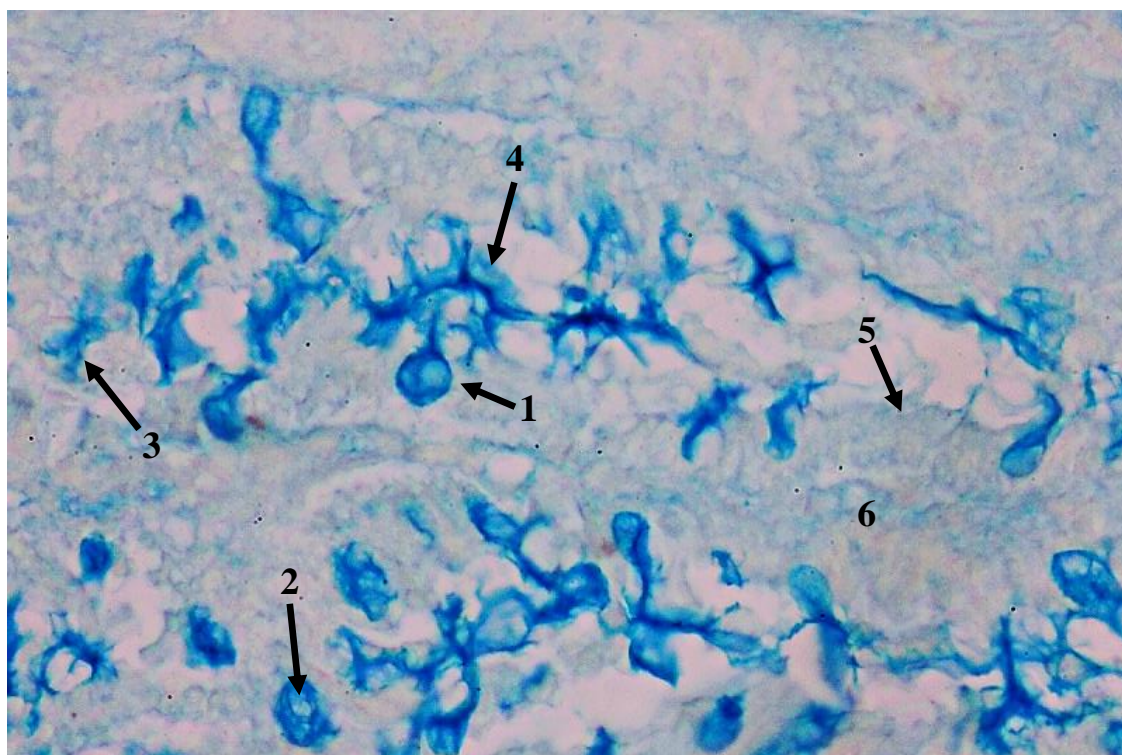


Рис. 6.2.53. Верхівки крипт сліпої кишки експериментально зараженого цуценяти: 1 – келихоподібна клітина у стані гіперергічної секреції; 2 – нерівномірне зафарбовування секрету келихоподібної клітини; 3 – «виснажена» келихоподібна клітина; 4 – секрет келихоподібних клітин у просвіті крипти; 5 – відсутність глікокалексу на поверхні ентероцитів; 6 – накопичення протеогліканів у стромі ворсинки. Альціановий синій рН 1,0 × 1000.

Як і в тонкій кишці, за постановки ШЙК-реакції секрет багатьох келихоподібних клітин у верхніх частинах крипт також зафарбовувався нерівномірно, або ж майже не зафарбовувався, що вказує на порушення синтезу цими одноклітинними залозами глікопротеїнів.

У ділянці дна крипт сліпої й ободової кишок на місцях з руйнуванням верхньої частини крипт велика кількість епітеліальних клітин мала внутрішньоядерні еозинофільні тільця-включення. Частина таких ядер були деформованими. Зазвичай клітини з внутрішньоядерними тільцями-включеннями перебували у стані зернистої дистрофії. Частина таких клітин

руйнувалась (рис. 6.2.54). Також у ділянці дна крипт спостерігали субепітеліальний набряк, який був набагато більш сильним, ніж у середній та верхній частинах крипт (див. рис. 6.2.54).

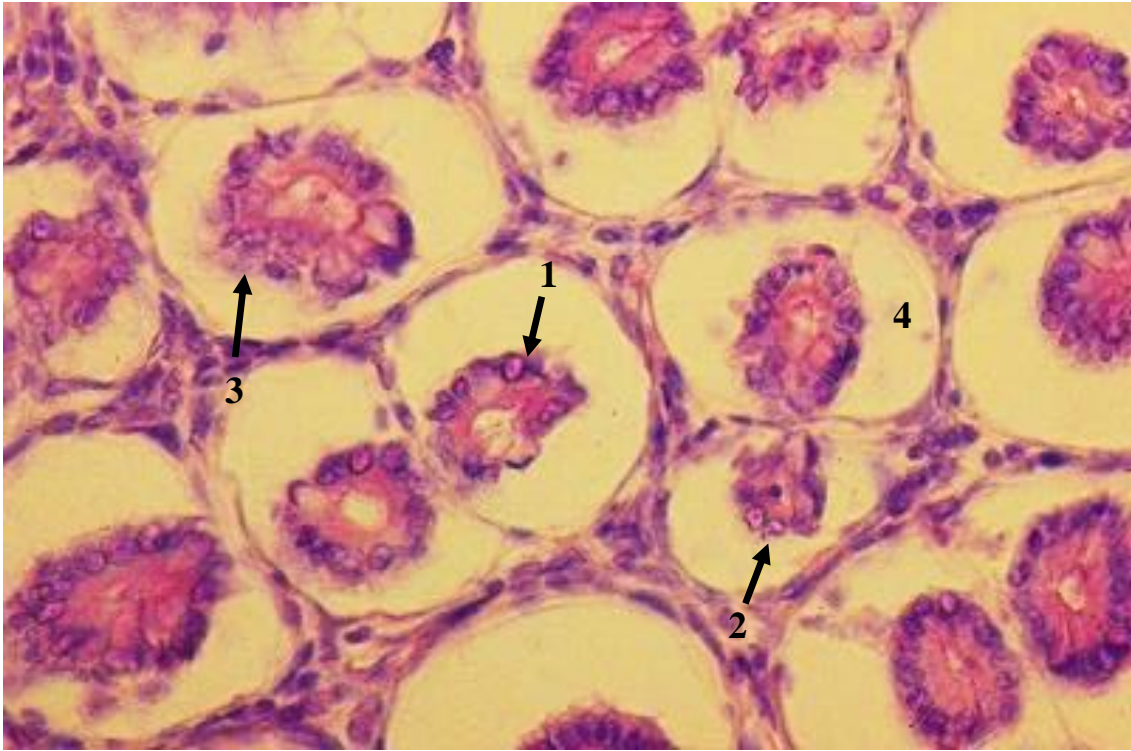


Рис. 6.2.54. Ділянка дна крипт сліпої кишки експериментально зараженого цуценяти: 1 – еозинофільне тільце-включення в ядрі епітеліальної клітини; 2 – деформовані ядра епітеліоцитів з еозинофільними тільцями-включеннями; 3 – зерниста дистрофія й руйнування епітеліальних клітин з еозинофільними тільцями-включеннями в їх ядрах; 4 – субепітеліальний набряк. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 400$.

Епітеліоцити, в ядрах яких не виявляли еозинофільних тілець-включень перебували у стані зернистої (рис. 6.2.55) та гідропічної (рис. 6.2.56) дистрофії. Частина з дистрофічно змінених клітин, у ядрах яких еозинофільні тільця-включення були відсутні, також руйнувалась.

Під час руйнування значної частини ентероцитів крипт вцілілі епітеліальні клітини витягувалися вздовж базальної мембрани, набуваючи плоскої форми (рис. 6.2.57). В епітеліоцитах крипт з мікроскопічними ознаками гідропічної дистрофії зазвичай з'являвся набряк ядра. Частина таких ядер була деформована, а в деяких (зазвичай у деформованих) ядерцях не виявляли. Руйнування таких клітин відбувалося внаслідок розриву апікальної частини

оболонки клітини (див. рис. 6.2.56). Місцями спостерігали руйнування базальної мембрани епітелію крипт (див. рис. 6.2.57). У просвіті крипт, у яких руйнувалась значна кількість ентероцитів, у ділянці їх дна виявляли велику кількість клітинного детриту, злуцнені епітеліальні клітини як із еозинофільними тільцями-включеннями в їх ядрах, так і без таких, а також епітеліоцити з повністю еозинофільними ядрами (див. рис. 6.2.57). Як і в ділянці верхівок крипт сліпої й ободової кишок, у ділянці їх дна (як на базальній мембрані, так і в просвіті серед злуцнених епітеліальних клітин та клітинного детриту) зрідка виявляли поодинокі велетенські клітини з виразно еозинофільними, зазвичай нерівномірно зафарбованими, велетенськими ядрами та інтенсивно червоною цитоплазмою (рис. 6.2.58). Ядерця в таких ядрах були базофільними, що свідчить про їх високу синтетичну активність.

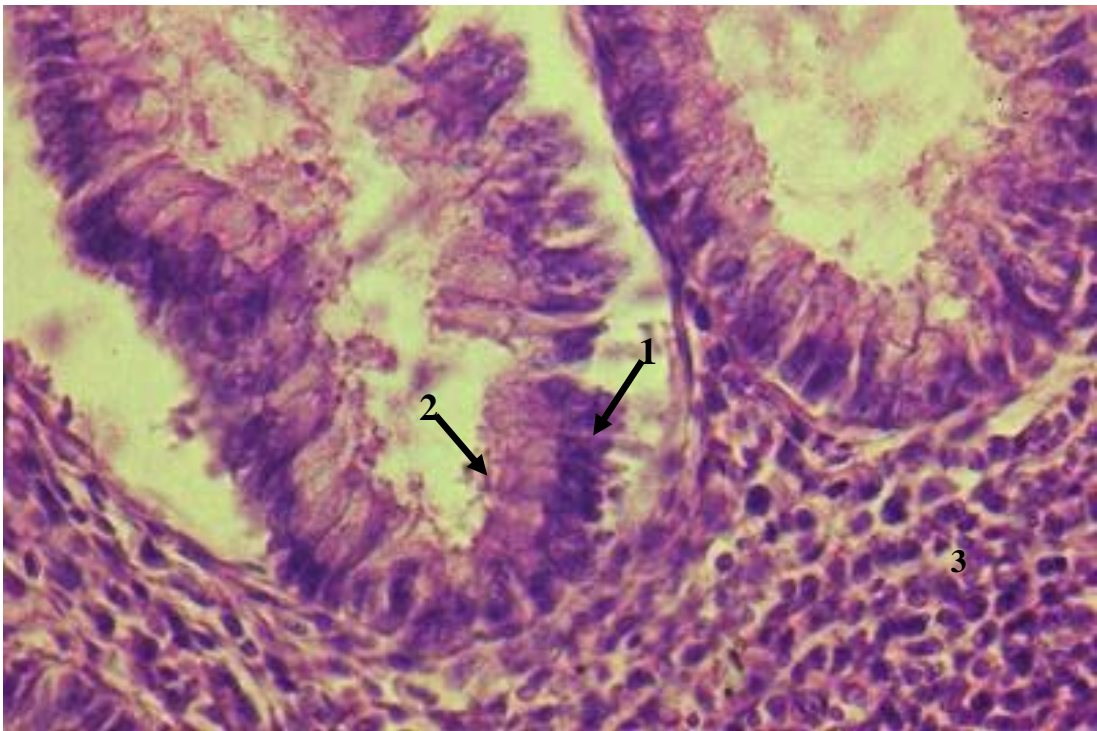


Рис. 6.2.55. Ділянка дна крипт ободової кишки експериментально зараженого цуценяти: 1 – зерниста дистрофія ентероцитів; 2 – відділення оточеної клітинною оболонкою невеликої частинки апікальної цитоплазми ентероцита; 3 – інфільтрація слизової оболонки лімфоцитами й моноцитами. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 400$.

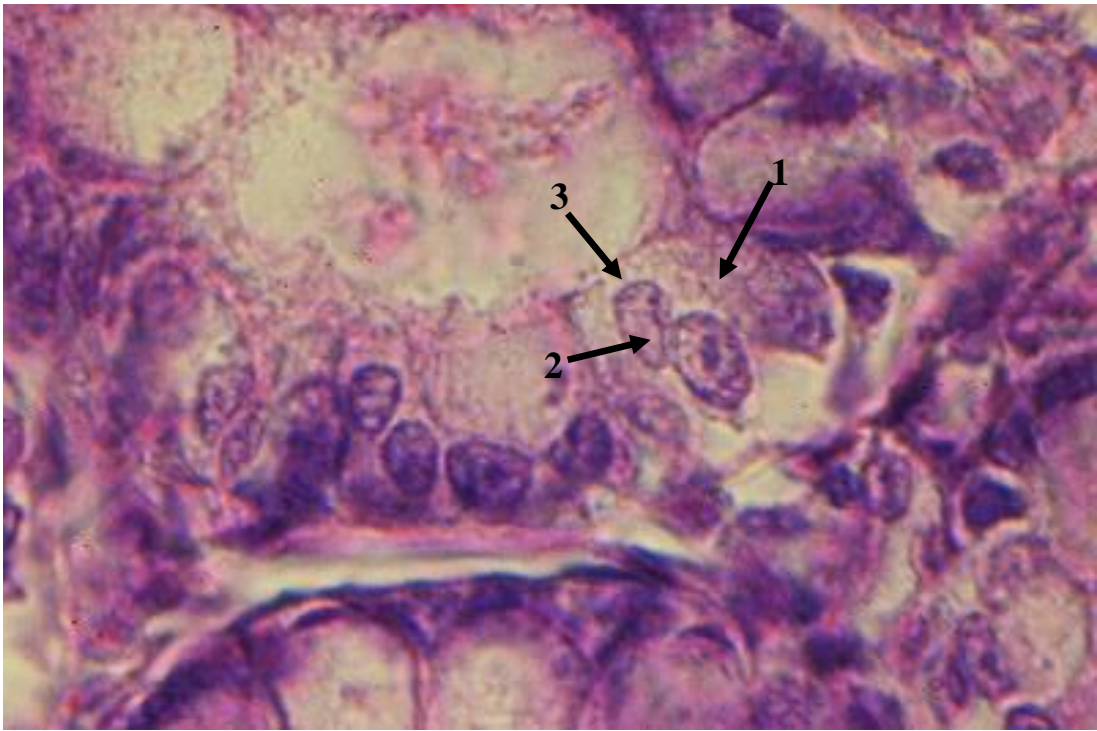


Рис. 6.2.56. Ділянка дна крипт ободової кишки експериментально зараженого цуценяти: 1 – гідропічна дистрофія ентероцита; 2 – деформоване набрякле ядро ентероцита без ядерця; 3 – розрив апікальної мембрани ентероцита. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 1000$.

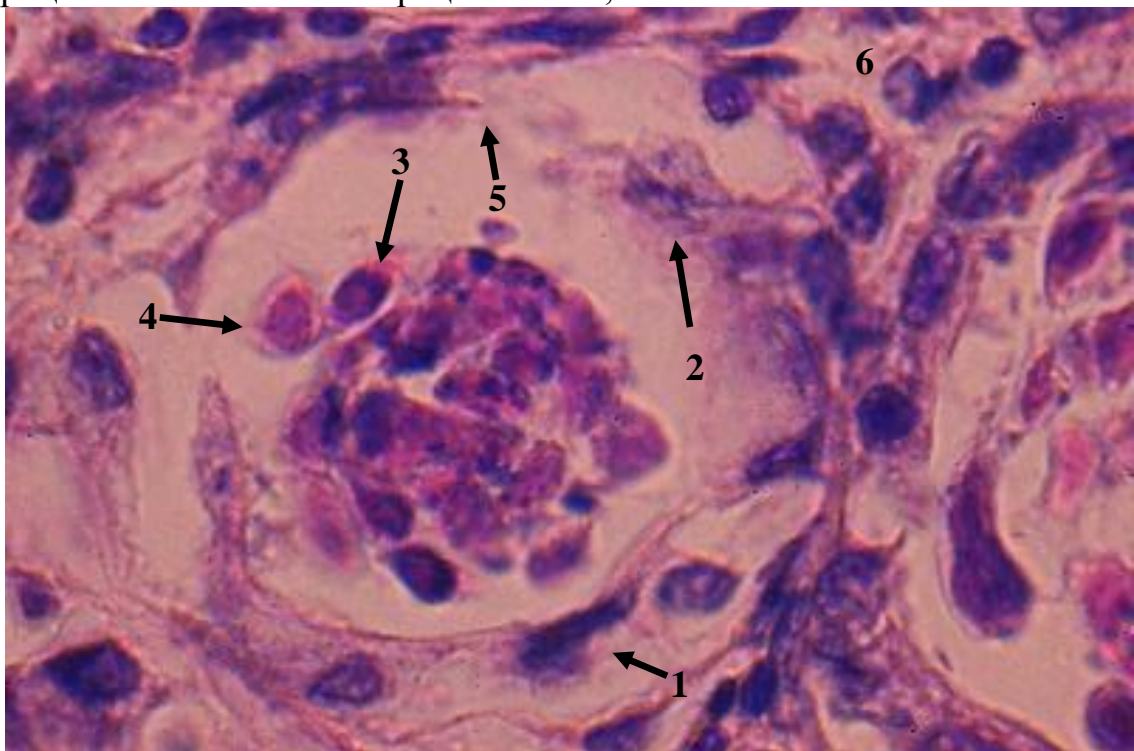


Рис. 6.2.57. Ділянка дна крипт сліпої кишки експериментально зараженого цуценяти: 1 – плоский ентероцит; 2 – руйнування ентероцита; 3 – злушений ентероцит з еозинофільним тільцем-включенням у ядрі; 4 – злушений ентероцит з повністю еозинофільним ядром; 5 – руйнування базальної мембрани епітелію крипти; 6 – набряк слизової оболонки. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 1000$.

Також слід зазначити, що, як і в тонкій кишці, у частини ентероцитів з ознаками зернистої та початкової стадії гідропічної дистрофії спостерігали клазмацитоз (відділення оточених клітинною оболонкою невеликих частинок апікальної цитоплазми), який призводив до утворення в цих клітинах мінус-мембрани (див. рис. 6.2.55).

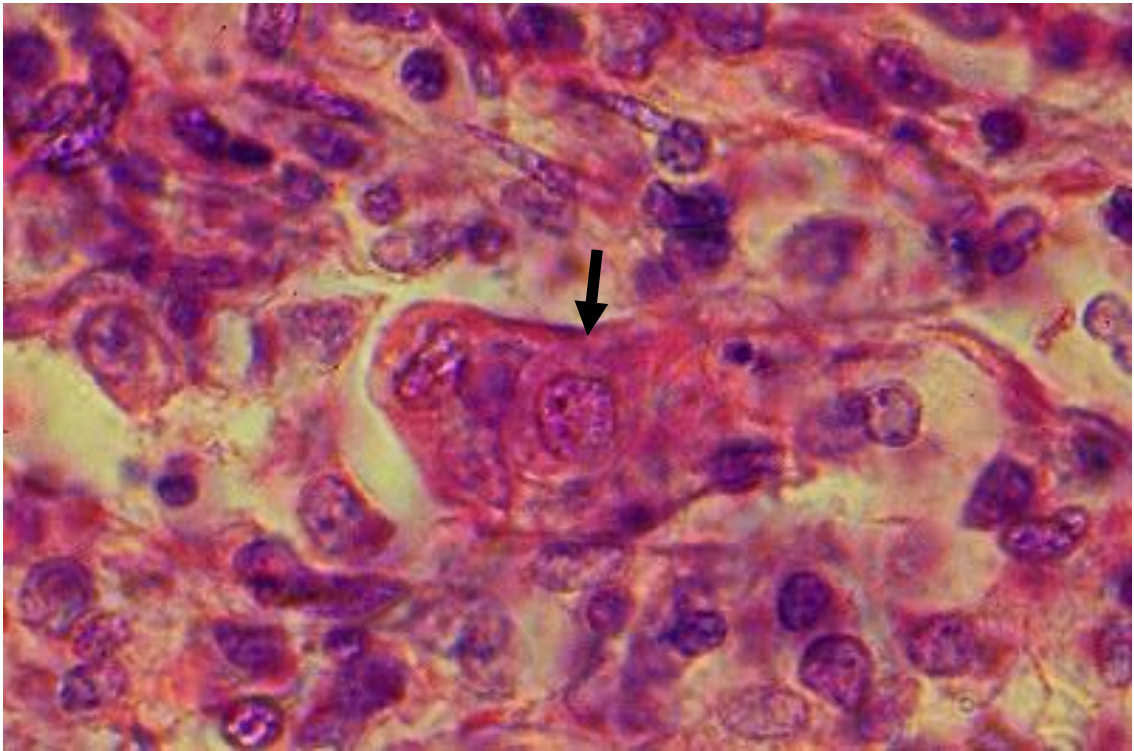


Рис. 6.2.58. Ділянка дна крипт сліпої кишки експериментально зараженого цуценяти: велетенська клітина з велетенським, повністю еозинофільним ядром у просвіті крипти (показано стрілкою). Гематоксилін Караці та еозин, $\times 1000$.

У частині крипт сліпої й ободової кишок в їх нижній ділянці виявляли виразну гіперплазію келихоподібних клітин. Епітелій у цих ділянках був представлений головним чином келихоподібними клітинами, між якими знаходилися лише поодинокі чи невеликі групи ентероцитів (рис. 6.2.59).

На нашу думку, це було зумовлено тим, що парвовірус уражав лише ентероцити, спричиняючи їх руйнування. Дефект епітелію, що утворювався внаслідок руйнування великої кількості ентероцитів у деяких випадках заміщувався за рахунок інтенсивного розмноження келихоподібних клітин. Це означає, що парвовірус не розмножувався в ядрах останніх, оскільки в жодному випадку ні в ядрах келихоподібних клітин тонкої кишки, ні в ядрах

келихоподібних клітин сліпої й ободової кишок еозинофільні тільця-включення нами знайдені не були.



Рис. 6.2.59. Дно крипт ободової кишки експериментально зараженого цуценяти: 1 – ентероцит; 2 – гіперплазія келихоподібних клітин. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 1000$.

Руйнування епітелію крипт, його базальної мембрани та виразний набряк слизової оболонки в ділянці крипт (див. рис. 6.2.57) на частині ділянок сліпої й ободової кишок призводив до повної дезорганізації цієї оболонки. Особливо виразним порушення структури слизової оболонки було в ділянці скупчених лімфоїдних вузликів (рис. 6.2.60).

У сліпій і ободовій кишках також спостерігали набряк слизової оболонки в ділянці крипт та її інфільтрацію лімфоцитами й поодинокими моноцитами, яка особливо виразною була поблизу поодиноких і скупчених лімфоїдних вузликів (див. рис. 6.2.55; 6.2.60; рис. 6.2.61).

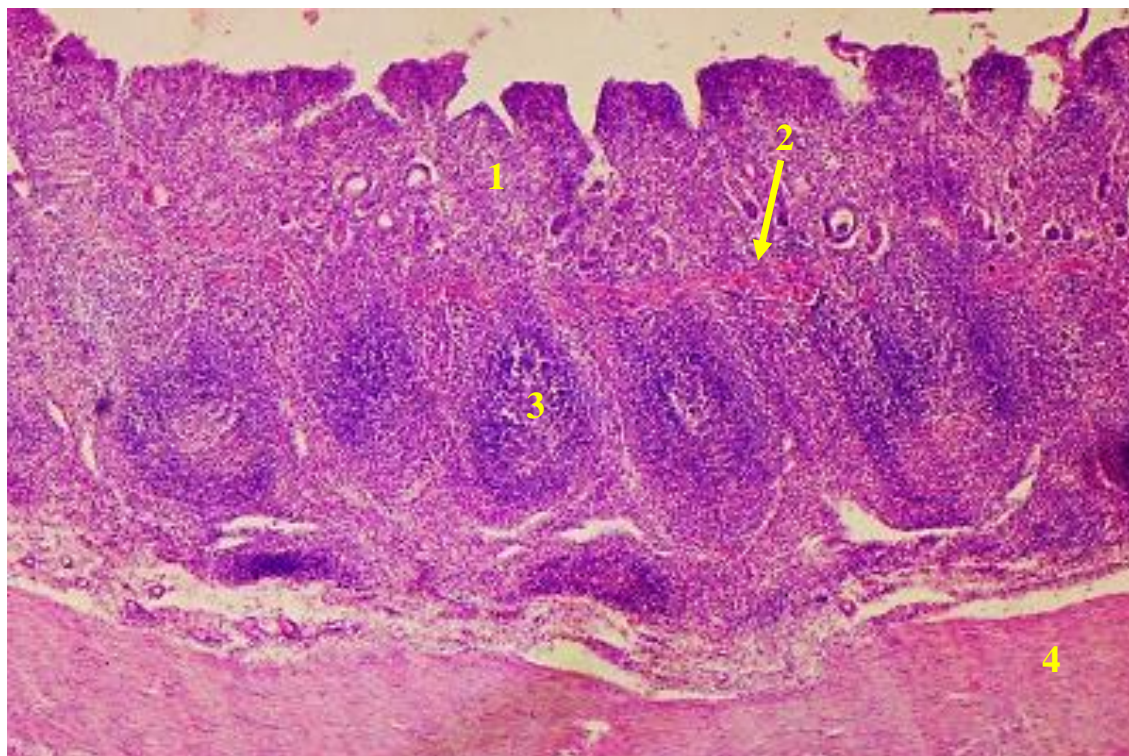


Рис. 6.2.60. Сліпа кишка експериментально зараженого пуценяти: 1 – дезорганізація слизової оболонки; 2 – м'язова пластинка слизової оболонки; 3 – гіпертрофований скупчений лімфоїдний вузлик; 4 – м'язова оболонка. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 50$.

Під час проведення гістохімічних досліджень сліпої й ободової кишок, у процесі зафарбовуванні гістологічних зрізів галлоціанін – хромовими галунами багато ядер ентероцитів крипт зафарбовується слабо, що свідчило про зменшення вмісту в них ДНК. Так само слабо зафарбовувалась і цитоплазма багатьох ентероцитів, це вказувало на зменшення РНК у цитоплазмі цих клітин, що відображало суттєве зменшення процесів синтезу білків.

При зафарбовуванні гістологічних зрізів за Мікель-Кальво ядра частини ентероцитів ворсинок зафарбовувались помітно більш інтенсивно в синій колір, а частина ядер частково – у фіолетовий. При цьому цитоплазма зафарбовувалась слабо, що вказує на розвиток гідропічної дистрофії. Базальна мембрана епітелію крипт просочена білками, внаслідок чого вона була інтенсивно забарвлена, потовщена, досить гомогенна та у разі застосування методу Мікель-Кальво зафарбовувалась нерівномірно – з ділянками синього та червоного кольорів (рис. 6.2.62).

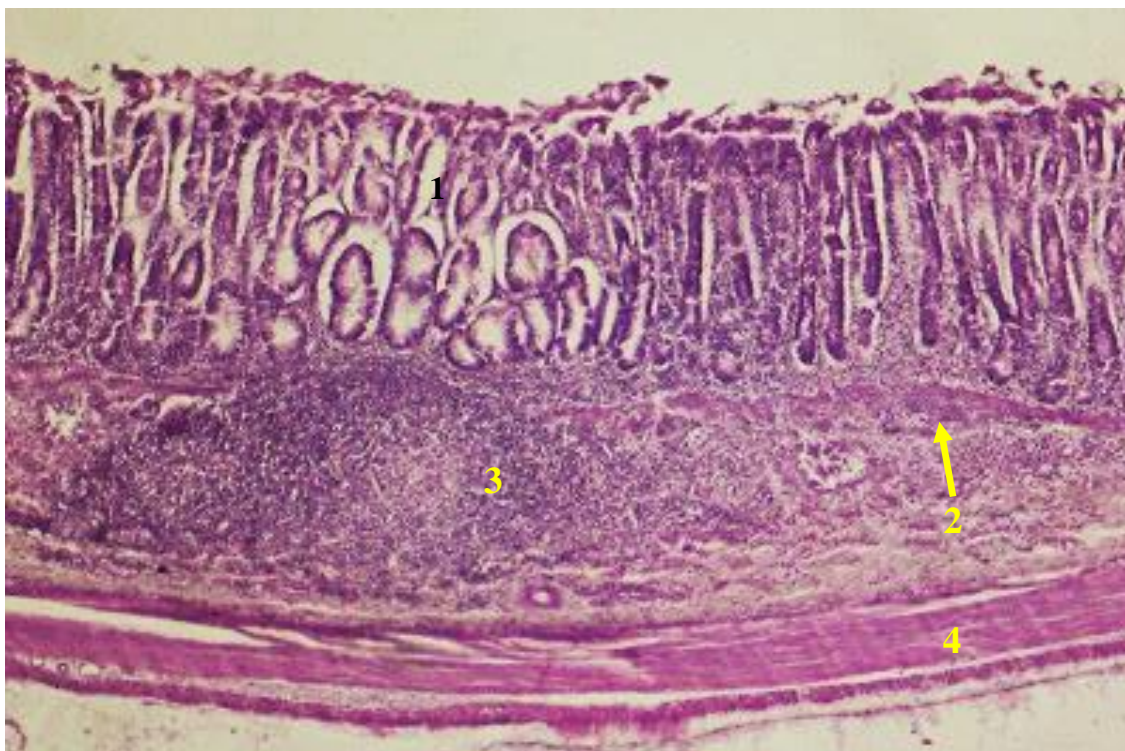


Рис. 6.2.61. Ободова кишка експериментально зараженого цуценяти: 1 – крипти; 2 – м'язова пластинка слизової оболонки; 3 – гіпертрофований поодинокий лімфоїдний вузлик; 4 – м'язова оболонка. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 50$.

У разі зафарбовування гістопрепаратів альціановим синім за рН 2,5 і 1,0, а також під час постановки ШЙК-реакції секрет у переважній більшості келихоподібних клітин у ділянці дна крипт, як і в їх верхній частині, зафарбовувався нерівномірно (рис. 6.2.63). Крім того, міжклітинна речовина слизової оболонки в ділянці крипт, як і строма ворсинок, досить виразно зафарбовувалась альціановим синім за рН 2,5 і 1,0, а також за постановки ШЙК-реакції (див. рис. 6.2.63). Такі зміни свідчили про накопичення в стромі ворсинок глікопротеїнів та протеогліканів і підкреслювали її мукоїдне набрякання.

Також слід зазначити, що, як і в тонкій кишці, зафарбовування на ліпіди не дозволило виявити ці сполуки в цитоплазмі ентероцитів ворсинок і крипт.

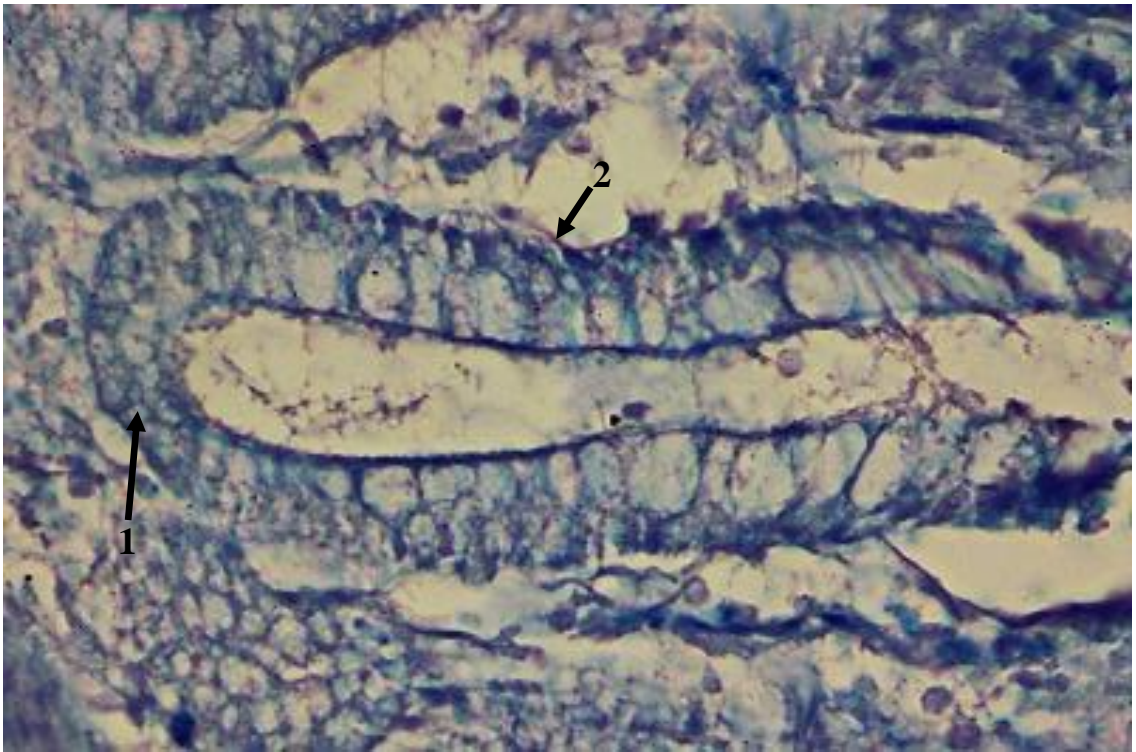


Рис. 6.2.62. Ободова кишка експериментально зараженого цуценяти: 1 – слабо зафарбовані ентероцити крипт; 2 – набрякла, гомогенна, фрагментована базальна мембрана. Метод Мікель-Кальво, $\times 400$.

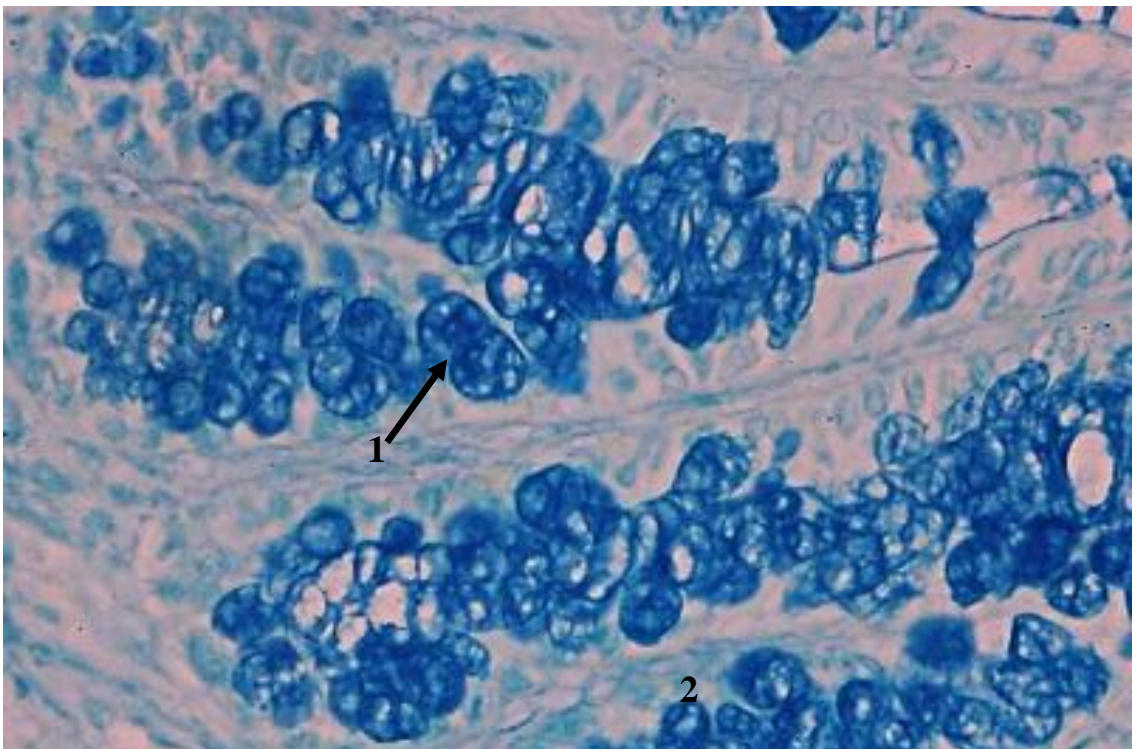


Рис. 6.2.63. Ободова кишка експериментально зараженого цуценяти: 1 – нерівномірно зафарбований уміст келихоподібних клітин; 2 – накопичення протеогліканів у міжклітинній речовині слизової оболонки. Альціановий синій рН 1,0, $\times 1000$.

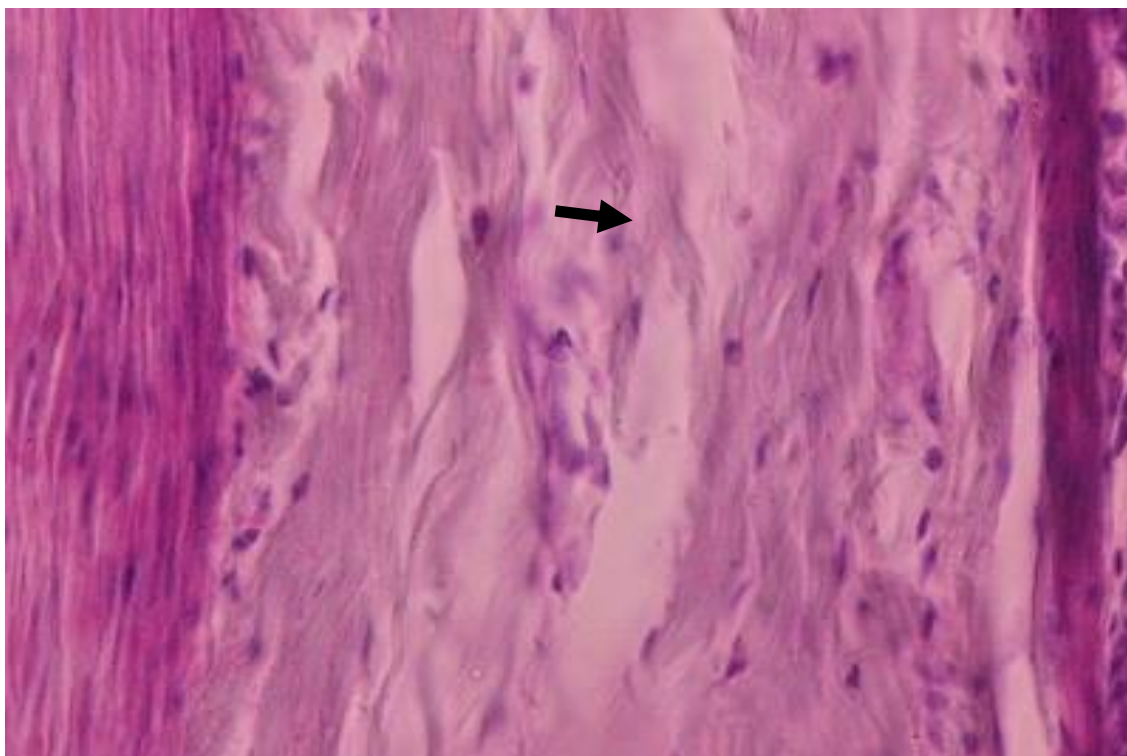


Рис. 6.2.64. Ободова кишка експериментально зараженого цуценяти: набряклі, гомогенні, фрагментовані, слабо зафарбовані еозином пучки колагенових волокон (показано стрілкою). Гематоксилін Караці та еозин, $\times 100$.

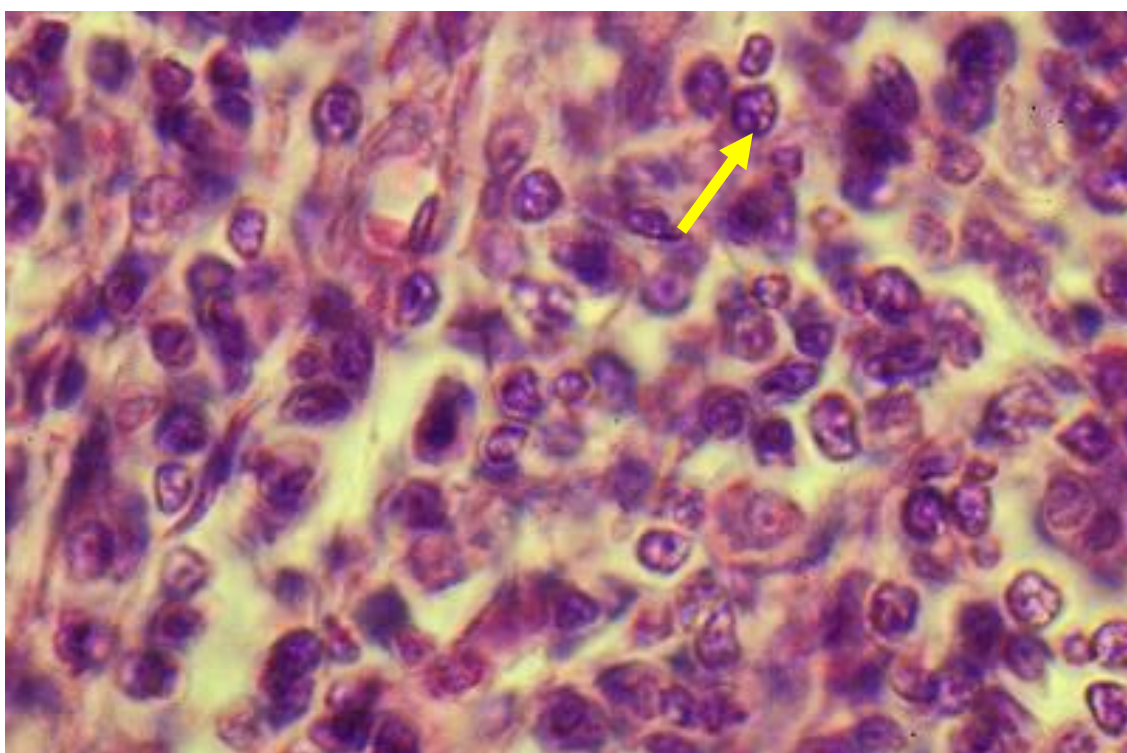


Рис. 6.2.65. Скупчений лімфоїдний вузлик сліпої кишки експериментально зараженого цуценяти: еозинофільні тільця-включення в ядрі лімфоцита (показано стрілкою). Гематоксилін Караці та еозин, $\times 1000$.

У ділянках виразного руйнування крипт сліпої й ободової кишок пучки колагенових волокон підслизової основи були виразно набряклі, місцями фрагментовані та менш інтенсивно зафарбовувались альціановим синім за рН 2,5 і 1,0, за методом Мікель-Кальво, у разі постановки ШЙК-реакції та еозином (рис. 6.2.64).

Мікроскопічні та гістохімічні зміни поодиноких і скупчених лімфоїдних вузликів, а також м'язової та серозної оболонки у ділянках виразного руйнування крипт сліпої й ободової кишок були аналогічні таким, як у тонкій кишці.

У прямій кишці мікроскопічні зміни були відсутні за винятком помірного набряку підслизової основи та розширення й переповнення кров'ю її кровоносних судин.

6.2.3. Мікроскопічні зміни у внутрішніх органах цуценят за експериментального зараження ізолятом парвовірусу, культивованим у гетерологічній культурі клітин

За проведення гістологічних досліджень *ш л у н к а* цуценят, експериментально інфікованих культивованим у гетерологічній культурі клітин парвовірусом, виявлено лише незначний набряк підслизової основи та розширення й переповнення кров'ю її кровоносних судин.

П е ч і н к а була помірно набряклою. Всі центральні вени розширені, переповнені кров'ю (рис. 6.2.66). На частині ділянок розширеними й переповненими кров'ю були також внутрішньочасточкові капіляри (рис. 6.2.67). Печінкові тріади виразно набряклі, їх вени виразно розширені й переповнені кров'ю. У частині вен виявляли лімфоцити з внутрішньоядерними еозинофільними тільцями-включеннями (див. рис. 6.2.67). Артерії печінкових тріад не містили клітин крові. У жовчних протоках мікроскопічних змін не встановлено. Пухка волокниста сполучна тканина в усіх тріадах набрякла.

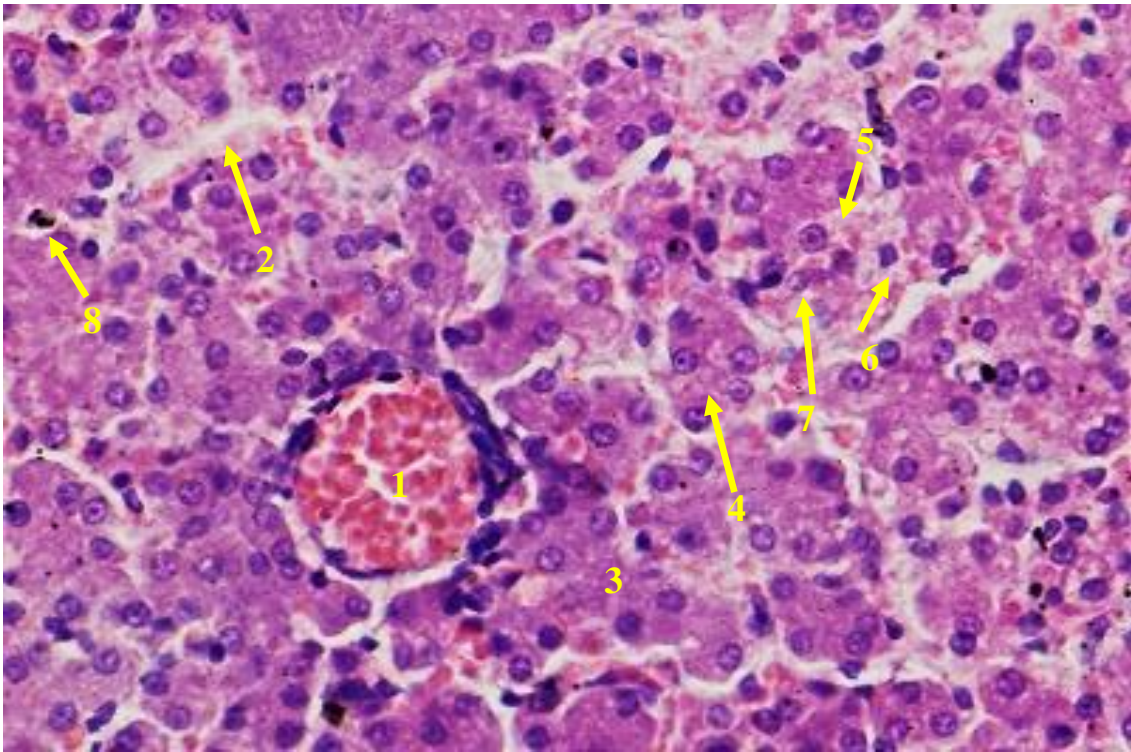


Рис. 6.2.66. Печінка експериментально зараженого цуценяти: 1 – розширена, переповнена кров’ю центральна вена; 2 – набряк; 3 – зерниста дистрофія гепатоцитів; 4 – частковий лізис цитоплазми гепатоцита; 5 – руйнування цитоплазми гепатоцита; 6 – гіперхромне деформоване ядро гепатоцита; 7 – деформоване ядро гепатоцита з частковим лізисом хроматину; 8 – гранули білірубіну. Гематоксилін Караці та еозин., $\times 400$.

Виразні зміни відбувались у гепатоцитах. Переважна більшість печінкових клітин перебувала в стані зернистої дистрофії. Такі клітини мали тьмяну, мутну, нерівномірно зафарбовану еозином цитоплазму. Межі між клітинами не диференціювались. Ядра у частині печінкових клітин не виявляли (див. рис. 6.2.66). Частина дистрофічно змінених клітин руйнувалась. При цьому спочатку руйнувалась цитоплазма, а потім і ядро. Про первинне руйнування цитоплазми свідчить той факт, що в гепатоцитів з частково чи повністю зруйнованою цитоплазмою ядро ще чітко диференціювалось. Проте такі ядра були або гіперхромними, або ж у них виявляли частковий лізис хроматину (див. рис. 6.2.66). У частини гепатоцитів з ознаками зернистої дистрофії спостерігали частковий лізис цитоплазми (див. рис. 6.2.66), що означає початок розвитку в них гідропічної дистрофії, оскільки зафарбовування на ліпіді в усіх таких випадках було негативним. Тим паче, що відповідно до сучасних наукових

даних, зерниста дистрофія є початковою стадією розвитку дистрофії інших видів, найчастіше – гідропічної та жирової [272].

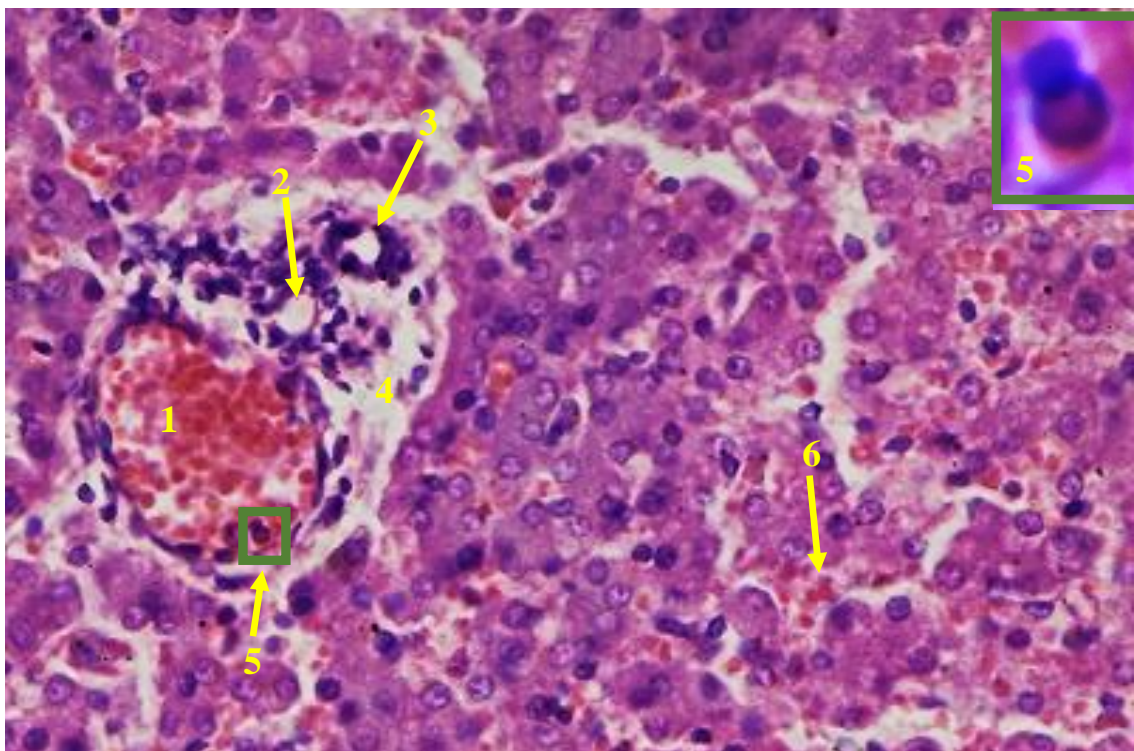


Рис. 6.2.67. Печінка експериментально зараженого цуценяти: 1 – розширена, переповнена кров'ю вена печінкової тріади; 2 – артерія печінкової тріади; 3 – жовчна протока; 4 – набряк сполучної тканини печінкової тріади; 5 – лімфоцит з еозинофільним внутрішньоядерним тільцем-включенням у просвіті вени печінкової тріади; 6 – еритроцити в розширеному внутрішньочасточковому капілярі. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 400$.

Набряк та дистрофічні зміни й руйнування гепатоцитів призводили до виразного порушення впорядкованої балочної будови печінкових часточок. Подекуди в цитоплазмі гепатоцитів і в міжклітинному середовищі виявляли гранули білірубину (див. рис. 6.2.66).

У підшлунковій залозі спостерігали виразні мікроскопічні зміни. Так, всі кровоносні судини органа були розширені, переповнені кров'ю, що слід розглядати як запальну гіперемію [291]. Строма органа набрякла, особливо між часточками залози (рис. 6.2.68).

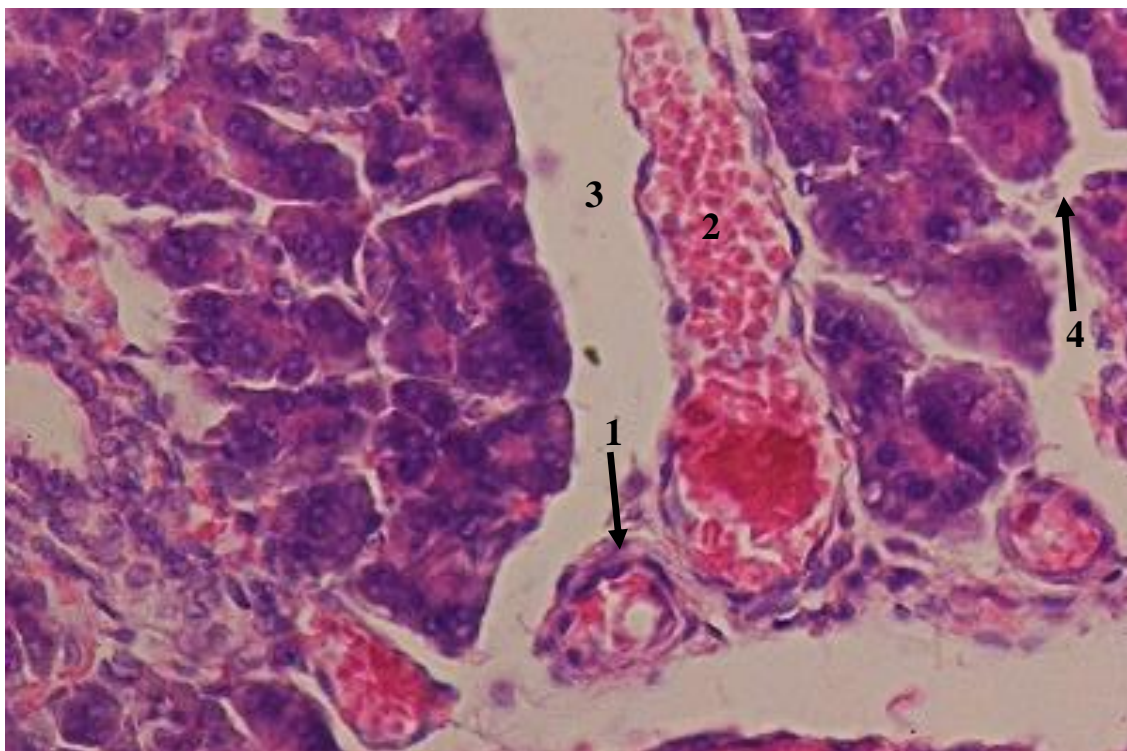


Рис. 6.2.68. Підшлункова залоза експериментально зараженого цуценяти: 1 – розширена, переповнена кров'ю артерія; 2 – розширена, переповнена кров'ю вена; 3 – набряк між часточками; 4 – набряк між ацинусами. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 400$.

Проте особливо виразними були зміни екзокринної та ендокринної частин *підшлункової залози*. При цьому зміни панкреатоцитів на різних ділянках органа були дещо різними. На деяких переважали дистрофічні зміни частини цих клітин, реєструвалась їх зерниста дистрофія, за якої, як базальна, так і апікальна частини цитоплазми мали виразно оксифільні (ацидофільні) властивості (рис. 6.2.69).

У незмінених панкреатоцитів базальна частина цитоплазми зазвичай була базофільна, що свідчить про наявність тут великої кількості активних рибосом (тобто в базальній частині клітини відбувається синтез травних ферментів підшлункової залози). Ацидофільність апікальної частини цитоплазми зумовлена накопиченням тут великої кількості білкових речовин [273]. Ацидофільність базальної частини цитоплазми, на нашу думку, означає про пригнічення процесів синтезу травних ферментів у таких панкреатоцитів.

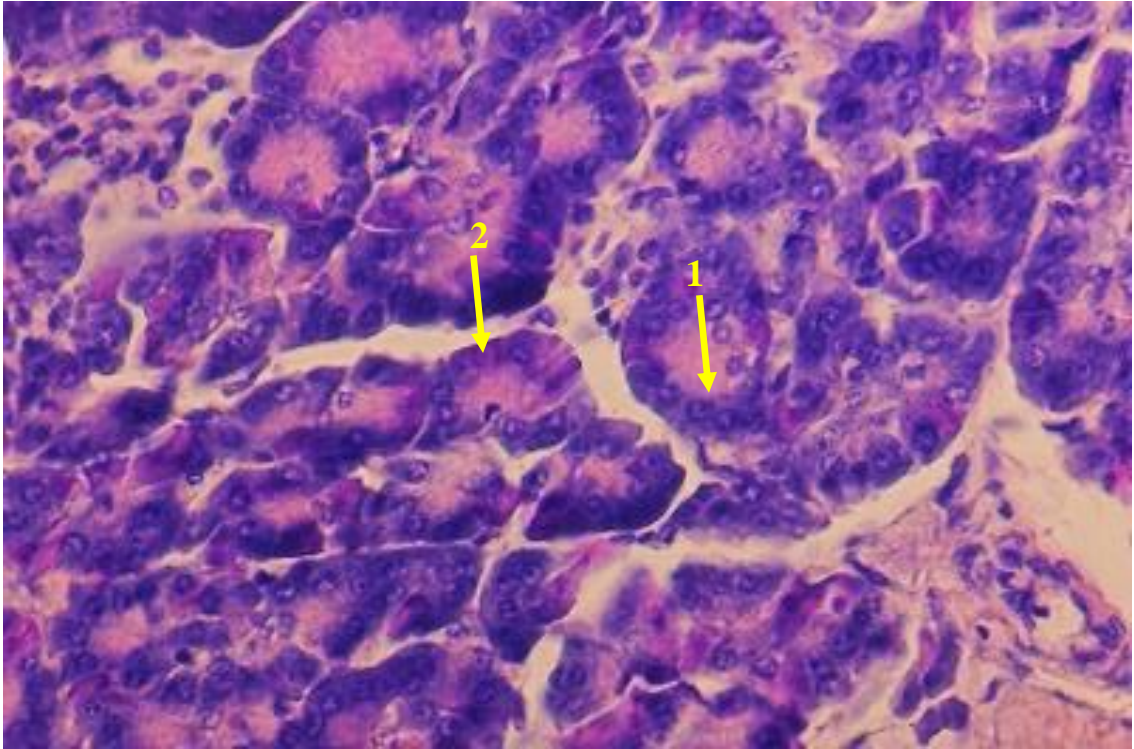


Рис. 6.2.69. Підшлункова залоза експериментально зараженого цуценяти: 1 – панкреатоцит з виразно базофільною базальною цитоплазмою та виразно ацидофільною апікальною цитоплазмою; 2 – дистрофічно змінені панкреатоцити з ацидофільною базальною й апікальною цитоплазмою. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 200$.

На інших ділянках підшлункової залози поряд з дистрофічними змінами панкреатоцитів спостерігали дисфункціональний набряк ядер частини цих клітин з маргінацією хроматину (рис. 6.2.70), що, відповідно до сучасних уявлень, розглядається як морфологічний передвісник загибелі клітини [273]. Крім того, тут виявляли фрагментацію частини ацинусів внаслідок дисконкомплексації клітин, що їх утворюють, а також руйнування частини панкреатицитів. Останнє призводило до того, що на місці поодиноких ацинусів залишалися лише окремі дистрофічно змінені клітини або ж їх невеликі групи (див. рис. 6.2.70). Мікроскопічних змін у вивідних протоках підшлункової залози нами у жодної тварини не виявлено.

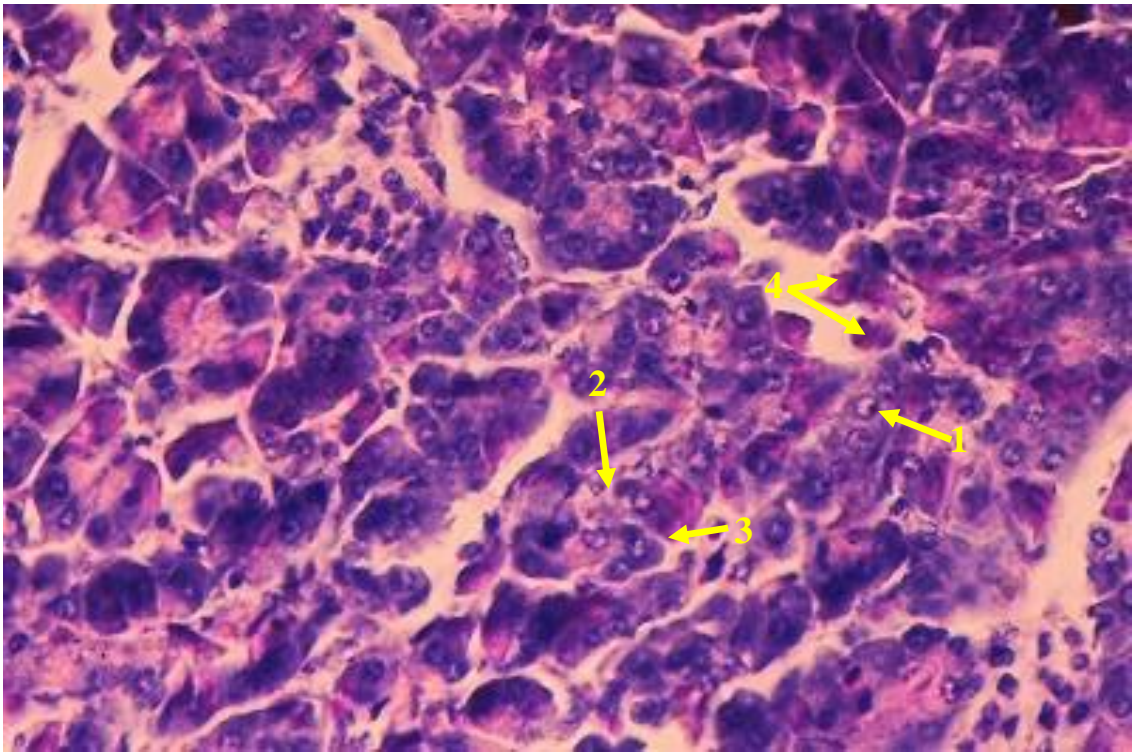


Рис. 6.2.70. Підшлункова залоза експериментально зараженого цуценяти: 1 – дисфункціональний набряк ядра панкреатоцита з маргінацією хроматину; 2 – руйнування панкреатоцитів; 3 – фрагментація ацинуса; 4 – дистрофічно змінені клітини на місці ацинуса. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 200$.

Відомо, що панкреатоцити підшлункової залози є продуцентом переважної більшості ферментів, які розщеплюють у просвіті тонкої кишки білки, ліпіди та вуглеводні, головним чином трипсину, хімотрипсину, панкреатичної ліпази та амілази. Епітеліальні клітини проток продукують іони бікарбонату, які нейтралізують кисле рН частково перетравленого у шлунку корму, що надходить у дванадцятипалу кишку [69]. Втрата і порушення функціонування частини панкреатоцитів має призводити до порушення зменшення кількості травних ферментів у просвіті тонкої кишки з відповідним порушенням процесів травлення у просвіті. Враховуючи порушення процесу утворення та часткове повне зникнення глікокалексу на поверхні ентероцитів тонкої кишки (див. гістохімічні зміни у тонкій кишці), можна говорити про повне порушення перетравлювання та всмоктування поживних речовин у тонкій кишці.

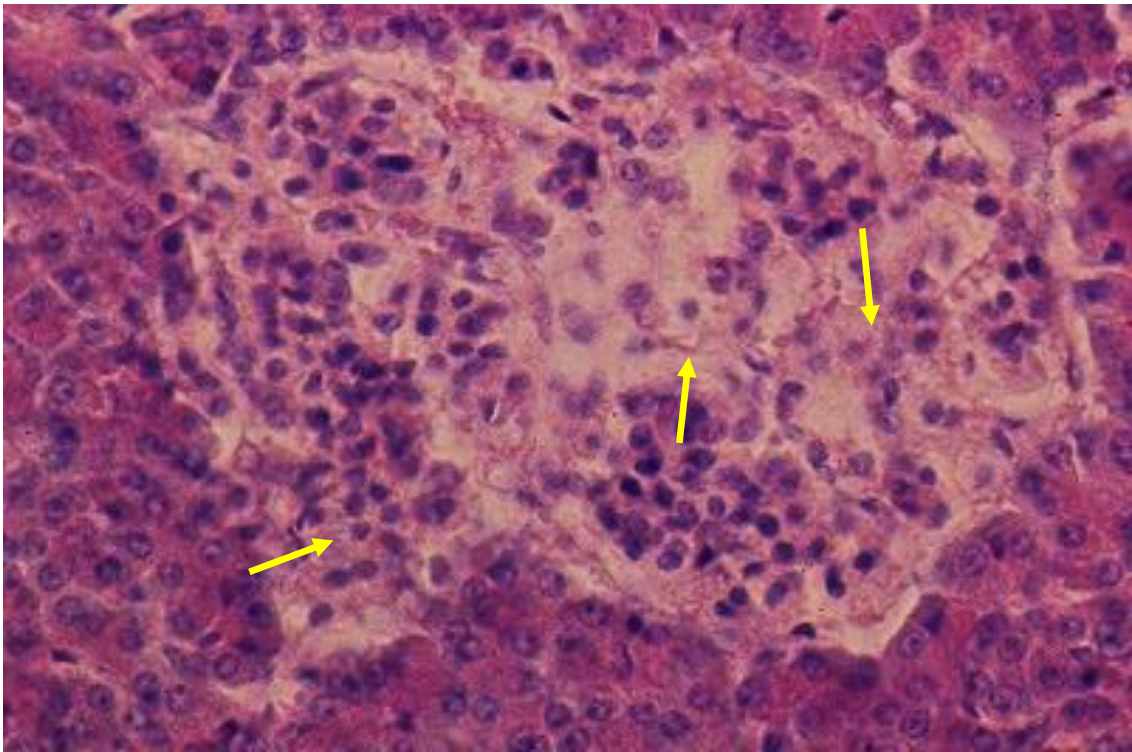


Рис. 6.2.71. Підшлункова залоза експериментально зараженого цуценяти: некроз і руйнування клітин панкреатичного острівця (показано стрілками). Гематоксилін Караці та еозин, $\times 200$.

У частині панкреатичних острівців виявляли набряк та зернисту дистрофію клітин усіх типів. У більшості панкреатичних острівців руйнувалися клітини усіх типів (рис. 6.2.71). Усі клітини цих острівців (інсуліноцити) за фізико-хімічними та морфологічними особливостями гранул у їх цитоплазмі поділяють на 5 типів: альфа-клітини, бета-клітини, дельта-клітини D_1 -клітини та PP-клітини. Альфа-клітини продукують глюкагон – пептидний гормон масою 3 485 кД, який побудований з 29 амінокислот. Цей гормон зв’язується з глюкагоновими рецепторами клітин печінки, що зумовлює підвищення опосередкованої білком G активності аденілатциклази з наступним збільшенням утворення цАМФ. Результатом цього є посилення катаболізму депонованого в гепатоцитах глікогену (глікогенолізу). Крім підвищення глікогенолізу під дією сигналів глюкагону в гепатоцитах також може посилюватись синтез глюкози з інших речовин (глюконеогенез). Все це призводить до зростання вмісту глюкози у сироватці крові [439].

Бета-клітини панкреатичних ostrivciv синтезують інсулін, що призводить до зменшення вмісту глюкози у сироватці крові [69].

Дельта-клітини продукують соматостатин – пептидний гормон, який пригнічує секрецію гіпоталамусом соматотропін-релізінг гормону та секрецію передньою часткою гіпофіза соматотропного й тиреотропного гормонів. Крім того, соматотропін пригнічує секрецію багатьох гормонально активних пептидів і серотоніну у шлунку, кишечнику, печінці та підшлунковій залозі, у тому числі інсуліну, глюкагону, гастрину, холецистокініну, вазоактивного кишкового пептиду, інсуліноподібного фактора росту 1 [518].

D₁-клітини секретують вазоактивний кишковий пептид, який також називають вазоактивним кишковим поліпептидом. Це нейропептидний гормон, який винятково є нейромедіатором, що пригнічує шлункову секрецію, секрецію бікарбонату у підшлунковій залозі, незалежне від жовчних кислот жовчовиділення та розслаблює гладкі м'язи. Цей поліпептид також впливає на роботу багатьох інших органів, включаючи головний і спинний мозок та кишечник [169].

PP-клітини продукують панкреатичний поліпептид з молекулярною масою 4 200 кД, який побудований з 36 амінокислотних залишків. Цей поліпептид є антагоністом холецистокініну (пригнічує секрецію підшлункової залози та стимулює секрецію шлункового соку [69].

Виходячи з викладеного, дистрофічні зміни та руйнування панкреатичних ostrivciv клітин усіх типів, має призводити до дисбалансу багатьох ферментативних систем організму в цілому, які регулюють функцію багатьох органів.

Під час проведення гістологічних досліджень *н и р о к* експериментально інфікованих цуценят виявлено розширення й переповнення кров'ю переважної більшості кровоносних судин строми. Лише поодинокі артерії строми органа були спазмовані. При цьому в артеріях, артеріолах і капілярах клітини крові зазвичай були розташовані дуже щільно, у той час як у венулах і венах, а також у поодиноких, сильно розширених капілярах клітини крові вони розташовані

досить розріджено. Замість переважної більшості еритроцитів виявляли акантоцити – лише невелика кількість еритроцитів зберігала свою характерну форму (рис. 6.2.72).

Акантоцитами називають еритроцити, що мають випинання клітинної оболонки. Відповідно до літературних джерел, вони є специфічним маркером абеталіпопротеїнемії [360], але також утворюються при гострих і хронічних анеміях, хворобах печінки (включаючи цирози), хворобах нервової системи, гепаторенальному синдромі, порушенні всмоктування поживних речовин у кишечнику, неповноцінній годівлі, гіпотиреоїдизмі, мієлодисплазії, після спелєнектомії [418, 419, 468].

Встановлено, що у разі порушень функції печінки у плазмі крові накопичуються аполіпопротеїн А-II-дефіцитний ліпопротеїн, що призводить до збільшення в еритроцитах умісту холестерину. Останнє, у свою чергу, спричиняє порушення структури та функції мембран еритроцитів, що спричинює їх ремоделювання в селезінці з утворенням акантоцитів. За абеталіпопротеїнемії до утворення акантоцитів призводить дефіцит ліпідів і вітаміну Е [531].

Відповідно до одержаних результатів, за експериментальної парвовірусної інфекції у цуценят спостерігали ураження печінки, гепаторенальний синдром (одночасне ураження печінки та нирок) та ураження тонкої кишки, що спричиняє тяжкі порушення всмоктування поживних речовин. Таким чином, до утворення акантоцитів могли призводити як будь-яка з цих причин, так і всі вони у комплексі.

У стромі нирок також з'являлися крововиливи. Вони були досить значними в мозковій речовині між прямими каналцями (рис. 6.2.73) та помітно меншими у кірковій речовині між звивистими каналцями (рис. 6.2.74).

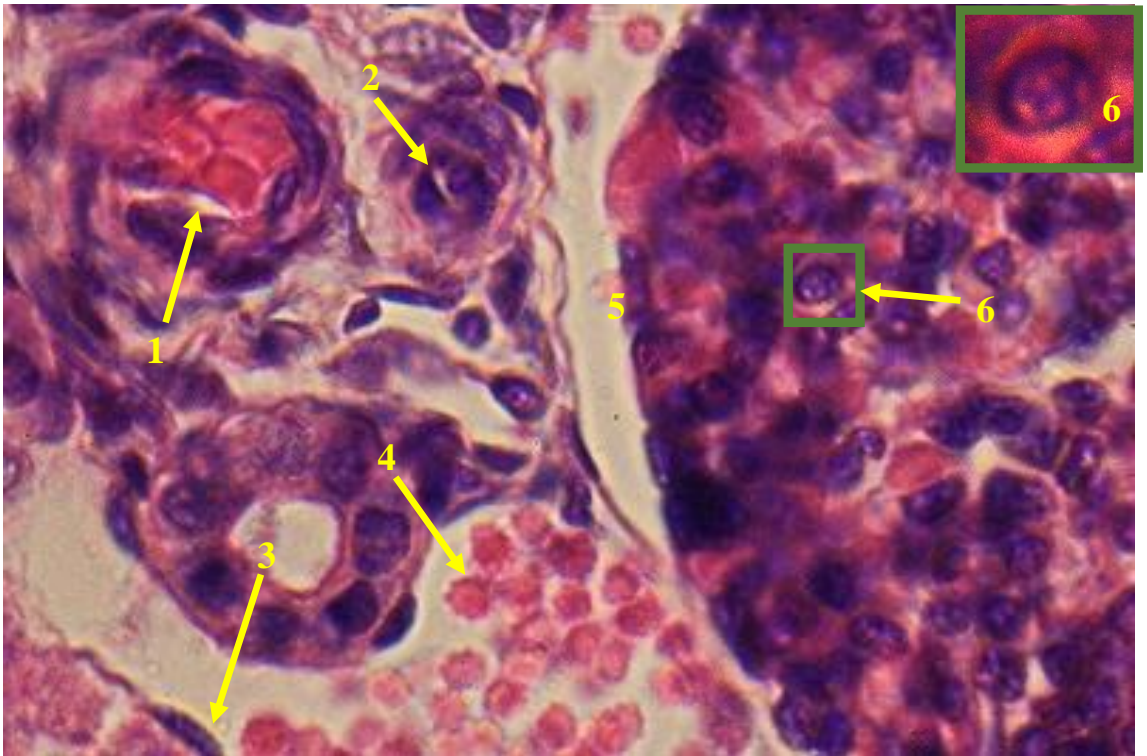


Рис. 6.2.72. Нирка експериментально зараженого цуценяти: 1 – розширена, переповнена кров'ю артерія; 2 – спазмована артерія; 3 – ендотеліоцит виразно розширеного кровоносного капіляра; 4 – акантоцити у просвіті виразно розширеного кровоносного капіляра; 5 – ниркове тільце; 6 – еозинофільні тільця-включення в ядрі мезангіоцита. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 1000$.

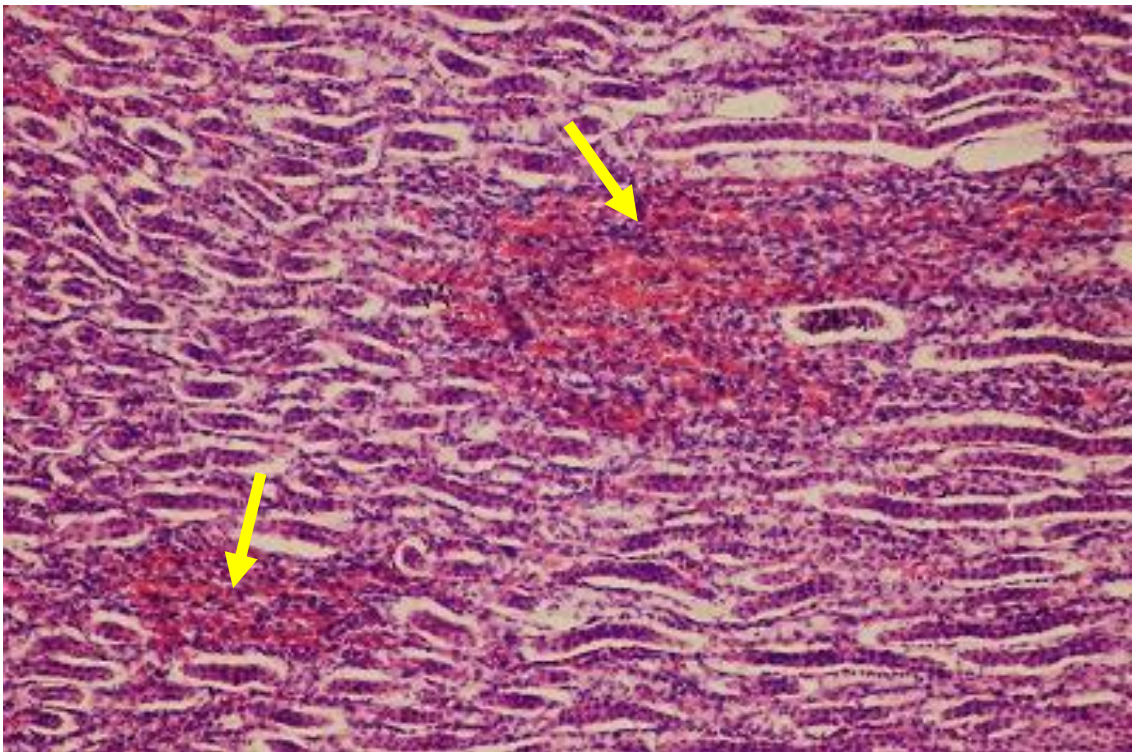


Рис. 6.2.73. Нирка експериментально зараженого цуценяти: крововиливи між прямими канальцями в мозковій речовині (показано стрілками). Гематоксилін Караці та еозин, $\times 50$.

Виразні мікроскопічні зміни відбувалися в ниркових тільцях. Проте в різних ниркових тільцях мікроскопічні зміни були дещо різними. Частина клубочків помітно збільшена за рахунок їх набряку. Спочатку такий набряк був незначним (див. рис. 6.2.74). При цьому подоцити, які разом з ендотеліальними клітинами капілярів клубочка та базальною мембраною клубочка формують фільтраційний бар'єр [428, 601], не мали будь-яких помітних мікроскопічних змін (зазвичай вони вирізнялись більш оксифільною цитоплазмою порівняно з мезангіоцитами та ендотеліальними клітинами капілярів клубочка).

Оцінюючи мікроскопічні зміни у ниркових тільцях, ми враховували, що розташований у них фільтраційний бар'єр нирок у цілому складається з трьох компонентів: 1) ендотелію капілярів клубочка, який має пори (фенестри); 2) базальної мембрани ендотелію капілярів клубочка та 3) подоцитів, які мають фільтраційні щілини [498].

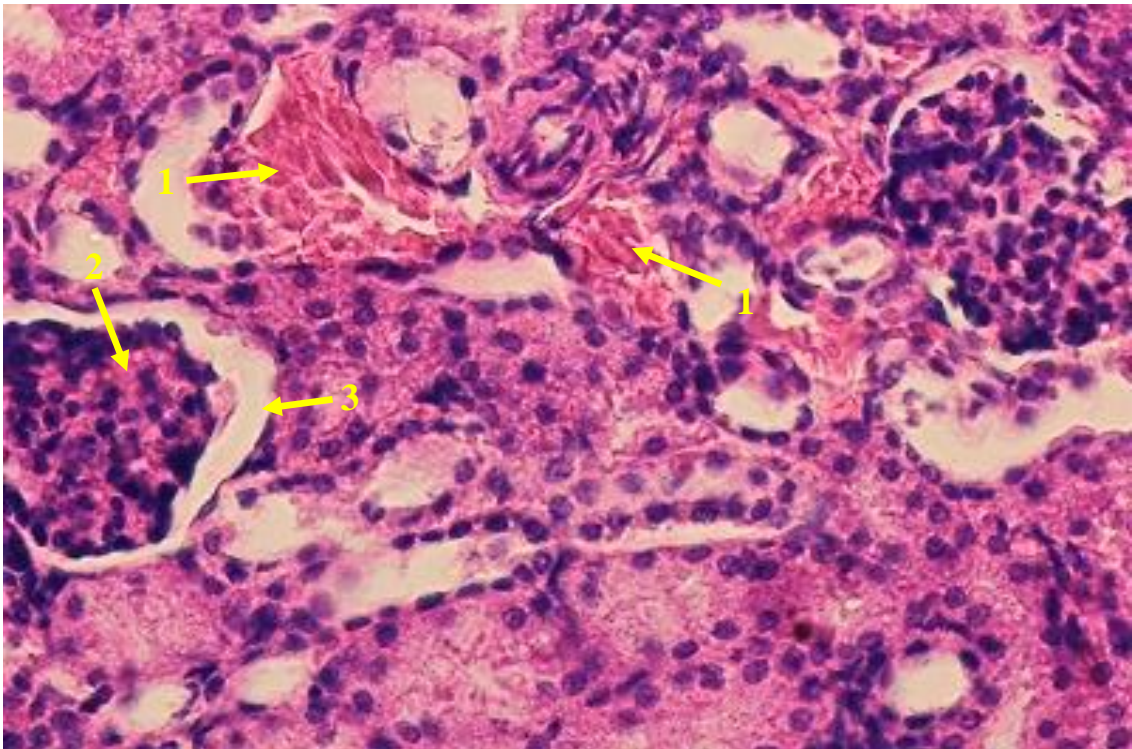


Рис. 6.2.74. Нирка експериментально зараженого цуценяти: 1 – крововиливи між звивистими каналцями в кірковій речовині; 2 – виразна гіперемія капілярів клубочка; 3 – збільшення просвіту порожнини капсули ниркового тільця. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 200$.

Відомо, що подоцити локалізуються на базальній мембрані капілярів клубочка, оточуючи увесь клубочок з боку порожнини капсули ниркового тільця. Відростки їх цитоплазми (ніжки подоцитів) повністю огортають клубочок. Між цими відростками залишаються щілини (пори), через які у просвіт капсули ниркового тільця фільтруються компоненти крові. Їх називають фільтраційними щілинами. Вони мають розмір 8 нм. На відміну від пор у ендотелії капілярів клубочка (фенестр), у фільтраційних щілинах подоцитів знаходиться щілинна діафрагма. Остання утворена білками (нефрином, NERH1, NERH2, подоцином, CD2AP і P-кадхерином), розташованими на поверхні відростків подоцитів у ділянці фільтраційної щілини. Діафрагма фільтраційної щілини пропускає молекули невеликих розмірів (вода, глюкоза, солі, амінокислоти, білки масою біля 30 кД тощо), у той час як молекули більших розмірів (альбуміни, глобуліни та ін.) а також клітини крові не можуть потрапляти через цю діафрагму.

У фільтраційній щілині також є додатковий механізм недопущення проходження через неї негативно заряджених молекул (наприклад, альбумінів сироватки крові). Він представлений базальною мембраною та глікокалексом на поверхні подоцитів, які мають негативний електричний заряд.

Завдяки цим механізмам фільтрат у порожнині капсули ниркового тільця (первинна сеча) за своїм складом досить близький до сироватки крові – це всі компоненти плазми крові мінус її білки. Кількість фільтрату, який утворюється в ниркових тільцях за добу, називають рівнем клубочкової фільтрації (РКФ) [559, 601].

У наших дослідженнях частина подоцитів клубочків із незначним набряком була порізному витягнута вздовж зовнішньої поверхні клубочка. Останнє, на нашу думку, зумовлено збільшенням об'єму клубочка в цілому за рахунок його набряку, що призводило до розтягування частини цих клітин з метою збереження цілісності їх шару (рис. 6.2.75). Проте таке розтягування подоцитів могло спричиняти до порушення структури фільтраційної діафрагми,

що, у свою чергу, могло призводити до підвищення кількості фільтрату, тобто РКФ.

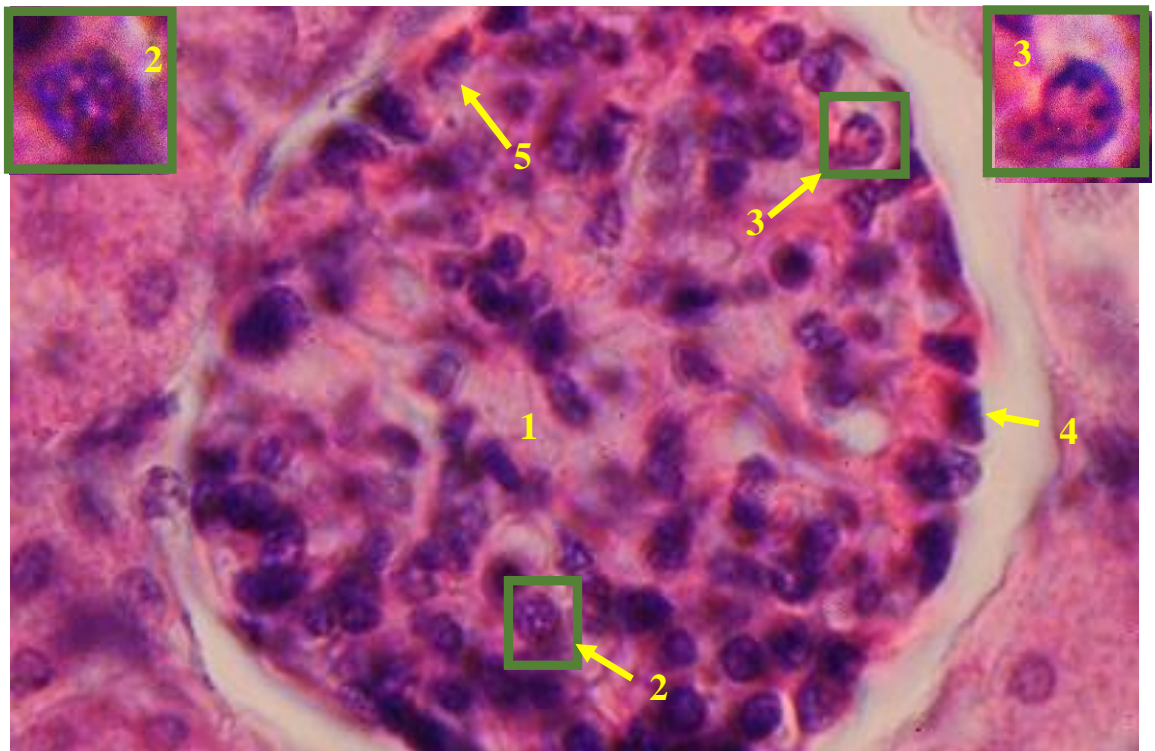


Рис. 6.2.75. Ниркове тільце експериментально зараженого цуценяти: 1 – незначний набряк клубочка; 2 – мезангіоцит із еозинофільними внутрішньоядерними тільцями-включеннями; 3 – мезангіоцит з майже повністю еозинофільним ядром; 4 – подоцит з виразно еозинофільною цитоплазмою; 5 – витягнутий вздовж зовнішньої поверхні клубочка подоцит. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 1000$.

Такий механізм розвитку змін у ниркових тільцях підтверджується тим, що підвищена кількість фільтрату, накопичуючись у порожнині капсули, призводила до виразного збільшення її просвіту в багатьох ниркових тільцях (див. рис. 6.2.73).

Надалі набряк клубочків наростає, паралельно з чим реєструвалось руйнування подоцити, що спричиняло до накопичення у порожнині капсули ниркового тільця значної кількості фільтрату (рис. 6.2.76). У частині клубочків з набряком різного ступеня також спостерігали виразне розширення й переповнення кров'ю їх капілярів (див. рис. 6.2.73).

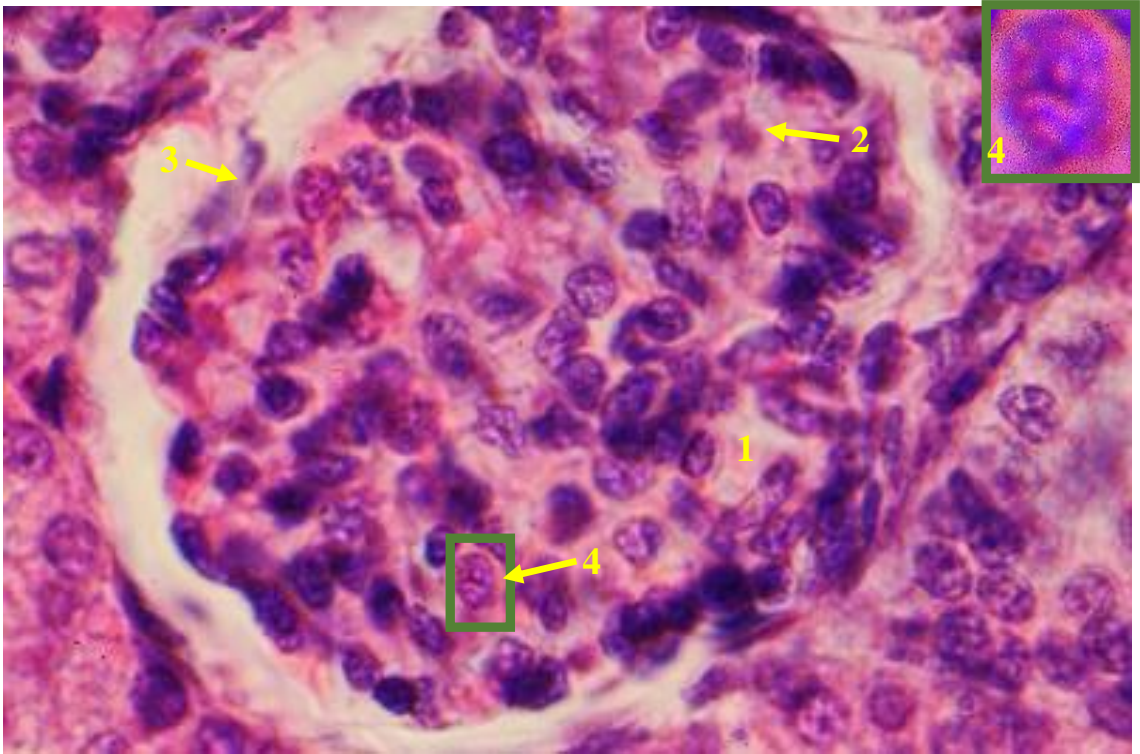


Рис. 6.2.76. Ниркове тільце експериментально зараженого цуценяти: 1 – виразний набряк клубочка; 2 – руйнування мезангіоцитів; 3 – руйнування подоцитів; 4 – мезангіоцит з відокремленими еозинофільними внутрішньоядерними тільцями-включеннями. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 1000$.

На нашу думку, рідину, що накопичувалась у порожнині капсули ниркових тілець, не зовсім коректно верифікувати як серозний ексудат. З одного боку, серозний ексудат утворюється внаслідок виходу за межі кровоносних судин складових компонентів плазми крові через порушення проникності кровоносних судин під дією медіаторів запалення [291]. У клубочках нирок вихід за межі капілярів всіх компонентів плазми крові мінус її білки є звичайним фізіологічним процесом [601].

З іншого боку, кількість і склад фільтрату, який надходить у порожнину капсули ниркового тільця, визначається переважно станом фільтраційного бар'єру нирок у цілому, а цей бар'єр складається з трьох компонентів: 1) фенестр-ендотелію капілярів клубочка; 2) базальної мембрани ендотелію капілярів клубочка та 3) подоцитів, які мають фільтраційні щілини [498].

Виходячи з цього, на нашу думку, коректно говорити не про серозний гломерулонефрит, а про підвищення кількості фільтрату в порожнині капсули

ниркового тільця. Тим паче, що клініцисти в усьому світі за оцінки патології нирок обов'язково враховують такий показник як РКФ [559].

Наступною стадією змін у ниркових тільцях було подальше наростання набряку клубочків та руйнування подоцитів (рис. 6.2.77), яке призводить до значного зростання проникності фільтраційного бар'єру нирок. Вже на цій стадії у частини ниркових тілець спостерігали руйнування парієтального (зовнішнього) листка їх капсули (рис. 6.2.78). У подальшому відбувалась фрагментація клубочка (рис. 6.2.79) з наступним його розпадом на окремі фрагменти та руйнуванням і некрозом цих фрагментів (рис. 6.2.80).

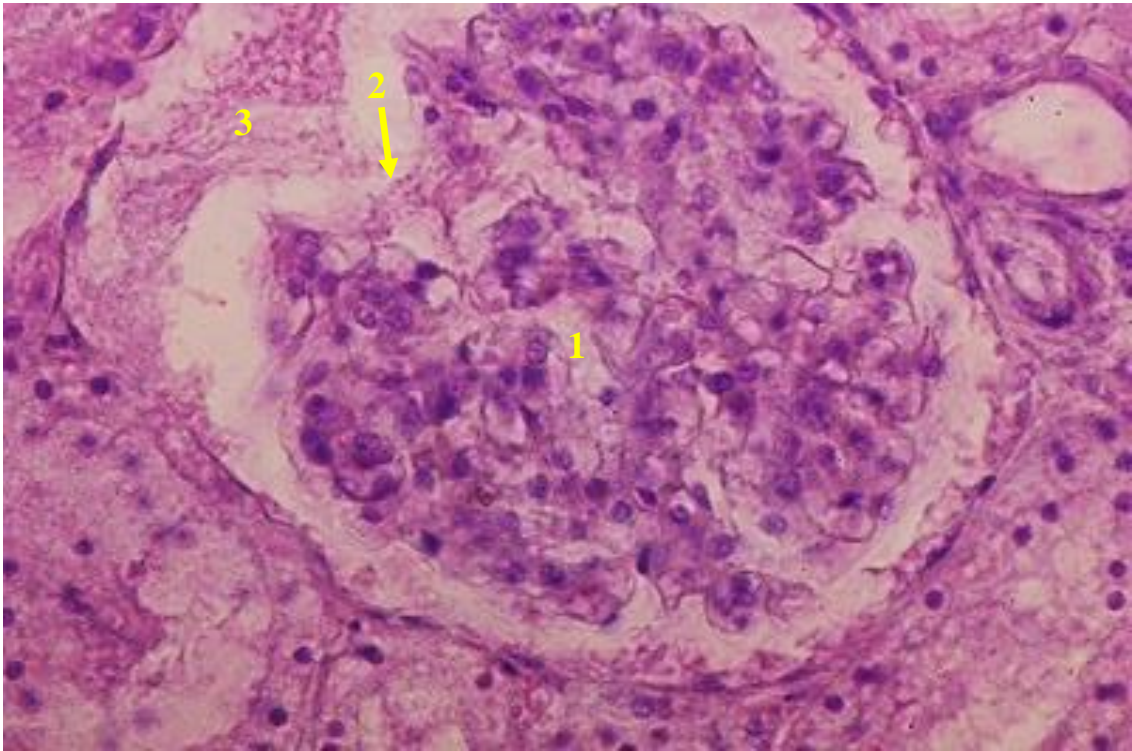


Рис. 6.2.77. Ниркове тільце експериментально зараженого цуценяти: 1 – набряк і руйнування мезангіуму клубочка; 2 – відсутність подоцитів; 3 – клітинний детрит. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 400$.

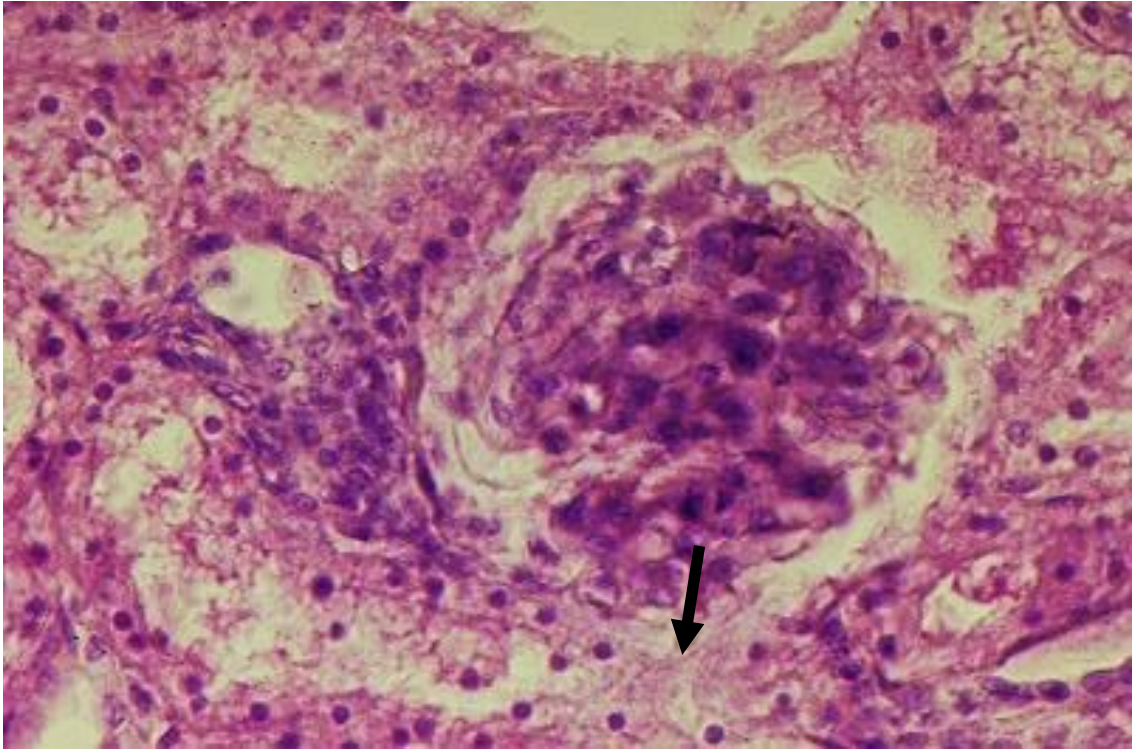


Рис. 6.2.78. Ниркове тільце експериментально зараженого цуценяти: руйнування парієтального листка капсули ниркового тільця (показано стрілкою). Гематоксилін Караці та еозин, $\times 400$.

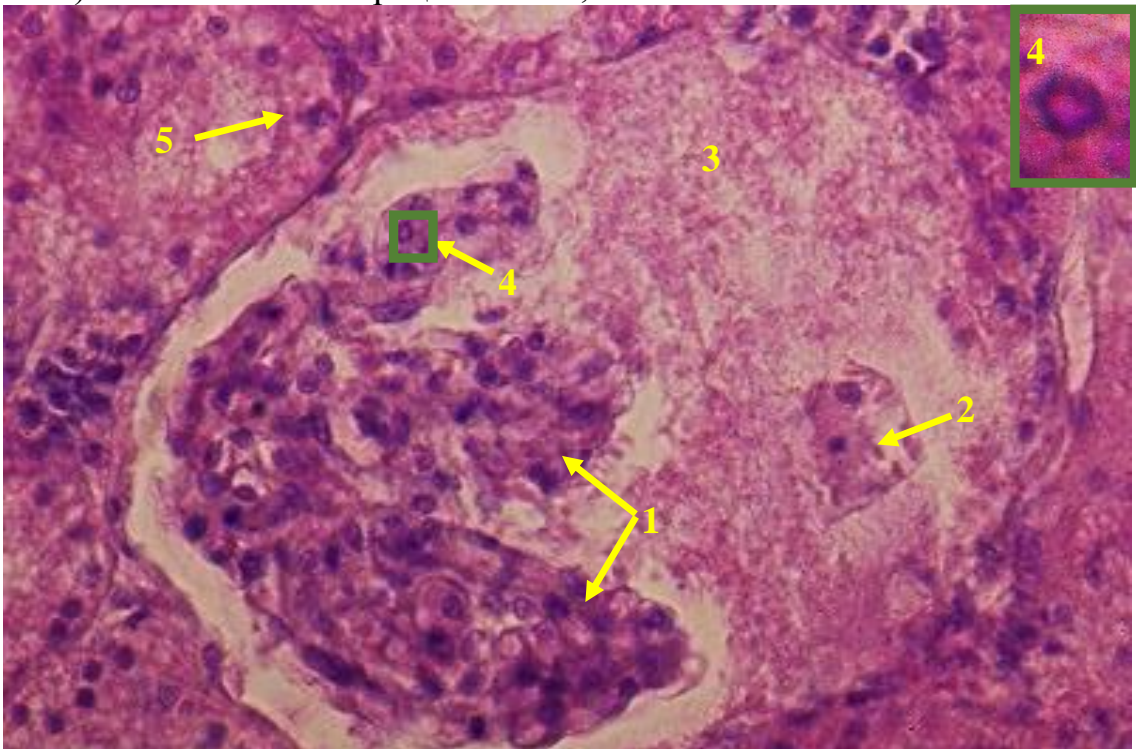


Рис. 6.2.79. Ниркове тільце експериментально зараженого цуценяти: 1 – фрагментація клубочка; 2 – фрагмент клубочка у стані некрозу та руйнування; 3 – зафарбований білковий компонент; 4 – мезангіоцит з везионофільним внутрішньоядерним тільцем-включенням; 5 – частковий лізис цитоплазми клітин епітелію звивистого каналця. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 400$.

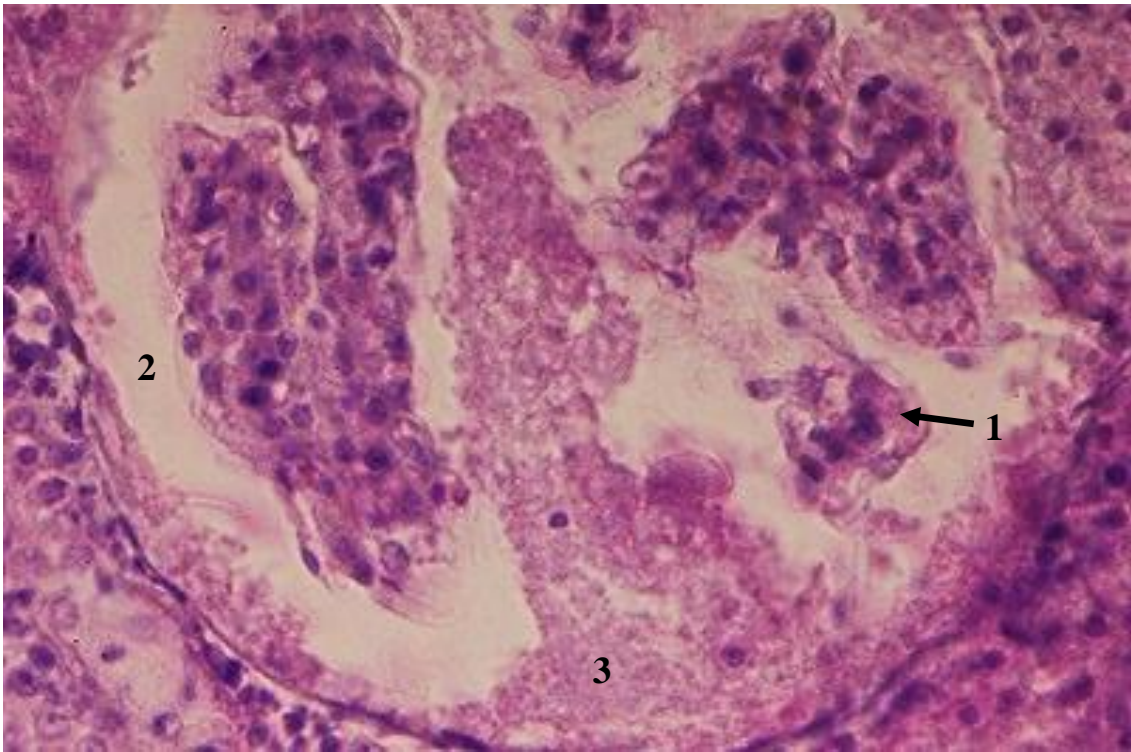


Рис. 6.2.80. Ниркове тільце експериментально зараженого цуценяти: 1 – фрагмент клубочка; 2 – просвіт капсули ниркового тільця; 3 – зафарбований білковий компонент. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 400$.

Такі зміни супроводжувалися подальшим накопиченням у порожнині капсули ниркових тілець фільтрату, що зумовлювало до збільшення розміру таких тілець у цілому. Значне порушення фільтраційного бар'єру нирок спричиняло вихід у порожнину капсули ниркових тілець білків, які зафарбовувались еозином (див. рис. 6.2.79; 6.2.80).

Слід підкреслити, що у ядрах частини мезангіоцитів у багатьох клубочках виявляли еозинофільні тільця-включення (див. рис. 6.2.72; 6.2.74; 6.2.79). На нашу думку, це свідчить про можливість реплікації парвовірусу собак у нирках *in vivo*. Непрямим підтвердженням такої можливості є те, що цей збудник в лабораторних умовах культивують у первинних і перещеплювальних культурах клітин нирки собаки [413, 435, 455, 502].

Клітини щільної плями зазвичай перебували в стані зернистої дистрофії. У деяких випадках спостерігали частковий лізис їх цитоплазми, який іноді супроводжувався частковим лізисом ядра (рис. 6.2.81).

Виразні мікроскопічні зміни виявлено в усіх відділах каналців. У звивистих каналцях більша частина епітеліоцитів перебувала у стані зернистої дистрофії. Внаслідок збільшення об'єму цитоплазми таких клітин просвіт багатьох каналців помітно зменшувався (рис. 6.2.82). Такі дистрофічні зміни подекуди призводили до значної дезорганізації структури звивистих каналців з повним закриттям їх просвіту (рис. 6.2.83). У частини дистрофічно змінених епітеліальних клітин спостерігали частковий лізис хроматину їх ядер, внаслідок чого він слабо зафарбовувався, або ж не зафарбовувався взагалі (рис. 6.2.84). Нерідко епітеліоцити звивистих каналців, які перебували у стані зернистої дистрофії, руйнувались. В одних випадках руйнувалась апікальна частина цитоплазми епітеліальних клітин, які перебували на базальній мембрані каналця, в інших – дистрофічно змінені клітини відокремлювалися від базальної мембрани у просвіт каналця, де спочатку руйнувалася їх цитоплазма, а потім – і ядро. У таких клітин зазвичай також виявляли частковий лізис хроматину їх ядер (див. рис. 6.2.84).

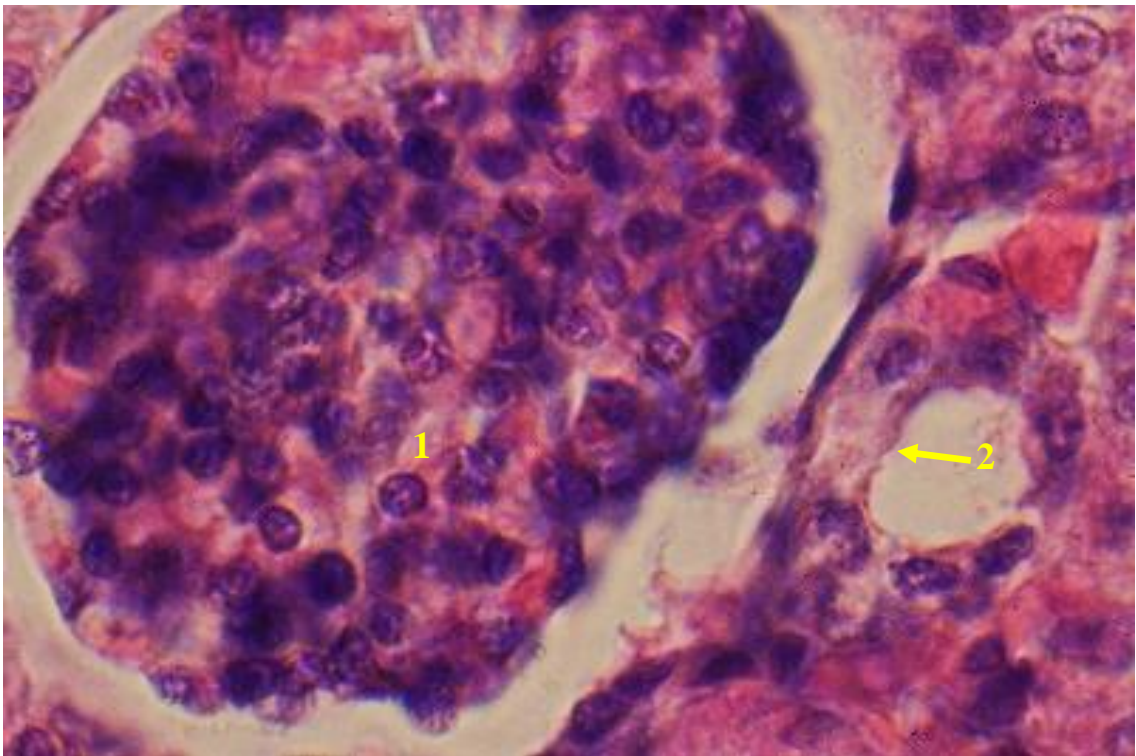


Рис. 6.2.81. Нирка експериментально зараженого цуценяти: 1 – ниркове тільце; 2 – клітини щільної плями. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 1000$.

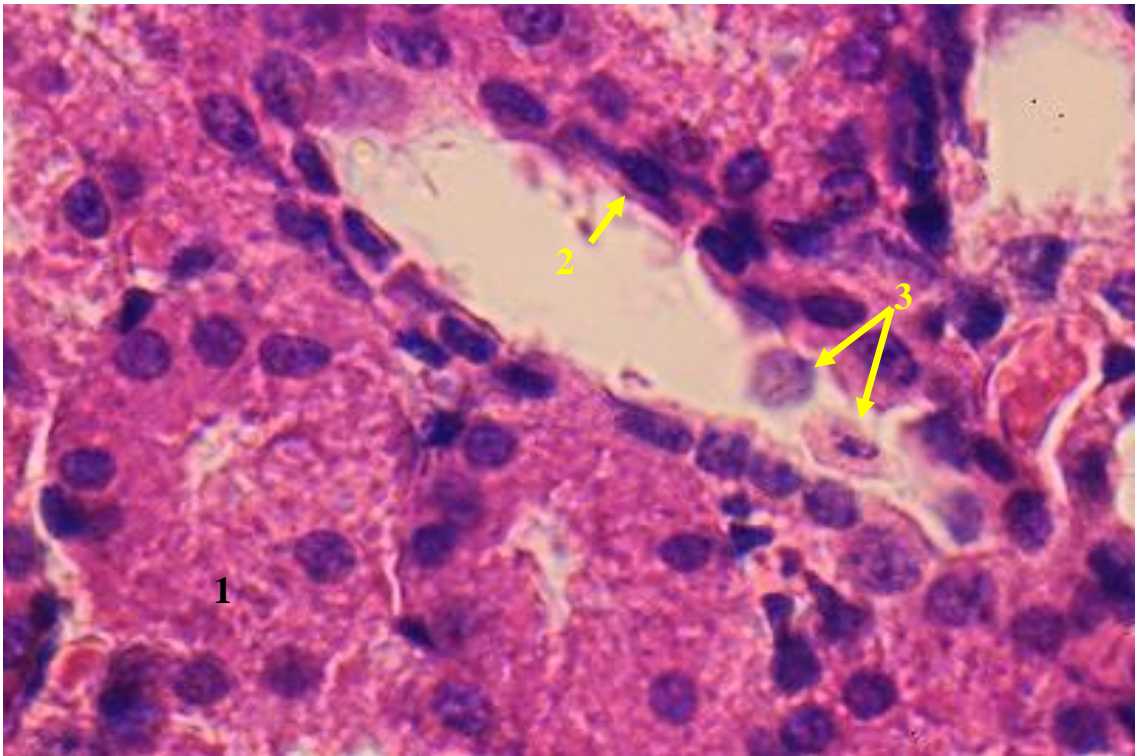


Рис. 6.2.82. Звивисті каналці нирки експериментально зараженого цуценяти: 1 – зерниста дистрофія епітелію звивистого каналця зі зменшенням просвіту каналця; 2 – плоскі епітеліоцити звивистого каналця; 3 – дистрофічно змінені та частково зруйновані епітеліоцити у просвіті звивистого каналця. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 1000$.

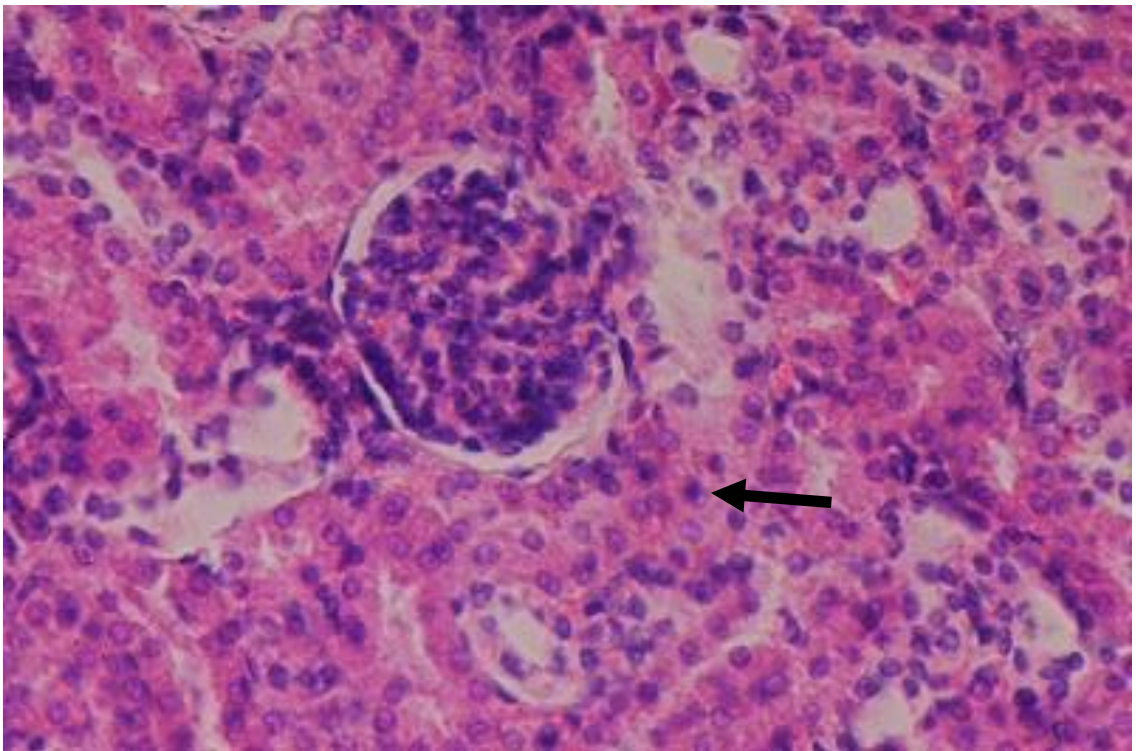


Рис. 6.2.83. Нирка експериментально зараженого цуценяти: дезорганізація структури звивистого каналця з повним закриттям його просвіту (показано стрілкою). Гематоксилін Караці та еозин, $\times 200$.

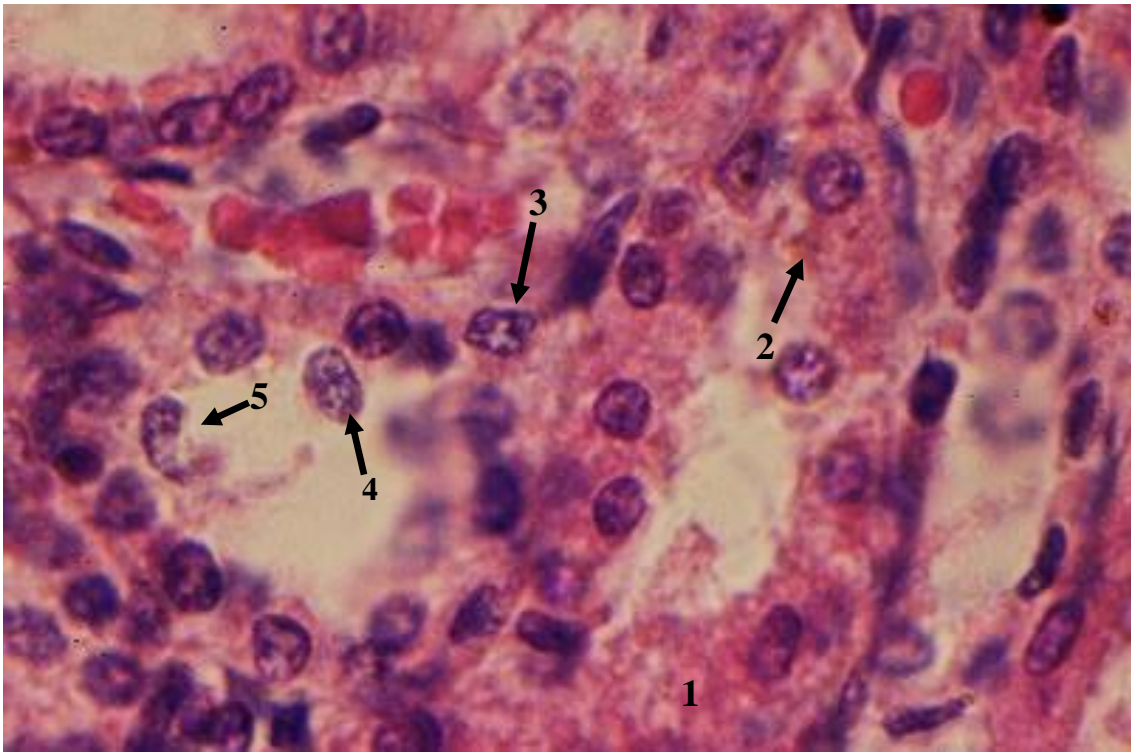


Рис. 6.2.84. Звивисті каналці нирки експериментально зараженого цуценяти: 1 – зерниста дистрофія епітелію звивистого каналця зі зменшенням просвіту каналця; 2 – руйнування апікальної цитоплазми епітеліоцита; 3 – частковий лізис хроматину в ядрі дистрофічно зміненого епітеліоцита; 4 – повний лізис цитоплазми та частковий лізис хроматину в ядрі дистрофічно зміненого епітеліоцита у просвіті каналця; 5 – часткове руйнування ядра епітеліоцита у просвіті каналця. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 1000$.

У деяких звивистих каналців руйнування частини клітин їх епітелію призводило до того, що епітеліоцити, які лишалися на базальній мембрані каналця, витягувалися вздовж неї, набуваючи при цьому плоскої форми (див. рис. 6.2.82). Подекуди виявляли гідропічну дистрофію епітеліоцитів звивистих каналців, яка характеризувалась частковим лізисом цитоплазми клітин, переважно в їх середній частині, у той час як апікальна та базальна частина цитоплазми перебували у стані зернистої дистрофії. У деяких епітеліальних клітин з мікроскопічними ознаками гідропічної дистрофії спостерігали руйнування апікальної частини клітинної оболонки (див. рис. 6.2.79; рис. 6.2.85).

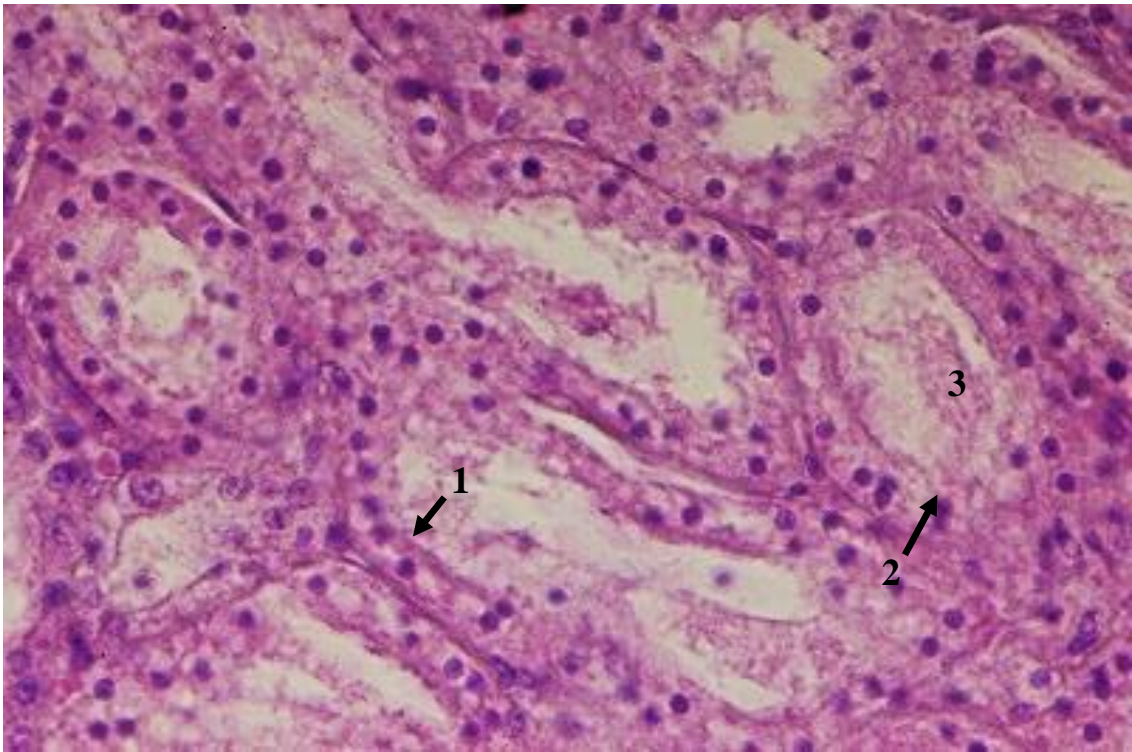


Рис. 6.2.85. Звивисті каналці нирки експериментально зараженого цуценяти: 1 – частковий лізис цитоплазми епітеліоцитів; 2 – руйнування апікальної оболонки епітеліоцитів з частковим лізисом цитоплазми; 3 – білкова речовина у просвіті каналця. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 200$.

У поодиноких каналцях, незалежно від типу дистрофічних змін у клітинах їх епітелію, виявляли руйнування їх базальної мембрани, а також руйнування мікроскопічно не змінених епітеліальних клітин. Вкрай рідко спостерігали руйнування епітеліоцитів звивистих каналців, які не мали мікроскопічних ознак будь-яких дистрофічних змін (рис. 6.2.86).

У просвіті багатьох звивистих каналців виявляли багату на білки безструктурну речовину, яка досить інтенсивно зафарбовувалась у червоний колір еозином (див. рис. 6.2.85).

На окремих ділянках нирок експериментально інфікованих цуценят виявляли виразне потовщення базальних мембран звивистих каналців, які при цьому більш інтенсивно зафарбовувались еозином. Аналогічні зміни в таких ділянках спостерігали й у парієтальних листках капсул ниркових тілець (рис. 6.2.87). На нашу думку, такі зміни найвірогідніше зумовлені просоченням парієтального листка капсули ниркового тільця та базальної мембрани епітелію звивистих каналців білковими речовинами і деякими аніонами, які могли

зв'язуватися з цими морфологічними структурами, спричиняючи їх потовщення та більш інтенсивне зафарбовування еозином, тим більше, що в ділянці звивистих каналців відбувається реабсорбція амінокислот, білків, Cl^- і HCO_3^- [538, 541, 592].

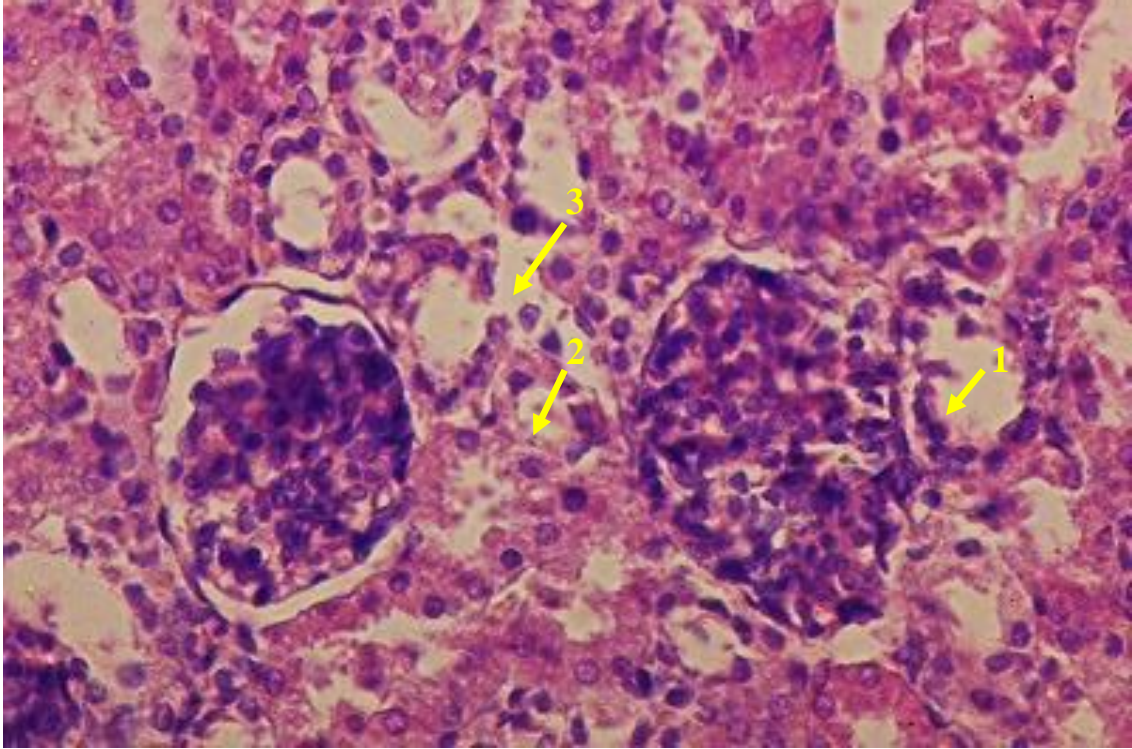


Рис. 6.2.86. Нирка експериментально зараженого цуценяти: 1 – руйнування клітин епітелію звивистого каналця без дистрофічних змін; 2 – руйнування клітин епітелію звивистого каналця, які перебувають у стані зернистої дистрофії; 3 – руйнування базальної мембрани епітелію звивистого каналця. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 200$.

В усіх прямих каналцях нирок експериментально інфікованих цуценят виявляли субепітеліальний набряк, який на деяких ділянках був настільки сильним, що тиск набрякової рідини на відділений від базальної мембрани епітелій призводив до повного закриття просвіту цих каналців, а місцями спостерігали вогнищеве руйнування їх базальної мембрани (рис. 6.2.88).

Епітеліальні клітини більшості прямих каналців перебували у стані зернистої дистрофії. Частина з дистрофічно змінених клітин руйнувалась (рис. 6.2.89).

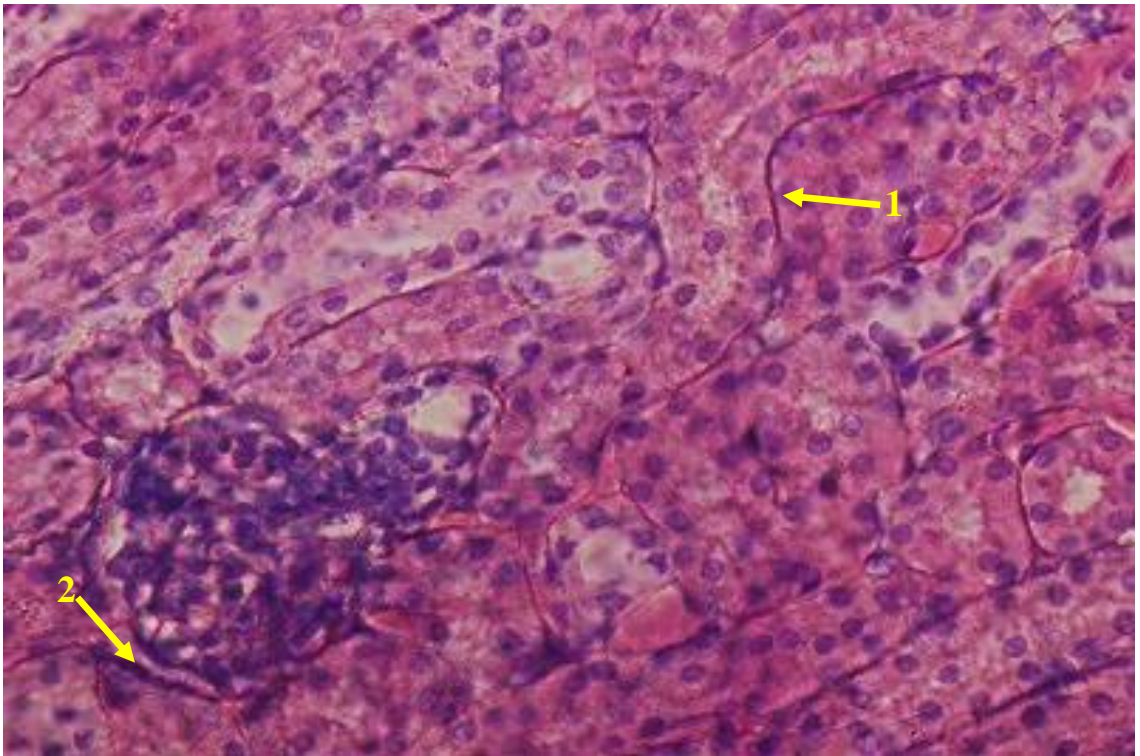


Рис. 6.2.87. Нирка експериментально зараженого цуценяти: 1 – потовщена, інтенсивно зафарбована базальна мембрана звивистого каналця; 2 – потовщений, інтенсивно зафарбований парієтальний листок капсули ниркового тільця. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 200$.

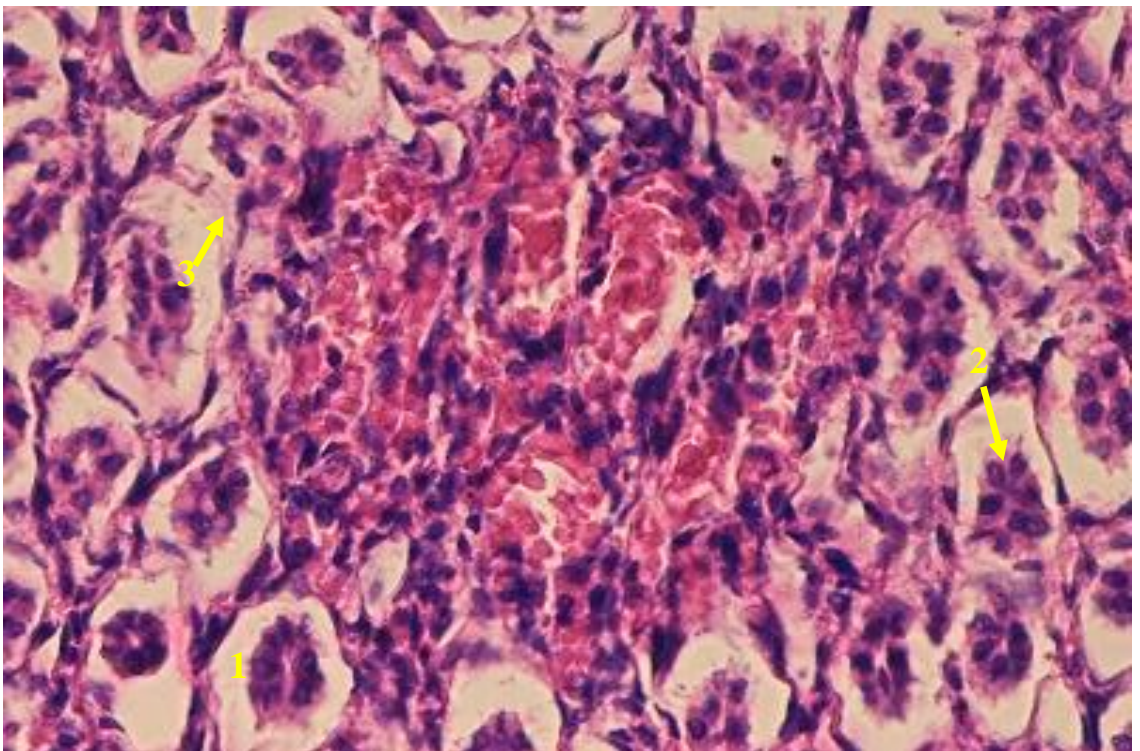


Рис. 6.2.88. Прямі каналці нирки зараженого цуценяти: 1 – субепітеліальний набряк; 2 – повне закриття просвіту каналця; 3 – руйнування базальної мембрани каналця. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 200$.

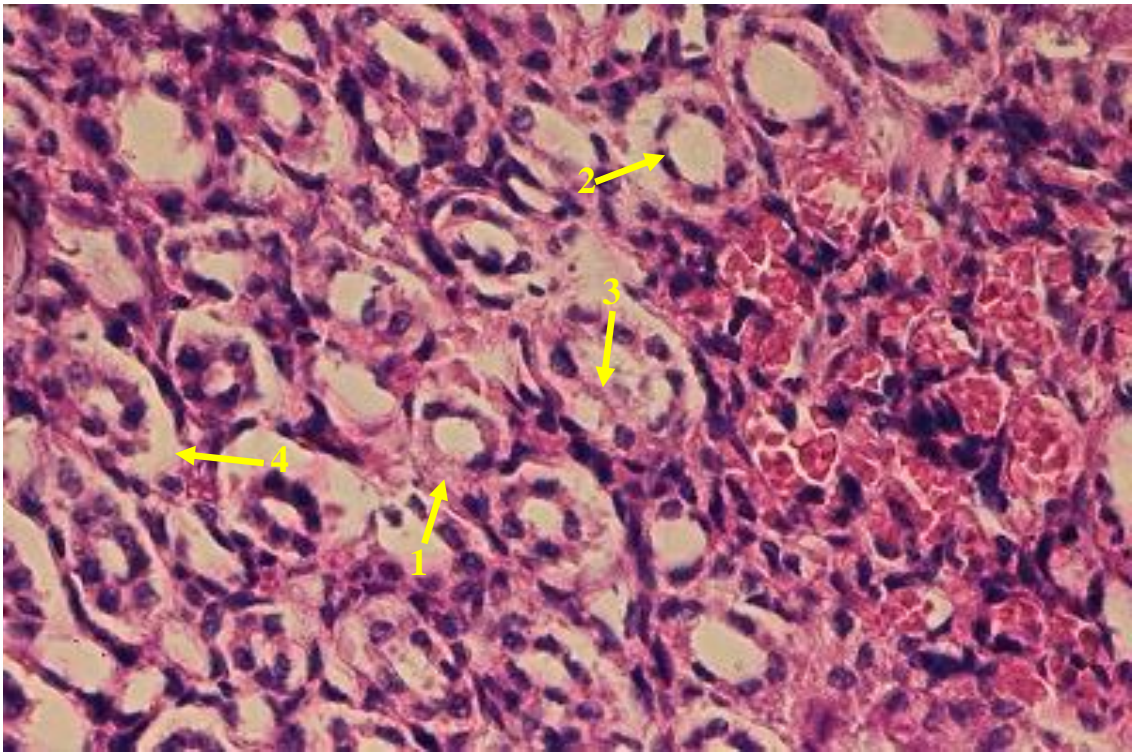


Рис. 6.2.89. Прямі каналці нирки експериментально зараженого цуценяти: 1 – зерниста дистрофія епітелію каналця; 2 – плоскі епітеліоцити; 3 – руйнування епітелію каналця; 4 – субепітеліальний набряк. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 200$.

В частині прямих каналців нирок відбувалася гідропічна дистрофія їх епітеліоцитів, яка спричиняла повний лізис цитоплазми, а в поодиноких випадках – і ядра цих клітин. Подекуди спостерігали руйнування апікальної частини оболонок дистрофічно змінених епітеліоцитів. Місцями також виявляли повне руйнування базальної мембрани каналців, що призводило до їх повної дезорганізацію (рис. 6.2.90).

Гідропічну дистрофію від жирової диференціювали зафарбовуванням заморожених зрізів нирок на ліпіди. У жодному з випадків жирової дистрофії клітин епітелію усіх відділів каналців виявлено не була.

У *т и м у с і* всі кровоносні судини паренхіми та строми органа були виразно розширені, переповнені кров'ю. Між тимусними часточками помітний виразний нерівномірний набряк сполучнотканинної строми органа (рис. 6.2.91) та помітний набряк кіркової і мозкової речовин у переважній більшості тимусних часточок (рис. 6.2.92; 6.2.93). Частина тимусних тілець була дезорганізована. Її клітини перебували у стані зернистої дистрофії. Поодинокі

тимічні тільця некротизувались. Такі зміни можуть вказувати порушення процесів диференціації лімфоцитів у тимусі.

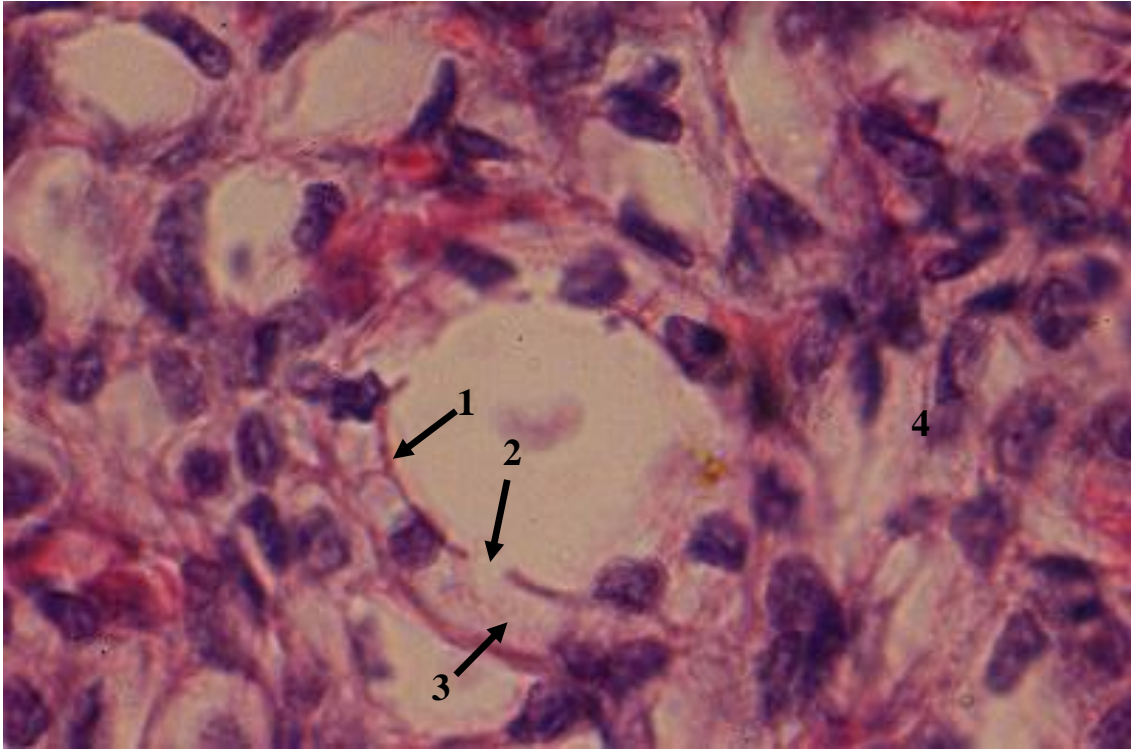


Рис. 6.2.90. Фрагмент прямих каналців нирки експериментально зараженого цуценяти: 1 – гідропічна дистрофія епітеліоцита; 2 – руйнування апікальної частини оболонки епітеліальної клітини у стані гідропічної дистрофії; 3 – повний лізис ядра епітеліальної клітини у стані гідропічної дистрофії; 4 – повна дезорганізація каналця. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 1000$.

За гістологічних досліджень *лімфоузлів* характер мікроскопічних змін був однаковий в усіх досліджених нами соматичних і вісцеральних лімфатичних вузлах, проте такі зміни були найбільш виразними у кишкових, печінкових лімфовузлах та лімфовузлах тазової порожнини.

Кровоносні судини усіх соматичних і вісцеральних лімфовузлів були виразно розширені, переповнені кров'ю. Кіркова та мозкова речовини набрякли (рис. 6.2.94 – 6.2.96). При цьому в мозковій речовині спостерігали її дифузну інфільтрацію великою кількістю еритроцитів (див. рис. 6.2.96; рис. 6.2.97), у той час як у кірковій речовині такої інфільтрації не виявляли (див. рис. 6.2.94; 6.2.95).

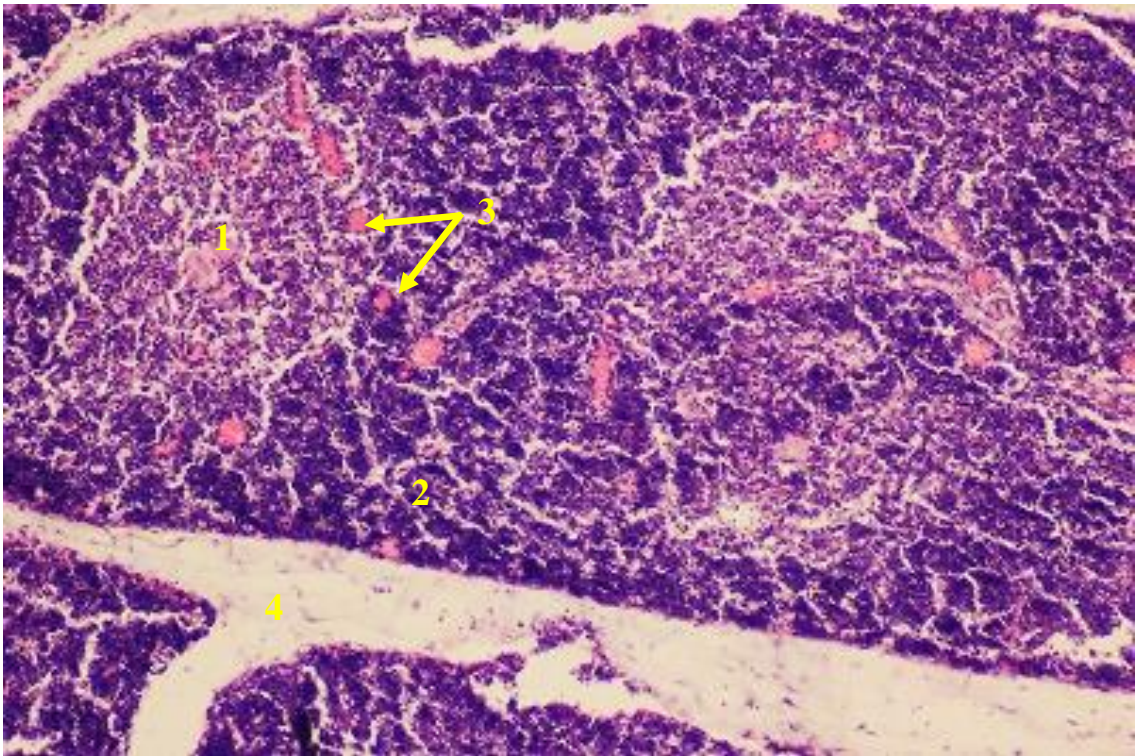


Рис. 6.2.91. Тимус експериментально зараженого цуценяти: 1 – мозкова речовина; 2 – кіркова речовина; 3 – розширенні, переповнені кров'ю кровоносні судини; 4 – набряк міжчасточкової сполучної тканини. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 50$.

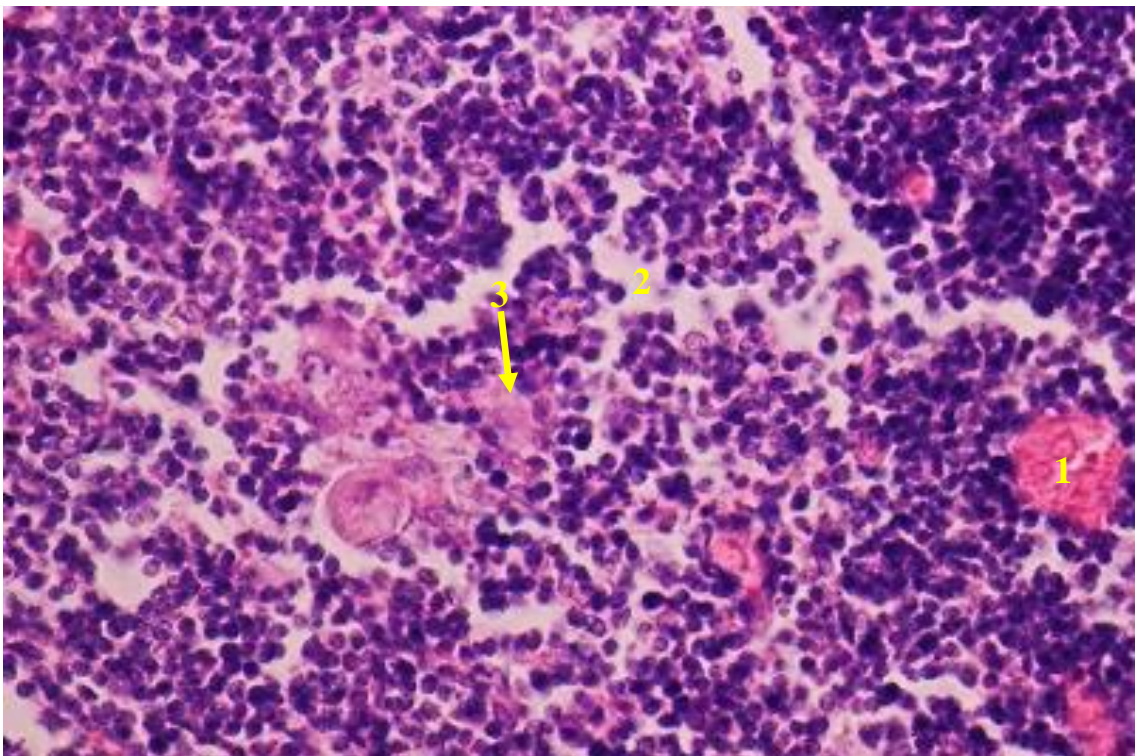


Рис. 6.2.92. Мозкова речовина тимусної часточки експериментально зараженого цуценяти: 1 – розширена, переповнена кров'ю кровоносна судина; 2 – набряк; 3 – дезорганізація тимусного тільця. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 200$.

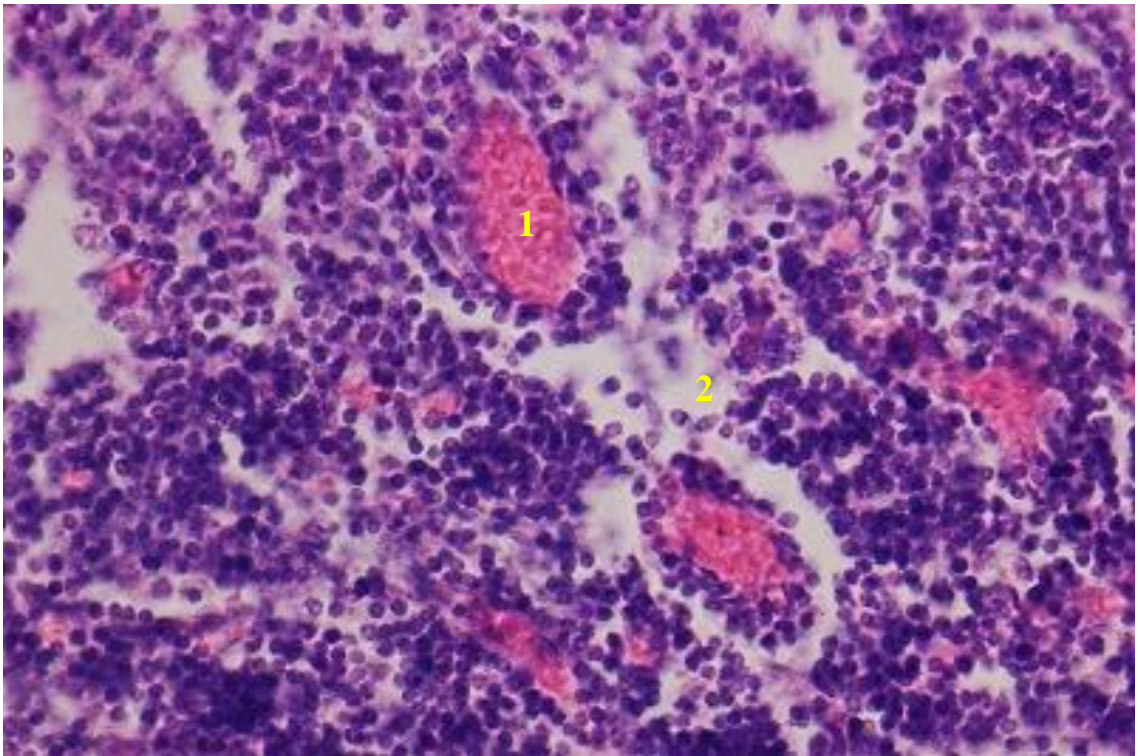


Рис. 6.2.93. Кіркова речовина тимусної часточки експериментально зараженого цуценяти: 1 – розширена, переповнена кров'ю кровоносна судина; 2 – набряк. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 400$.

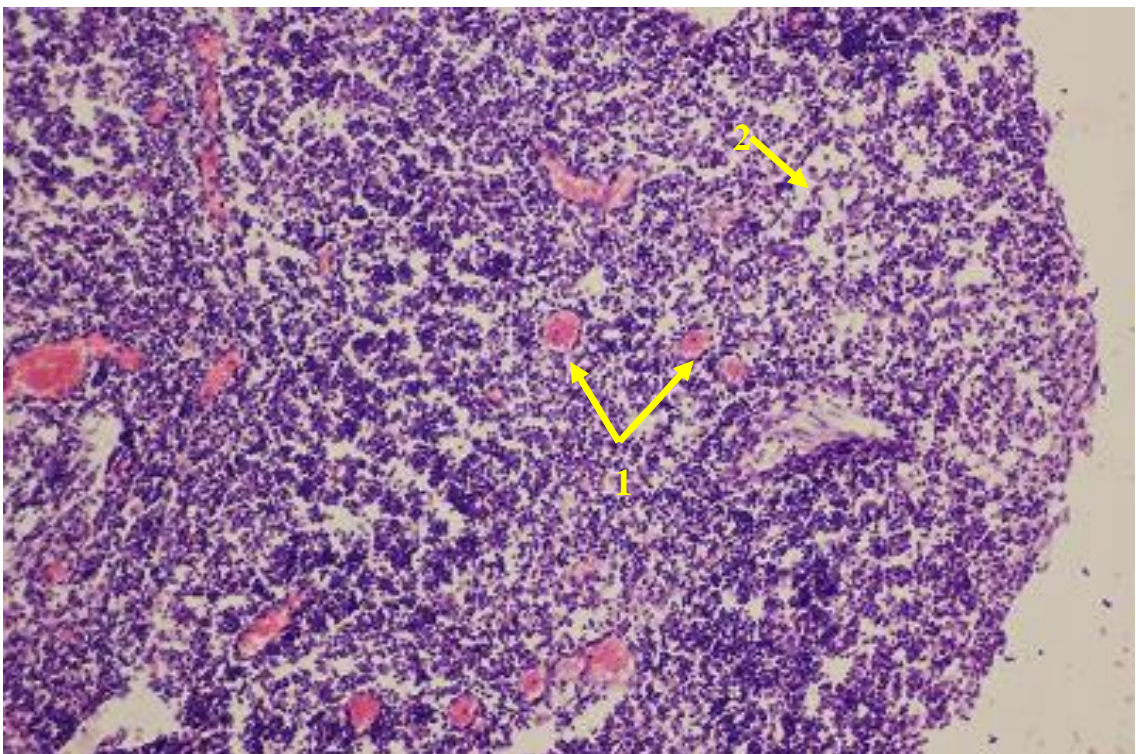


Рис. 6.2.94. Кіркова речовина кишкового лімфовузла експериментально зараженого цуценяти: 1 – розширені, переповнені кров'ю кровоносні судини; 2 – набряк. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 50$.

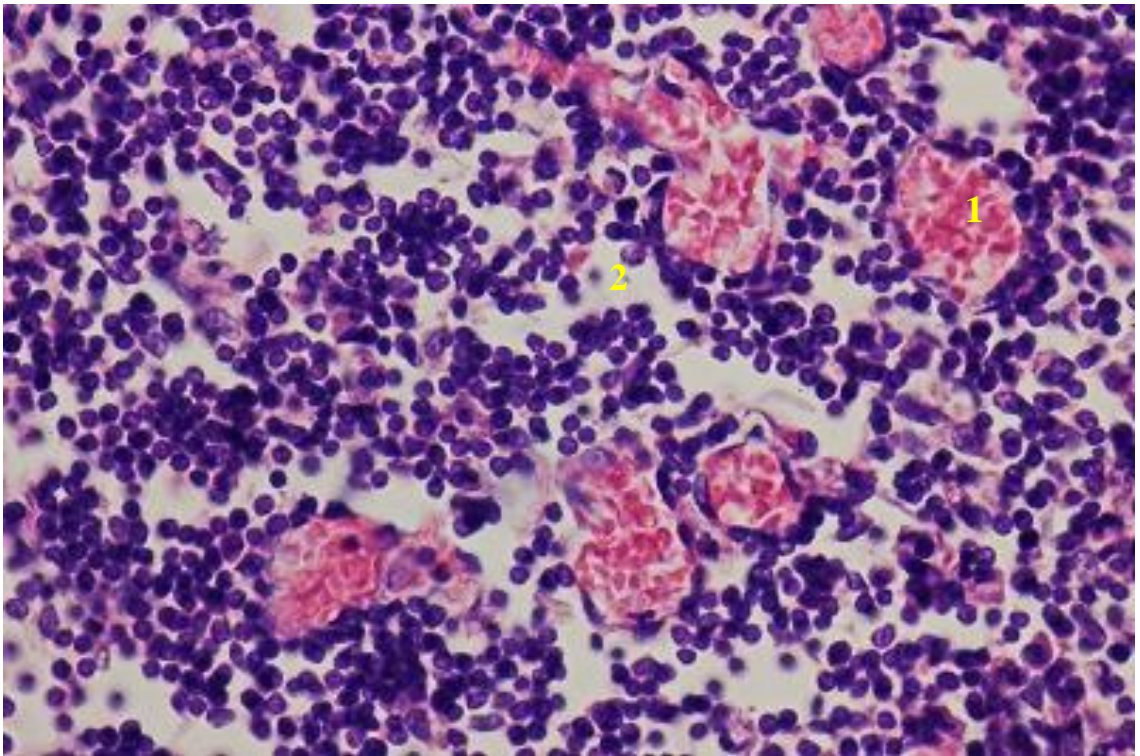


Рис. 6.2.95. Кіркова речовина пахвинного лімфовузла експериментально зараженого цуценяти: 1 – розширена, переповнена кров'ю кровоносна судина; 2 – набряк. Гематоксилін Караці та еозин, х 200.

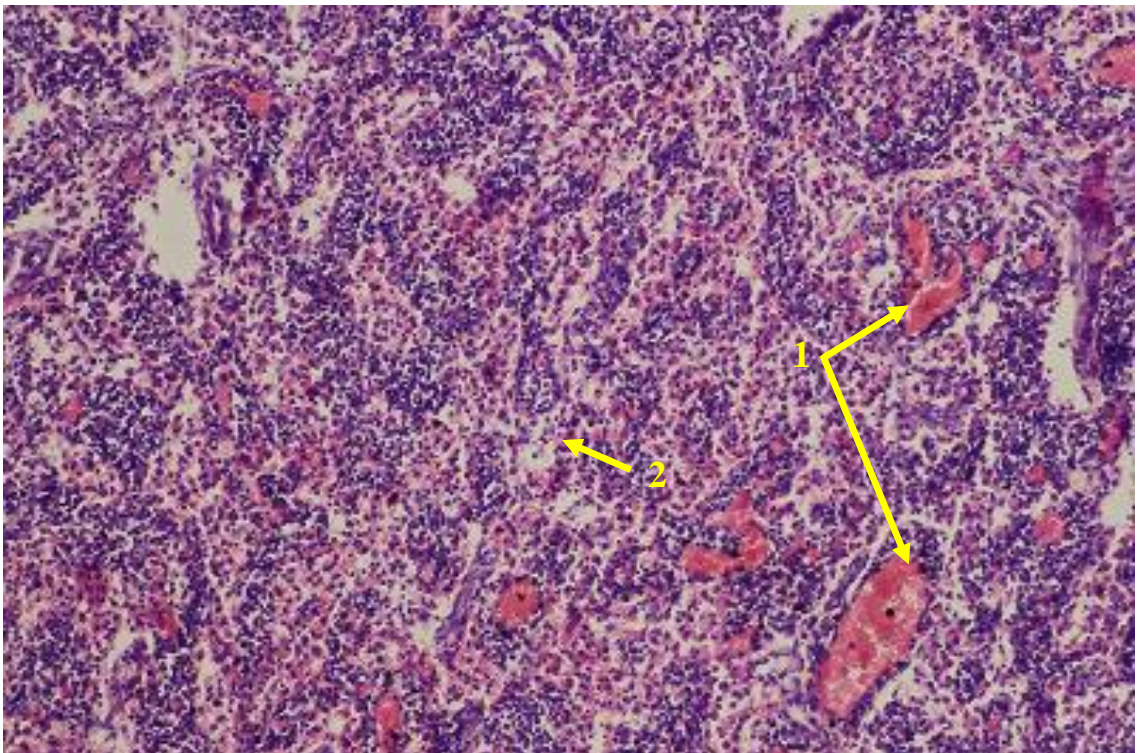


Рис. 6.2.96. Мозкова речовина кишкового лімфовузла експериментально зараженого цуценяти: 1 – розширені, переповнені кров'ю кровоносні судини; 2 – набряк. Гематоксилін Караці та еозин, х 50.

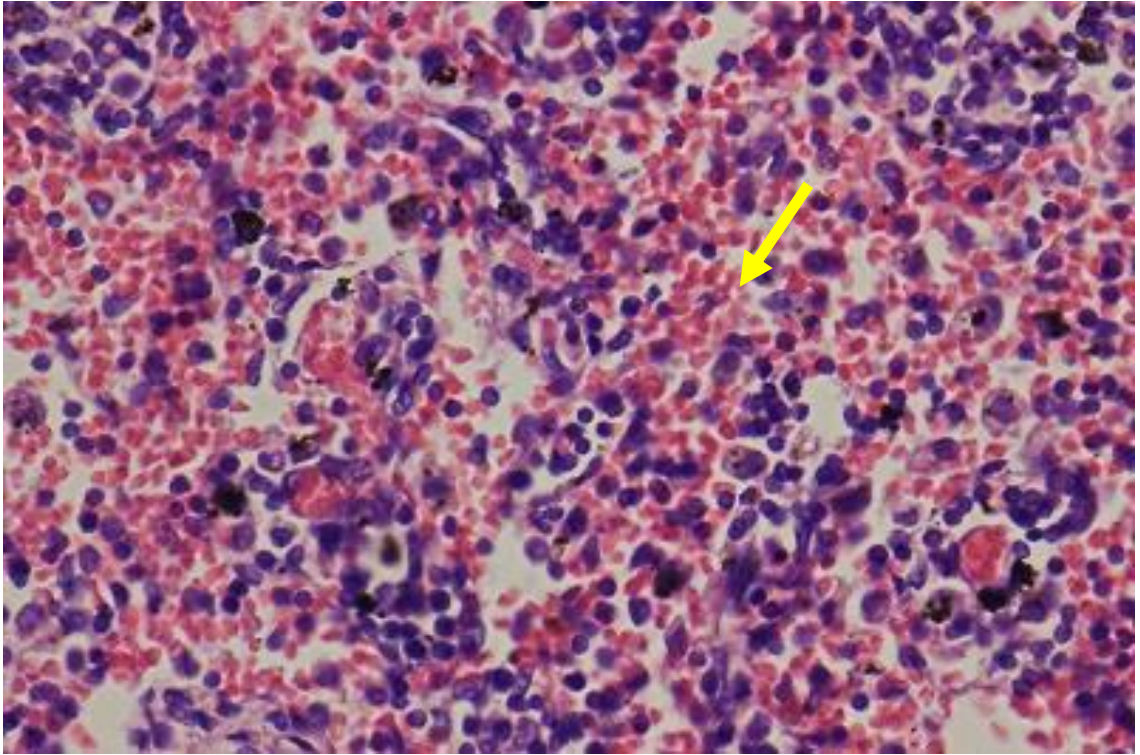


Рис. 6.2.97. Кіркова речовина кишкового лімфовузла експериментально зараженого цуценяти: еритроцити між лімфоцитами (показано стрілкою). Гематоксилін Караці та еозин, $\times 100$.

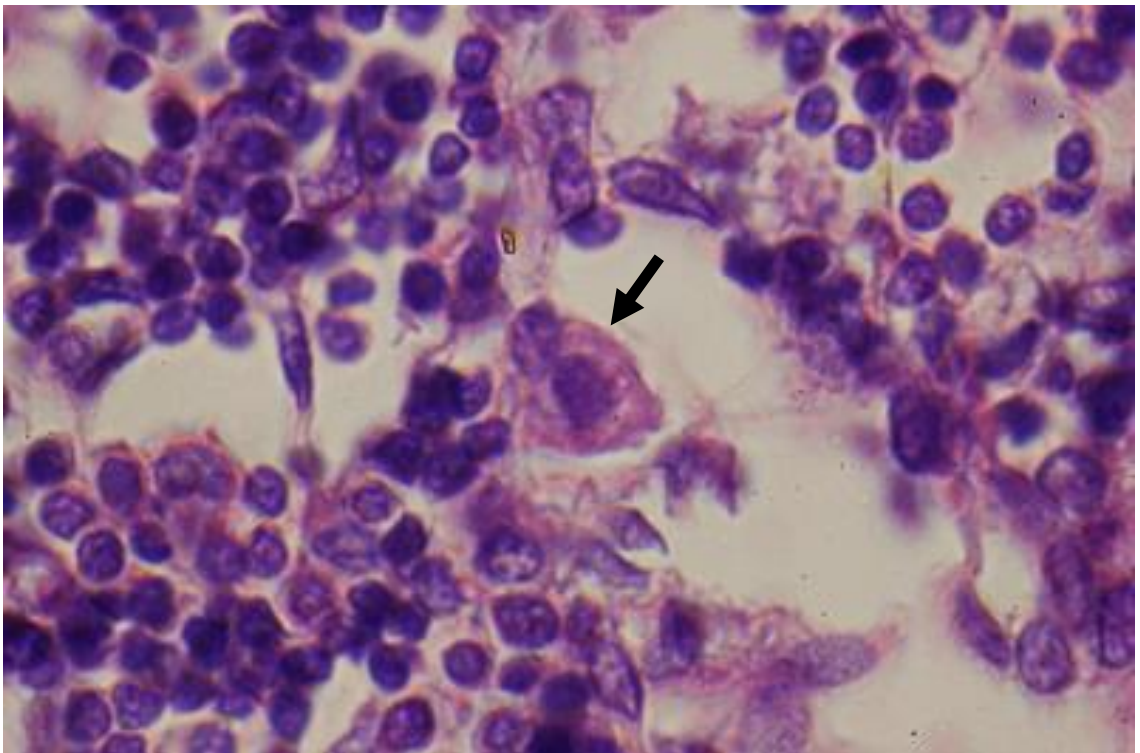


Рис. 6.2.98. Кіркова речовина портального лімфовузла експериментально зараженого цуценяти: тісний контакт макрофага з лімфоцитом (показано стрілкою). Гематоксилін Караці та еозин, $\times 1000$.

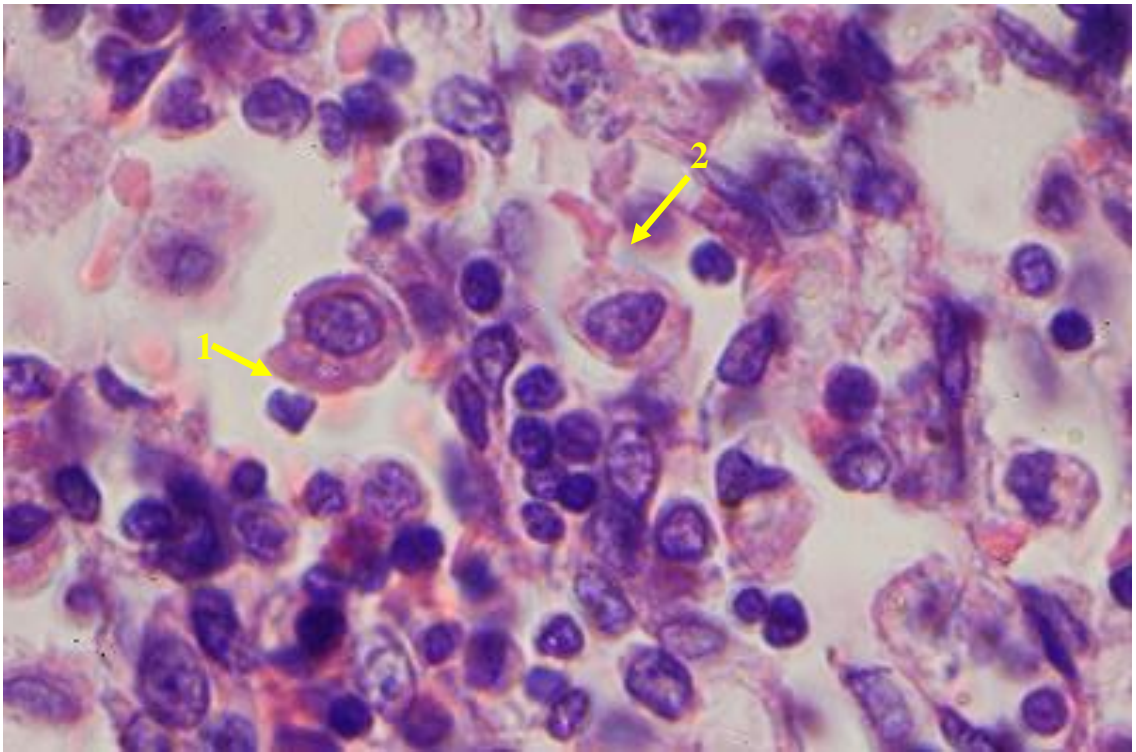


Рис. 6.2.99. Мозкова речовина кишкового лімфовузла експериментально зараженого цуценяти: 1 – контакт макрофага з лімфоцитом; 2 – контакт макрофага з еритроцитом неправильної форми. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 1000$.

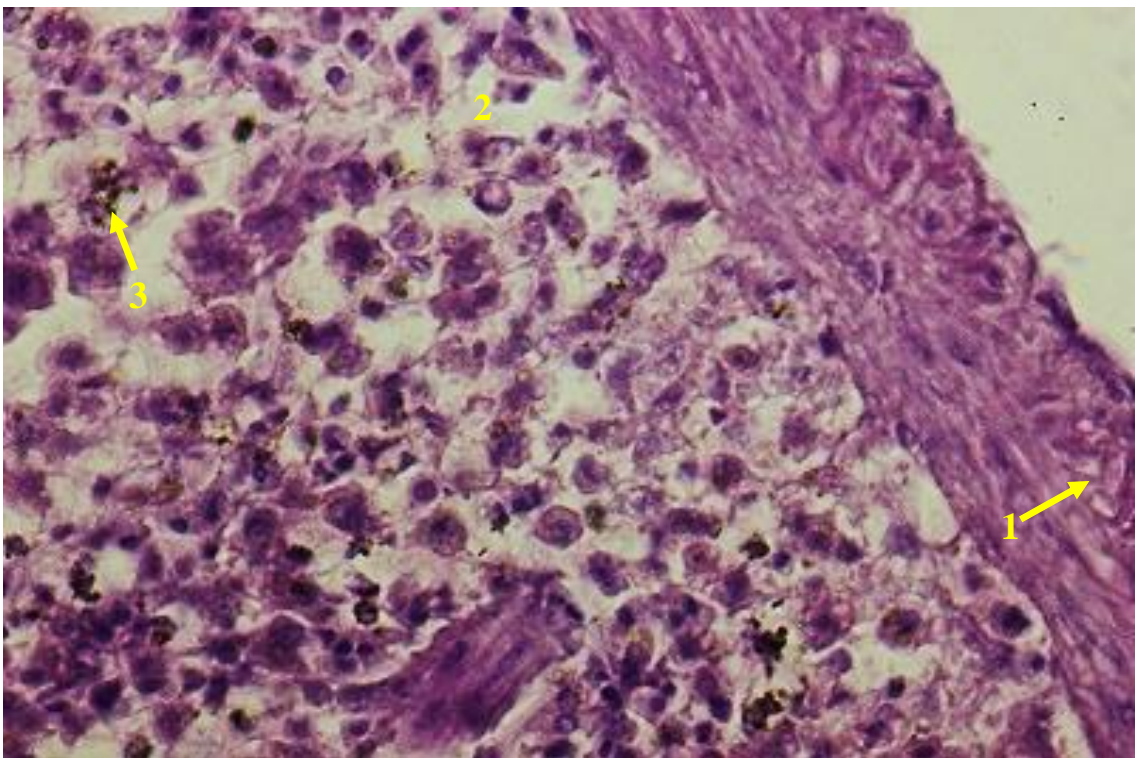


Рис. 6.2.100. Селезінка експериментально зараженого цуценяти: 1 – набряк капсули; 2 – набряк червоної пульпи; 3 – гемосидерин. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 1000$.

Лімфоїдні вузлики були невиразними, або ж взагалі відсутніми (див. рис. 6.2.94). У кірковій речовині виявляли поодинокі макрофаги, які здебільшого тісно контактували з лімфоцитами (рис. 6.2.98).

У мозковій речовині також локалізувалися поодинокі макрофаги, які контактували як з лімфоцитами, так і з еритроцитами зміненої форми (рис. 6.2.99). Лімфоцити з внутрішньоядерними еозинофільними тільцями-включеннями в жодному з соматичних чи вісцеральних лімфовузлів нами знайдені не були.

Під час проведення гістологічних досліджень *селезінки* встановлено, що її капсула була незначно набряклою, що виявляли лише за великих збільшень мікроскопа (рис. 6.2.100). Червона пульпа була нерівномірно набряклою (див. рис. 6.2.100; рис. 6.2.101), у ній містилися численні осередки розпаду великої кількості еритроцитів (див. рис. 6.2.100).

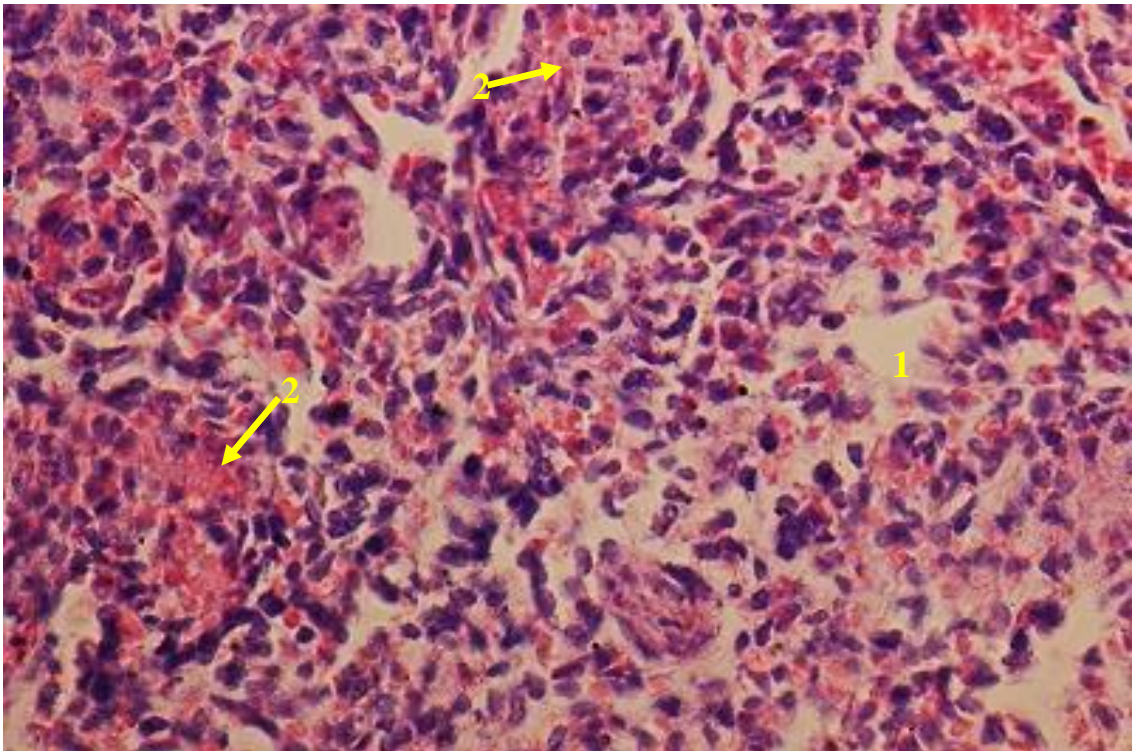


Рис. 6.2.101. Селезінка експериментально зараженого цуценяти: 1 – набряк червоної пульпи; 2 – масоване руйнування еритроцитів. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 200$.

Розпад великої кількості еритроцитів призводив до накопичення у міжклітинному середовищі червоної пульпи гранул і зерен гемосидерину, який

також у великій кількості виявляли у цитоплазмі численних макрофагів (сидерофагів) (рис. 6.2.102).

За постановки гістохімічних реакцій у місцях розпаду еритроцитів спостерігали накопичення кислих білків (рис. 6.2.103).

Лімфоїдні вузлики також зазнавали помітних мікроскопічних змін. Частина з них була досить виразною, але розташовувалась ексцентрично щодо їх центральних артерій (рис. 6.2.104). Інша частина лімфоїдних вузликів мали невеликі розміри та зазвичай нечіткі межі (рис. 6.2.105). У переважної більшості лімфоїдних вузликів серед лімфоцитів виявляли досить велику кількість макрофагів. Поодинокі макрофаги некротизувались (рис. 6.2.106).

Частина лімфоцитів, які локалізувались як у межах лімфоїдних вузликів, так і серед інших клітин червоної пульпи, у своїх ядрах містили еозинофільні тільця-включення (рис. 6.2.107).

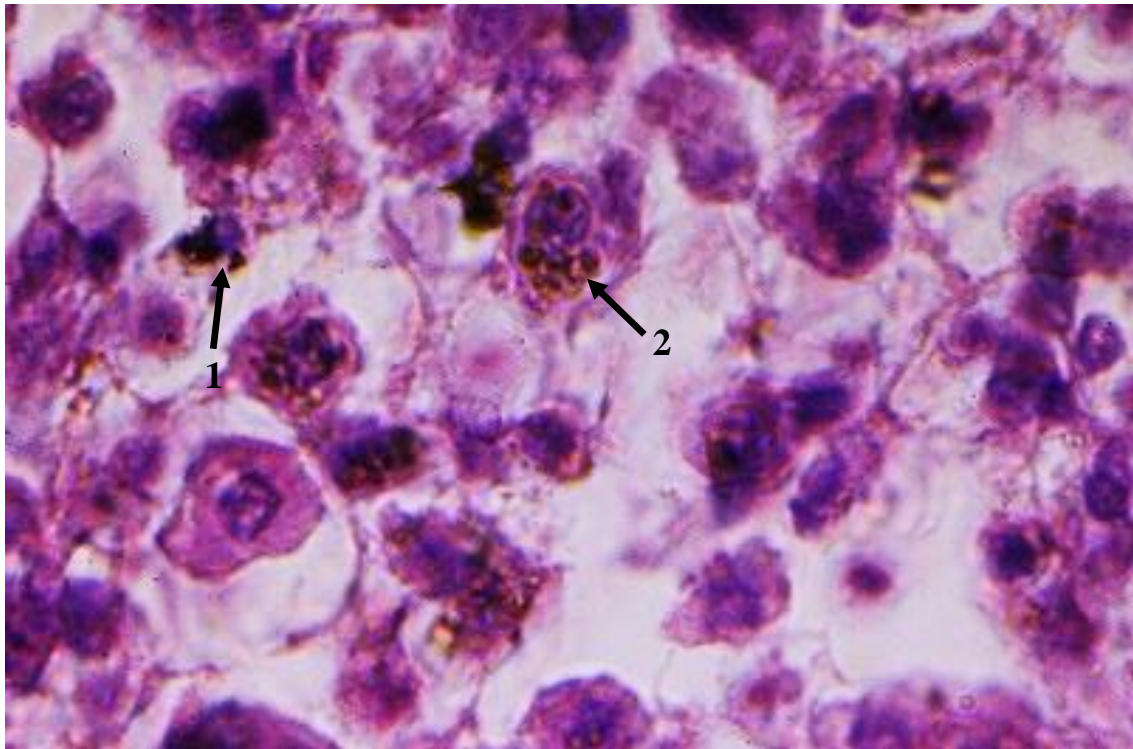


Рис. 6.2.102. Червона пульпа селезінки експериментально зараженого цуценяти: 1 – гемосидерин у міжклітинному середовищі; 2 – гемосидерин у цитоплазмі гемосидерофага. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 1000$.

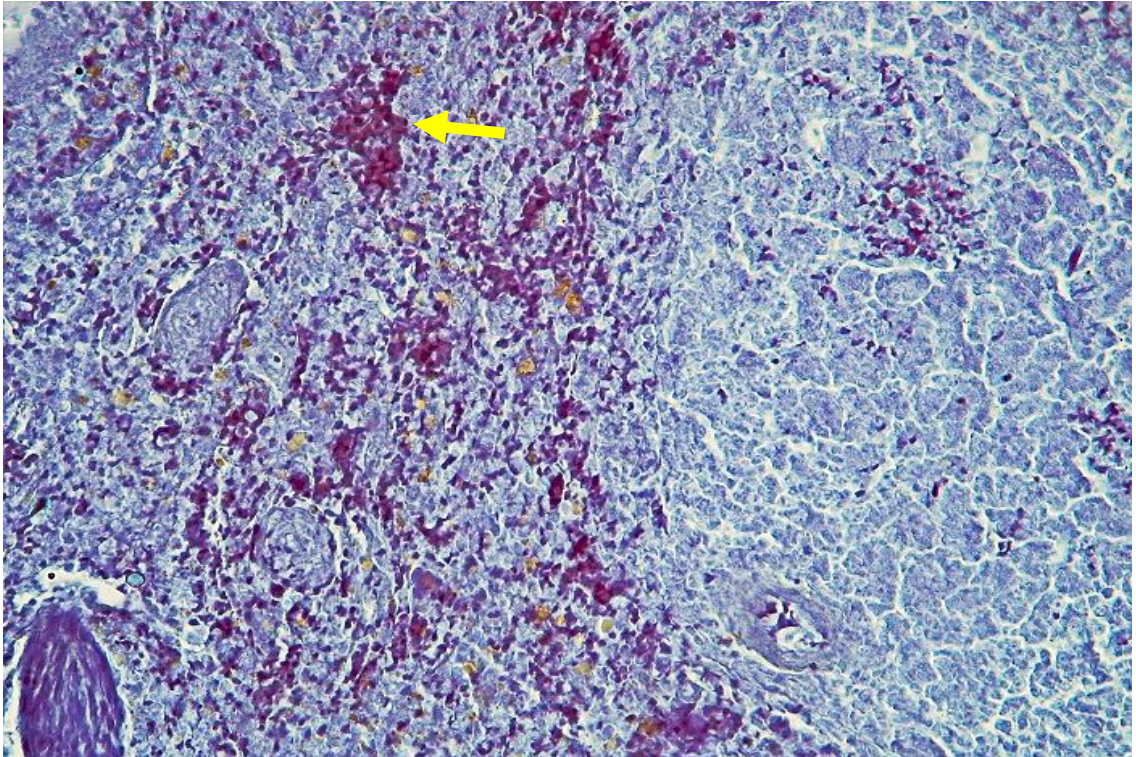


Рис. 6.2.103. Селезінка експериментально зараженого цуценяти: накопичення кислих білків у місці розпаду еритроцитів (показано стрілкою). Метод Мікель-Кальво, $\times 100$.

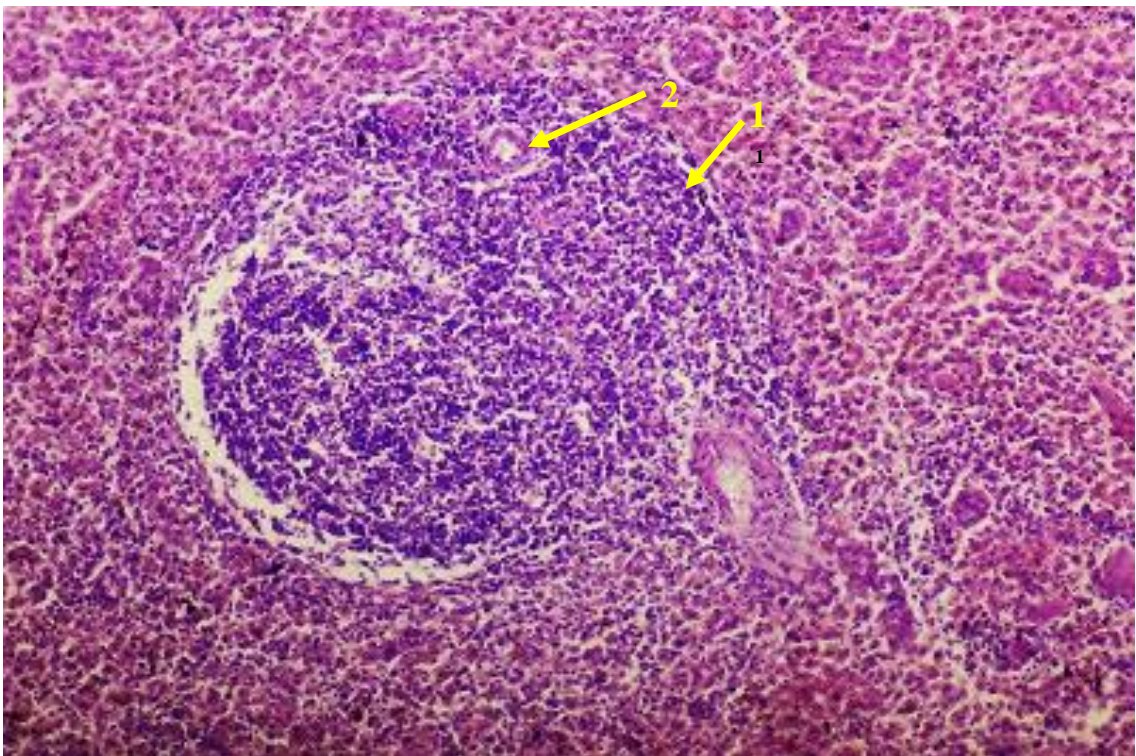


Рис. 6.2.104. Селезінка експериментально зараженого цуценяти: 1 – лімфоїдний вузлик; 2 – центральна артерія. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 100$.

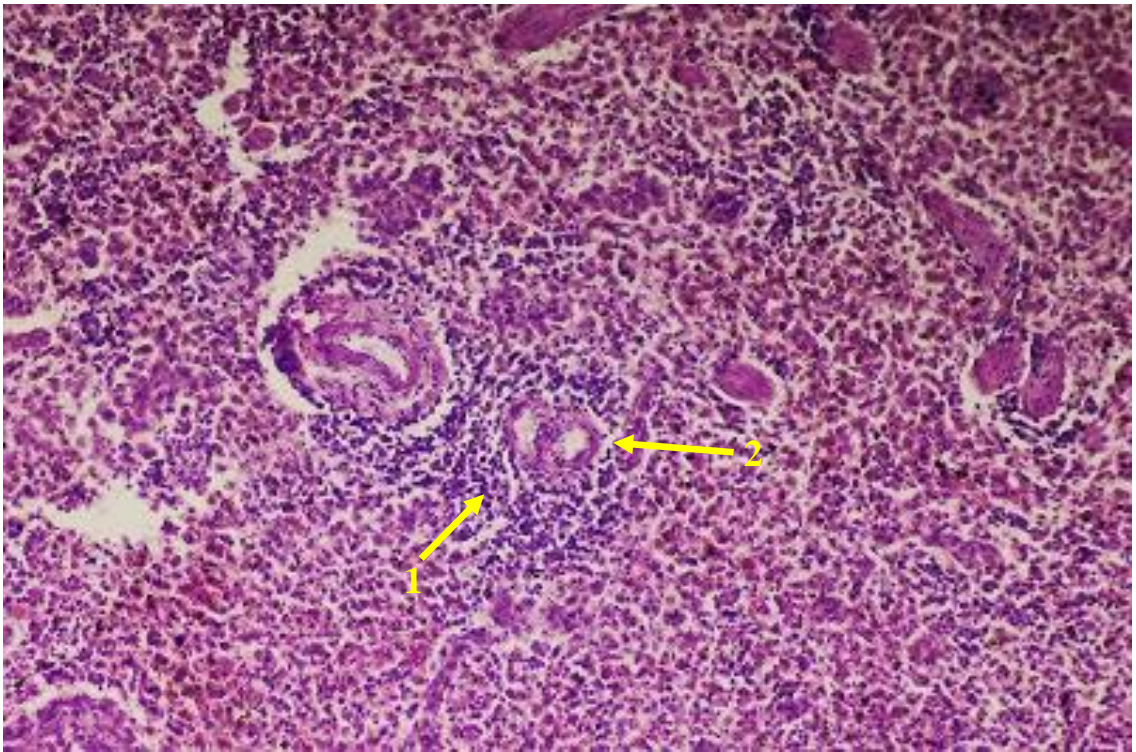


Рис. 6.2.105. Селезінка експериментально зараженого цуценяти: 1 – лімфоїдний вузлик; 2 – центральна артерія. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 100$.

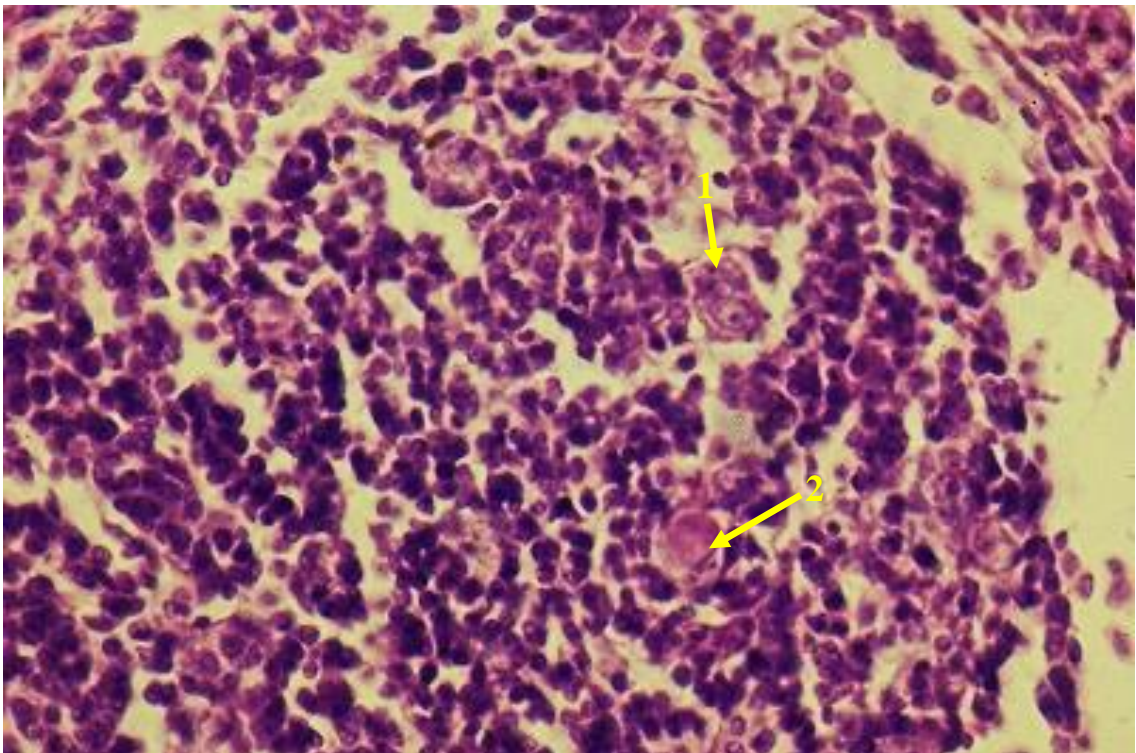


Рис. 6.2.106. Лімфоїдний вузлик селезінки експериментально зараженого цуценяти: 1 – макрофаг з вакуолями в цитоплазмі; 2 – некротизований макрофаг. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 400$.

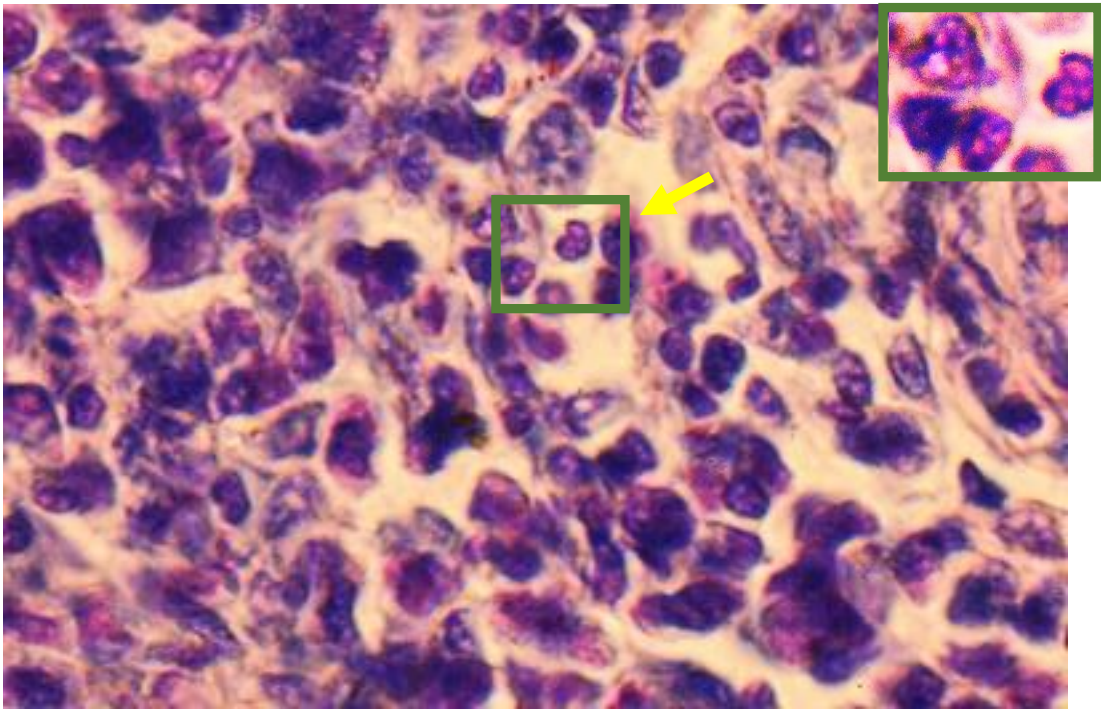


Рис. 6.2.107. Фрагмент лімфоїдного вузлика селезінки експериментально зараженого цуценяти: лімфоцити з внутрішньоядерними еозинофільними тільцями-включеннями (показано стрілкою). Гематоксилін Караці та еозин, $\times 1000$.

Гістологічним дослідженням *с е р ц я* експериментально інфікованих цуценят встановлено, що в епікарді та ендокарді мікроскопічні зміни були відсутні. Лише у міокарді виявлено дифузний нерівномірний набряк між пучками м'язових волокон (рис. 6.2.108). Місцями він призводив до розпаду м'язових пучків на окремі волокна (рис. 6.2.109). У багатьох кардіоміоцитах спостерігали зернисту дистрофію, яка інколи супроводжувалась деформацією ядер дистрофічно змінених клітин (рис. 6.2.110). У поодиноких кардіоміоцитах виявляли внутрішньоядерні еозинофільні тільця-включення (див. рис. 6.2.108).

У *л е г е н я х* виявляли венозний застій і набряк з розривом стінок частини альвеол (Рис. 6.2.111), у *г о л о в н о м у* та *с п и н н о м у* м о з к у – набряк глії, особливо виразний навколо нервових клітин, та базофілію переважної більшості нервових клітин (рис. 6.2.112).

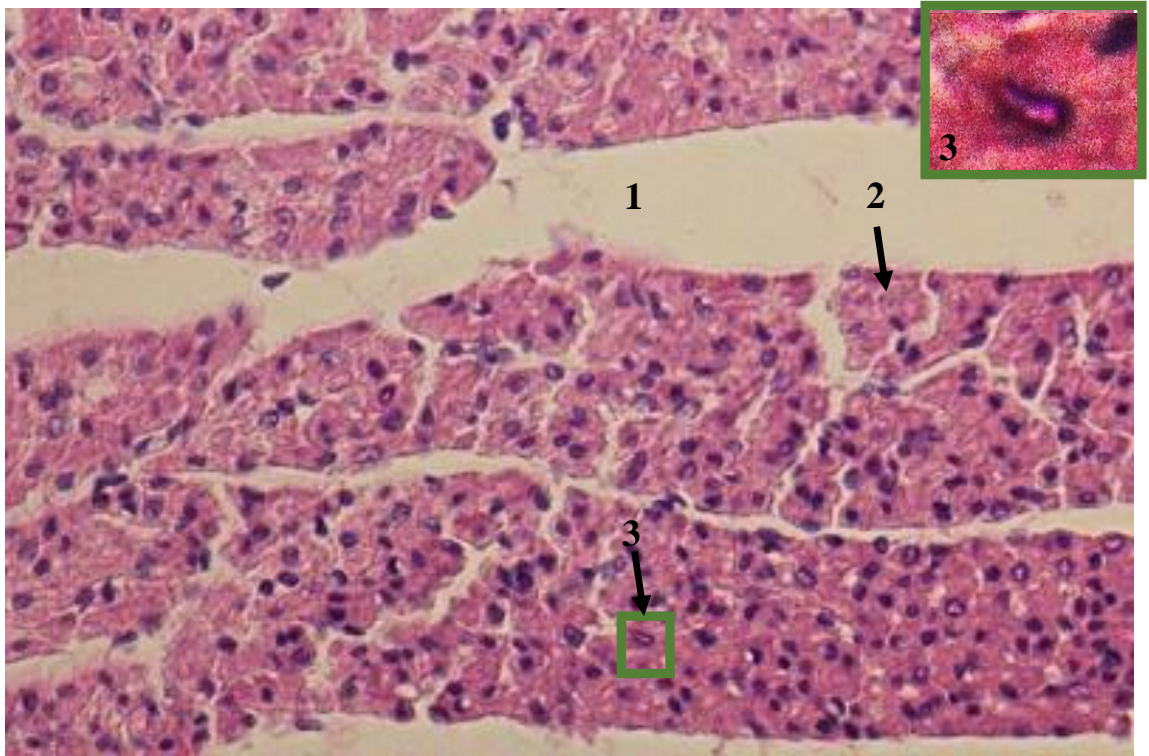


Рис. 6.2.108. Міокард експериментально зараженого цуценяти: 1 – набряк між пучками м'язових волокон; 2 – зерниста дистрофія кардіоміоцитів; 3 – еозинофільне тільце-включення в ядрі кардіоміоцита. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 200$.

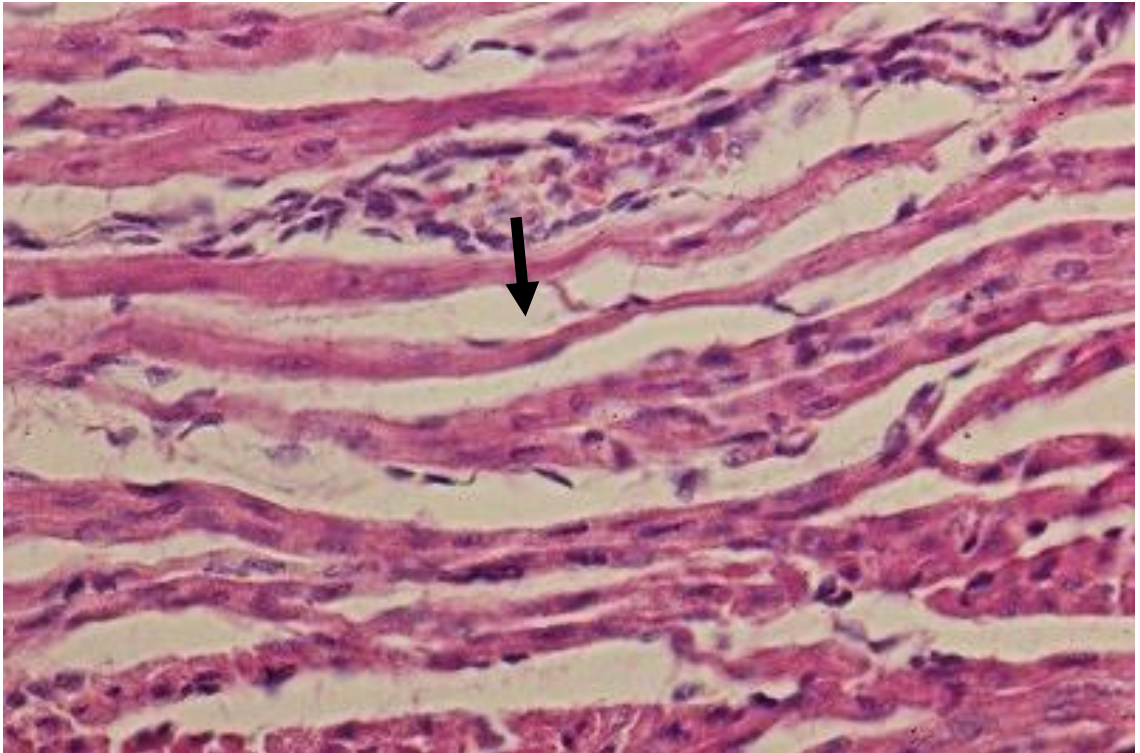


Рис. 6.2.109. Міокард експериментально зараженого цуценяти: розпад м'язових пучків на окремі волокна (показано стрілкою). Гематоксилін Караці та еозин, $\times 400$.

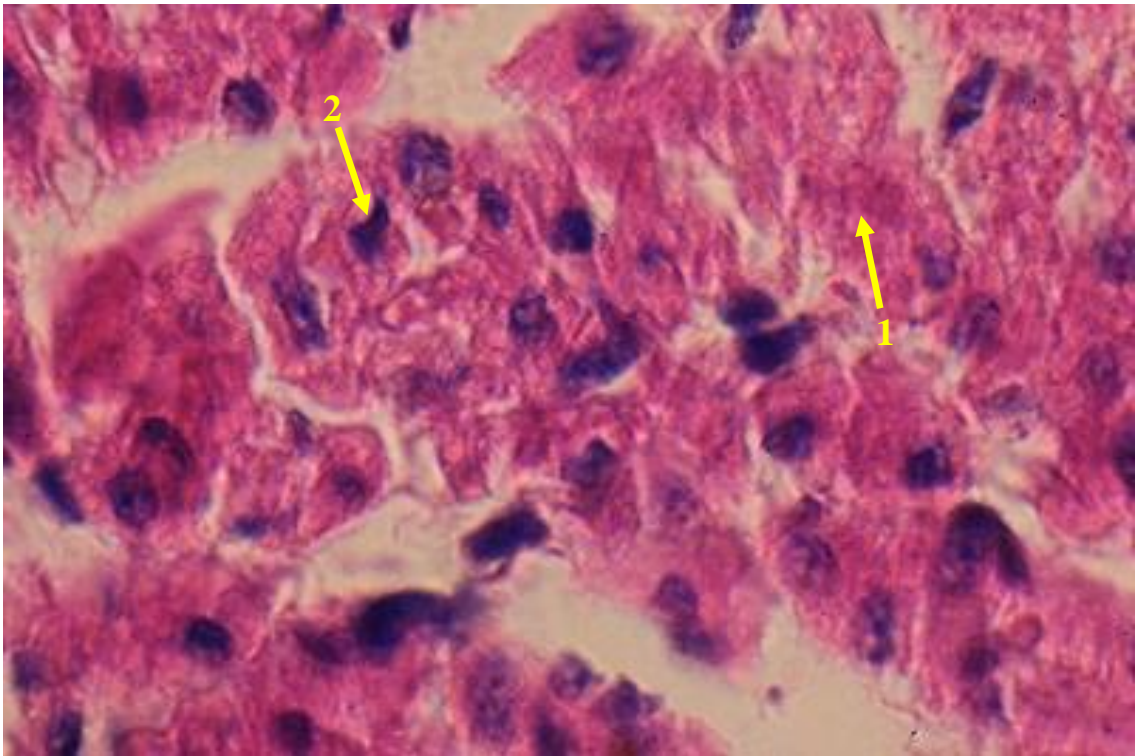


Рис. 6.2.110. Міокард експериментально зараженого цуценяти: 1 – зерниста дистрофія кардіоміоцитів; 2 – деформація ядра міокардіоцита. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 1000$.

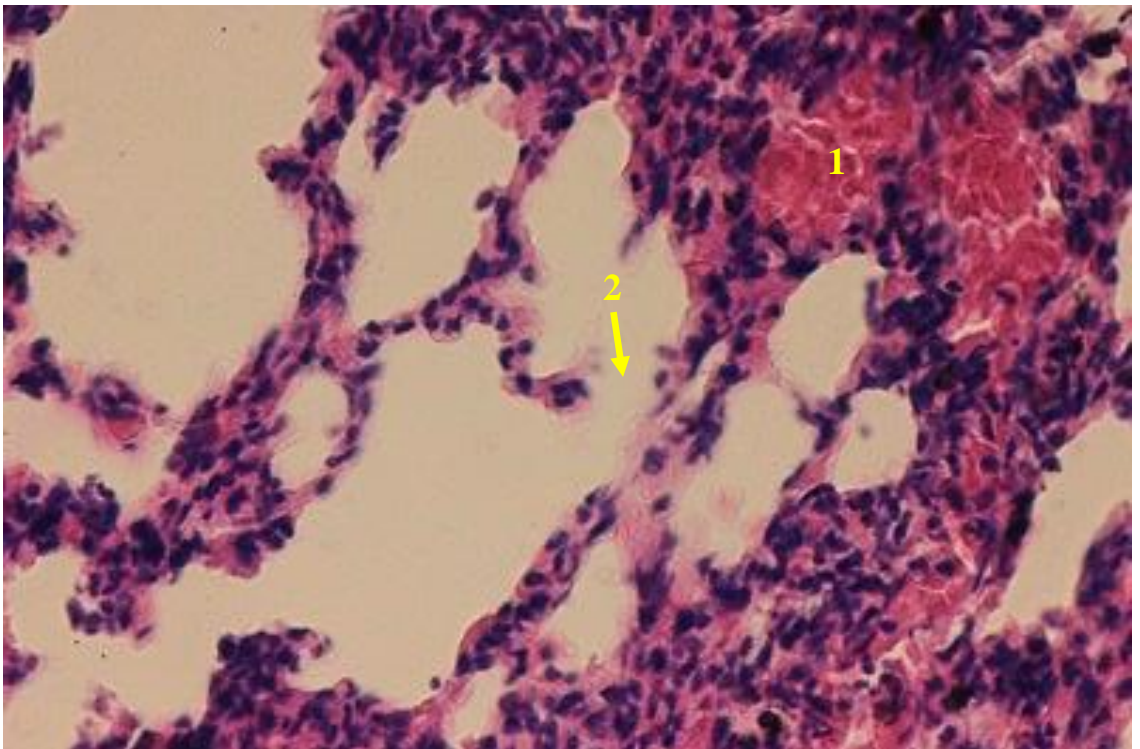


Рис. 6.2.111. Легені експериментально зараженого цуценяти: 1 – розширена, переповнена кров'ю вена; 2 – розрив стінки альвеоли. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 200$.

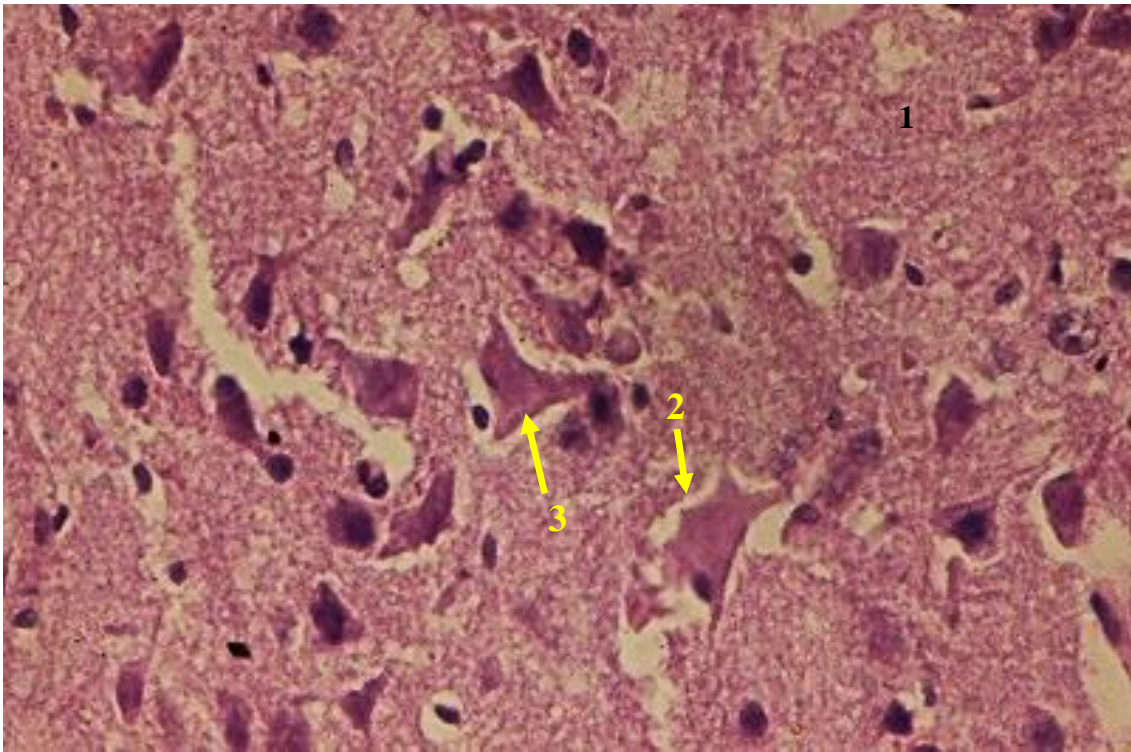


Рис. 6.2.112. Сіра речовина кори головного мозку експериментально зараженого цуценяти: 1 – набряк глії; 2 – набряк навколо нервової клітини; 3 – базофілія нервової клітини. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 200$.

Результати підрозділу 6.1 та 6.2 висвітлені в наукових працях [60, 226, 232, 233].

6.3. Патоморфологічні зміни у собак за експериментального коронавірусного ентериту

6.3.1. Макроскопічні зміни цуценят за експериментального зараження ізолятом коронавірусу, культивованим у гетерологічній культурі клітин

Під час проведення патологоанатомічного розтину цуценят, експериментально інфікованих ізолятом коронавірусу, культивованим у гетерологічній культурі клітин, встановлено, що макроскопічні зміни в усіх тварин у цілому були однаковими, хоча й мали незначні індивідуальні особливості щодо ступеня їх прояву. Зовнішній огляд трупів підтвердив погану вгодованість, матову, скуйовджену шерсть та сухувату шкіру, яка в ділянці анального отвору, кореня хвоста і задньої поверхні стегон була забруднена фекаліями жовтуватого кольору.

В усіх досліджених соматичних і вісцеральних *лімфовузлах* макроскопічні зміни були подібними. Вони мали білуватий колір, були збільшені (капсула напружена, часточкова будова виразна, на розрізі підвищеної вологості, паренхіма випиналася). Такі макроскопічні зміни характерні для серозного лімфаденіту (рис. 6.3.1). *Тимус* був в'ялий, набряклий, нерівномірно гіперемійований (рис. 6.3.2).

У шлунку при проведенні патологоанатомічного розтину будь-яких видимих змін не виявляли. Основні макроскопічні зміни локалізувалися у *тонкій кишці*. Її стінка була дещо гіперемійована (рис. 6.3.3). Кровоносні судини брижі розширені, переповнені кров'ю, а лімфатичні – розширені й переповнені лімфою (див. рис. 6.3.1).

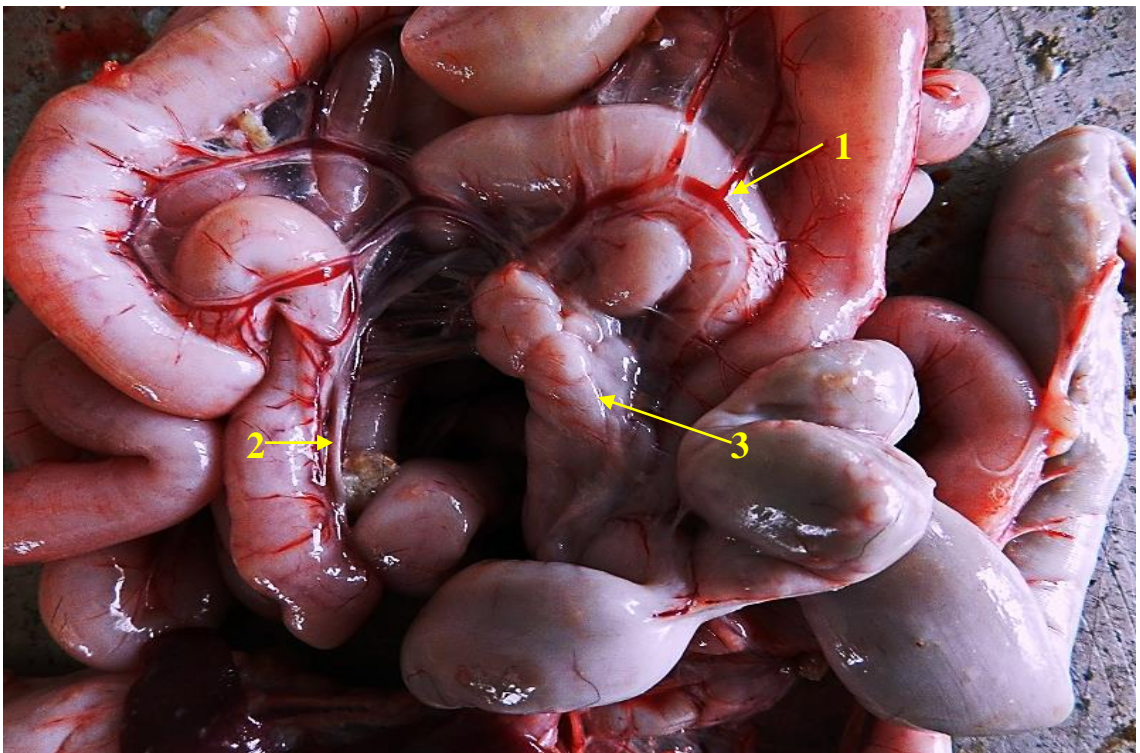


Рис. 6.3.1. Кишківник цуценяти, експериментально зараженого коронавірусом: 1 – розширені, переповнені кров'ю кровоносні судини брижі тонкої кишки; 2 – розширені, переповнені лімфою лімфатичні судини брижі тонкої кишки; 3 – збільшені, набряклі лімфовузли тонкої кишки.

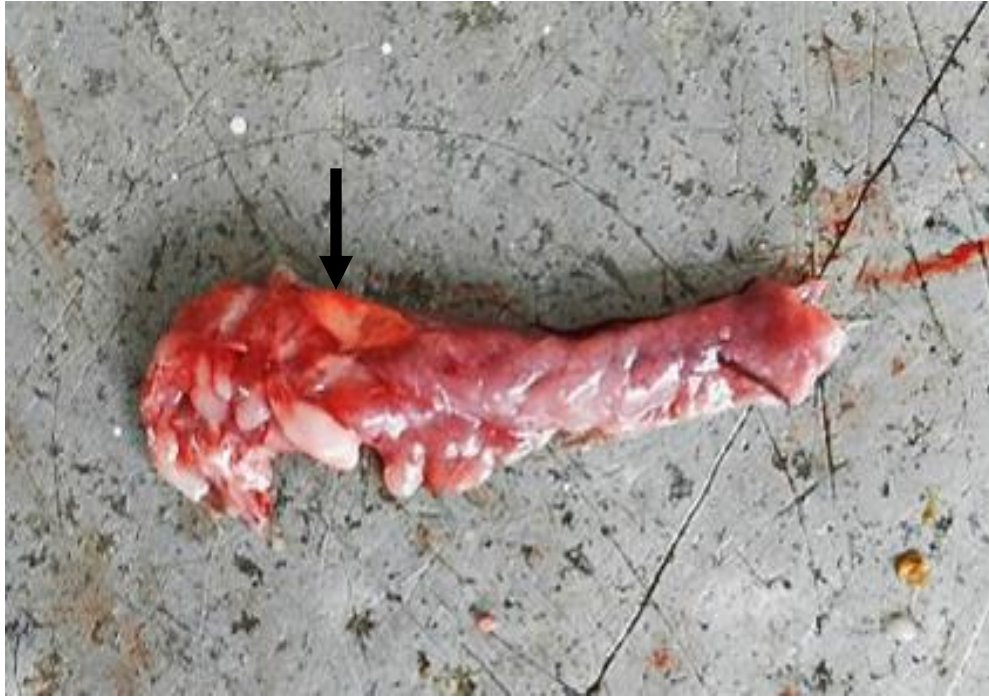


Рис. 6.3.2. Тимус цуценяти, експериментально зараженого коронавірусом: нерівномірна гіперемія й набряк (показано стрілкою).

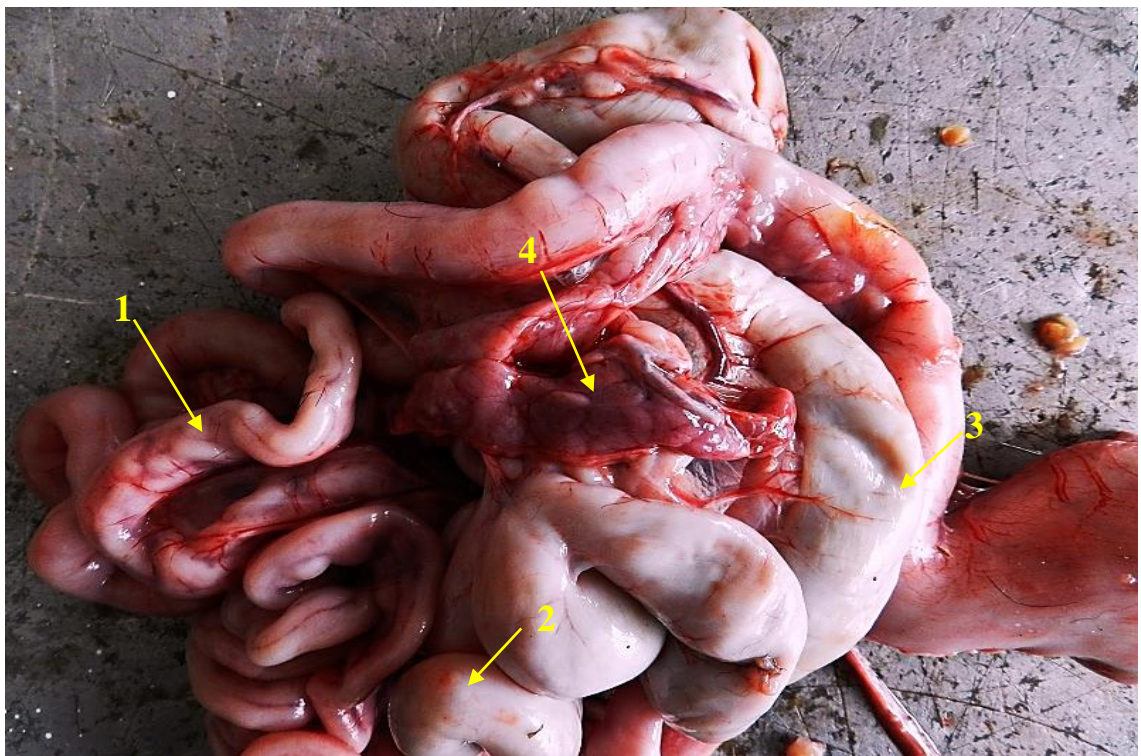


Рис. 6.3.3. Кишківник цуценяти, експериментально зараженого коронавірусом: 1 – незначна гіперемія тонкої кишки; 2 – не змінена сліпа кишка; 3 – не змінена ободова кишка; 4 – гіперемійована, набрякла підшлункова залоза.

Слизова оболонка набрякла, незначною мірою гіперемійована, вкрита густим, білим слизом, схожим на рисовий відвар (рис. 6.3.4).

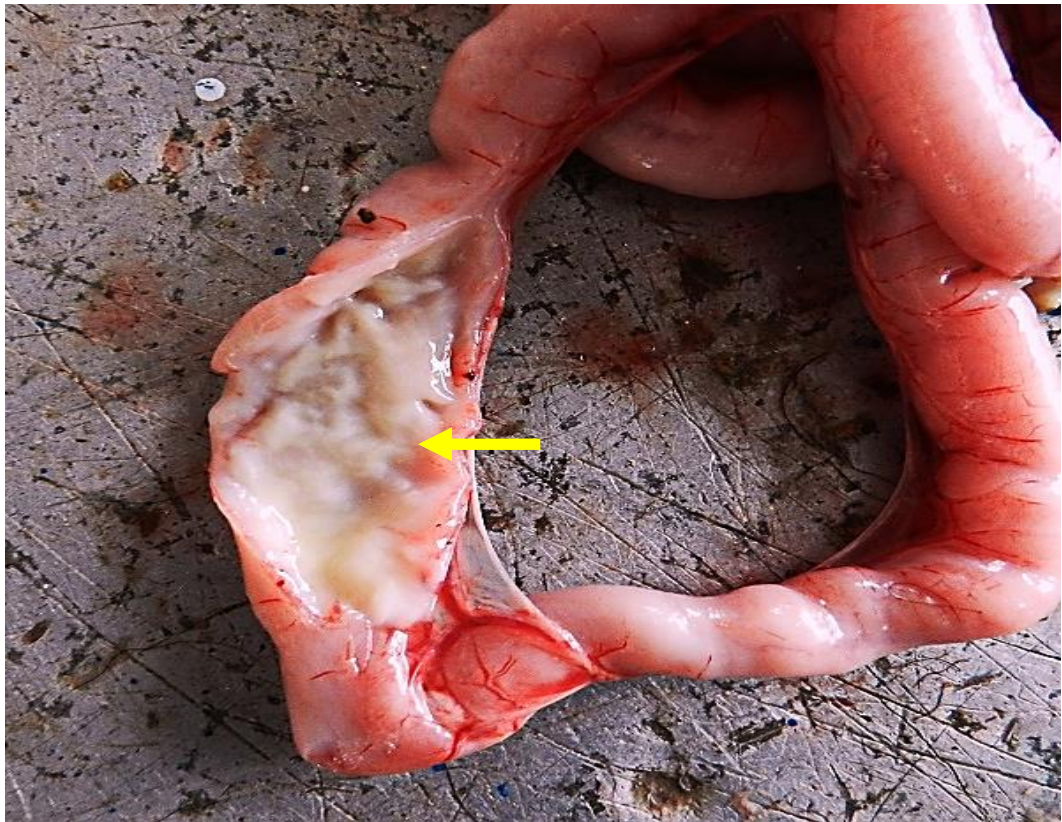


Рис. 6.3.4. Порожня кишка цуценяти, експериментально зараженого коронавірусом: густий, білий слиз, схожий на рисовий відвар на поверхні слизової оболонки (показано стрілкою).

У товстій кишці будь-яких макроскопічних змін не виявляли.

Підшлункова залоза в усіх цуценят була гіперемійована й виразно набрякла, внаслідок чого добре вирізнялася часточковість її будови (див. рис. 6.3.3).

Печінка збільшена, нерівномірно темно-червоного кольору (рис. 6.3.5), з поверхні розрізу виділялася темно-червона кров. *Жовчний міхур* був дещо розтягнутий жовтувато-зеленою розрідженою жовчю.

Макроскопічні зміни в *нирках*, як і аналогічні зміни у тонкій кишці, помітно відрізнялися від таких за спонтанної та експериментальної парвовірусної інфекції. Нирки з поверхні мали нерівномірний коричнюватий колір. На розрізі такий же колір мала вся кіркова речовина. Мозкова речовина

була нерівномірно синюшною. При цьому межа між кірковою й мозковою речовинами була досить виразною (рис. 6.3.6).

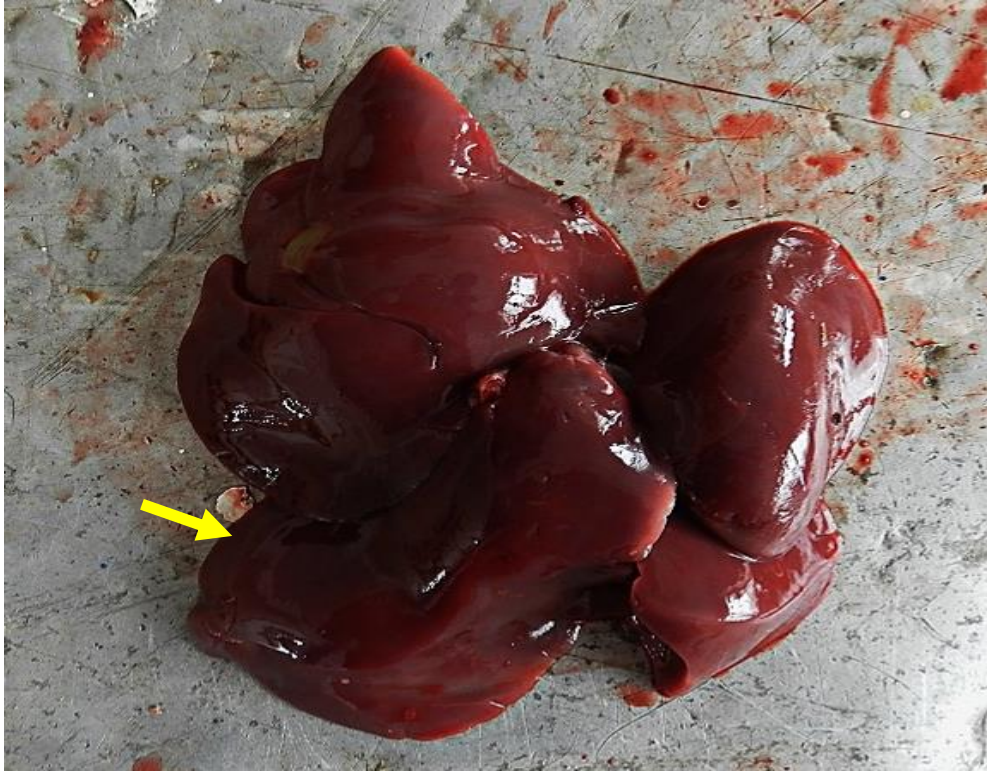


Рис. 6.3.5. Печінка цуценяти, експериментально зараженого коронавірусом: нерівномірний темно-червоний колір органа (показано стрілкою).

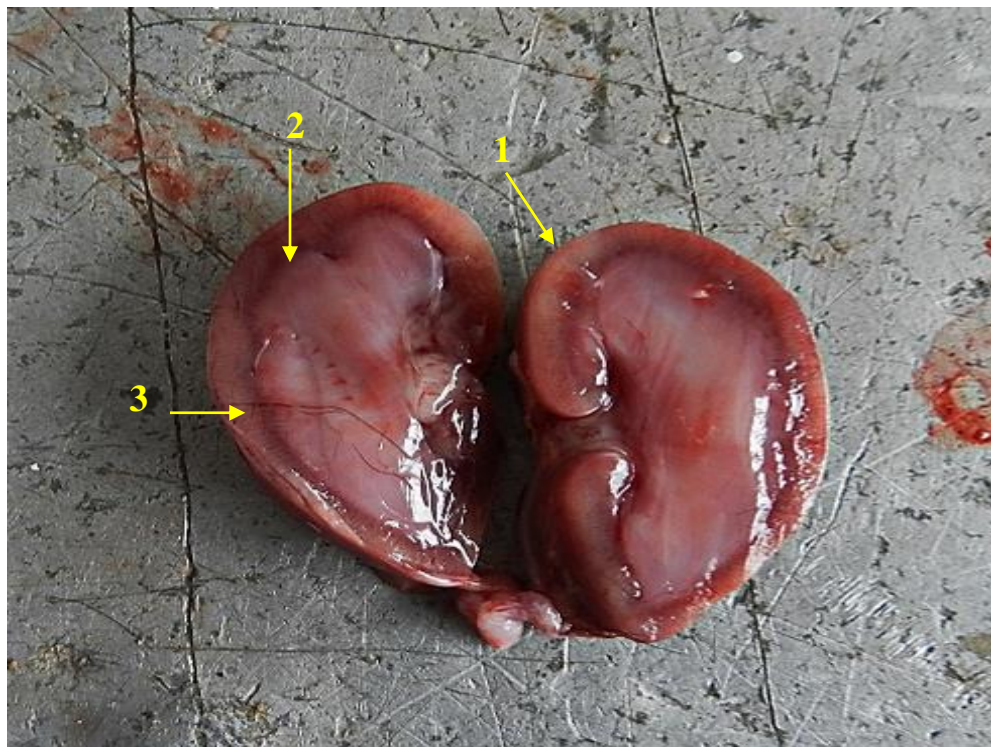


Рис. 6.3.6. Нирка цуценяти, експериментально зараженого коронавірусом: 1 – коричнюватий колір кіркової речовини; 2 – нерівномірна синюшність мозкової речовини; 3 – межа між кірковою й мозковою речовинами.

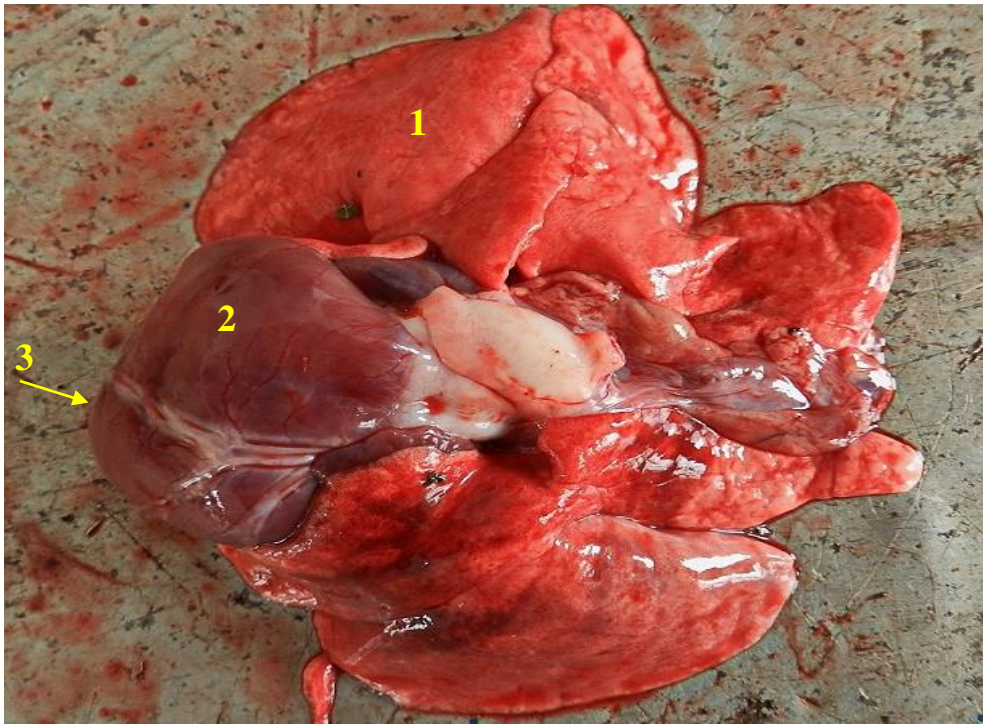


Рис. 6.3.7. Легені й серце цуценяти, експериментально зараженого коронавірусом: 1 – рожевий колір легень; 2 – нерівномірно забарвлений міокард з розширеними й переповненими кров'ю кровоносними судинами; 3 – притуплена верхівка серця.

Селезінка в усіх досліджених нами цуценят видимих змін не зазнала.

Серце мало округлу форму за рахунок виразного розширення правого шлуночка, рідше – всієї правої половини. Серцевий м'яз в'ялий, нерівномірно забарвлений – з ділянками сіруватого кольору, на яких м'язова тканина органу нагадувала ошпарене м'ясо. Кровоносні судини органу були виразно розширені, переповнені кров'ю (рис. 6.3.7).

Легені мали тістувату консистенцію, більш-менш рівномірне рожеве забарвлення (рис. 6.3.7). Консистенція органа була тістоподібною (ямка за натискання вирівнювалась повільно, або ж взагалі не вирівнювалась). Шматочки легень у воді плавали важко. З поверхні розрізу виділялась піниста рідина червонуватого кольору. Така ж рідина знаходилась у просвіті трахеї та великих бронхів.

Судини *головного та спинного мозку* і їх оболонки були виразно розширені, переповнені кров'ю. В інших органах і тканинах макроскопічних патологоанатомічних змін встановлено не було.

6.4. Мікроскопічні зміни у шлунково-кишковому тракті цуценят за експериментального зараження ізолятом коронавірусу, культивованим у гетерологічній культурі клітин

Під час проведення гістологічних досліджень *ш л у н к а* цуценят, експериментально заражених виділеним нами ізолятом коронавірусу, культивованим у гетерологічній культурі клітин, у слизовій оболонці кардіальної, фундальної, пілоричної і беззалозистої частин шлунка мікроскопічні зміни були відсутні. Гладкі м'язові клітини м'язової пластинки слизової оболонки перебували у стані зернистої дистрофії. Підслизова основа виразно набрякла. Спостерігали набухання, частковий лізис і фрагментацію пучків колагенових волокон. У м'язовій оболонці виявляли слабкий набряк і зернисту дистрофію гладких м'язових клітин (рис. 6.4.1).

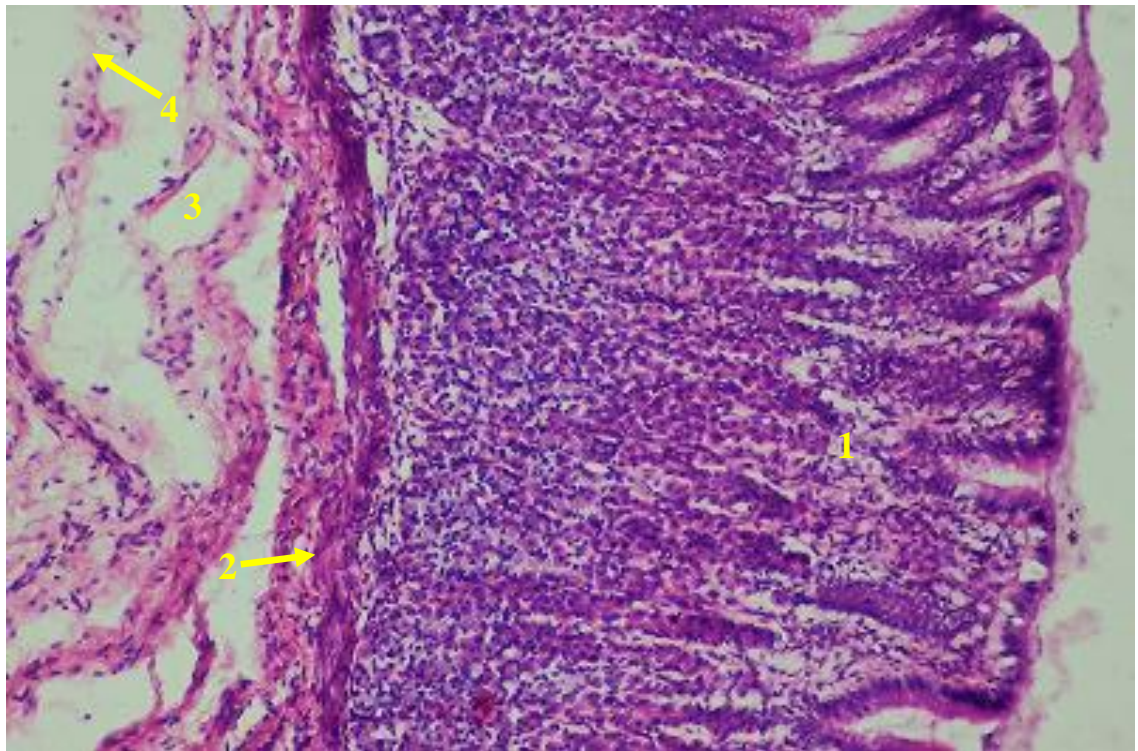


Рис. 6.4.1. Фундальна частина шлунка експериментально зараженого цуценяти: 1 – слизова оболонка; 2 – зерниста дистрофія гладких м'язових клітин м'язової пластини слизової оболонки; 3 – набряк підслизової основи, 4 – набухання, частковий лізис і фрагментація пучків колагенових волокон. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 50$.

У просвіті дванадцятипалої, порожньої та клубової кишок містилася досить невелика кількість клітинного детриту. При цьому, якщо в цуценят,

експериментально заражених виділеним нами ізолятом парвовірусу, також культивованим у гетерологічній культурі клітин, у просвіті тонкої кишки клітинний детрит переважав, а серед нього виявляли окремі фрагменти епітелію та напівзруйновані клітини, то за коронавірусу у просвіті тонкої кишки переважали досить великі пласти епітелію ворсинок (рис. 6.4.2), який мав такий же вигляд, як і на їх поверхні, а також досить великі фрагменти ворсинок з виразними мікроскопічними змінами в них (рис. 6.4.3).

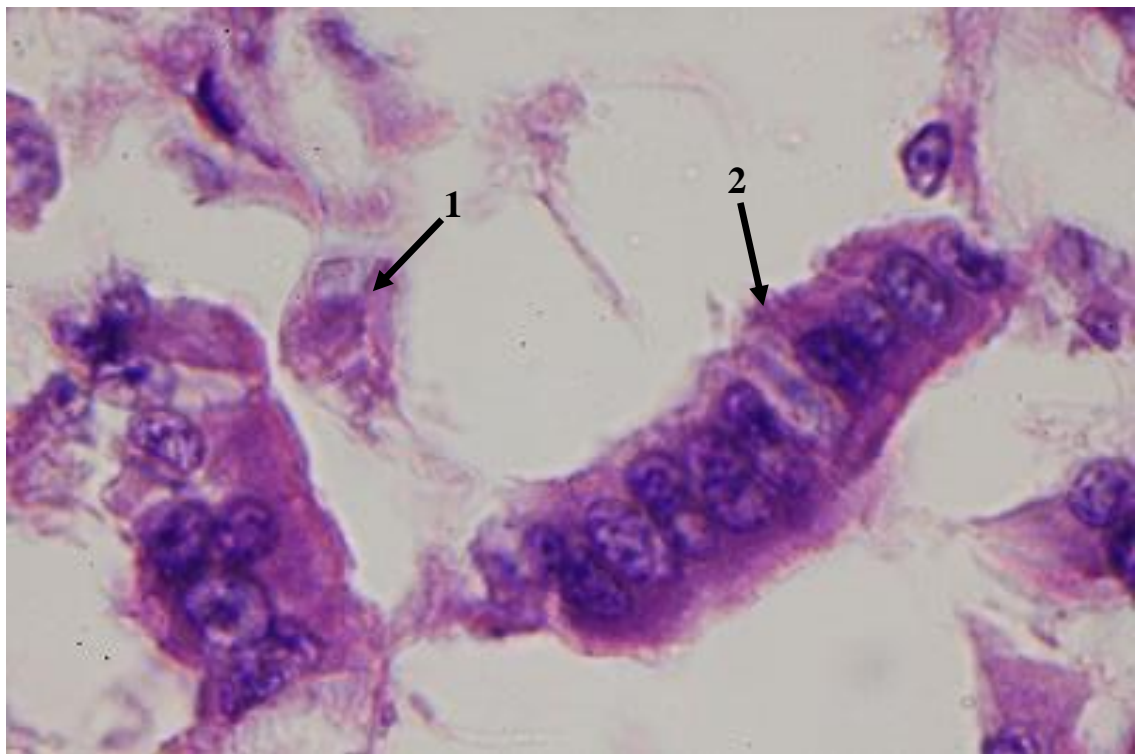


Рис. 6.4.2. Просвіт порожньої кишки експериментально зараженого цуценяти: 1 – клітинний детрит; 2 – фрагмент епітелію ворсинки. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 1000$.

За проведення гістохімічних досліджень у цитоплазмі ентероцитів, які знаходились у складі фрагментів ворсинок у просвіті тонкої кишки і які були менш зруйнованими, переважали основні білки. З наростанням ступеня руйнування ентероцитів в їх цитоплазмі накопичувалися зерна кислих білків (рис. 6.4.4). Враховуючи, що в цитоплазмі ентероцитів, які знаходились на поверхні ворсинок тонкої кишки, виявляли лише основні білки (рис. 6.4.5), слід зробити висновок, що руйнування ентероцитів ворсинок тонкої кишки цуценят,

експериментально заражених виділеним нами ізолятом коронавірусу, також культивованим у гетерологічній культурі клітин, відбувалось паралельно з накопиченням у їх цитоплазмі кислих білків.

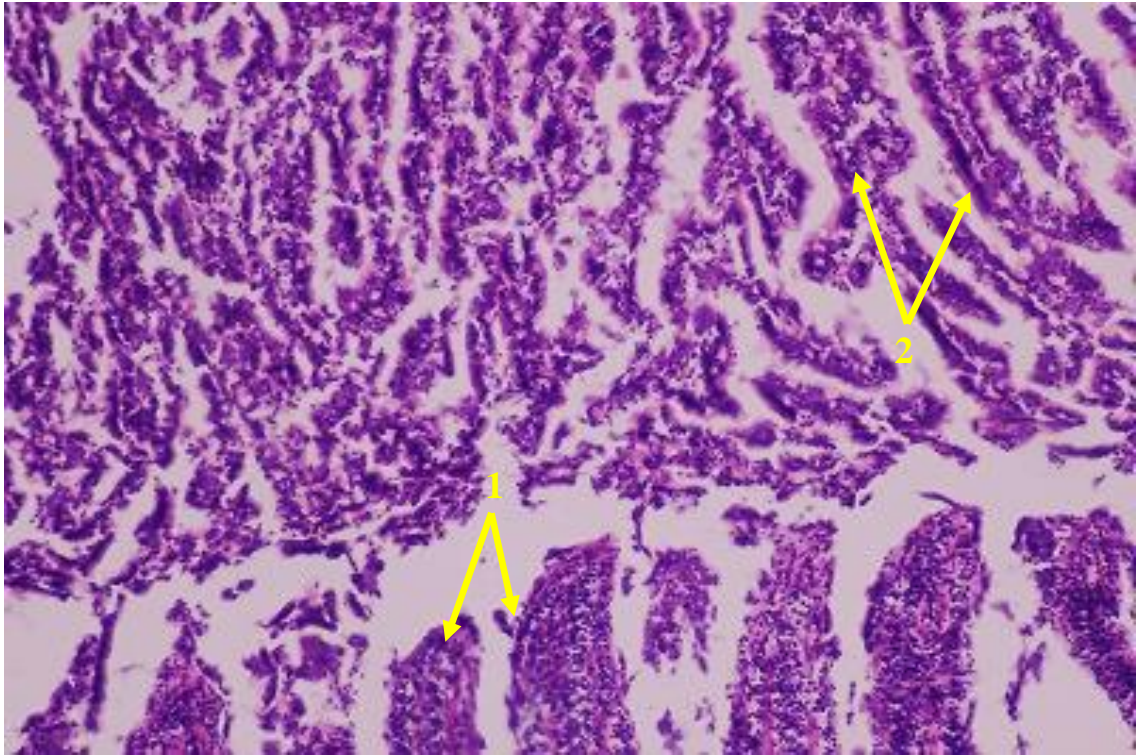


Рис. 6.4.3. Просвіт порожньої кишки експериментально зараженого цуценяти: 1 – ворсинки слизової оболонки; 2 – фрагменти ворсинок у просвіті. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 100$.

Мікроскопічні зміни ворсинок на різних ділянках тонкої кишки були дещо різними. На більшості ділянок дванадцятипалої, порожньої та клубової кишок ворсинки були частково або повністю зруйновані, внаслідок чого у слизовій оболонці виявляли тільки залишки ворсинок, або ж ворсинки взагалі були відсутні. У багатьох випадках поряд розташовані залишки ворсинок, які не були вкриті епітелієм, злипались одна з одною своїми верхівками та боковими поверхнями (рис. 6.4.6). Здебільшого спостерігали злипання двох поряд розташованих залишків ворсинок, але подекуди траплялося злипання трьох і більше поряд розташованих ворсинок. На поодиноких ділянках дванадцятипалої, порожньої та клубової кишок характер мікроскопічних змін був дещо іншим.

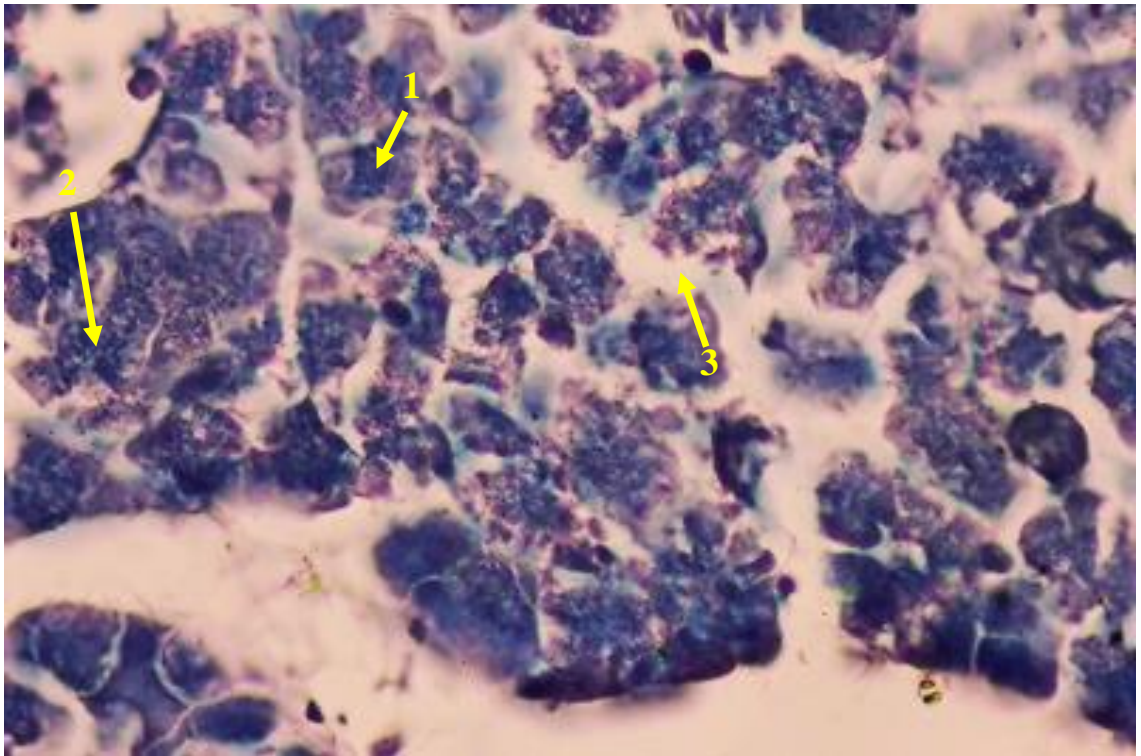


Рис. 6.4.4. Ентероцити на різних стадіях руйнування у просвіті порожньої кишки: 1 – переважання основних білків у цитоплазмі менш зруйнованого ентероцита; 2 – накопичення зерен кислих білків у цитоплазмі ентероцита; 3 – значне переважання кислих білків у цитоплазмі більш зруйнованого ентероцита. Метод Мікель-Кальво, $\times 1000$.

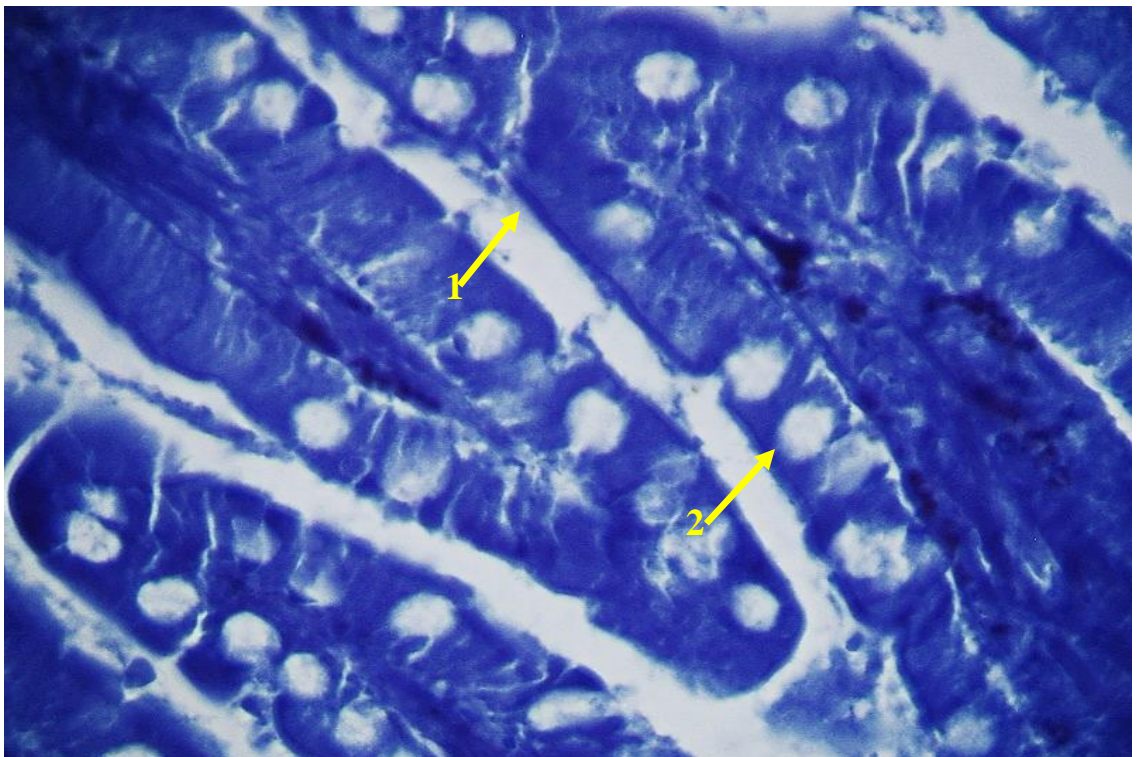


Рис. 6.4.5. Дванадцятипала кишка експериментально зараженого цуценяти: 1 – ентероцити на ворсинках; 2 – келихоподібна клітина. Метод Мікель-Кальво, $\times 1000$.

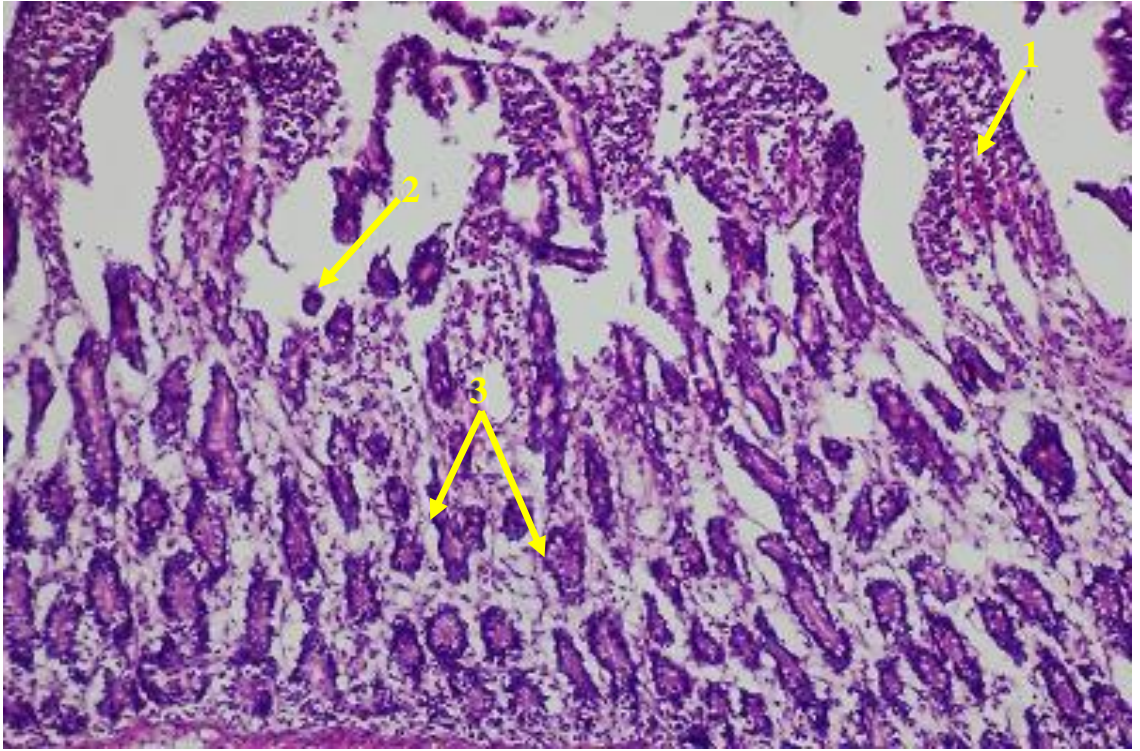


Рис. 6.4.6. Клубова кишка експериментально зараженого цуценяти: 1 – злипання залишків ворсинок слизової оболонки; 2 – відсутність ворсинок; 3 – крипти. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 100$.

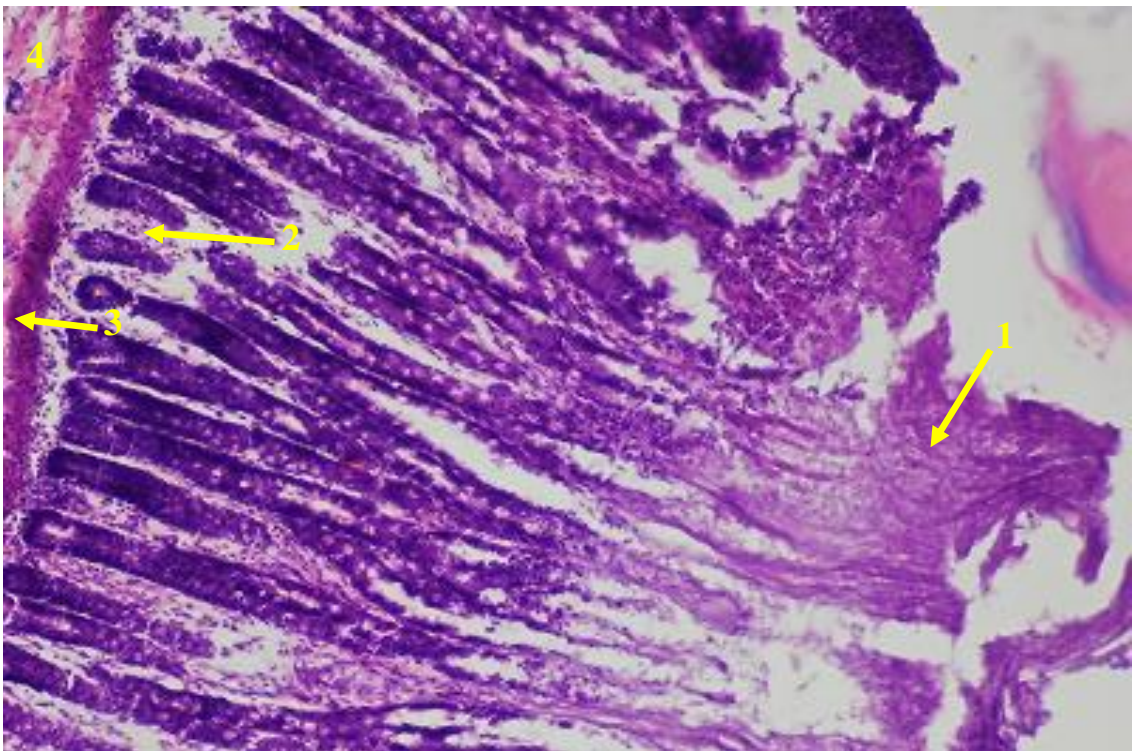


Рис. 6.4.7 Дванадцятипала кишка експериментально зараженого цуценяти: 1 – некроз верхівок ворсинок; 2 – набряк у ділянці крипт; 3 – зерниста дистрофія клітин м'язової пластинки слизової оболонки; 4 – набряк підслизової основи. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 100$.

Тут виявляли некроз (див. рис. 6.4.7) верхньої частини ворсинок, або ж – у невеликій кількості не вкорочені ворсинки зі збереженим епітелієм (рис. 6.4.8), не вкорочені ворсинки, на верхівках яких епітелій руйнувався (рис. 6.4.9), та ворсинки, верхня частина яких не була вкрита епітелієм (рис. 6.4.10).

У цитоплазмі частини ентероцитів у разі фарбування галлоціанін – хромовими галунами виявляли досить інтенсивно зафарбовані округлої форми плямки невеликих розмірів, які чітко виділялися на загальному фоні зафарбовування цитоплазми (див. рис. 6.4.8).

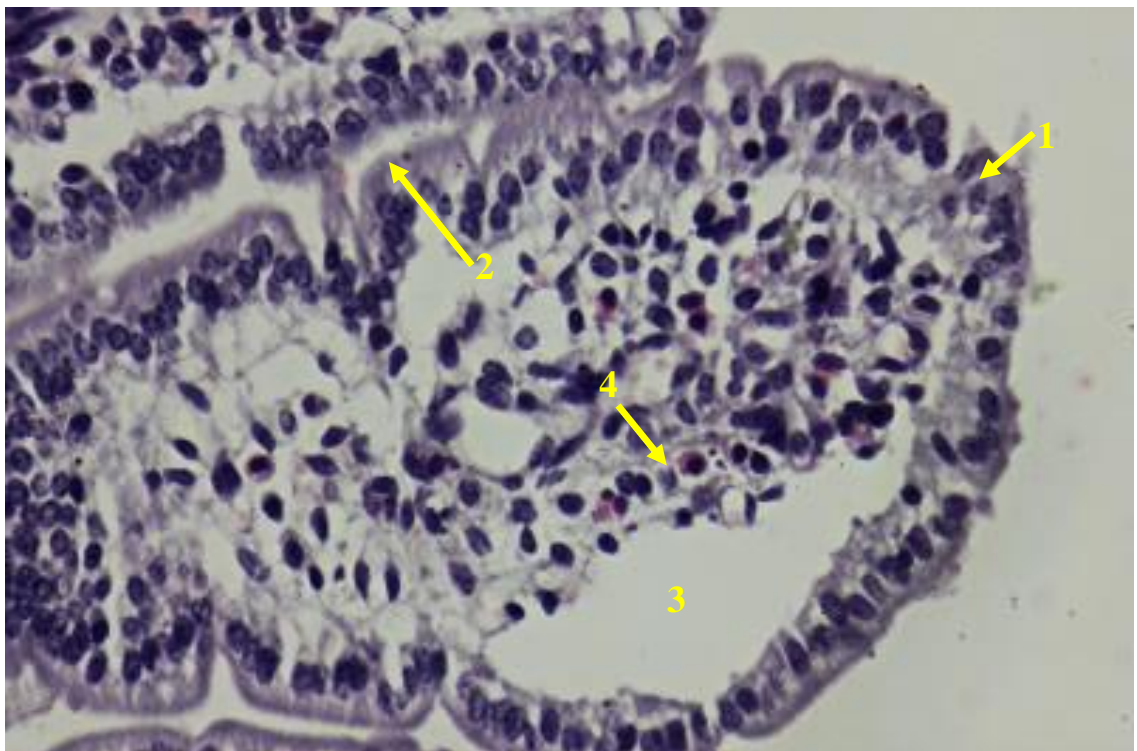


Рис. 6.4.8. Порожня кишка експериментально зараженого цуценяти: 1 – не вкорочена ворсинка зі збереженим епітелієм; 2 – вогнищеве щільне скупчення нуклеїнових кислот у цитоплазмі ентероцита; 3 – субепітеліальний набряк з деформацією ворсинки; 4 – тучна клітина. Галлоціанін – хромові галуни, $\times 200$.

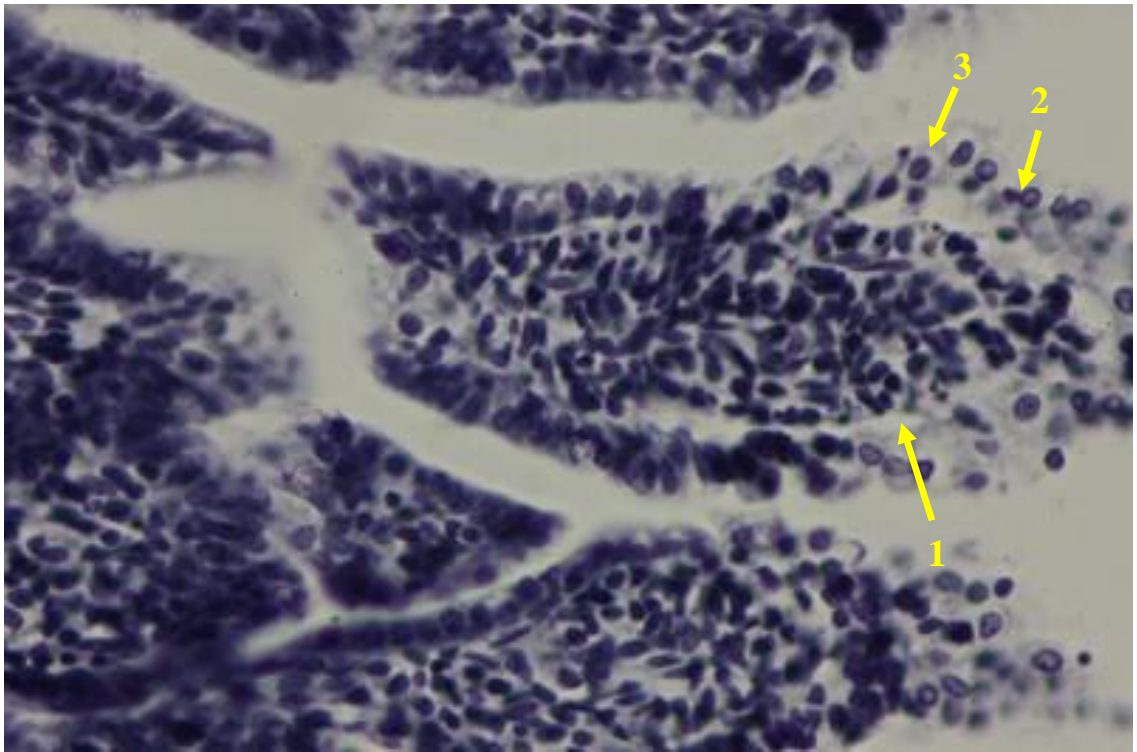


Рис. 6.4.9. Порожня кишка експериментально зараженого цуценяти: 1 – не вкорочена ворсинка з руйнуванням епітелію на верхівці; 2 – зменшення вмісту ДНК в ядрі ентероцита, що руйнується; 3 – зменшення вмісту РНК в цитоплазмі ентероцита, що руйнується. Галлоціанін – хромові галуни, $\times 200$.

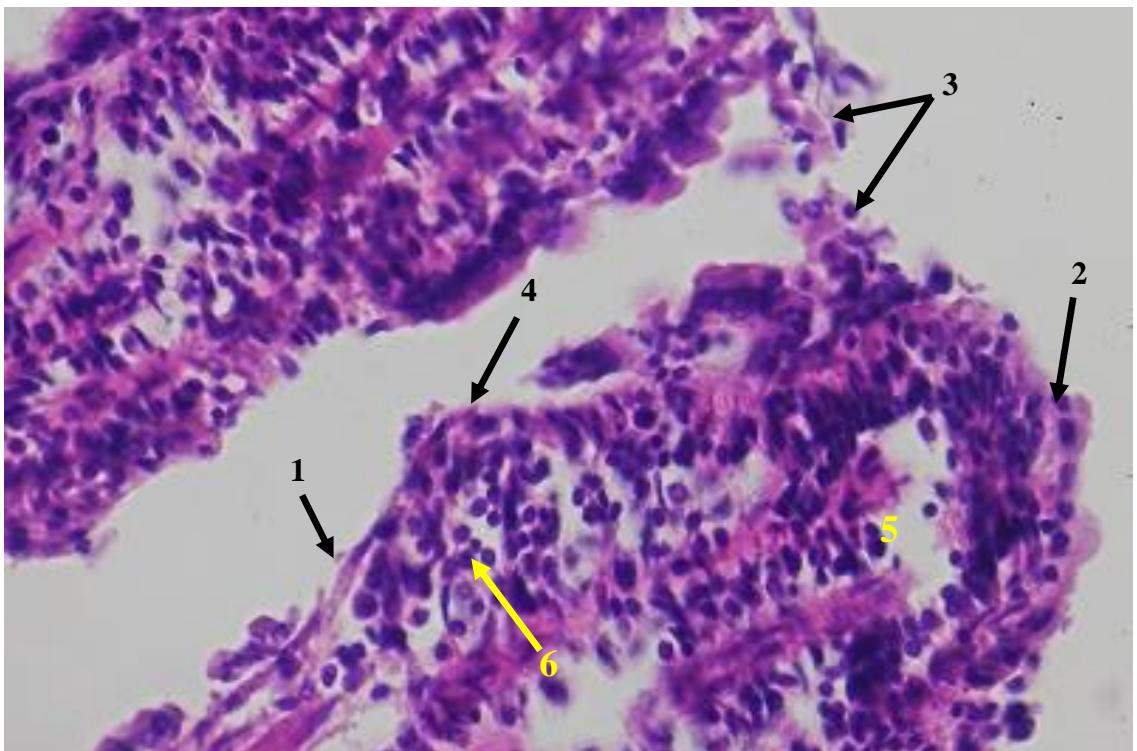


Рис. 6.4.10. Ворсинки клубової кишки експериментально зараженого цуценяти: 1 – відсутність епітеліоцитів на боковій поверхні ворсинки; 2 – епітелій на поверхні ворсинки; 3 – руйнування епітелію ворсинок; 4 – ділянка деформації ворсинки; 5 – набряк стріми; 6 – лімфоцити у стрімі ворсинки. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 400$.

Оскільки під час зафарбовування галлоціан – хромовими галунами барвник специфічно зв'язується з нуклеїновими кислотами (ДНК і РНК) у стехеометричних співвідношеннях, такі вогнищеві щільні скупчення нуклеїнової кислоти, де концентрація останньої значно перевищувала звичайний уміст нуклеїнової кислоти в цитоплазмі, могли являти собою місце скупчення нуклеїнової кислоти коронавірусу.

Слід також зазначити, що у разі зафарбовування гістологічних зрізів тонкої кишки гематоксиліном і еозином в апікальній та середній частині цитоплазми поодиноких ентероцитів ворсинок виявлено базофільні тільця-включення (рис. 6.4.11).

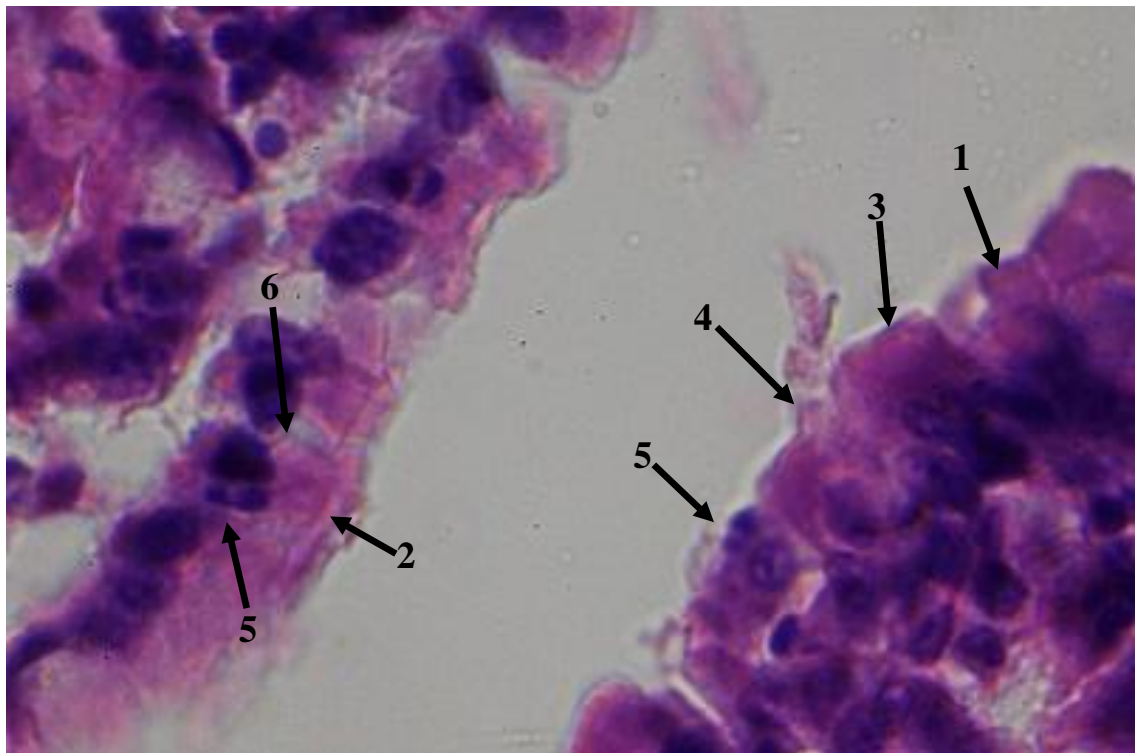


Рис. 6.4.11. Ворсинки клубової кишки експериментально зараженого цуценяти: 1 – зерниста дистрофія ентероцитів на ворсинці; 2 – посмугована облямівка дистрофічно змінених ентероцитів; 3 – відсутність посмугової облямівки дистрофічно змінених ентероцитів; 4 – руйнування апікальної частини цитоплазми дистрофічно зміненого ентероцита; 5 – базофільні тільця-включення в цитоплазмі дистрофічно змінених ентероцитів; 6 – дисконтакція поряд розташованих ентероцитів. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 1000$.

Такі тільця-включення спостерігали у клітинах, що мали добре збережені ядра, а тому не могли являти собою фрагменти ядер, які утворюються за їх розпаду.

Відомо, що, по-перше, реплікація коронавірусу собак відбувається в цитоплазмі інфікованих ним клітин, а по-друге – що даний вірус розмножується в епітеліальних клітинах саме ворсинок тонкої кишки [341, 394, 395, 514, 577].

З огляду на це, можна було б припустити, що такі внутрішньо цитоплазматичні базофільні тільця-включення утворюються внаслідок інфікування ентероцитів ворсинок збудником хвороби і вірогідно являють собою його вірусореплікативний комплекс. Проте, з одного боку, такі тільця-включення нами були знайдені лише в поодиноких ентероцитах ворсинок, що не відповідає загальній кількості дистрофічно змінених і зруйнованих клітин, а з другого боку – у доступній літературі ми не знайшли повідомлень про утворення в інфікованих коронавірусом собак клітинах внутрішньо цитоплазматичних базофільних тілець-включень.

Для остаточного з'ясування природи таких тілець-включень необхідне проведення подальших досліджень із застосуванням методів імуногістохімії та електронної мікроскопії.

Під час проведення гістохімічних досліджень нами також було встановлено, що в цитоплазмі та ядрі ентероцитів, які руйнувалися на ворсинках тонкої кишки, істотно зменшувався вміст ДНК і РНК (див. рис. 6.4.9).

У ворсинок, в яких верхня частина не була вкрита епітелієм (див. рис. 6.4.10), останній зазвичай був частково відсутній як на верхівках, так і на бокових поверхнях ворсинок. Епітеліоцити ворсинок здебільшого перебували у стані зернистої дистрофії (див. рис. 6.4.11). При цьому в одних дистрофічно змінених ентероцитів ворсинок посмугована облямівка зберігалась, а в інших була відсутня, що свідчить про суттєве спрощення їх клітинних мембран. У поодиноких ентероцитів ворсинок реєструвалось руйнування апікальної частини цитоплазми. Крім перерахованих вище змін, у частині випадках

спостерігали дисконтаксацію поряд розташованих ентероцитів з ознаками зернистої дистрофії (див. рис. 6.4.11), що вказує на значні порушення клітинних контактів.

Гістохімічними методами нами також було встановлено, що на залишках ворсинок тонкої кишки помітні такі ж гіперсекреція та виснаження келихоподібних клітин, як і в тонкій кишці цуценят, експериментально заражених виділенням нами ізолятом парвовірусу, культивованим у гетерологічній культурі клітин (рис. 6.4.12). З цього можна зробити висновок, що подібна гіперсекреція слизу келихоподібними клітинами є одним із захисних механізмів у тонкій кишці принаймні за різних вірусних ентеритів, а в разі достатньо тривалої кишкової вірусної інфекції з часом настає виснаження цієї системи неспецифічного імунітету.

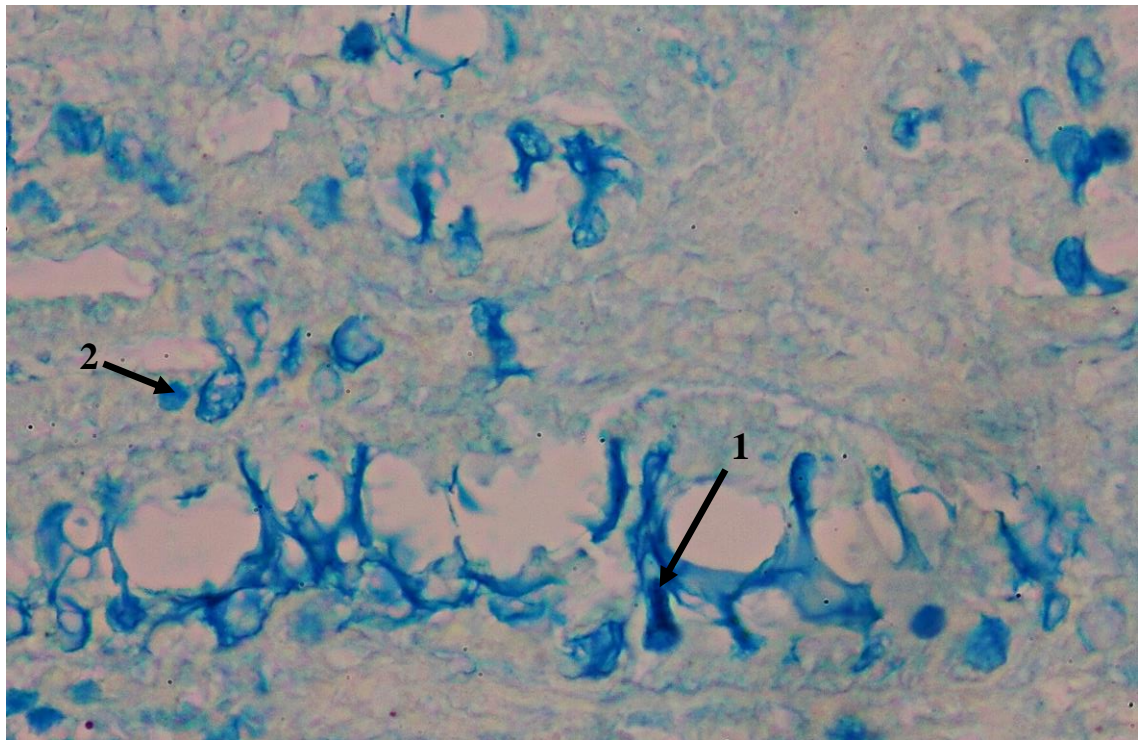


Рис. 6.4.12. Ворсинки дванадцятипалої кишки експериментально зараженого цуценяти: 1 – гіперсекреція келихоподібної клітини; 2 – нерівномірне зафарбовування секрету келихоподібної клітини. Альціановий синій рН 2,5, $\times 1000$.

Крім того, за постановки ШЙК-реакції привернули увагу декілька моментів. По-перше, у цитоплазмі ентероцитів ворсинок суттєво зменшувався вміст вуглеводних сполук (рис. 6.2.13), що, на нашу думку, свідчить про

енергетичне виснаження цих клітин. По-друге, спостерігали виразне просочування базальної мембрани епітелію ворсинок вуглеводневими сполуками (див. рис. 6.4.13). Враховуючи відсутність подібних змін під час зафарбовування зрізів з різних ділянок тонкої кишки альціановим синім за рН 1,0 і 2,5 (див. рис. 6.4.12), ми зробили висновок, що за дії відтвореної нами експериментально коронавірусної інфекції відбувається мукоїдне набрякання базальної мембрани епітелію тонкої кишки нейтральними мукоїдними речовинами. По-третє, експериментальний коронавірусний ентерит призводив до накопичення ШЙК-позитивних речовин у просвіті кишки між ворсинками. Серед цих ШЙК-позитивних речовин виявляли інтенсивно зафарбовані ШЙК-позитивні гранули у просвіті кишки між ворсинками (див. Рис. 6.4.13).

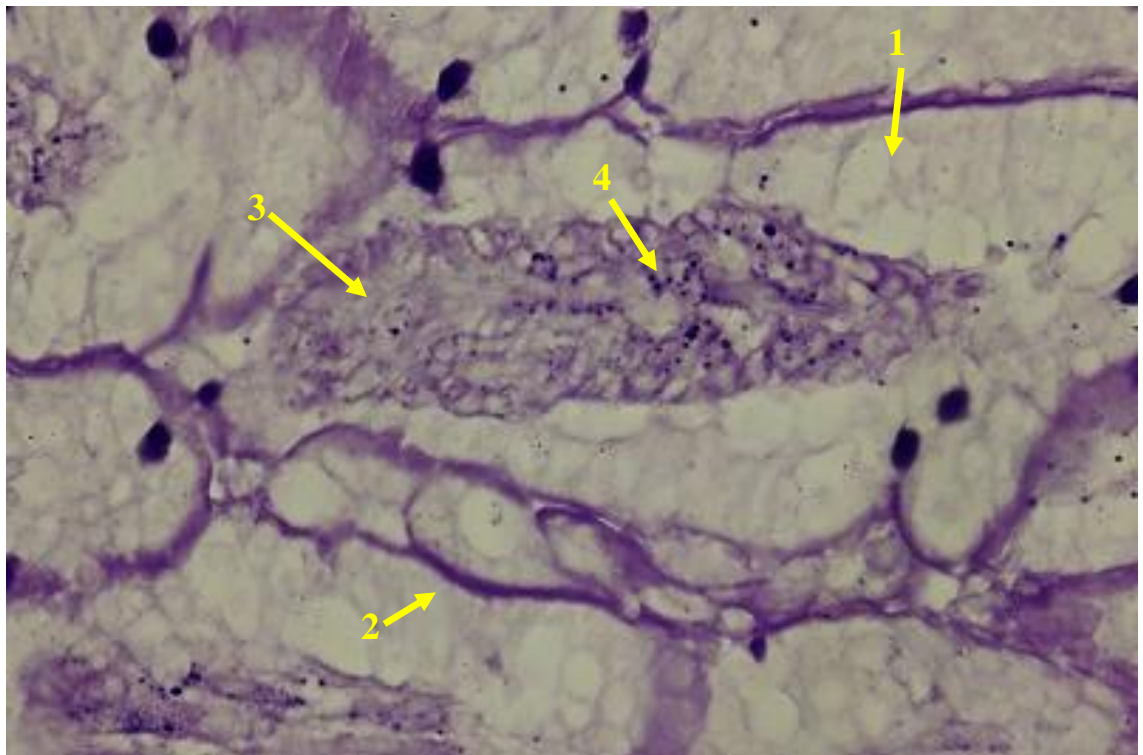


Рис. 6.4.13. Ворсинки клубової кишки експериментально зараженого цуценяти: 1 – зменшення вмісту ШЙК-позитивних речовин у цитоплазмі ентероцитів; 2 – просочення базальної мембрани епітелію ШЙК-позитивними речовинами; 3 – накопичення ШЙК-позитивних речовин у просвіті кишки між ворсинками; 4 – інтенсивно зафарбовані ШЙК-позитивні гранули у просвіті кишки між ворсинками. ШЙК-реакція, $\times 1000$.

Строма ворсинок тонкої кишки була нерівномірно набряклою – в одній і тій самій ворсинці здебільшого виявляли ділянки незначного набряку стромы, помірного її та надзвичайно виразного набряку (див. рис. 6.4.8; 6.4.10; рис. 6.4.14), що призводило до помітної деформації ворсинок.

В одних випадках епітелій у ділянках набряку стромы ворсинок був відсутній, в інших – ентероцити у таких ділянках мали ознаки зернистої (див. рис. 6.4.10), рідше – гідропічної (див. рис. 6.4.14) дистрофії.

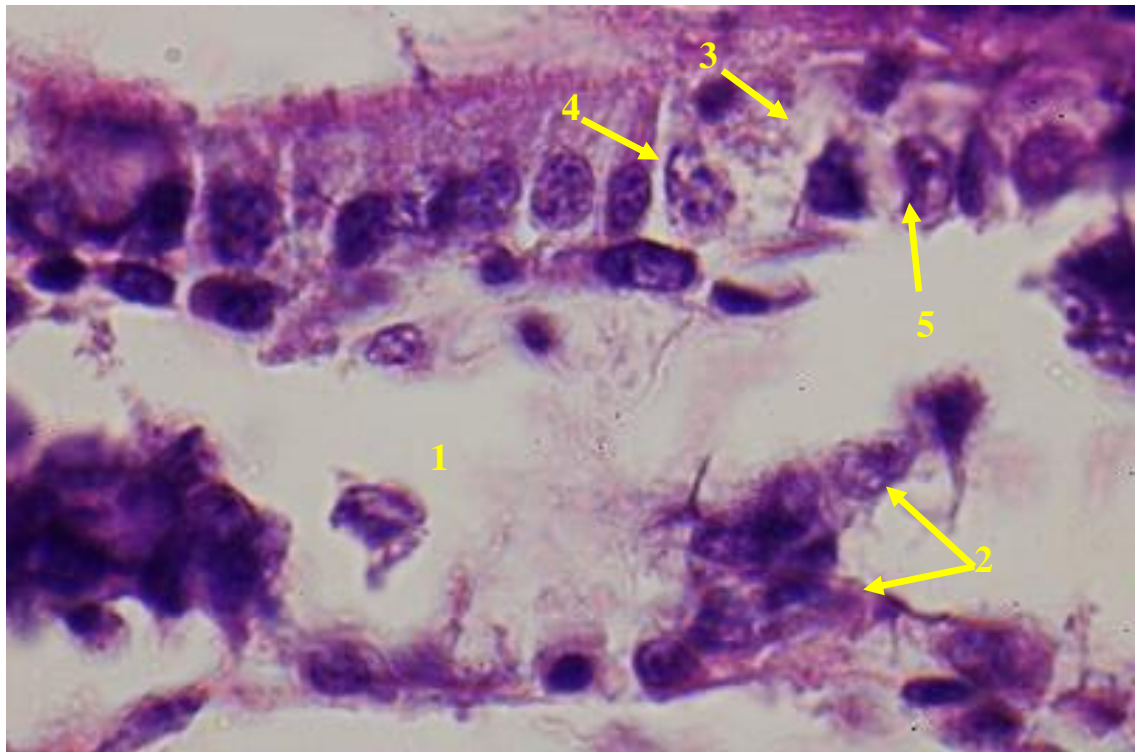


Рис. 6.4.14. Ворсинка дванадцятипалої кишки експериментально зараженого цуценяти: 1 – набряк стромы; 2 – некроз, руйнування та лізис клітин стромы; 3 – лізис цитоплазми ентероцита; 4 – частковий лізис ядра ентероцита; 5 – деформація ядра ентероцита. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 1000$.

Гідропічна дистрофія призводила до прогресивного лізису цитоплазми та деформації ядер ентероцитів, інколи – до часткового лізису ядра.

У ділянках набряку стромы спостерігали некроз, руйнування та лізис її клітин (див. рис. 6.4.14). Поряд з цим, строма усіх без винятку ворсинок тонкої кишки була нерівномірно інфільтрована лімфоцитами (див. рис. 6.4.10).

У цуценят, експериментально заражених виділенням нами ізолятом коронавірусу, культивованим у гетерологічній культурі клітин, виразні

мікроскопічні зміни у тонкій кишці також були встановлені в ділянці крипт. Як і в випадку ворсинок, такі зміни на різних ділянках тонкої кишки були дещо різними. Ця різниця мікроскопічних змін крипт не мала будь-якої помітної закономірності щодо різних ділянок тонкої кишки. Проте ступінь змін крипт чітко корелював зі ступенем змін у ворсинках – чим більш зруйнованими були ворсинки, тим більш вагомими були мікроскопічні зміни в їх криптах. На ділянках тонкої кишки, де ворсинки були досить добре збереженими виявляли зернисту дистрофію ентероцитів крипт, що супроводжувалась помірним набряком слизової оболонки в ділянці крипт (див. рис. 6.4.6). На ділянках, де помітно більш виразне руйнування ворсинок, у криптах спостерігали зернисту дистрофію ентероцитів, виразний субепітеліальний набряк та руйнування частини епітеліальних клітин (рис. 6.4.15). На тих ділянках тонкої кишки, де руйнування ворсинок було найбільшим, зернисту дистрофію виявляли лише у деяких ентероцитів крипт. Переважна більшість епітеліальних клітин перебувала на різних стадіях гідропічної дистрофії. При цьому процес починався з часткового лізису цитоплазми клітин, що перебували у стані зернистої дистрофії. Зазвичай лізис цитоплазми починався в базальній частині ентероцитів крипт (рис. 6.4.16).

Слід зазначити, що навіть за майже повного лізису цитоплазми тонка смужка її апікальної ділянки в більшості випадків не лізувалась, а перебувала у стані зернистої дистрофії (рис. 6.4.17). У ядрах більшості ентероцитів крипт, які перебували у стані гідропічної дистрофії, спостерігали частковий або майже повний лізис хроматину, як функціонально неактивного гетерохроматину, так і функціонально активного еухроматину. В останньому випадку у клітині виявляли ядерну оболонку, нерідко частково зруйновану, всередині якої знаходилась невелика кількість хроматину, що дуже блідо зафарбовувався гематоксиліном (див. рис. 6.4.17). Частина ентероцитів крипт, які перебували у стані гідропічної дистрофії, руйнувалась.

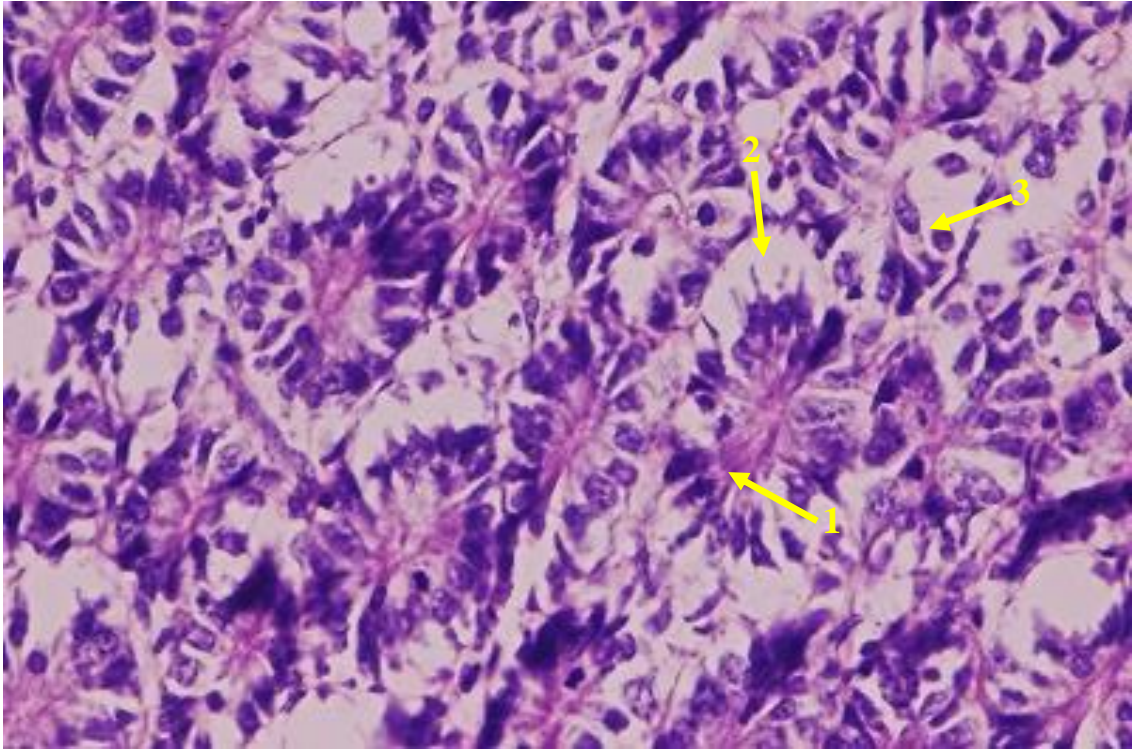


Рис. 6.4.15. Крипти порожньої кишки експериментально зараженого цуценяти: 1 – зерниста дистрофія ентероцитів крипт; 2 – субепітеліальний набряк; 3 – руйнування ентероцитів крипт. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 1000$.

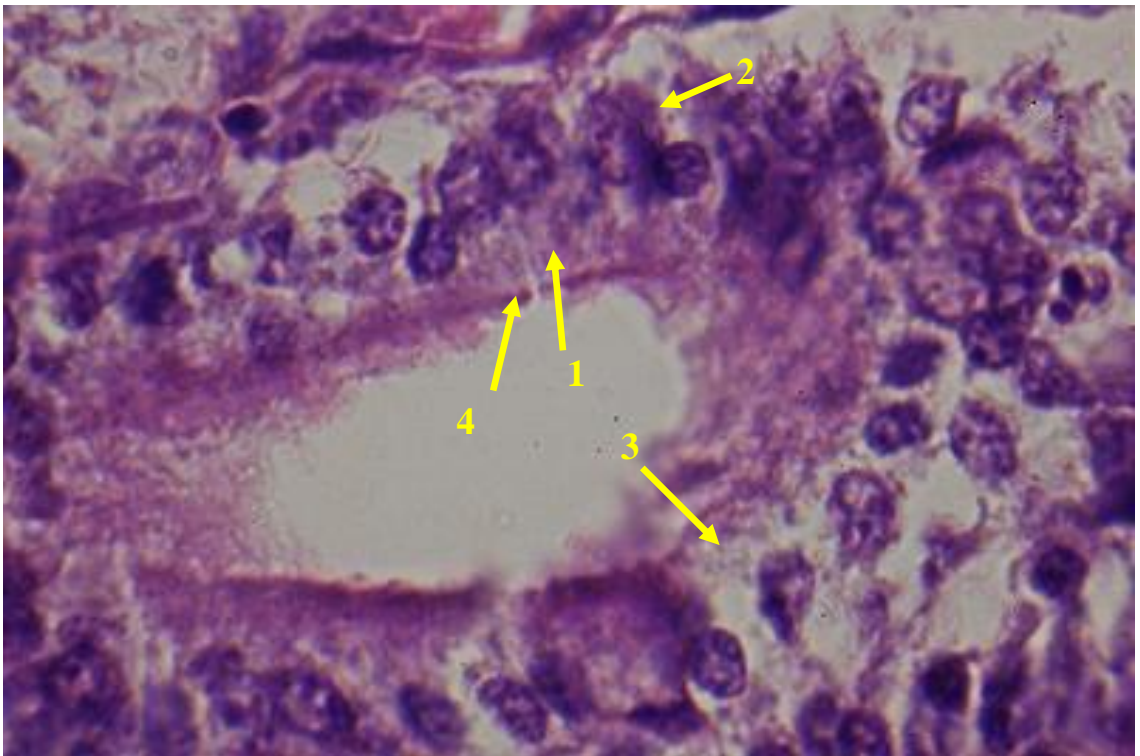


Рис. 6.4.16. Крипта дванадцятипалої кишки експериментально зараженого цуценяти: 1 – зерниста дистрофія ентероцита; 2 – частковий лізис цитоплазми ентероцита; 3 – ентероцит у стані гідропічної дистрофії; 4 – дисконкомплексція поряд розташованих ентероцитів. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 1000$.

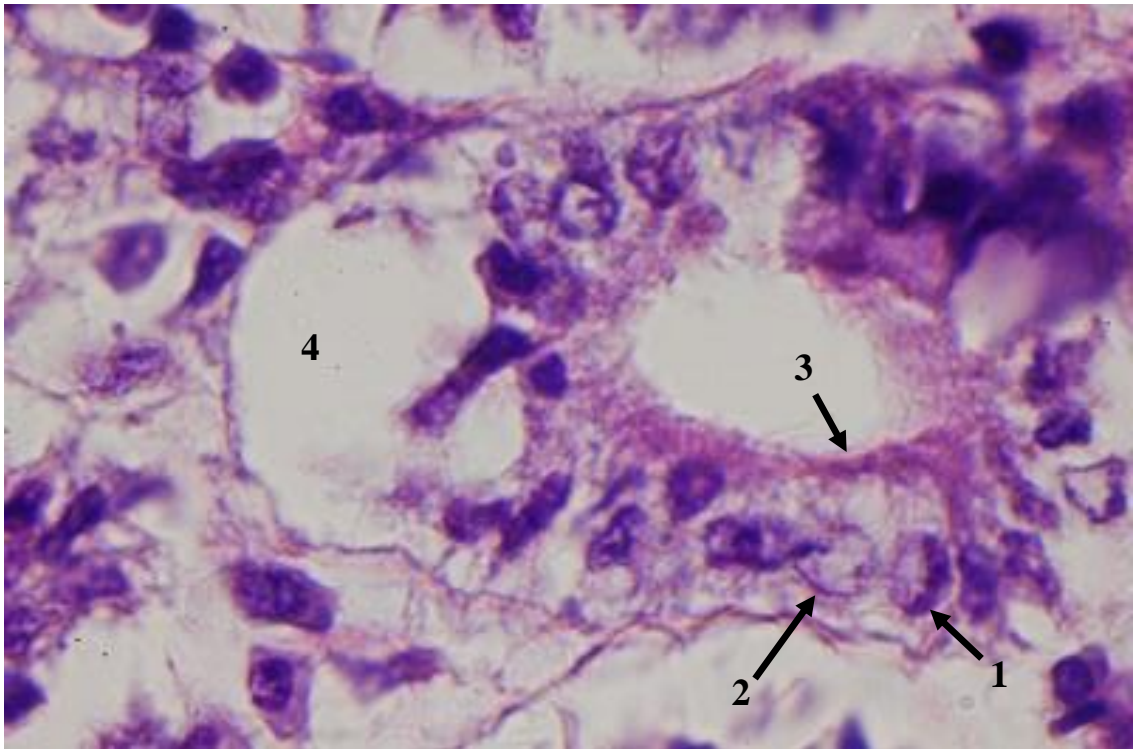


Рис. 6.4.17. Крипта клубової кишки експериментально зараженого цуценяти: 1 – частковий лізис хроматину ядра в ентероциті у стані гідропічної дистрофії; 2 – майже повний лізис хроматину ядра в ентероциті у стані гідропічної дистрофії; 3 – апікальна цитоплазма ентероцитів у стані гідропічної дистрофії; 4 – субепітеліальний набряк. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 1000$.

Гладкі м'язові клітини м'язової пластинки слизової оболонки в усіх ділянках тонкої кишки перебували у стані зернистої дистрофії (див. рис. 6.4.6). У підслизовій основі в усіх відділах тонкої кишки мікроскопічні зміни були подібними. Спостерігали розширення й переповнення кров'ю кровоносних судин, помірний набряк цієї оболонки (див. рис. 6.4.6), а також набухання, розволокнення та фрагментацію пучків колагенових волокон. У дванадцятипалій кишці, крім того, виявлено розширення й гіпертрофію дуоденальних залоз. Внаслідок таких змін місцями ці залози помітно випинались у слизову оболонку (рис. 6.4.18).

Подібні мікроскопічні зміни дуоденальних залоз у цуценят, експериментально інфікованих ізолятом парвовірусу, культивованим у гетерологічній культурі клітин, нами встановлені не були.

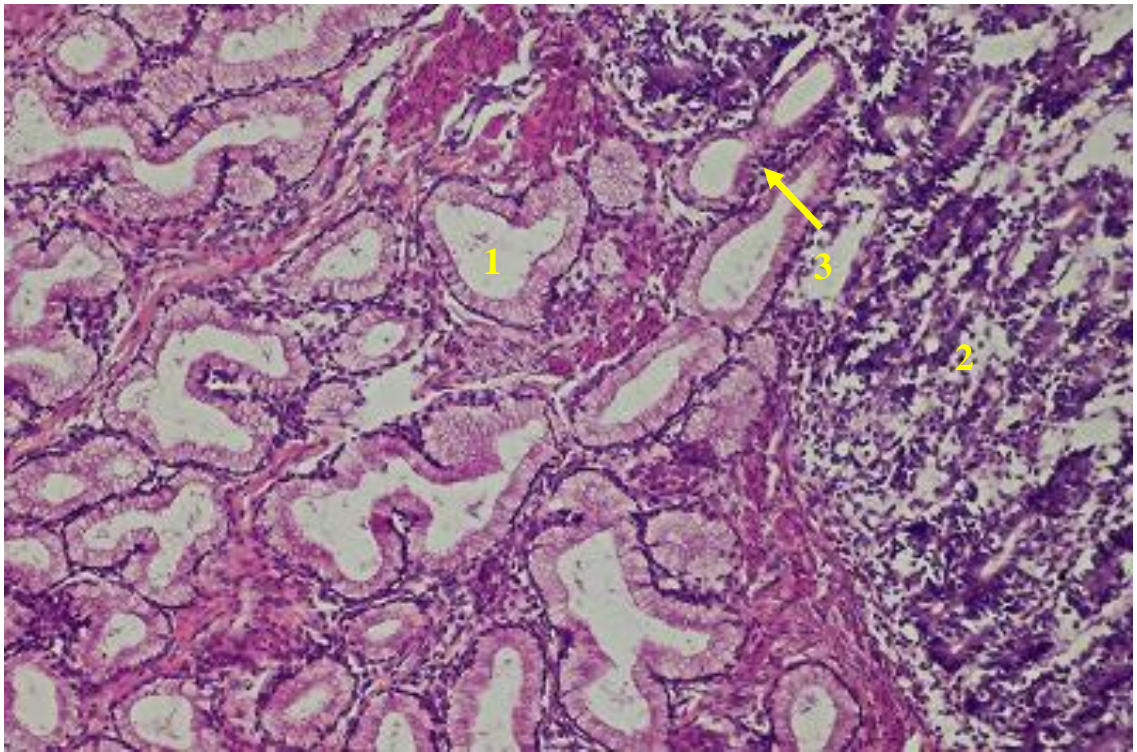


Рис. 6.4.18. Дуоденальні залози дванадцятипалої кишки експериментально зараженого цуценяти: 1 – гіпертрофована залоза; 2 – слизова оболонка; 3 – випинання дуоденальних залоз у слизову оболонку. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 50$.

У порожній і клубовій кишках виявляли гіперплазію та гіпертрофію поодиноких і скупчених лімфоїдних вузликів. Проте, хоча розміри цих вузликів порівняно з аналогічними утвореннями у контрольних собак і були збільшеними, лімфоцити в них розташовувалися розріджено (рис. 6.4.19).

Мікроскопічні зміни м'язової оболонки також були однаковими на усіх ділянках тонкої кишки. Ці зміни були помітно менш суттєвими, ніж у цуценят, експериментально інфікованих ізолятом парвовірусу, культивованим у гетерологічній культурі клітин.

У внутрішньому шарі м'язової оболонки спостерігали зернисту дистрофію гладких м'язових клітин та руйнування поодиноких дистрофічно змінених клітин (рис. 6.4.20). Місцями, зазвичай поблизу від зовнішнього шару цієї оболонки, виявляли порожнини різного розміру та форми, які, на нашу думку, утворювались внаслідок нерівномірного набряку цього внутрішнього шару (рис. 6.4.21).

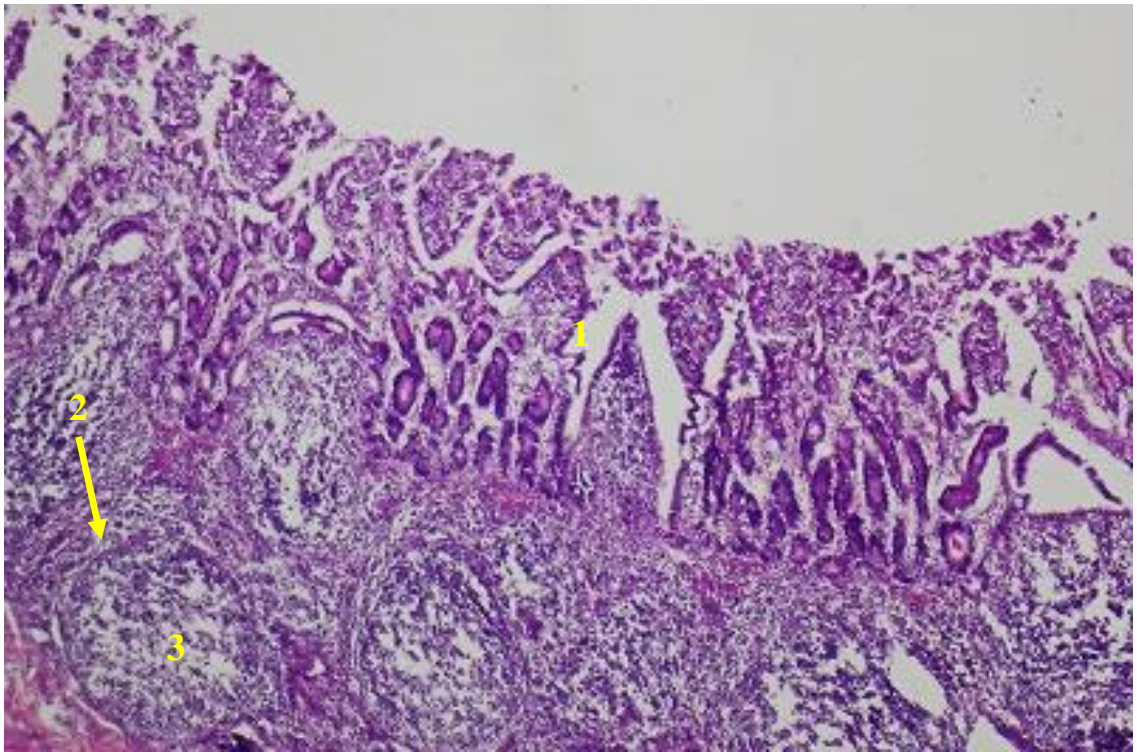


Рис. 6.4.19. Клубова кишка експериментально зараженого цуценяти: 1 – слизова оболонка; 2 – гіпертрофований лімфоїдний вузлик; 3 – розріджене розташування лімфоцитів у гіпертрофованому лімфоїдному вузлику. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 50$.

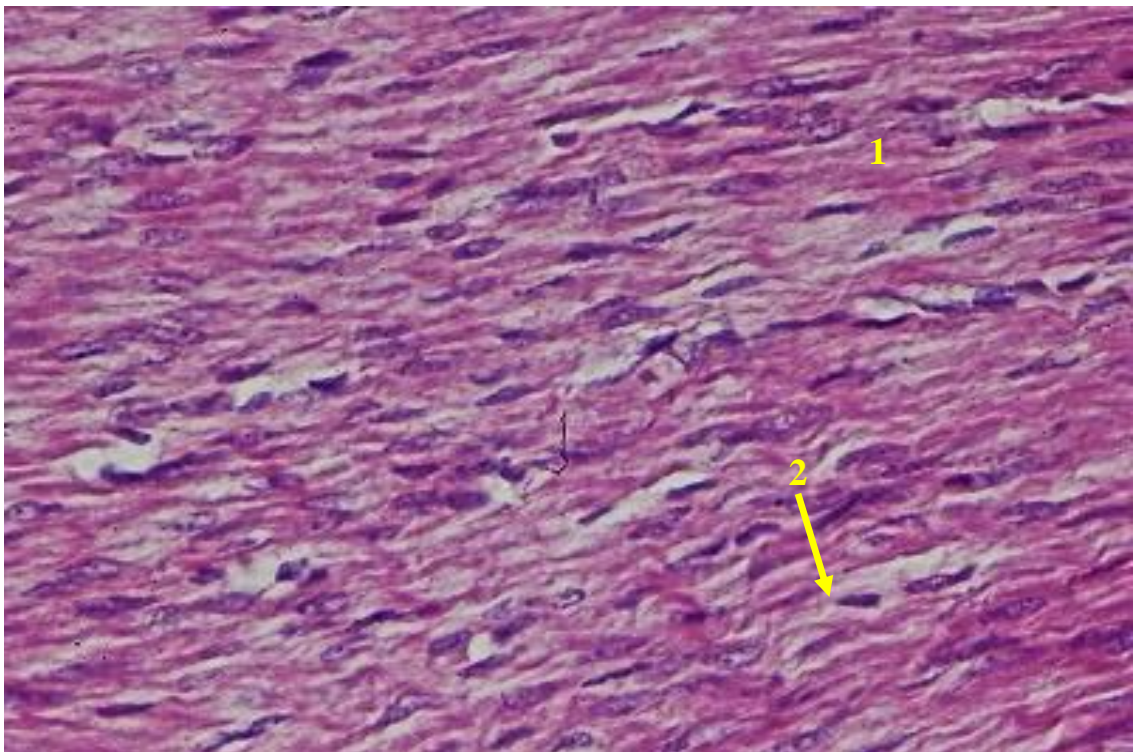


Рис. 6.4.20. Внутрішній шар м'язової оболонки дванадцятипалої кишки експериментально зараженого цуценяти: 1 – зерниста дистрофія гладких м'язових клітин; 2 – руйнування гладкої м'язової клітини. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 400$.

У зовнішньому шарі м'язової оболонки мікроскопічні зміни були дещо більш вагомими, ніж у внутрішньому. Крім зернистої дистрофії гладких м'язових клітин тут виявляли дифузний набряк та руйнування не поодиноких дистрофічно змінених клітин гладких м'язових клітин, а цілих їх груп (див. рис. 6.4.21). У серозній оболонці тонкої кишки мікроскопічних змін встановлено не було.

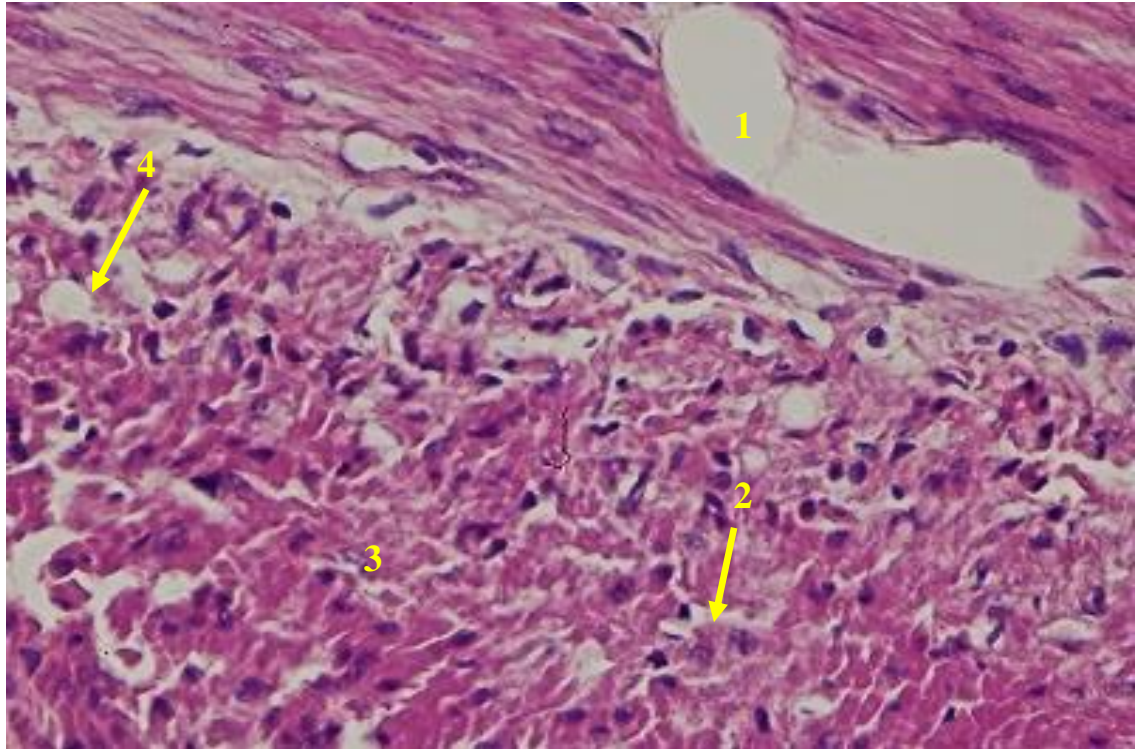


Рис. 6.4.21. М'язова оболонка клубової кишки експериментально зараженого цуценяти: 1 – порожнина у внутрішньому шарі; 2 – набряк у зовнішньому шарі; 3 – зерниста дистрофія гладких м'язових клітин зовнішнього шару; 4 – руйнування гладких м'язових клітин зовнішнього шару. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 400$.

Під час проведення гістологічних досліджень товстої кишки мікроскопічні зміни у сліпій і ободовій кишках були подібними. У частині крипт спостерігали некроз і руйнування їх верхньої ділянки (рис. 6.4.22; 6.4.23).

В інших криптах виявляли гіперплазію келихоподібних клітин (рис. 6.4.24; 6.4.25), що супроводжувалась накопиченням у їх цитоплазмі кислих білків (див. рис. 6.4.24).

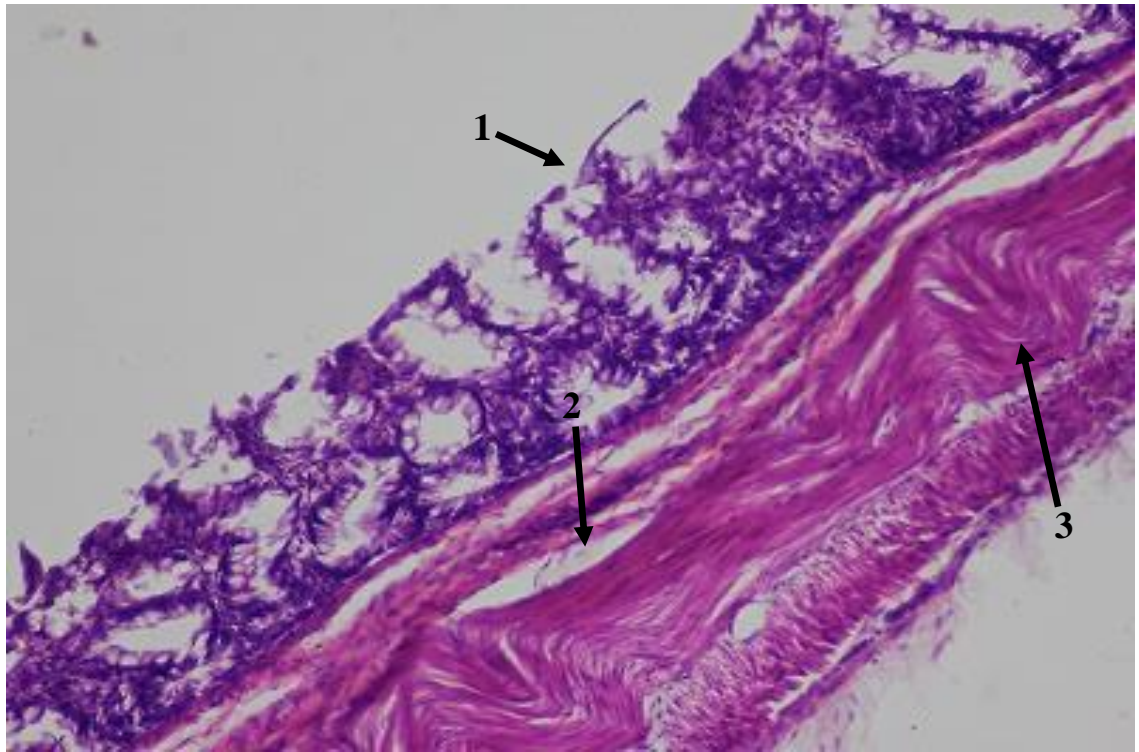


Рис. 6.4.22. Ободова кишка експериментально зараженого цуценяти: 1 – руйнування верхньої частини крипт; 2 – набряк підслизової основи; 3 – зигзагоподібні складки внутрішнього шару м'язової оболонки. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 50$.

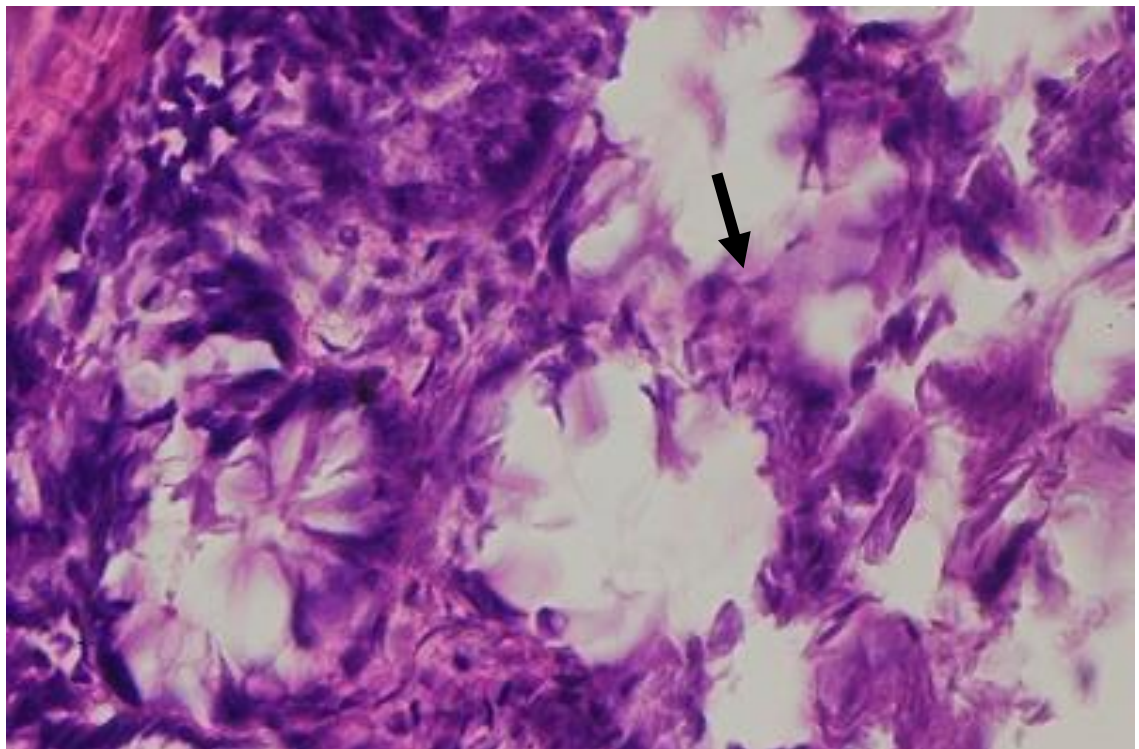


Рис. 6.4.23. Сліпа кишка експериментально зараженого цуценяти: некроз і руйнування верхньої частини крипт (показано стрілкою). Гематоксилін Караці та еозин, $\times 400$.

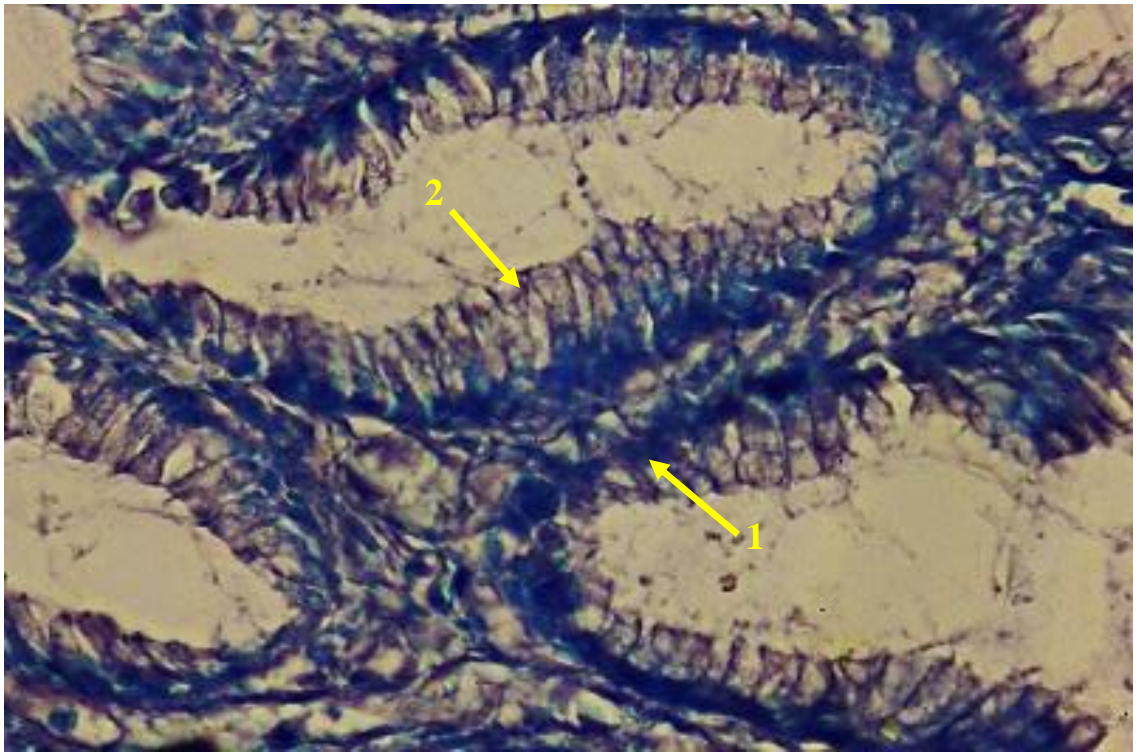


Рис. 6.4.24. Ободова кишка експериментально зараженого цуценяти: 1 – гіперплазія келихоподібних клітин; 2 – накопичення кислих білків у цитоплазмі келихоподібних клітин. Метод Мікель-Кальво, $\times 400$.

У деяких криптах, у яких помітна гіперплазія келихоподібних клітин, спостерігали руйнування частини цих клітин (див. рис. 6.4.25).

За постановки ШЙК-реакції, як і в тонкій кишці, у цитоплазмі ентероцитів крипт суттєво зменшувався вміст вуглеводневих сполук (рис. 6.4.26), що, на нашу думку, свідчить про енергетичне виснаження цих клітин. Також відбувалось виразне просочування базальної мембрани епітелію ворсинок вуглеводневими сполуками (див. рис. 6.4.26).

Враховуючи відсутність подібних змін під час зафарбовування зрізів з різних ділянок товстої кишки альціановим синім за рН 1,0 і 2,5, ми, як і у випадку тонкої кишки, зробили висновок, що за відтвореної нами експериментально коронавірусної інфекції відбувається мукоїдне набрякання базальної мембрани епітелію тонкої кишки нейтральними мукоїдними речовинами.

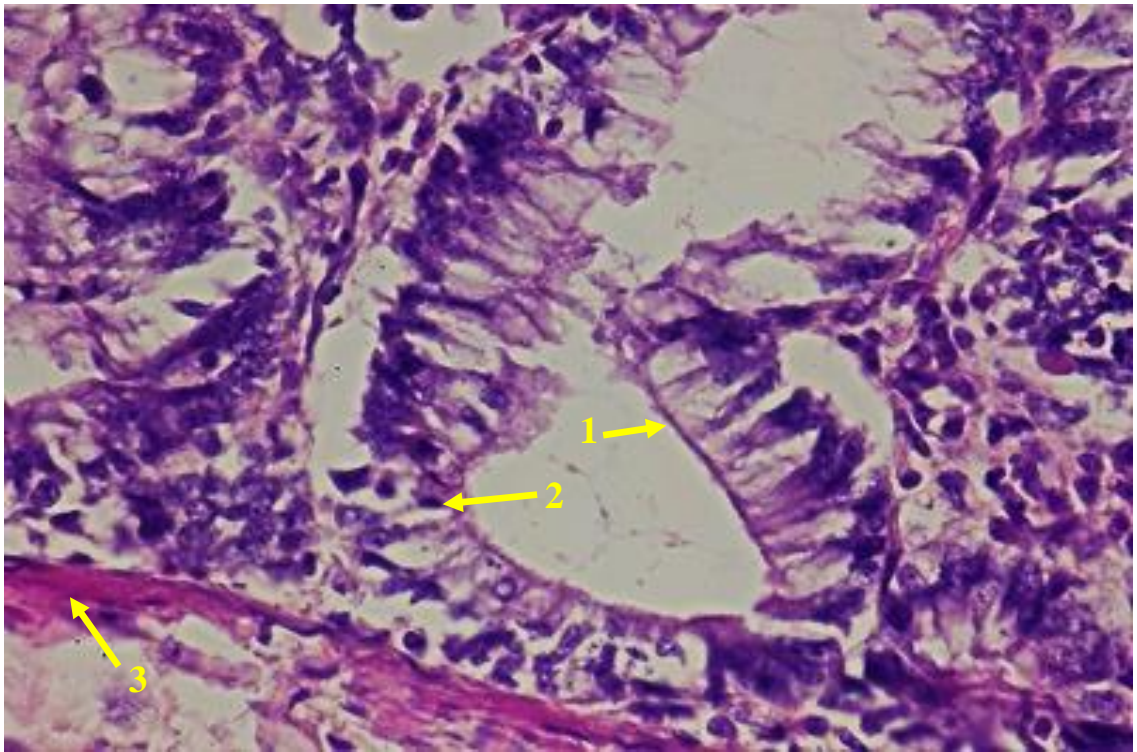


Рис. 6.4.25. Ободова кишка експериментально зараженого цуценяти: 1 – гіперплазія келихоподібних клітин; 2 – лізис цитоплазми та руйнування келихоподібних клітин; 3 – зерниста дистрофія гладких м'язових клітин м'язової пластинки слизової оболонки. Гематоксилін Караці та еозин, х 400.

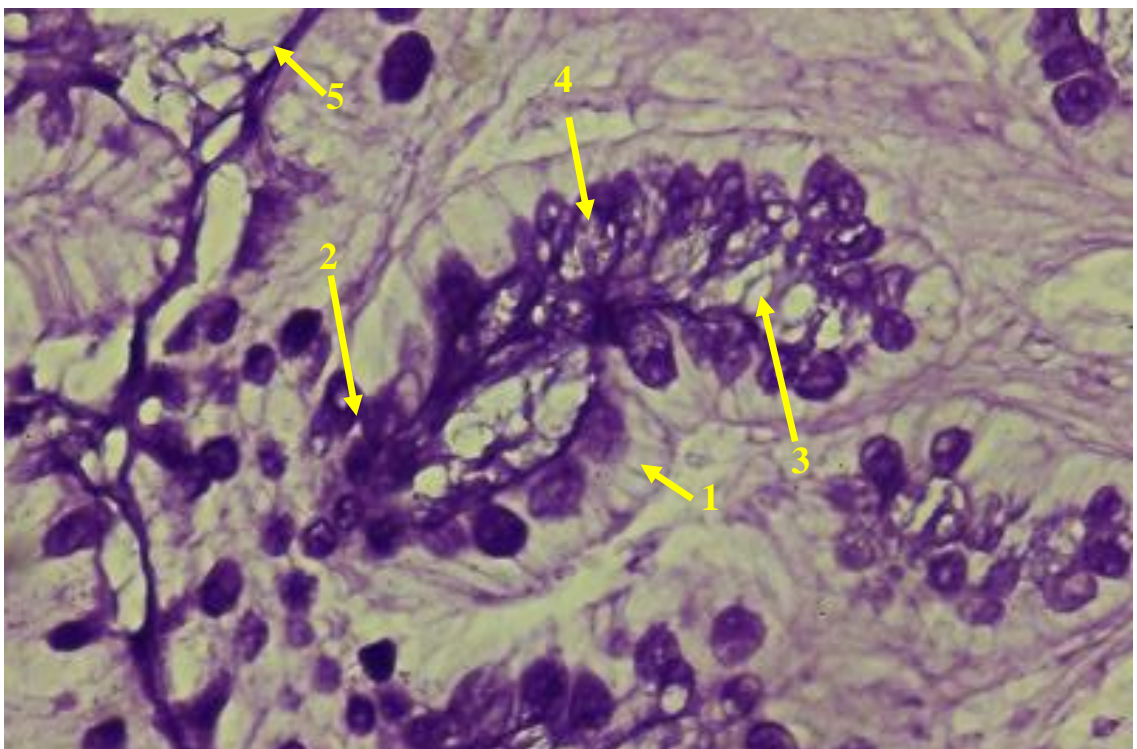


Рис. 6.4.26. Крипти сліпої кишки експериментально зараженого цуценяти: 1 – зменшення вмісту ШІК-позитивних речовин у цитоплазмі ентероцитів; 2 – гіперплазія келихоподібних клітин; 3 – гіперсекреція келихоподібних клітин; 4 – нерівномірне зафарбовування секрету келихоподібних клітин; 5 – просочення базальної мембрани епітелію ШІК-позитивними речовинами. ШІК-реакція, × 1000.

У стінці сліпої й ободової кишок гістологічними дослідженнями виявлено зернисту дистрофію гладких м'язових клітин м'язової пластинки слизової оболонки (див. рис. 6.4.25), набряк підслизової основи (див. рис. 6.4.22) та гіпертрофію й гіперплазію поодиноких і скупчених лімфоїдних вузликів, аналогічну такій як у тонкій кишці.

У м'язовій оболонці її внутрішній шар був зібраний у зигзагоподібні складки (див. рис. 6.4.22), що, на нашу думку, свідчить про його прижиттєве гіперергічне скорочення.

У внутрішньому шарі спостерігали невеликі осередки набряку, у той час як у зовнішньому шарі м'язової оболонки набряк був більш виразним. В обох шарах також було встановлено зернисту дистрофію гладких м'язових клітин (рис. 6.4.27). Між м'язовою та серозною оболонками виявляли дещо нерівномірний набряк. Серозна оболонка була потовщена (див. рис. 6.4.27).

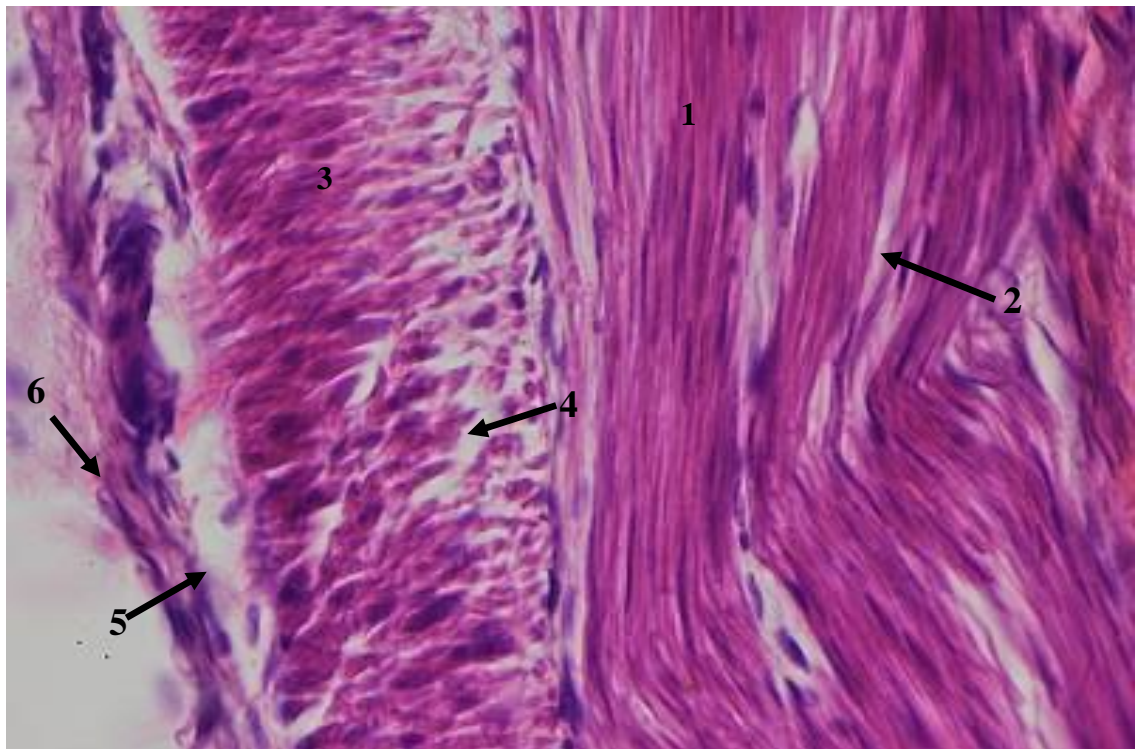


Рис. 6.4.27. М'язова оболонка сліпої кишки експериментально зараженого цуценяти: 1 – зерниста дистрофія гладких м'язових клітин внутрішнього шару; 2 – набряк у внутрішньому шарі; 3 – зерниста дистрофія гладких м'язових клітин зовнішнього шару; 4 – набряк у зовнішньому шарі; 5 – набряк під серозною оболонкою; 6 – потовщення серозної оболонки. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 400$.

У прямій кишці цуценят, експериментально заражених виділеним нами ізолятом коронавірусу, культивованим у гетерологічній культурі клітин, так само, як і в цуценят, експериментально заражених виділеним нами ізолятом парвовірусу, культивованим у гетерологічній культурі клітин, мікроскопічні зміни відсутні за винятком помірного набряку підслизової основи та розширення й переповнення кров'ю її кровоносних судин.

6.4.1. Мікроскопічні зміни в інших органах цуценят за експериментального зараження ізолятом коронавірусу, культивованим у гетерологічній культурі клітин

Під час проведення гістологічних досліджень *т и м у с у* цуценят за експериментального зараження ізолятом коронавірусу, культивованим у гетерологічній культурі клітин, всі кровоносні судини органа були розширені, переповнені кров'ю. Строма органа та тимусні часточки були виразно набряклі (рис. 6.4.28).

Дезорганізація тимусних тілець і некроз лімфоцитів, які фіксували за парвовірусної інфекції, були відсутні.

В усіх досліджених нами соматичних і вісцеральних *л і м ф а т и ч н и х в у з л а х* мікроскопічні зміни були подібними. При цьому в капсулі таких змін не встановлено. Хілярні та капсулярні трабекули також не були змінені.

У кірковій речовині лімфовузлів спостерігали гіперплазію (збільшення кількості) лімфоїдних вузликів. Лімфоцити в них розташовувались розріджено, світлі центри зазвичай відсутні. Проте у частині цих вузликів, переважно в їх центральній частині, виявляли осередки ущільненого розташування лімфоцитів (рис. 6.4.29).

Мозкова речовина нерівномірно набрякла, лімфоцити в ній розташовувались окремими групками, до складу яких входила різна кількість клітин (рис. 6.4.30). Серед лімфоцитів виявляли моноцити й макрофаги, розташовані поодинокі чи невеликими групками.

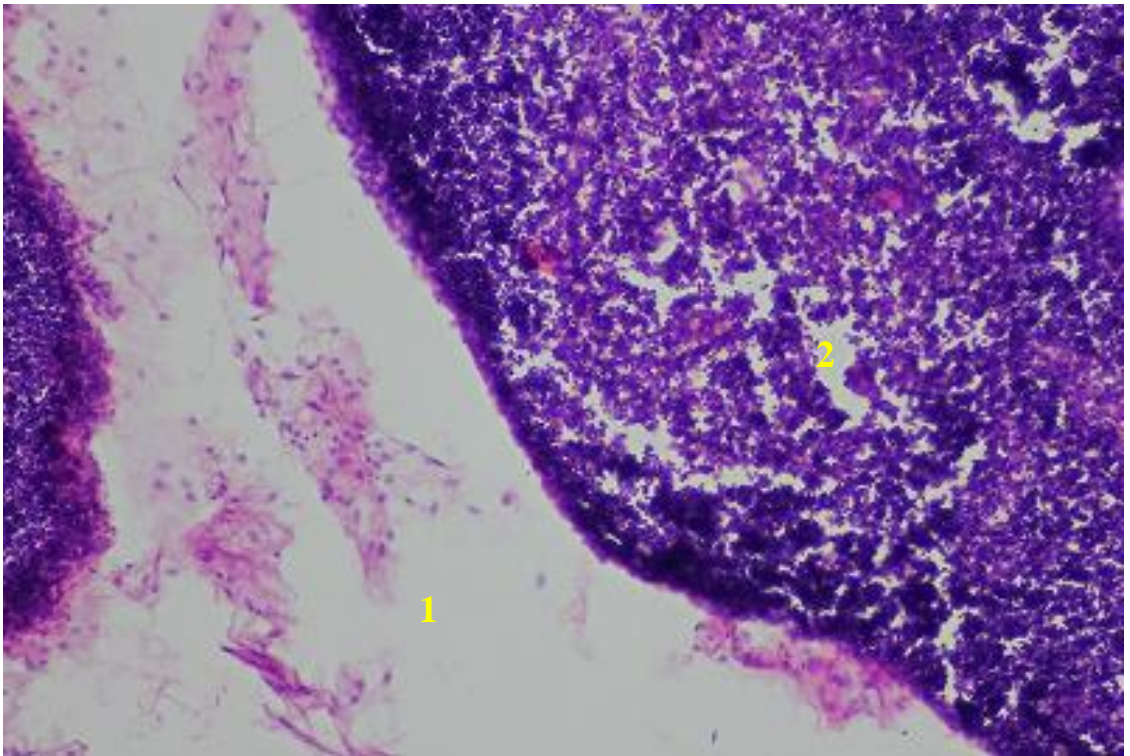


Рис. 6.4.28. Тимус експериментально зараженого цуценяти: 1 – набряк строми; 2 – набряк тимусної часточки. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 50$.

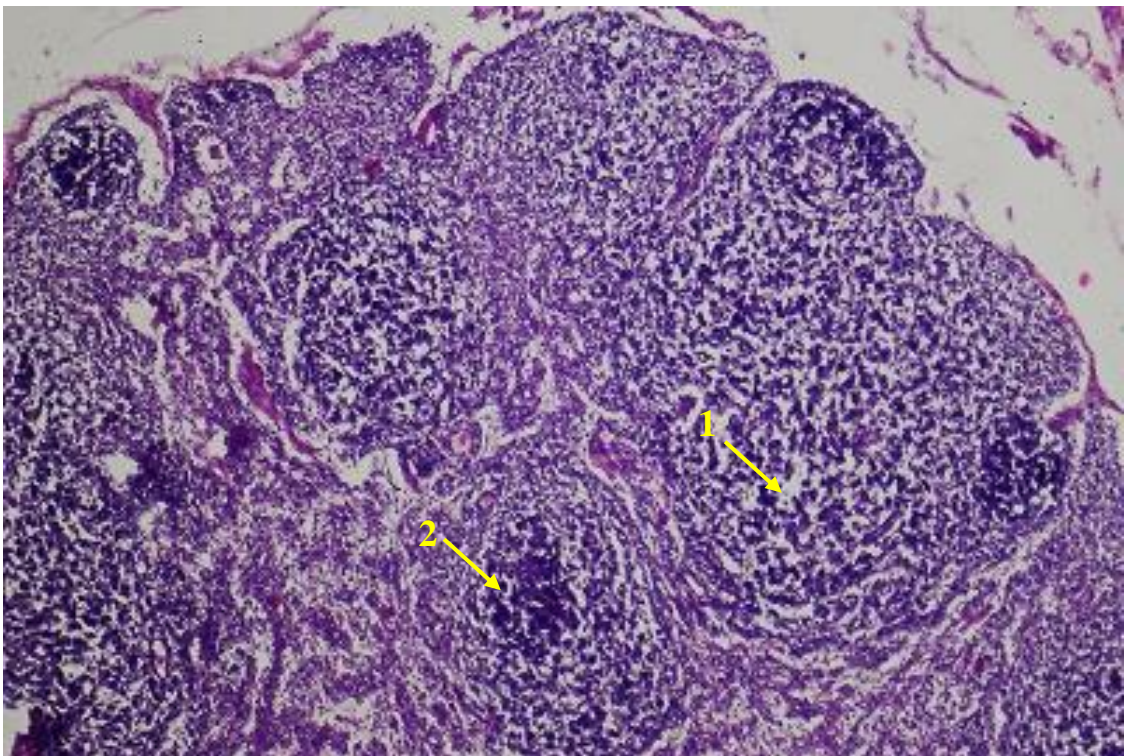


Рис. 6.4.29. Кіркова речовина передлопатковго лімфовузла експериментально зараженого цуценяти: 1 – розріджене розташування лімфоцитів у лімфоїдному вузлику; 2 – ущільнене розташування лімфоцитів у лімфоїдному вузлику. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 50$.

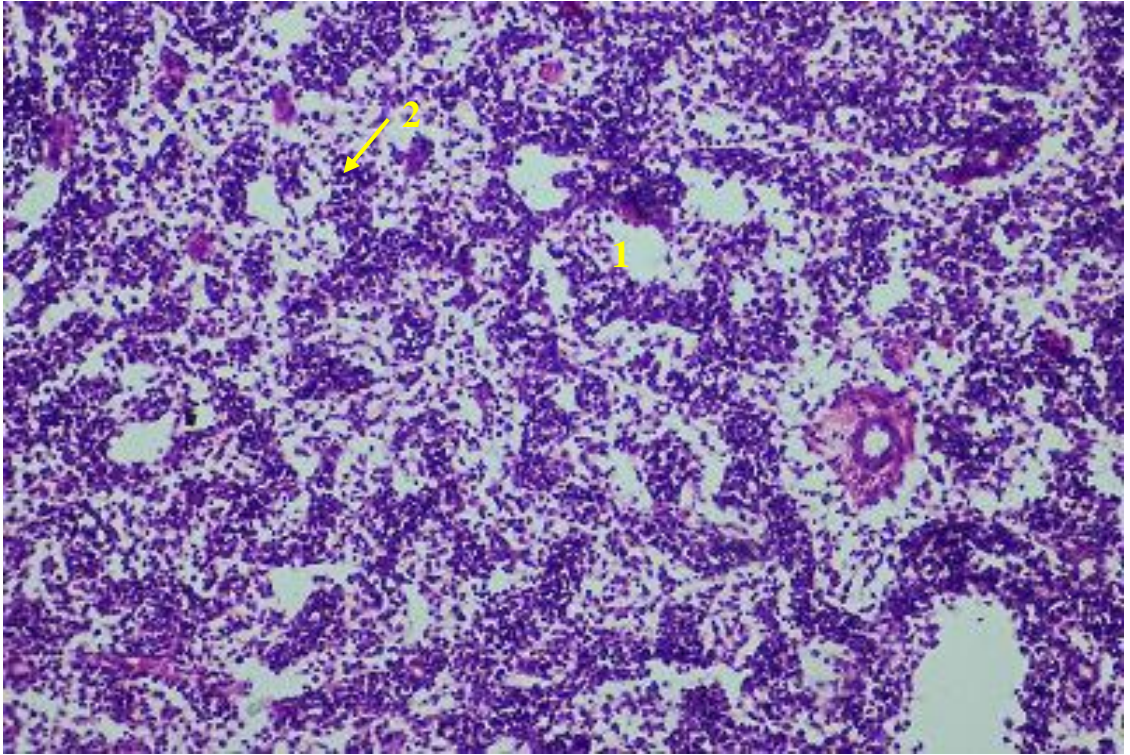


Рис. 6.4.30. Мозкова речовина передлопаткового лімфовузла експериментально зараженого цуценяти: 1 – набряк; 2 – лімфоцити. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 100$.

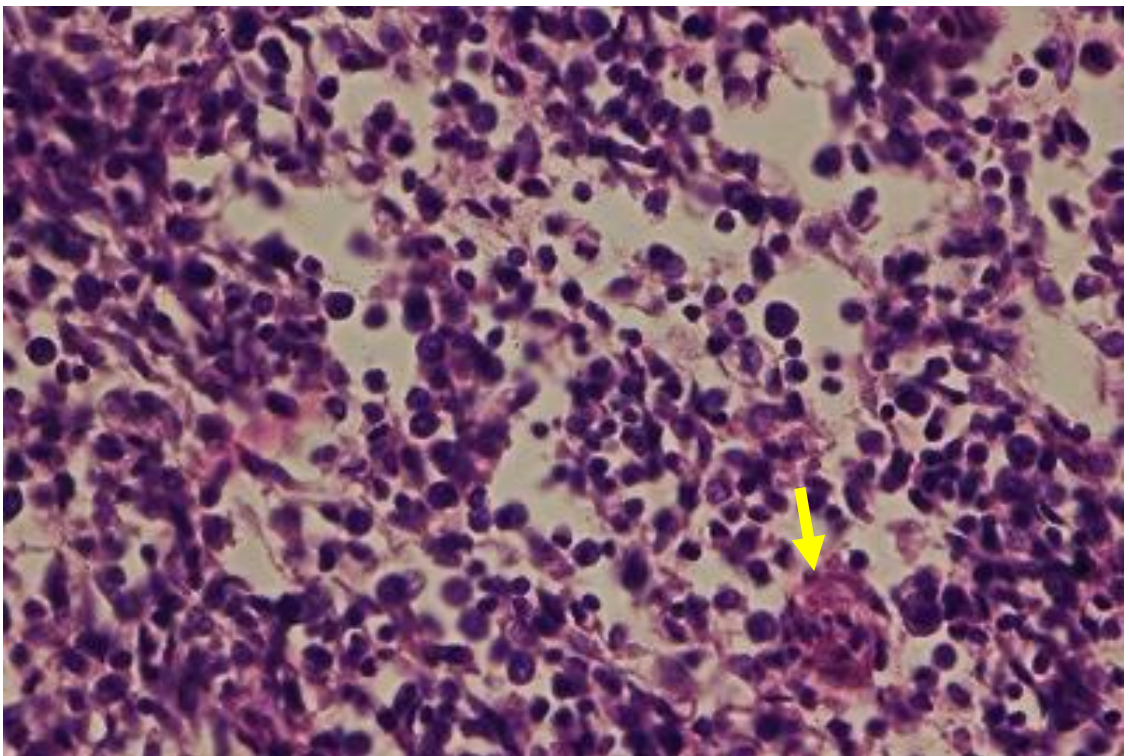


Рис. 6.4.31. Мозкова речовина печінкового лімфовузла експериментально зараженого цуценяти: спазм артерії (показано стрілкою). Гематоксилін Караці та еозин, $\times 400$.

Еозинофіли, які знаходились серед лімфоцитів за парвовірусної інфекції, у жодному з випадків знайдені не були. Натомість у частині випадків у мозковій речовині різних лімфовузлів спостерігався спазм артерій (рис. 6.4.31).

У *селезінці* цуценят за експериментального зараження ізолятом коронавірусу, культивованим у гетерологічній культурі клітин, мікроскопічні зміни у капсулі та трабекулах зареєстровані не були. Клітини їх щільної волокнистої та гладкої м'язової тканин помітних змін не мали.

Проте спостерігали набряк червоної пульпи, перитрабекулярні набряки і гіперплазію лімфоїдних вузликів. При цьому лімфоцити в цих вузликах зазвичай розташовувалися розріджено (рис. 6.4.32). Руйнування великої кількості еритроцитів з гемосидерозом червоної пульпи, еозинофіли та некроз частини лімфоцитів, як це мало місце за парвовірусної інфекції не виявляли.

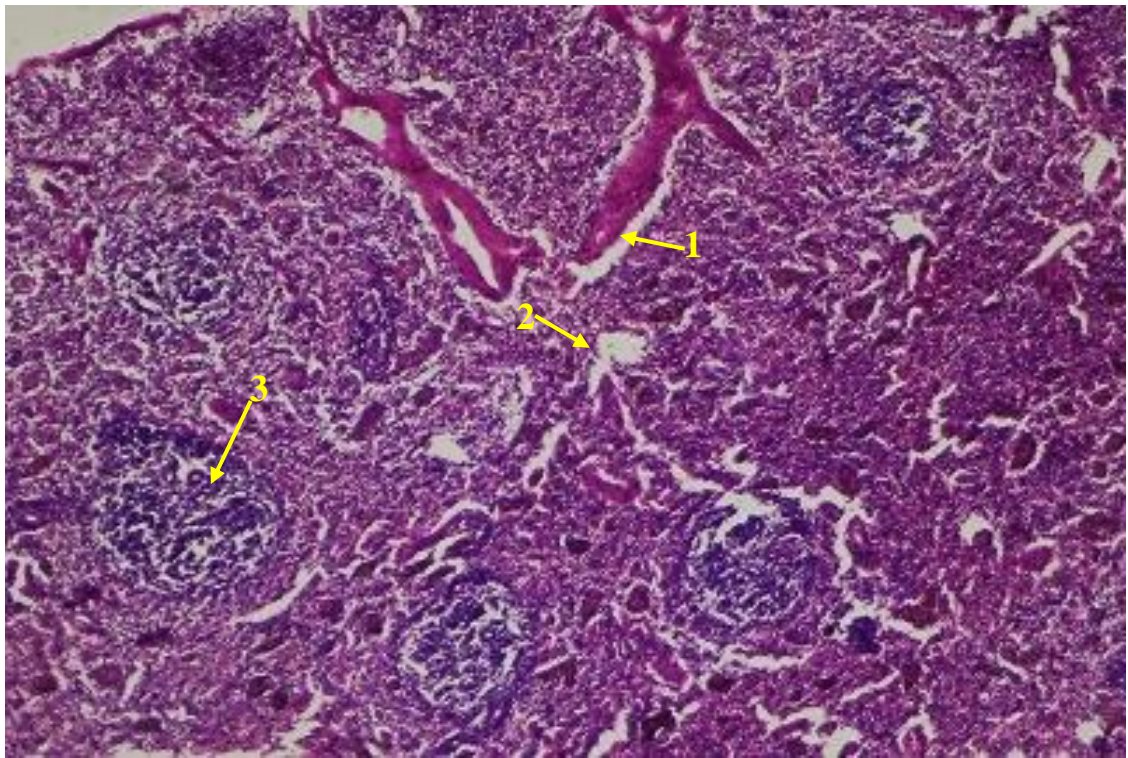


Рис. 6.4.32. Селезінка експериментально зараженого цуценяти: 1 – перитрабекулярний набряк; 2 – набряк червоної пульпи; 3 – лімфоїдний вузлик. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 100$.

Також слід зазначити, що ні в тимусі, ні в жодному з лімфатичних вузлів, ні в селезінці цуценят за експериментального зараження ізолятом коронавірусу,

культивованим у гетерологічній культурі клітин, тільця-включення знайдені не були.

Під час проведення гістологічних досліджень *печінки* встановлено, що мікроскопічна будова капсули органа була не змінена. Будь-які патологічні зміни з боку міжчасточкової сполучної тканини також не виявлені. Артерії, вени та жовчні протоки печінкових тріад також не мали мікроскопічних змін.

Проте орган був дифузно нерівномірно набряклим, а центральні вени переважної більшості печінкових часточок – досить розширені (рис. 6.4.33; 6.4.34). Як і в разі парвовірусної інфекції, досить виразних змін зазнавали гепатоцити.

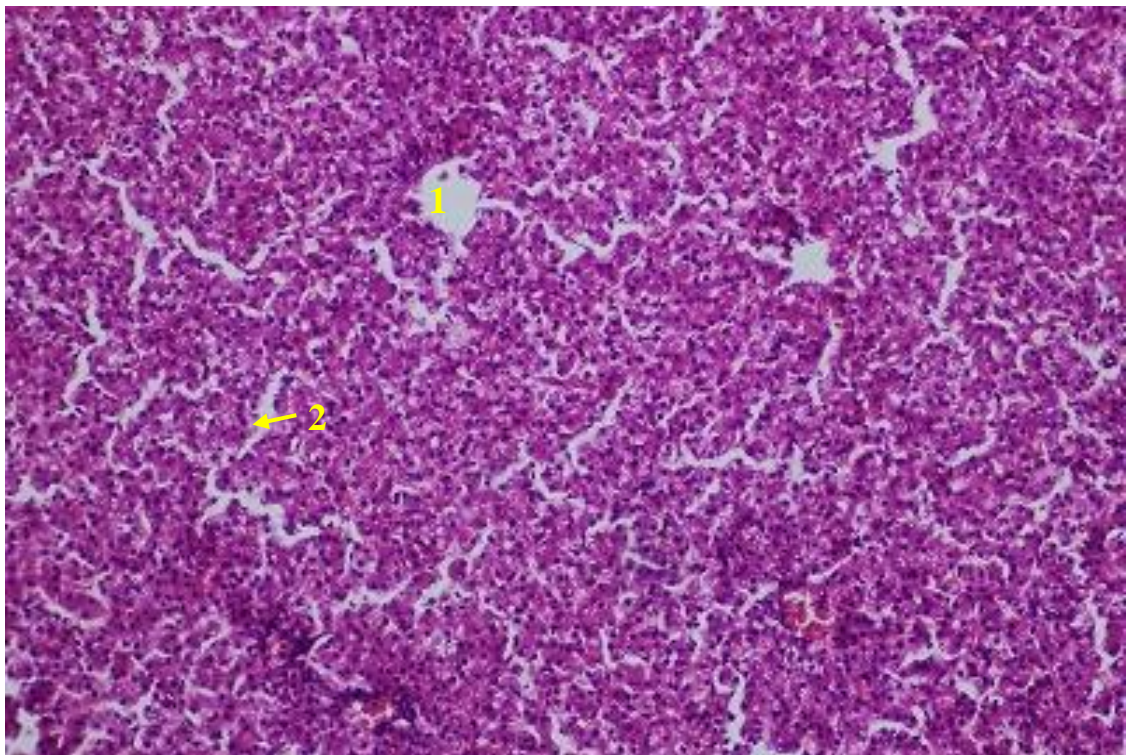


Рис. 6.4.33. Печінка експериментально зараженого цуценяти: 1 – центральна вена печінкової часточки; 2 – набряк. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 100$.

Більша частина гепатоцитів знаходилась у стані зернистої дистрофії. Частина печінкових клітин перебувала у стані гідропічної дистрофії, при якій у цитоплазмі утворювались вакуолі різних розмірів і форми, що не зафарбовувались еозином. Кількість і розміри таких вакуолей у різних клітинах була різною, а в окремих печінкових клітинах нами був знайдений повний

плазмоліз. Частина дистрофічно змінених гепатоцитів перебувала на різних стадіях руйнування (див. рис. 6.4.34; рис. 6.4.35).

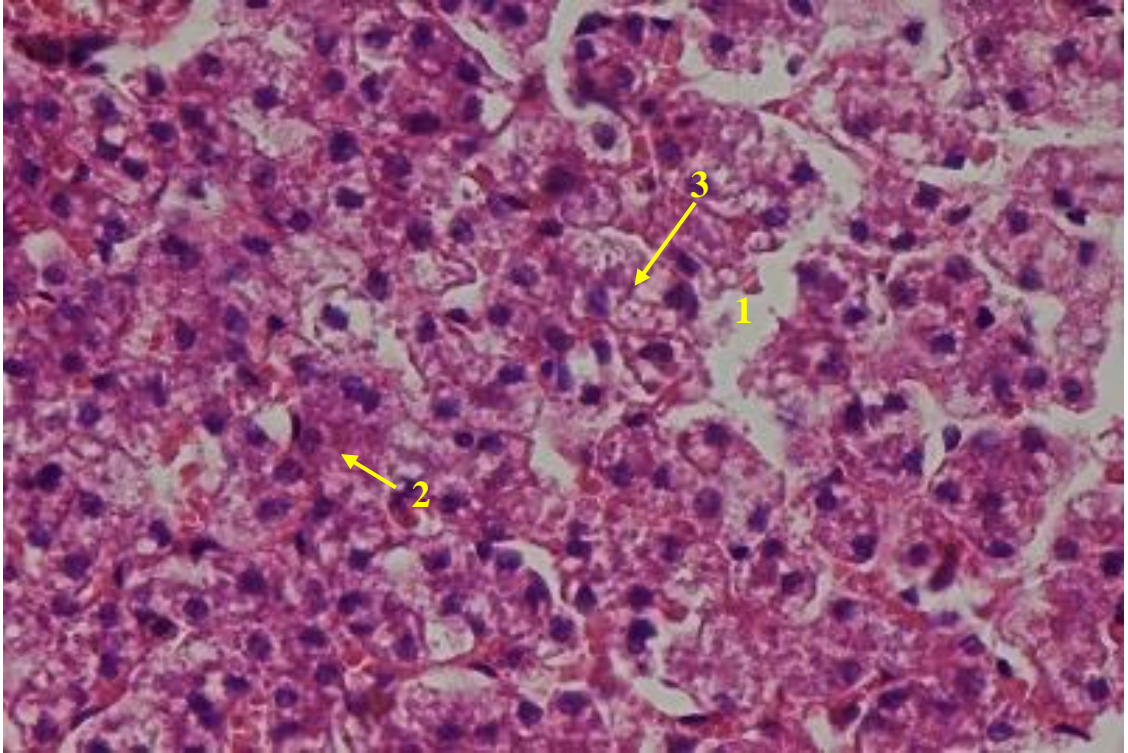


Рис. 6.4.34. Печінка експериментально зараженого цуценяти: 1 – набряк; 2 – зерниста дистрофія гепатоцитів; 3 – гідропічна дистрофія гепатоцитів. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 400$.

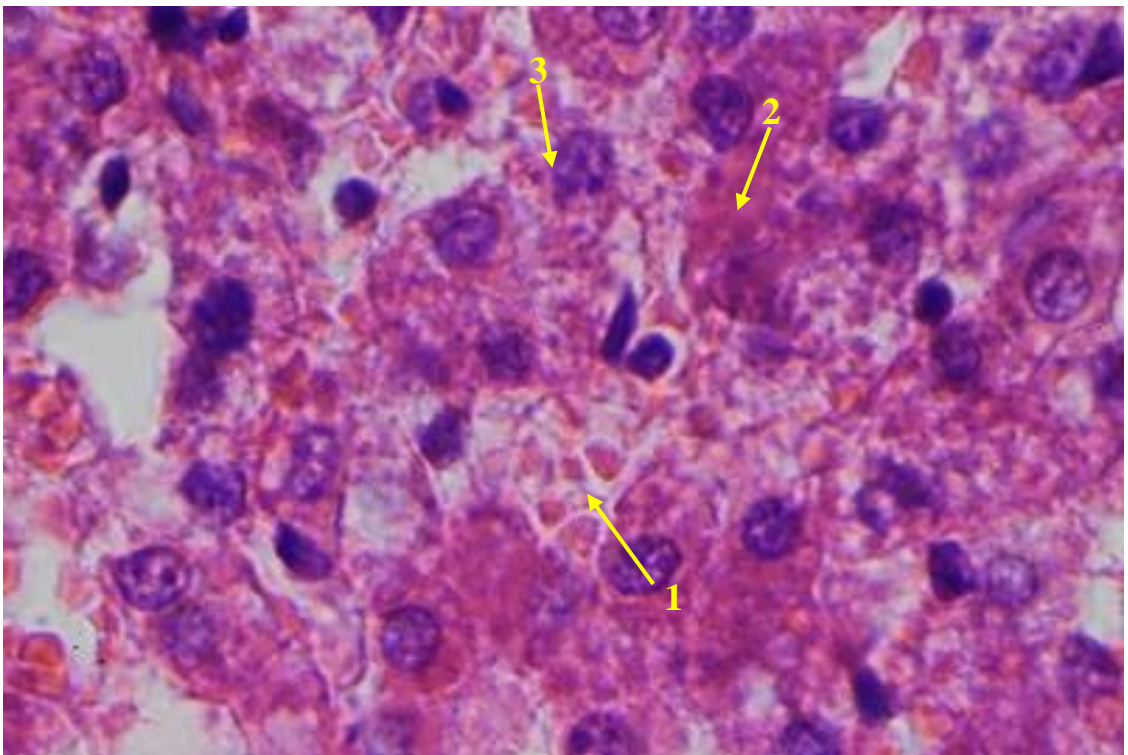


Рис. 6.4.35. Печінка експериментально зараженого цуценяти: 1 – еритроцити у внутрішньочасточковому капілярі; 2 – зерниста дистрофія гепатоцита; 3 – руйнування гепатоцита. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 1000$.

Змін з боку Купферових клітин (у тому числі їх гіпертрофія чи гіперплазія), як і в разі парвовірусної інфекції, нами встановлено не було.

У підшлунковій залозі цуценят за експериментального зараження ізоліатом коронавірусу, культивованим у гетерологічній культурі клітин, мікроскопічні зміни були подібними таким як за спонтанної та експериментальної парвовірусної інфекції. У цьому органі спостерігали розширення і переповнення кров'ю судин, виразний набряк міжчасточкової сполучної тканини, де місцями виявляли мікрокрововиливи невеликого розміру, локалізація яких не мала певної закономірності. Всі ацинозні клітини перебували у стані виразної зернистої дистрофії. В інсулярних клітинах усіх типів (А-, В-, D-, D₁- і PP-) панкреатичних острівців виявляли зернисту та гідропічну дистрофію. Частина клітин усіх типів руйнувалась.

У стромі нирок за проведення гістологічних досліджень нами встановлено нерівномірний набряк і крововиливи (рис. 6.4.36). У ниркових тільцях спостерігали екстракапілярний серозний гломерулїт, а в деяких із них – мезангіопроліферативний гломерулїт (рис. 6.4.37).

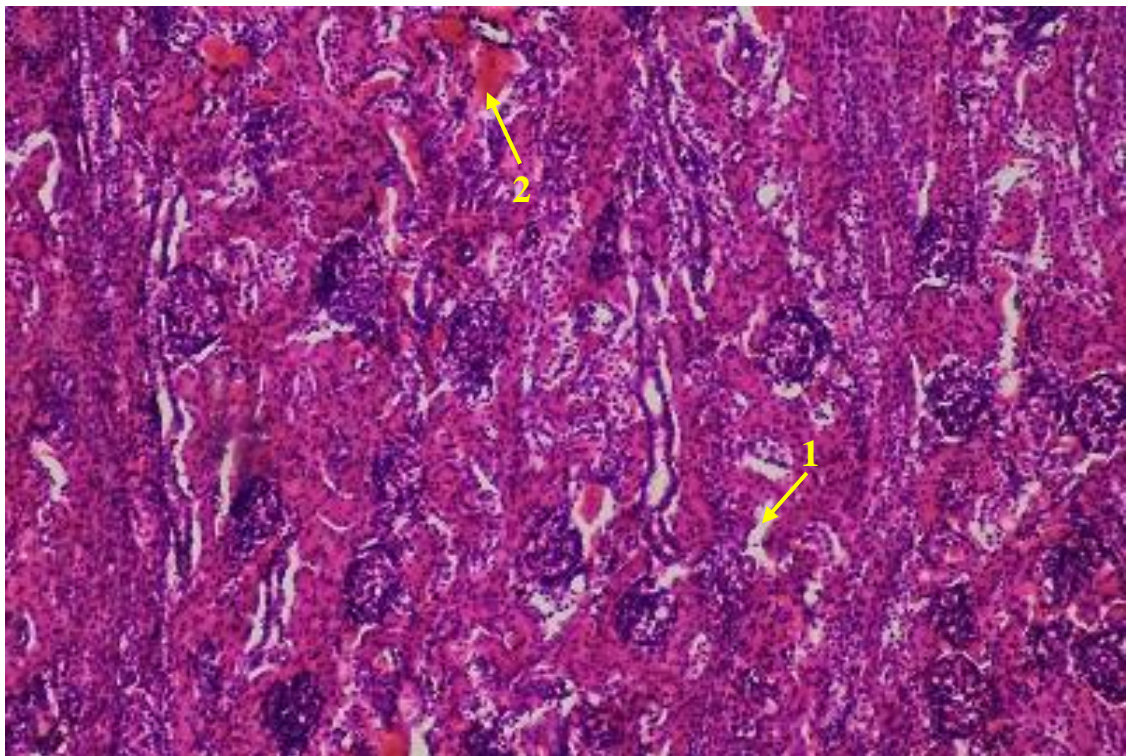


Рис. 6.4.36. Кіркова речовина нирки експериментально зараженого цуценяти: 1 – набряк між канальцями; 2 – крововилив у строму нирки. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 100$.

Потовщення зовнішнього листка капсули ниркового тільця, як це було визначено за парвовірусної інфекції, не відбувалось, натомість у багатьох ниркових тільцях з ознаками мезангіопрولیферативного гломерулонефриту спостерігали руйнування цього листка капсули ниркового тільця (див. рис. 6.4.37). У звивистих каналцях виявлено переважно зернисту, іноді – гідропічну дистрофію епітеліоцитів та руйнування поодиноких каналців (див. рис. 6.4.37). На відміну від парвовірусної інфекції, за експериментального зараження цуценят ізолятом коронавірусу, культивованим у гетерологічній культурі клітин, спостерігали некроз епітелію невеликої частини звивистих каналців. Мікроскопічні зміни у прямих каналцях нирок також відрізнялися від таких за спонтанної та експериментальної парвовірусної інфекції. Тут, як і за парвовірусної інфекції, виявлено зернисту й гідропічну дистрофію епітелію та його руйнування, а також некроз епітеліоцитів прямих каналців (рис. 6.4.38).

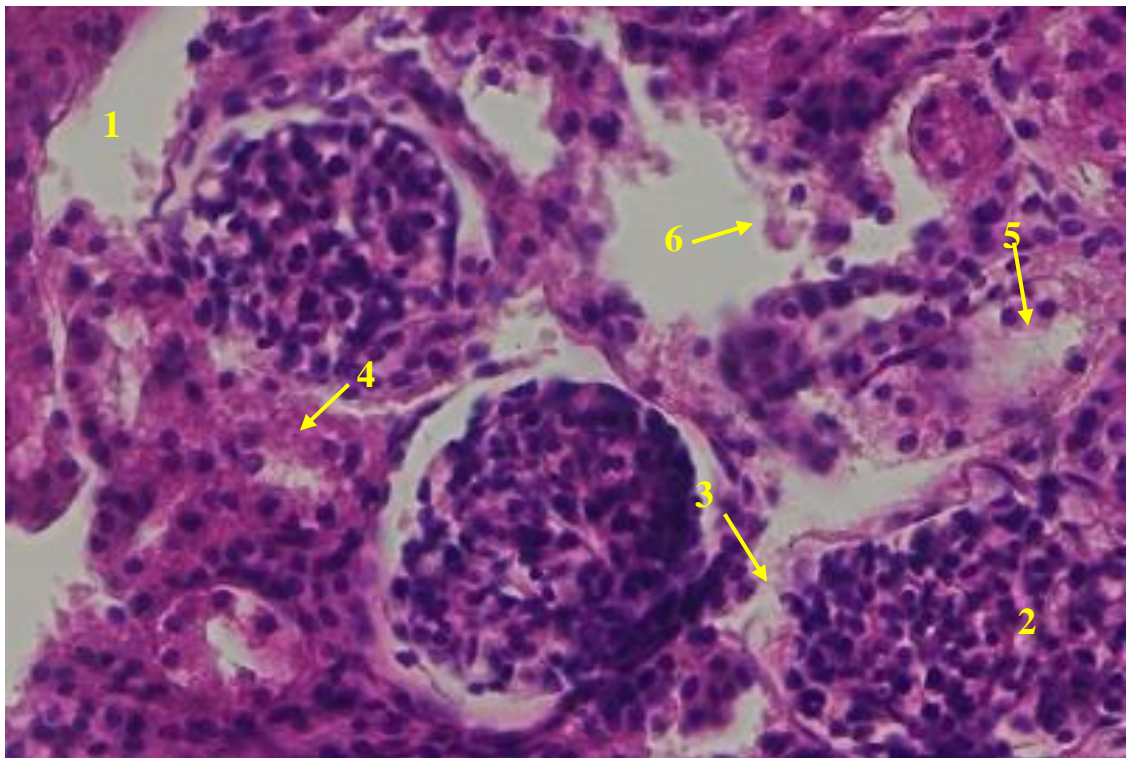


Рис. 6.4.37. Кіркова речовина нирки експериментально зараженого цуценяти: 1 – набряк; 2 – проліферація мезангіоцитів; 3 – руйнування парієтального листка капсули ниркового тільця; 4 – зерниста дистрофія епітелію звивистого каналця; 5 – руйнування епітелію звивистого каналця; 6 – руйнування звивистого каналця. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 400$.

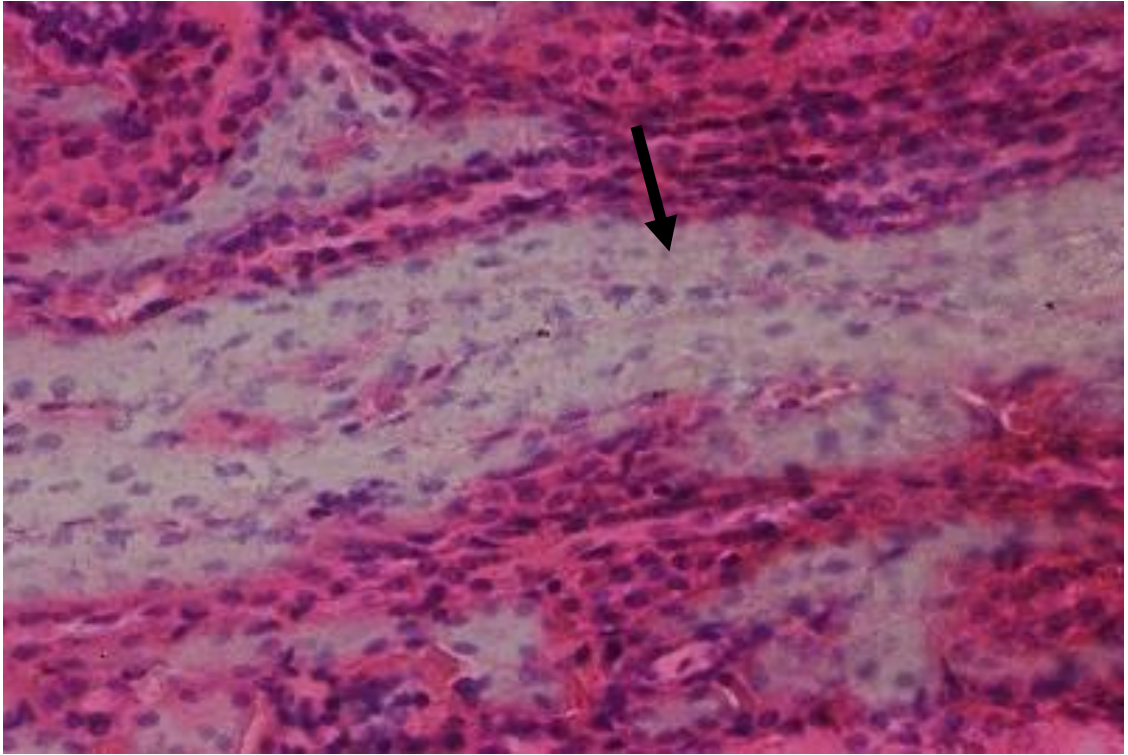


Рис. 6.4.38. Мозкова речовина нирки експериментально зараженого цуценяти: некроз епітелію прямих канальців (показано стрілкою). Гематоксилін Караці та еозин, $\times 400$.

Поряд з цими змінами у прямих канальцях знаходили надзвичайно виразні субепітеліальні набряки, які настільки тиснули на канальці ззовні, що більшість із них повністю втрачала свій просвіт (рис. 6.4.39).

Під час проведення гістологічних досліджень *серця* встановили, що в епікарді та ендокарді мікроскопічні зміни були відсутні, тоді як у міокарді виявляли розширення й переповнення кров'ю кровоносних судин та крововиливи (рис. 6.4.40), а також набряк між пучками кардіоміоцитів і всередині цих пучків (рис. 6.4.41). Крім того, спостерігали зернисту дистрофію кардіоміоцитів. Виразний набряк місцями призводив до розволокнення та фрагментації м'язових волокон органа. Подібні за своїм характером мікроскопічні зміни також знайдені у серці тварин за експериментальної і спонтанної парвовірусної інфекції.

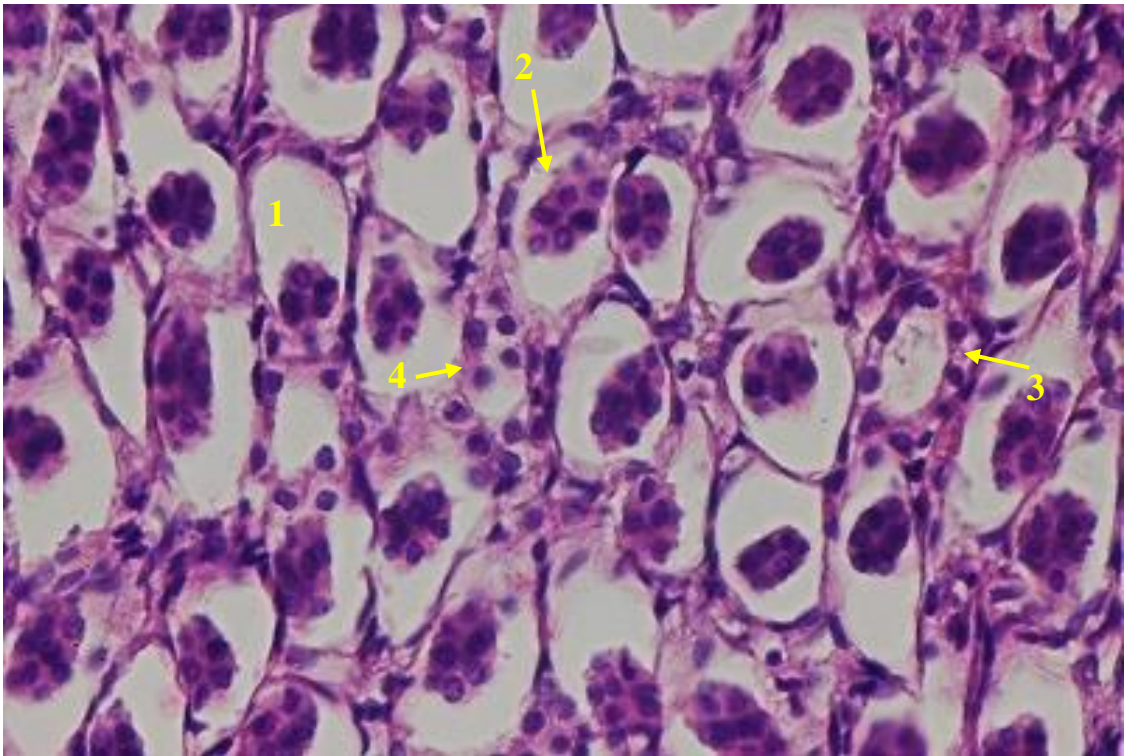


Рис. 6.4.39. Мозкова речовина нирки експериментально зараженого цуценяти: 1 – субепітеліальний набряк; 2 – стиснений прямий каналець з епітелієм у стані зернистої дистрофії; 3 – гідропічна дистрофія епітелію прямого каналця; 4 – руйнування епітелію прямого каналця. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 400$.

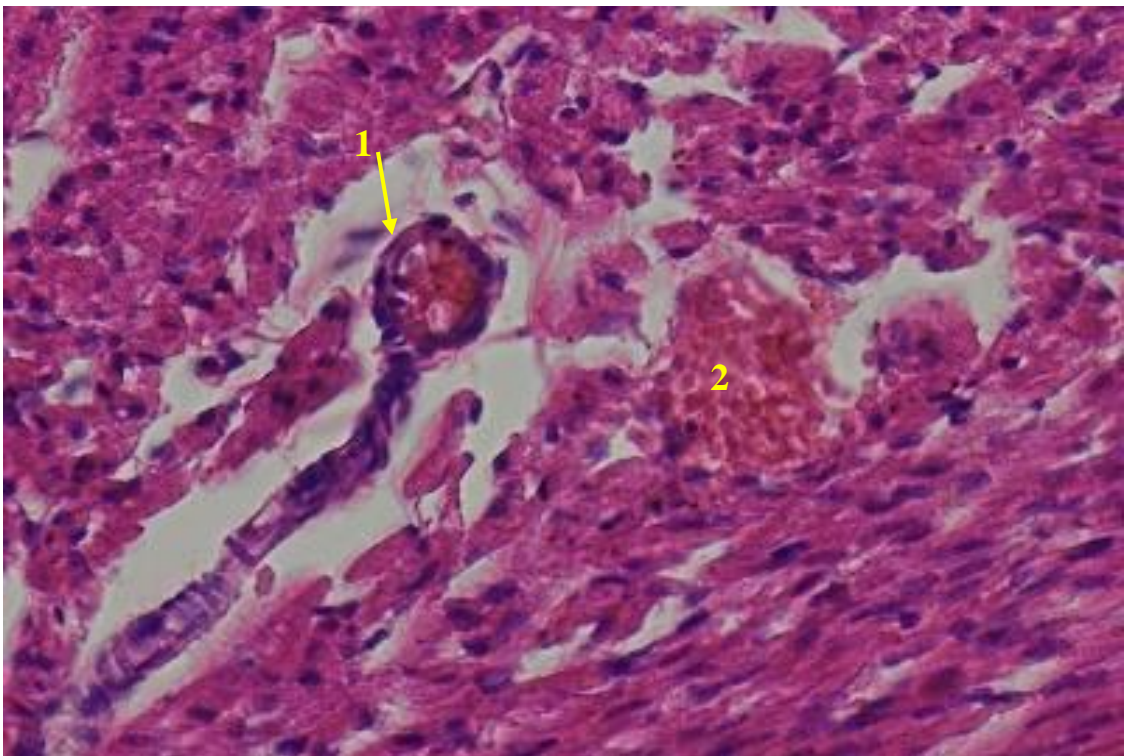


Рис. 6.4.40. Міокард експериментально зараженого цуценяти: 1 – розширена, переповнена кров'ю артерія; 2 – крововилив. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 400$.

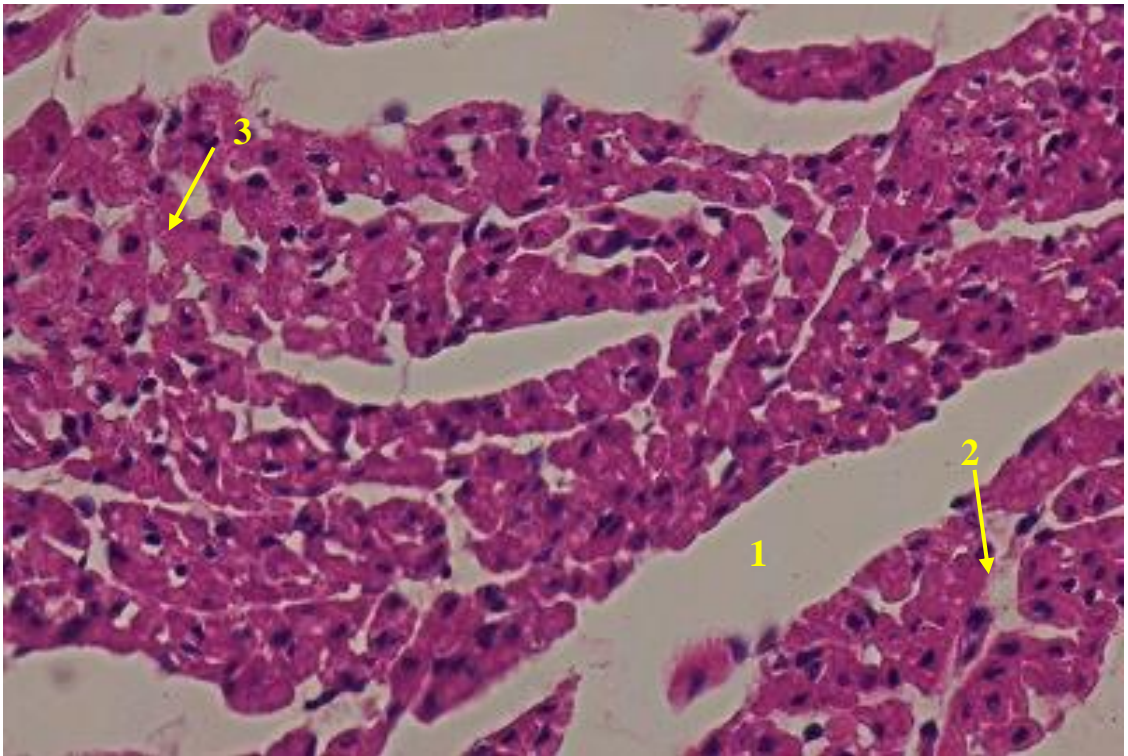


Рис. 6.4.41. Міокард експериментально зараженого цуценяти: 1 – набряк між пучками кардіоміоцитів; 2 – набряк всередині пучка кардіоміоцитів; 3 – зерниста дистрофія кардіоміоцитів. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 400$.

У *л е г е н я х* спостерігали наявність мікроскопічних змін, характерних для венозного застою та набряку цього органа. Всі вени паренхіми та строми були розширені, переповнені кров'ю (рис. 6.4.42). У просвіті багатьох з них помітні склеювання еритроцитів (сладж-феномен). Застій крові виявляли у кровоносних капілярах стінок альвеол, внаслідок чого вони потовщувались.

У просвіті багатьох альвеол виявляли злущені альвеолоцити різних типів, а в окремих з них – набрякову рідину у вигляді гомогенної чи ніжно-зернистої зафарбованої еозином речовини. Стінки поодиноких альвеол розривались (рис. 6.4.42). У частині великих бронхів було зареєстровано нерівномірний, помірний набряк їх стінок, а місцями – невеликі за розмірами осередки субепітеліального набряку. Бронхіальний хрящ при проведенні гістологічних досліджень в усіх випадках виглядав не зміненим. У бронхах і бронхіолах виявляли злущення поодиноких клітин їх епітелію (рис. 6.4.42).

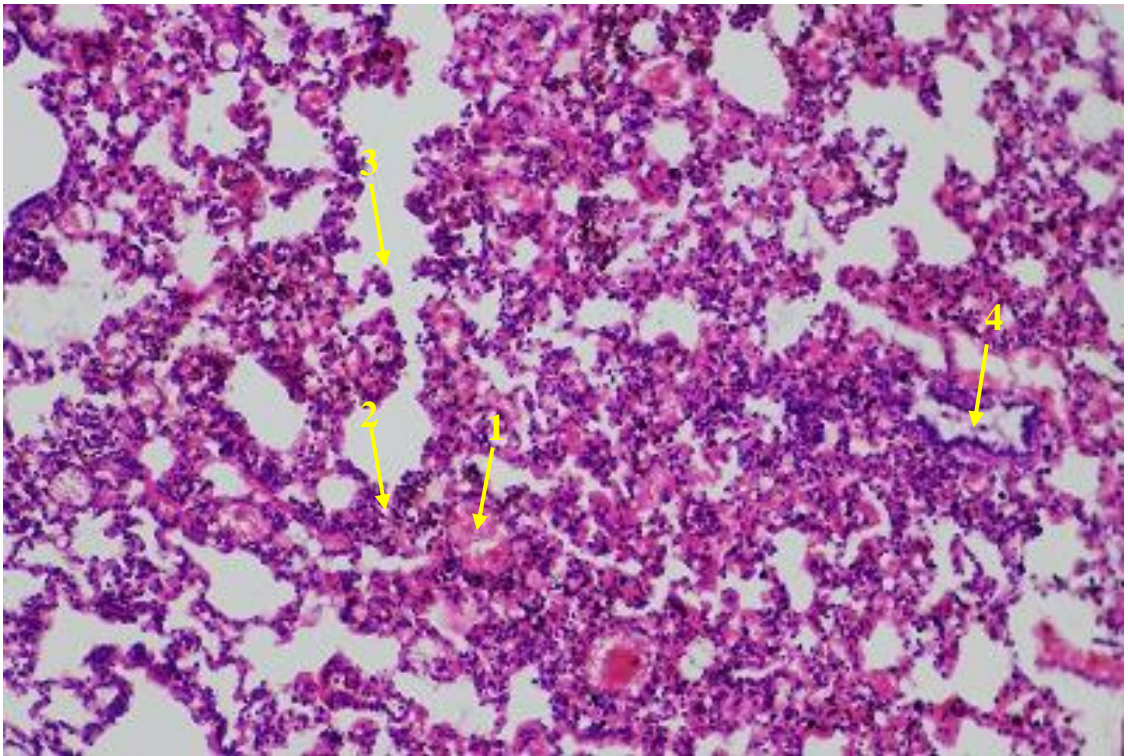


Рис. 6.4.42. Легені експериментально зараженого цуценяти: 1 – розширена й переповнена кров'ю вена; 2 – потовщена стінка альвеоли; 3 – розрив стінки альвеоли; 4 – злуцнення епітелію бронхіоли. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 100$.

Мікроскопічні зміни *головного і спинного мозку* також були аналогічні таким як у собак за парвовірусної інфекції. Кровоносні судини м'якої мозкової оболонки розширені, переповнені кров'ю, а сама мозкова оболонка – виразно набрякла. У сірій і білій речовинах великих півкуль спостерігали розширення й переповнення кров'ю кровоносних судин, набряк глії та периваскулярні й перицелюлярні набряки. Внаслідок виразного перицелюлярного набряку багато нервових клітин втрачали зв'язок з глією. Частина нейроцитів великих півкуль головного мозку перебувала у стані базофілії (рис. 6.4.43).

Таким чином, встановлені нами мікроскопічні зміни в печінці, підшлунковій залозі, серці, легенях і ЦНС у цуценят за експериментального зараження ізолятом коронавірусу, культивованим у гетерологічній культурі клітин, принципово не відрізнялися від таких за спонтанної та експериментальної парвовірусної інфекції. На нашу думку, це відображало

загальну й досить стереотипну реакцію організму тварин на кишкову вірусну інфекцію.

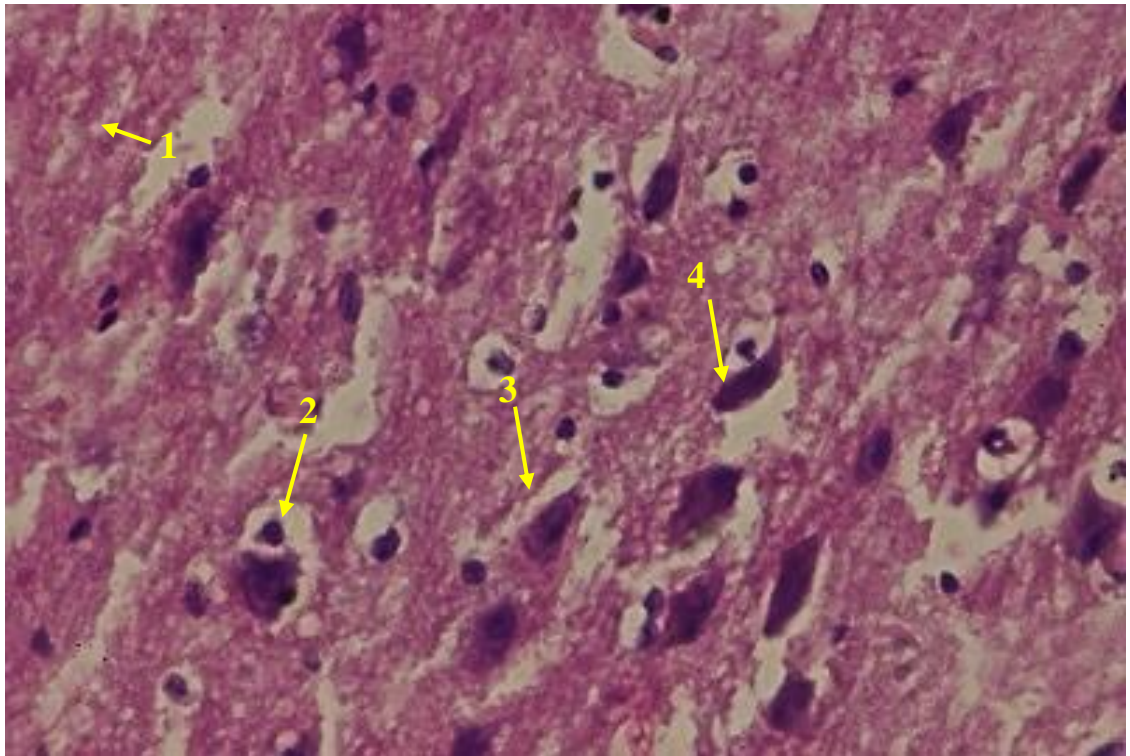


Рис. 6.4.43. Велика півкуля головного мозку експериментально зараженого цуценяти: 1 – набряк речовини мозку; 2 – перичелюлярний набряк; 3 – втрата зв'язку нервової клітини з прилеглою глією; 4 – базофілія нервової клітини. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 400$.

У той же час різниця в мікроскопічних змінах у тимусі, лімфовузлах і селезінці, на нашу думку, відображала особливості реакції системи специфічного імунітету на конкретний збудник. Поряд з цим різниця мікроскопічних змін у нирках могла відображати особливості впливу різних кишкових вірусів на цей орган.

Результати підрозділу 6.3 – 6.4 висвітлені в наукових працях [62, 156, 231, 243, 245, 404].

ВИСНОВКИ ДО РОЗДІЛУ 4 ТА 6

Проведеними дослідженнями встановлено, що макроскопічні зміни в органах і тканинах спонтанно хворих на парвовірусну інфекцію собак були подібними до таких у експериментально інфікованих тварин. Основною ознакою під час проведення патологоанатомічного розтину було катарльно-геморагічне запалення усієї тонкої кишки (дуодено-єюно-ілеїт). В обох випадках найбільш виразні мікроскопічні зміни локалізувалися в криптах тонкої кишки. Тут виявляли некроз і руйнування епітеліальних клітин. У ядрах багатьох епітеліальних клітин крипт реєструвалися еозинофільні тільця-включення, які є місцем скупчення вірусних частинок чи їх білків. Гістохімічними методами реєструвалися ознаки виснаження келихоподібних клітин.

За підгострого перебігу хвороби відбувалося руйнування частини крипт. Зруйновані крипти заміщувалися волокнистою сполучною тканиною. Стінка тонкої кишки була виразно потовщена за рахунок значної гіпертрофії її м'язової оболонки.

Виразні мікроскопічні зміни виявляли в усіх лімфоїдних органах і тканинах. У тимусі реєстрували дезорганізацію тимічних тілець і невеликі за розмірами осередки некрозу лімфоцитів. В усіх соматичних і вісцеральних лімфатичних вузлах переважна більшість лімфоїдних вузликів не мали світлих центрів. Натомість у центральній частині багатьох з них знаходили досить великі осередки некрозу лімфоцитів. Розміри лімфоїдних вузликів шлунка та поодиноких і скупчених лімфоїдних вузликів тонкої та товстої кишок були помітно зменшені, у них виявляли осередки некрозу лімфоцитів.

Частина лімфоцитів у тимусі, лімфовузлах, лімфоїдних вузликах селезінки, лімфоїдних вузликах шлунка, поодиноких і скупчених лімфоїдних вузликах тонкої й товстої кишок та частина лімфоцитів у внутрішніх органах (печінка, нирки тощо) містили внутрішньоядерні еозинофільні тільця-включення.

У печінці частина гепатоцитів перебувала у стані зернистої чи гідропічної дистрофії. У підшлунковій залозі спостерігали зернисту дистрофію й руйнування панкреатоцитів та панкреатичних острівців клітин усіх типів. У нирках знайдено екстракапілярний серозний гломерулонефрит і зернисту дистрофію епітеліоцитів каналців. У легенях визначено наявність мікроскопічних змін, характерних для венозного застою та набряку цього органа.

Поряд з цим у спонтанно хворих на парвовірусну інфекцію собак і експериментально заражених тварин виявляли певні відмінності в мікроскопічних змінах.

У спонтанно хворих собак в тонкій кишці більшість ворсинок була досить добре збереженою. У експериментально інфікованих парвовірусом собак у тонкій кишці спостерігали руйнування значної частини ворсинок. У ядрах багатьох епітеліоцитів ворсинок виявляли еозинофільні тільця-включення. З цього можна зробити висновок, що в цуценят, експериментально заражених ізолятом парвовірусу собак, культивованим у гетерологічній культурі клітин, збудник знаходився в ядрах ентероцитів ворсинок.

У сліпій і ободовій кишках собак за експериментального зараження парвовірусом спостерігали руйнування крипт, а в ядрах досить великої кількості епітеліальних клітин у верхніх ділянках крипт виявляли еозинофільні внутрішньоядерні тільця-включення. Таких змін не було за спонтанної парвовірусної інфекції.

На нашу думку, наявність внутрішньоядерних еозинофільних тілець-включень в ентероцитах ворсинок тонкої кишки та ентероцитах крипт сліпої і ободової кишок свідчать про те, що внаслідок культивування парвовірусу в гетерогенній культурі клітин відбулася зміна його біологічних властивостей. Це також підтверджується й тим, що в ядрах частини мезангіоцитів у багатьох клубочках нирок експериментально інфікованих тварин виявлялись еозинофільні тільця-включення.

Патоморфологічні зміни за коронавірусної інфекції собак у доступній світовій літературі висвітлені вкрай поверхнево. Нами встановлено, що за експериментальної коронавірусної інфекції у цуценят основні макроскопічні зміни локалізувалися у тонкій кишці, і характеризувалися серозним катаром. У шлунку і товстій кишці будь-яких макроскопічних змін не виявляли. В усіх досліджених соматичних і вісцеральних лімфовузлах спостерігали серозний лімфаденіт. Також встановлено наявність панкреатиту. Печінка була збільшена, нерівномірно нерівномірно застійно гіперемійована. У нирках – ознаки зернистої дистрофії та венозного застою крові.

Основні мікроскопічні зміни локалізувались у тонкій кишці. Тут спостерігали некроз верхівок ворсинок та їх руйнування, а в криптах – зернисту й гідропічну дистрофію та руйнування частини ентероцитів. Також встановлено гіперплазію та гіпертрофію поодиноких і скупчених лімфоїдних вузликів. Лімфоцити в них розташовувалися розріджено.

У частині крипт сліпої та ободової кишок спостерігали некроз і руйнування їх верхньої ділянки. В інших криптах виявляли гіперплазію келихоподібних клітин.

В усіх лімфовузлах і в лімфоїдних вузликах селезінки спостерігали гіперплазію лімфоїдних вузликів. Лімфоцити в них розташовувалися розріджено, світлі центри зазвичай були відсутні.

У печінці більшість гепатоцитів знаходилась у стані зернистої чи гідропічної дистрофії. У підшлунковій залозі всі ацинозні клітини перебували у стані зернистої дистрофії. У панкреатичних острівців інсулярних клітин усіх типів виявляли виразну зернисту та гідропічну дистрофію. Частина клітин усіх типів руйнувалась.

У нирках знаходили екстракапілярний серозний гломерулів і мезангіопроліферативний гломерулів. У звивистих каналцях встановлено переважно зернисту, іноді – гідропічну дистрофію епітеліоцитів та некроз епітелію їх незначної частини. У прямих каналцях нирок знайдено зернисту й гідропічну дистрофію епітелію та його руйнування.

У серці цуценят, експериментально інфікованих коронавірусом, виявляли набряк та зернисту дистрофію кардіоміоцитів, а в легенях виявлені нами мікроскопічні зміни були характерними для венозного застою та набряку цього органа.

РОЗДІЛ 7. УДОСКОНАЛЕННЯ ЛІКУВАЛЬНО-ПРОФІЛАКТИЧНИХ ЗАХОДІВ І ДІАГНОСТИКИ З ПАРВОВІРУСНИМ ЕНТЕРИТОМ

7.1. Удосконалення профілактики ентеритів вірусної етіології

Нами було проведено статистичний аналіз щодо специфічної профілактики та поствакцинальних ускладнень у цуценят до року у ветеринарних клініках міста Житомир за 2015 – 2016 роки. За результатами досліджень вакцинація не дає 100 % гарантію прояву хвороби на те чи інше інфекційне захворювання.

У більшості регіонів України, і в тому числі у Житомирській області, для специфічної профілактики найчастіше використовуються п'ять вакцин, а саме: Чеського виробництва – Біокан *DHPPi*, Французького – Еурікан, з Нідерландів – Нобівак *DHPPi* та дві вакцини із США – Вангард 5/L і Дурамун 5/4L. Їх використовують відповідно до настанови з ~ 2- місячного віку та ревакцинацією через 21 добу.

За 2015 – 2016 роки було проведено 1080 профілактичних щеплень собак до року та виявлено більше 2 % поствакцинальних ускладнень до парвовірусного ентериту, що підтверджувалося клінічним проявом захворювання (табл. 7.1.1).

Аналізуючи результати проведення профілактичних вакцинацій собак можна зробити висновок, що найчастіше для профілактики інфекційних захворювань собак до року використовували вакцини Біокан *DHPPi* – 399 провакцинованих тварин, що складало 36,9 % від загальної кількості цієї маніпуляції. Нобівак *DHPPi* була використана для специфічної профілактики – 291 собакам, що становило 26,9 %. Вакцини Вангард 5/L та Дурамун Макс 5/4L мали середній показник використання, який становив 152 та 175 імунізованих собак, що складало 14 % і 16,2 % відповідно. Найменш популярна у нашому регіоні вакцина Еурікан, яку використали для імунізації 63 собакам, що становило 6 % від загальної кількості імунізацій собак проти притаманних

цьому виду вірусних хвороб за дослідний період в м. Житомир на базі приватних ветеринарних клінік.

Таблиця 7.1.1

**Результати проведення профілактичної вакцинації собак до року у
м. Житомир**

№ п/п	Комерційна назва вакцина	Кількість вакцинованих собак од / %	Кількість випадків виникнення поствакцинальн их ускладнень	Кількість випадків виникнення поствакциналь них ускладнень, %
1.	Біокан DHPPi	399 / 36,9	20	5,0
2.	Вангард 5/L	152 / 14	2	1,3
3.	Нобівак DHPPi	291 / 26,9	1	0,34
4.	Дурамун 5/4L	175 / 16,2	1	0,57
5.	Еурікан	63 / 6,0	2	3,1
Всього		1080 / 100	26	2,4

Загальна кількість поствакцинальних ускладнень, що характеризувались розвитком клінічних ознак парвовірусного ентериту, була визначена у 26 собак і становила 2,4 % від загальної кількості тварин, яким проводили профілактичні щеплення. На нашу думку ця кількість була досить незначною і найчастіше такі ускладнення проявлялась перехворюванням собак на парвовірусний ентерит у легкій формі.

Враховуючи наявність випадків парвовірусної інфекції у поствакцинальний період, було проаналізовано рівень імунної відповіді організму собак на потрапляння вакцинного антигену. Лабораторним показником імунної відповіді є наявність антитіл, серед яких основним є імуноглобулін класу G (*Ig G*). Цей клас антитіл є найбільш представленим, на

його частку може припадати до 80 % всіх сироваткових імуноглобулінів, також ця фракція найбільш активна у реактивній відповіді організму на потрапляння патогенних агентів різного етіологічного спектра. Отже, визначення *Ig G* у сироватці крові має важливе діагностичне значення щодо гармонічної відповіді на антигенну стимуляцію рівнем антитілоутворення.

Для визначення напруженості поствакцинального імунітету в Україні на сьогодні запропоновано проводити дослідження сироваток крові за допомогою імуноферментного аналізу на виявлення, у кількісному значенні, *Ig G*. Цей імуноглобулін належить до показників гуморального імунітету і свідчить про певний рівень антитіл, що утворилися під час або після захворювання чи після вакцинації, та рівень колострального імунітету у цуценят. Для проведення такого експерименту було сформовано групи собак у різні стадії життєвого циклу і дані щодо їхніх показників гуморального імунітету, а саме *Ig G* (табл. 7.1.2).

За інтерпретації показників напруженості імунітету у собак, а саме показника *Ig G* до ПВС в ІФА, виявлено, що референтне значення *Ig G* до ПВС становить $21,5 \pm 2,5$ Од/мл (див. табл. 7.1.2). Тобто, це той граничний показник за якого собака має достатній опір організму протистояти парвовірусу. Водночас слід зазначити, що у дорослих собак, яких не вакцинували більше року цей показник становив $17,5 \pm 2,1$ Од/мл, а у безпородних, яких ніколи не піддавали вакцинації, $16,4 \pm 4,7$ Од/мл. До того ж, нині тварини не хворіли на ПВЕ. Визначено також, що рівень *Ig G* до ПВС у цуценят перед першою вакцинацією складав $91,9 \pm 4,2$ Од/мл, можливо такий високий показник імуноглобулінів передався від матері. На нашу думку вакцинація за загальною схемою з однією ревакцинацією не створює належного захисту від парвовірусної інфекції, адже реакція на вакцинний антиген здебільшого відбувається за рахунок колостральних антитіл. І в такому разі ревакцинація через 21 добу є першою вакцинацією, не спроможною «завести» імунну систему без повторної вакцинації до необхідного рівня. Тому випадки

парвовірусної інфекції зустрічаються в імунних цуценят, відповідно, не формується належний поствакцинальний імунітет.

Таблиця 7.1.2

Динаміка показників *Ig G* до парвовірусної інфекції у собак в ІФА

Біоматеріал / групи тварин	<i>Ig G</i> , Од/мл
контрольна група, n=10	21,5±2,5
Сироватка цуценят, у термінальну стадію ПВЕ, n=6	13,3±2,4
Сироватка цуценят, що перехворіли ПВЕ, n=5	54,2±6,7
Сироватка безпородних собак (4 – 5 років), n=6	16,4±4,7
Сироватка собак 18 – 20 міс., не вакциновані, n=5	17,5±2,1
Сироватка собак, які більше 2 років не вакциновані, n=5	10,2±1,2
Сироватка цуценят до вакцинації (55 діб), n=6	91,9±4,2
Сироватка собак 14 діб після ревакцинації, n=5	302,4±18,2
Сироватка собак 21 доба після ревакцинації, n=5	340,1±22,3
Сироватка собак 1 місяць після ревакцинації, n=5	318,1±12,2
Сироватка собак 4 міс. після вакцинації, n=5	41,1±3,3
Сироватка собак 6 міс. після вакцинації, n=5	24,2±2,4
Сироватка собак 7 міс. після вакцинації, n=5	20,8±1,8
Сироватка собак 8,5 міс. після вакцинації, n=5	19,5±1,3

Встановлено також, що у цуценят хворих на парвовіроз, рівень *Ig G* становив 13,3±2,4 Од/мл, а у перехворілих цей показник був 54,2±6,7 Од/мл. На

нашу думку, якщо рівень *Ig G* до ПВС менше 20 Од/мл, ці тварини знаходяться в зоні ризику захворіти на парвовірусний ентерит.

Вивчали також рівень напруженості імунітету у дорослих собак після вакцинації, а саме, чітко відображену, імунну відповідь у зростанні *Ig G* на 14 добу – $302,4 \pm 18,2$ Од/мл і 21 добу – $340,1 \pm 22,3$ Од/мл після вакцинації (табл. 3.8.2). У собак через 4 місяці після вакцинації цей показник становив $41,1 \pm 3,3$ Од/мл, а через 6 місяців – $24,2 \pm 2,4$ Од/мл відповідно. Слід зазначити, що концентрація поствакцинальних антитіл, через 7 – 8 місяців після вакцинації, є на досить низькому рівні і передбачає відновлення. Отримавши вищенаведені результати, можливо припустити, що напруженість поствакцинального імунітету триває 7 – 9 місяців залежно від типу вакцини. Цей факт передбачає необхідність ревакцинації не через рік, як повідомляє виробник вакцини, а раніше. Також потрібно врахувати, що собаки групи 4 та 6-ти місяців після вакцинації були імунізовані вакциною Біокан *DHPPI*, а групи собак 14, 21 і 30 діб – Вангард плюс 5/L.

Аналізуючи вищенаведені матеріали, слід зазначити, що вакцинацію цуценят потрібно проводити тільки після встановлення рівня напруженості імунітету шляхом визначення рівня імуноглобулінів класу *G* (*Ig G*) у 5-тижневому віці і в разі виявлення показника *Ig G* більше 50 Од/мл вакцинувати *Purru DP* й далі за схемою у 7 – 8 тижнів – імунізація вакциною *DHPPI+L* і у 9 – 11 тижнів – ревакцинація *DHPPI+LR*. Якщо у 5-тижневому віці показник *Ig G* менше 40 Од/мл, потрібно вакцинувати за загальною схемою починаючи з 7 – 8 тижнів і з однією ревакцинацією через 21 добу. Даний факт пов'язаний з можливістю цуценят пасивно набувати материнські антитіла, колостральний імунітет, які у значній концентрації здатні перешкоджати «доброякісному перехворювання» внаслідок вакцинації, що і загальмує синтез життєво необхідних активних антитіл.

Механізм формування імунної відповіді на вакцинацію прямо пропорційно залежить від ефективної дегельмінтизації. Експериментально встановлено дози діючих речовин для цуценят, а саме суміш: фебантел 30 – 45

мг, пірантел 25 – 35 мг, празіквантел ~ 7,5 мг / кг маси тіла тварини двічі до вакцинації з інтервалом 14 діб, а після другої дегельмінтизації вакцинувати не раніше ніж через 10 діб. Дозу підбирають залежно від епізоотологічної ситуації щодо гельмінтозів після отоскопічних і ларвоскопічних досліджень. Було визначено високу ефективність препарату *Procox (Bayer)*, особливо для профілактики протозойних хвороб.

Наступним етапом нашої роботи було вивчення показників клітинного імунітету у собак після вакцинації (табл. 7.1.3).

Таблиця 7.1.3

Показники клітинного імунітету у дорослих собак

Показники	T %	T(X) %	T(C) – %	Індекс X / C	B – %
Референтні значення	40,1±0,9	29,6±1,1	18,4±1,3	1,7± 0,3	16,0±0,7
18 – 20 міс. не вакциновані, n=5	20,0± 2,1***	10,0± 1,3***	8,0± 0,85**	1,3±0,5	8,0± 0,8***
6 міс. після вакцинації, n=5	42,0±3,4	24,0±1,9	16,0±0,9	1,5±0,3	18,0±1,3
21 доба після ре- вакцинації, n=5	17,3± 2,1***	9,2± 1,0***	7,1± 0,9***	1,43±0,11	7,2± 0,93***

Примітка * – P < 0,05; ** – P < 0,01; *** – P < 0,001 – порівняно з контрольною групою тварин

За інтерпретації імунологічних показників собак після вакцинації (табл. 7.1.3) встановлено пригнічення клітинної ланки імунітету після введення

вакцини, з поступовим відновленням і стабілізацією, через 21 добу ($P < 0,001$), після імунізації показників імунної відповіді. Через пів року після вакцинації спостерігали стабілізацію показників імунітету у таких собак і лише незначне зменшення кількості лімфоцитів Т-хелперів і Т-супресорів. Показники напруженості імунітету у собак, через 18 – 20 місяців ($P < 0,001$), свідчать про низький захисний рівень, що передбачає його стабілізацію. Враховуючи, що у тварин через пів року після вакцинації більшість показників імунного статусу були на рівні з референтними показниками, а через півтора року вдвічі нижче ніж за норму, можемо припустити, що ревакцинацію потрібно проводити через термін менше року. Враховуючи, що через 21 добу показники напруженості імунітету (табл. 7.1.3) є у стадії стабілізації, необхідно враховувати цей факт у календарі специфічної профілактики з визначенням терміну ревакцинації через ~ 9 місяців.

Не має сумніву, що сьогодні найбільш дієвим методом профілактики будь – якого захворювання, а особливо вірусною етіології є вакцинація. Застосування біологічно активного препарату – це процес специфічної профілактики, спрямованої на активізацію імунної системи живого організму. Важливе значення щодо опірності організму належить вродженому імунітету, який передає мати нащадкам, а саме системі гуморального імунітету, що починає активізуватися в утробі матері і передається плоду через плаценту під час вагітності. Головною складовою гуморального імунітету є імуноглобуліни класу G, які складають ~ 75 % антитіл, що контролюють інфекцію будь якого генезу. У ветеринарній медицині питання трансплацентарної передачі антитіл певною мірою вивчено у продуктивних тварин, щодо собак, то в цьому напрямі вкрай обмаль інформації, а та, що представлена, повідомляє про значні коливання у відсотковому значенні між сукою і цуценятком. Нами було проведено дослідження цього показника у сук під час щенності та їх цуценят, адже цей напрям профілактики може покращити епізоотологічну ситуацію щодо парвовірусного ентериту, особливо у кінологічних центрах та розплідниках. Для дослідження була сформована група собак породи Лабрадор

та Німецька вівчарка віком від 3 до 4 років, яких регулярно, не порушуючи схеми вакцинували. Остання вакцинація була проведена на 20 – 23 добу щенності, а забір проб сироваток крові для дослідження на кількість імуноглобуліну проводили на 41 – 44 добу вагітності, тобто через три тижні після вакцинації, коли згідно із нашими дослідженнями є пікова концентрація поствакцинальних антитіл. Концентрація імуноглобуліна класу G у щенних сук ($n = 4$) становила $132,3 \pm 8,6$ Од/мл. Для оцінки функціонального стану гуморальної ланки імунітету цуценят, отриманих від сук, вакцинованих під час щенності, ми визначали вміст імуноглобуліну класу G до парвовірозу у сироватках крові за допомогою ІФА. Біологічний матеріал у цуценят відбирали на 45 добу життя, враховуючи повідомлення опубліковані М. М. Брошковим (2014 – 2015) [29, 30], що саме на 45 добу у цуценят на достатньому високому рівні знаходяться більшість показників, які відповідають за імунний стан тварини. Концентрація імуноглобуліну класу G у цуценят ($n = 12$), отриманих від щенних сук, становила $9,85 \pm 0,31$ Од/мл.

У результаті проведених досліджень було встановлено, що материнські антитіла передаються трансплацентарно в межах від 6,7 до 8,2 % відповідно. Враховуючи вищенаведене, доцільність вакцинації щенних сук має хоч і незначний ефект, але вельми необхідний у профілактиці парвовірусного ентериту.

7.2. Виділення та сорбція імуноглобулінів класу G (Ig G)

Дослідження, які увійшли до цього підрозділу, проводили спільно з лабораторією генно-інженерних біотехнологій, відділу генних технологій ДУ “Інститут генетичної та регенеративної медицини НАМН України”, разом з кандидатом біологічних наук О. Б. Горбатюк.

Метою цих досліджень було визначити та удосконалити методи отримання специфічного лікування хворих тварин. На сьогодні значне розповсюдження у фармацевтичній біотехнології отримала афінна хроматографія, як швидкий процес адсорбційної хроматографії. Цей метод дозволяє отримати

високоочищені фракції протеїнів та антитіл із значною концентрацією. Таким чином, було поставлено завдання щодо отримання високоочищеного і концентрованого імуноглобуліну класу *G* (*Ig G*) до парвовірусної інфекції собак із сироватки крові останніх.

Високопродуктивним та ефективним способом отримання антитіл є афінна хроматографія з використанням сорбентів на основі іммобілізованих імуноглобулінозв'язувальних білків, зокрема, рекомбінантного білка *A Staphylococcus aureus* [66].

Виділення імуноглобуліну класу *G* (*Ig G*) собак, специфічних до парвовірусної інфекції проводили осадженням $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ із розрахунку 35 – 50 г на 100 мл сироватки крові. Нами були використані сироватки крові домашніх собак породи Німецька вівчарка віком 3 – 5 років та безпородних ідентичного віку (рис. 7.2.1).

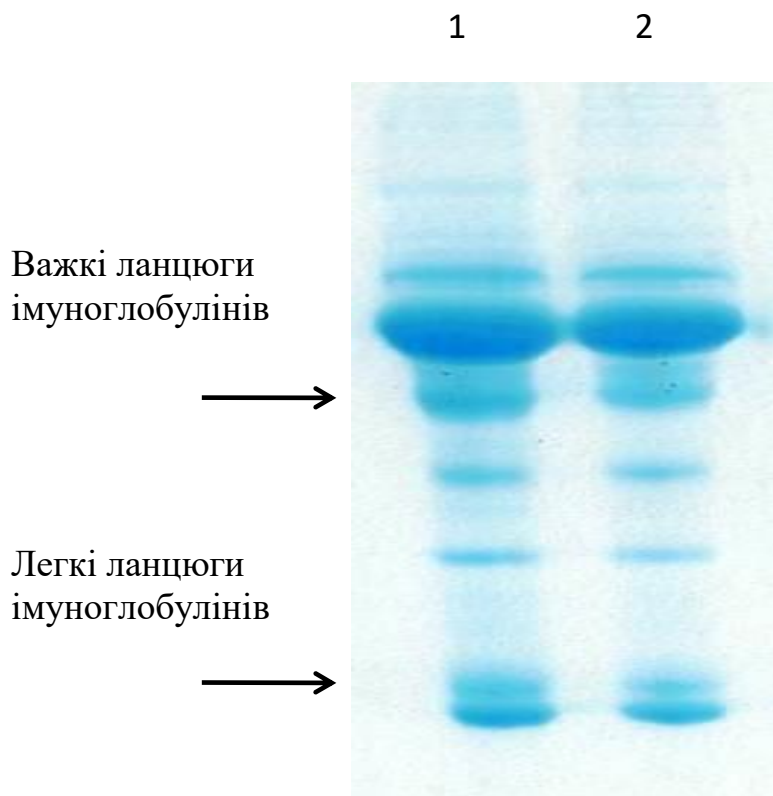


Рис. 7.2.1. Електрофореграма фракцій антитіл, очищених на біоафінному сорбенті: 1 – сироватка крові домашніх собак породи Німецька вівчарка віком 3 – 5 років; 2 – сироватка крові безпородних вуличних собак віком 3 – 5 років.

Висолювання відбувалося впродовж ночі за температури $t +4^{\circ}\text{C}$. Осад відділяли центрифугуванням при 10000 g впродовж 20 хв. Далі одержаний осад розчиняли в ФСБ (фосфатно-сольовий буфер) – 0,14 М NaCl; 2,7 мМ KCl; 10 мМ Na_2HPO_4 ; 1,8 мМ KH_2PO_4 , рН 7,4, фільтрували через мембранний фільтр з розміром пор 0,45 мкм, діалізували та наносили на сорбент з іммобілізованим білком А *Staphylococcus aureus*. Потім проводили очищення імуноглобулінів: на хроматографічну колонку з 1 мл (зрівноваженого буфером *PBS*) біоафінного сорбенту нашаровували розведену буфером *PBS* дослідну сироватку крові собак.

Чистоту елюйованих антитіл аналізували методом електрофорезу в 12 – 15 % поліакриламідному гелі з 0,1 % додецилсульфатом натрію (ДСН-ПААГ). Оцінку чистоти та кількості виділених *Ig G* собаки проводили шляхом денситометрії електрофореграм (рис. 7.2.2).

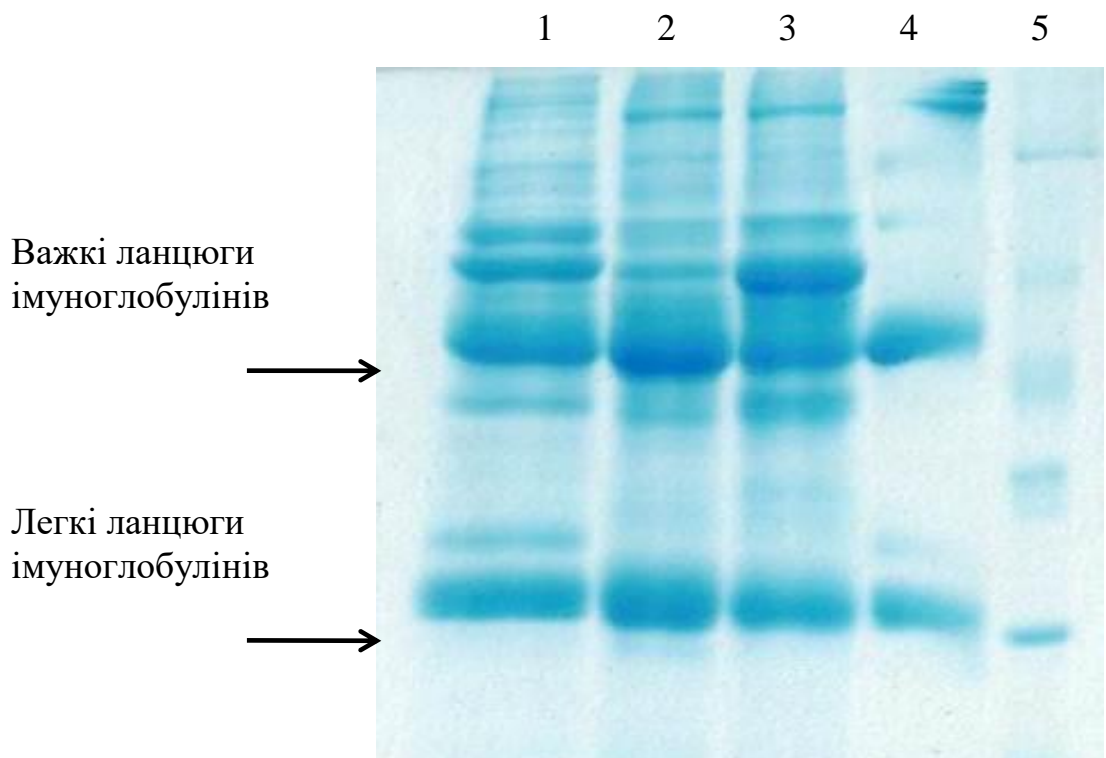


Рис. 7.2.2 Електрофореграма фракцій антитіл очищених на біоафінному сорбенті: 1 – фракція *Ig G* собаки, отримана шляхом висолювання сульфатом амонію; 2 – лікувальний глобулін глобкан – 5; 3 – полівалентна сироватка гіскан – 5; 4 – фракція *Ig G* собаки, отримана шляхом очищення на сорбенті з іммобілізованим білком А *Staphylococcus aureus*; 5 – білки-маркери молекулярної маси

Для контролю якості очищення дослідних сироваток використовували існуючі на ветеринарному ринку біопрепарати, а саме сироватку полівалентну проти вірусних хвороб собак (чума м'ясоїдних, парвовірусний ентерит, коронавірусний ентерит, аденовірусна інфекція першого та другого типу), Гіскан – 5 та імуноглобулін полівалентний проти вірусних хвороб собак (чума м'ясоїдних, парвовірусний ентерит, коронавірусний ентерит, аденовірусна інфекція першого та другого типу) Глобкан – 5.

Виявлено, що препарат *Ig G* собаки, отриманий висолуванням сульфатом амонію за чистотою ~ 70 % та кількісним умістом загального імуноглобуліну був на одному рівні з комерційно доступними препаратами Глобкан-5 та Гіскан-5 (див. рис. 7.2.2). Застосування афінної очистки на сорбенті з іммобілізованим білком А *Staphylococcus aureus* забезпечило отримання фракції тотальних *Ig G* собаки з чистотою близько 90 %, що на сьогодні є кращим, ніж у існуючих на ринку біопрепаратах (див. рис. 7.2.2).

Необхідно зазначити, що метод афінної хроматографії щодо концентрування і очистки можна застосовувати для отримання специфічної сироватки, яка може бути використана як компонент імунохімічного аналізу у імуноблотингу. Цей метод діагностики все більше зазнає розповсюдження на сьогодні у світі за рахунок специфічності і чутливості на рівні – 99 – 100 % та можливістю визначати антиген або антитіла у будь-якому біологічному середовищі організму з великою вірогідністю.

Також ми провели дослідження щодо визначення можливості використання вищезгаданих методів для отримання концентрування та очищення імуноглобулінів *G* із сироватки крові собак (табл. 7.2.1).

Аналізуючи результати (див. табл. 7.2.1) визначили, що концентрування сульфатом амонію збільшує вміст *Ig G* у середньому на ~ 30 %, при цьому значним був рівень насиченості різноманітними білковими фракціями (див. рис. 7.2.2.). Тому проводили очищення афінним сорбентом і отримали позитивний результат очистки ~ 90 %, але низький вміст *Ig G* ~ 11 Од/мл. Надалі дослідну очищену сироватку повторно концентрували сульфатом амонію, результат

зростання вмісту імуноглобулінів класу *G* було майже в ~ 4 рази більшим порівняно з початковою пробою і в ~ 3 рази – порівняно з першим концентруванням.

Таблиця 7.2.1

Вміст *Ig G* в дослідному матеріалі (досліджено у ІФА)

Нативний зразок (сироватка), Од/мл	Після концентрування сульфатом амонію (сироватка), Од/мл	Очищення на афінному сорбенті, Од/мл	Повторне концентрування сульфатом амонію, Од/мл
24,22	29,699	-	-
15,262	21,468	11,855	69,954
16,150	22,771		
16,475	23,529	10,949	65,256
14,388	19,550		

Таким чином підводячи підсумок отримано високоочищену пробу, більше 90 %, сконцентровану, майже в 4 рази сироватку з імуноглобулінами класу *G* (*Ig G*). Важливо зазначити, що дослідний імуноглобулін перш за все отримано від гомогенних тварин. Це знижує розвиток імунного конфлікту, який спостерігаються у разі використання комерційних сироваток та імуноглобулінів отриманих від ВРХ і коней. По – друге, рівень очистки становить близько 90 %, тоді як у існуючих комерційних біопрепаратів – на рівні 70 %. Отже, враховуючи вищенаведені результати ми запропонували отримані імуноглобуліни використовувати для специфічного лікування.

Наступним етапом було проведення експерименту щодо створення специфічної сироватки з високим умістом антитіл, придатної для удосконалення діагностики та можливості корекції лікування шляхом використання специфічного імуноглобуліну. Встановивши, що найбільша

концентрація імуноглобуліну класу *G*, була на 21 добу після вакцинації – $340,1 \pm 22,3$ Од/мл. (див. табл. 7.1.2), саме тому в такий термін відібрано нестабілізовану кров і отримано сироватку для подальшої очистки та концентрації. Виділення імуноглобуліну класу *G* (*Ig G*), його очищення і регулювання концентрації проводили згідно з методикою описаною у підрозділі 7.2. Отриманому імуноглобуліну присвоїли робочу назву КПВІ (концентрований противірусний імуноглобулін). Надалі провели клінічні дослідження на безпечність та не токсичність. Експериментальні клінічні дослідження проводили на цільових тваринах – собаках (n-10) породи Лабрадор та Німецька вівчарка віком від 3 до 5 років. Враховуючи вищенаведені дані щодо електрофореграми фракцій антитіл на наявність супутніх білків, Глобкан-5 є більш «чистим», аніж Гіскан-5, тому для тварин контрольної групи ми обрали саме його. Також слід врахувати, що Гіскан-5 – це лікувальна сироватка, а Глобкан-5 – лікувальний глобулін, тому для «чистоти» експерименту ми порівнювали отриманий нами специфічний глобулін з існуючим на ринку. Клінічний експеримент проводили згідно з існуючими подібними науковими публікаціями та міжнародними правилами щодо захисту тварин [32, 43, 71, 104, 137, 173, 119, 178, 262].

Тварини були розділені на дві дослідні групи по 5 собак у кожній. Перша дослідна (контрольна) група – собакам вводили Глобкан-5, друга дослідна (експериментальна) група – собакам вводили КПВІ (концентрований противірусний імуноглобулін). У дослідженні використовували дорослих собак вагою більше 20 кг. Згідно із діючою інструкцією Глобкан-5, з профілактичною метою, вводили таким тваринам внутрішньом'язово в дозі $4,0 \text{ см}^3$ однократно. У зв'язку з тим, що фабричний глобулін може зумовлювати побічну дію у вигляді гіпертермії і алергічної реакції, його передбачено застосовувати з антигістамінними препаратами. У процесі нашого експерименту додаткові фармацевтичні препарати могли змінити хід і результат досліджень, тому було запропоновано застосовувати обидва препарати (дослідний і контрольний) в дозі $2,0 \text{ см}^3$, але з повторним введенням через 24 години.

Після дворазового введення фабричного і дослідного глобуліну, тварини перебували під постійним наглядом, який включав огляд та термометрію. Впродовж усього часу, 21 добу, у жодної з дослідних собак не було виявлено хоча б мінімальних відхилень від фізіологічного стану. Такий результат свідчить про цілковиту безпечність отриманого препарату.

Важливим показником якості лікарських засобів є стабільність і термін придатності, тобто час, протягом якого не спостерігають негативних змін фізико-хімічних, фармакологічних і споживчих характеристик. Стабільність отриманого нами специфічного глобуліну визначали шляхом довготривалого зберігання за різних температурних режимів упродовж 6 місяців та органолептичного контролю. Визначали концентрацію імуноглобуліну класу G у початковому зразку, яка становила $825,1 \pm 14,2$ Од/мл., надалі розділили на 2 рівних проби і помістили першу в холодильник за температури $t = +4$ °C, а другу заморозили і зберігали за $t = -24$ °C. Через 6 місяців проби під час органолептичного огляду були без змін щодо прозорості та кольору, а на кількісний вміст імуноглобуліну класу G досліджено у ІФА. За температури $t = +4$ °C через 6 місяців зберігання вміст імуноглобуліну класу G становив $682,9 \pm 12,3$ Од/мл., а за $t = -24$ °C через 6 місяців зберігання він складав $775,81 \pm 12,7$ Од/мл. Встановлено достатню стабільність під час зберігання отриманого нами концентрованого очищеного специфічного імуноглобуліну КПВІ за різних температурних режимів.

Отже, аналізуючи наведену вище інформацію, визначили високу стабільність препарату КПВІ, безпечність і не токсичність, а враховуючи те, що цей глобулін отриманий від гомогенних тварин, це практично зводить нанівець алергічну реакцію. Також слід зазначити вищий ступінь очистки за отримання препарату (див. рис. 3.9.2) і більший вміст антитіл за рахунок подвійного концентрування (див. табл. 3.9.1), аніж у фабричного глобуліну. Отриманий нами специфічний імуноглобулін доцільно використовувати як специфічний метод у лікувально-профілактичних заходах.

7.3. Розробка тест-системи полімеразно-ланцюгової реакції для діагностики парвовірусу отриманого з гетерологічних перещеплювальних ліній культур клітин

Під час проведення вірусологічних досліджень парвовірусу, а саме культивування його на гетерологічних культурах клітин, виявлено, що у біологічному матеріалі перед дослідженням діагностували у ІХА та ПЛР антиген. Після культивування з характерними ознаками дії вірусу і руйнації моношару та переморожуванням проводили повторну діагностику у ПЛР, у якій отримували негативний результат. Надалі для підтвердження наявності вірусу у культуральному вмісті проводили діагностичну біопробу, яка мала позитивний результат. Тому постало питання удосконалення діагностики у ПЛР парвовірусної інфекції у собак.

Останнім часом методика ПЛР все частіше використовується як інструмент для діагностики інфекційних хвороб собак. ПЛР широко застосовується для забезпечення швидкої, чутливої і точної діагностики захворювання.

Розробку постановки полімеразно ланцюгової реакції виконували на базі дослідної лабораторії ПП «Лабораторія пробідних біотехнологій «НЕО-ГЕН» (м. Київ) разом з Д. Ю. Рибальченко та за участі О. Л. Філоненко.

Розробку специфічних праймерів для виявлення парвовірусу собак на основі ПЛР проводили за використання бази даних *GenBank*, *EMBL* (Європейська молекулярно-біологічна бібліотека).

Аналіз літератури дозволив визначити декілька маркерних послідовностей: «SET1 та SET2», що придатні для розробки специфічних праймерів.

Нуклеотидну послідовність праймерів для виявлення парвовірусу собак підібрано із використанням програми *Primer Express (Applied Biosystems)*. За нашими даними нуклеотидні послідовності праймерів мали певну характерну послідовність (табл. 7.3.1). Олігонуклеотидні праймери синтезували на виробничих потужностях *HVD Biotech Vertriebs (Австрія)*. Праймери на капсидний білок VP2, розмір ПЛР продукту – 498 нп.

У ході постановки полімеразної ланцюгової реакції кожен зразок досліджували у двох повторах: з парою праймерів та ампліфікацію проводили в реакційній суміші об'ємом 20 мкл, що мала наступний склад: 10 мкл 2-х Мікс для ПЛР «гарячого старту», розроблений ПП «ЛПБ «НЕО-ГЕН», 10 пМ праймерів. Досліджувану ДНК вносили у кількості 50–100 нг. Гарячий старт дозволяв значно знизити кількість неспецифічних реакцій.

Ампліфікацію ДНК-мішені здійснювали на приладі Терцік (виробництва НФК «ДНК-технологія») із наступним температурним профілем: активація Таq-полімерази – 12 хв за температури $t + 95^{\circ}\text{C}$ та наступні 40 циклів ампліфікації, які включали денатурацію 20 с за $t - + 95^{\circ}\text{C}$, відпалу праймерів 20 с за $t + 51^{\circ}\text{C}$ для пари праймерів SET1, за $t - + 55^{\circ}\text{C}$ для пари праймерів SET2, елонгацію 20 с за $t - + 72^{\circ}\text{C}$, кінцева елонгація 2 хв за температури $t - + 72^{\circ}\text{C}$.

Отримані результати аналізували за допомогою електрофорезу в 2 % агарозному гелі, який проводили в 1-х ТБЕ буфері, камері для горизонтального електрофорезу AE-108 і джерелі напруги SPN300-03С виробництва ПП «ЛПБ «НЕО-ГЕН». Електрофорез проводився за напруги 150 В, 50 мА впродовж 30 хв. Отримані фрагменти візуалізовані на трансільюмінаторі Т-312 за довжини хвилі 365 нм виробництва ПП «ЛПБ «НЕО-ГЕН». В якості маркера молекулярних мас використовували 100 bp DNA Ladder виробництва *Solis BioDyne* (Естонія). У результаті досліджень культуральної вірусомісної рідини та патологічного матеріалу встановлено, що отриманий нами польовий ізолят культивований на гетерологічних культурах клітин, найкраще придатний для накопичення не тільки на гомологічних лініях культур клітин, а й на гетерологічних. У результаті підібраних праймерів розширюється спектр діагностичних можливостей парвовірусної інфекції на території України, де можливе виникнення мутованого парвовірусу, адже останній піддається модифікованому культивуванню *in vitro*. Результати молекулярно-біологічної діагностики (апробації ПЛР) наведені в рисунку 7.3.1.

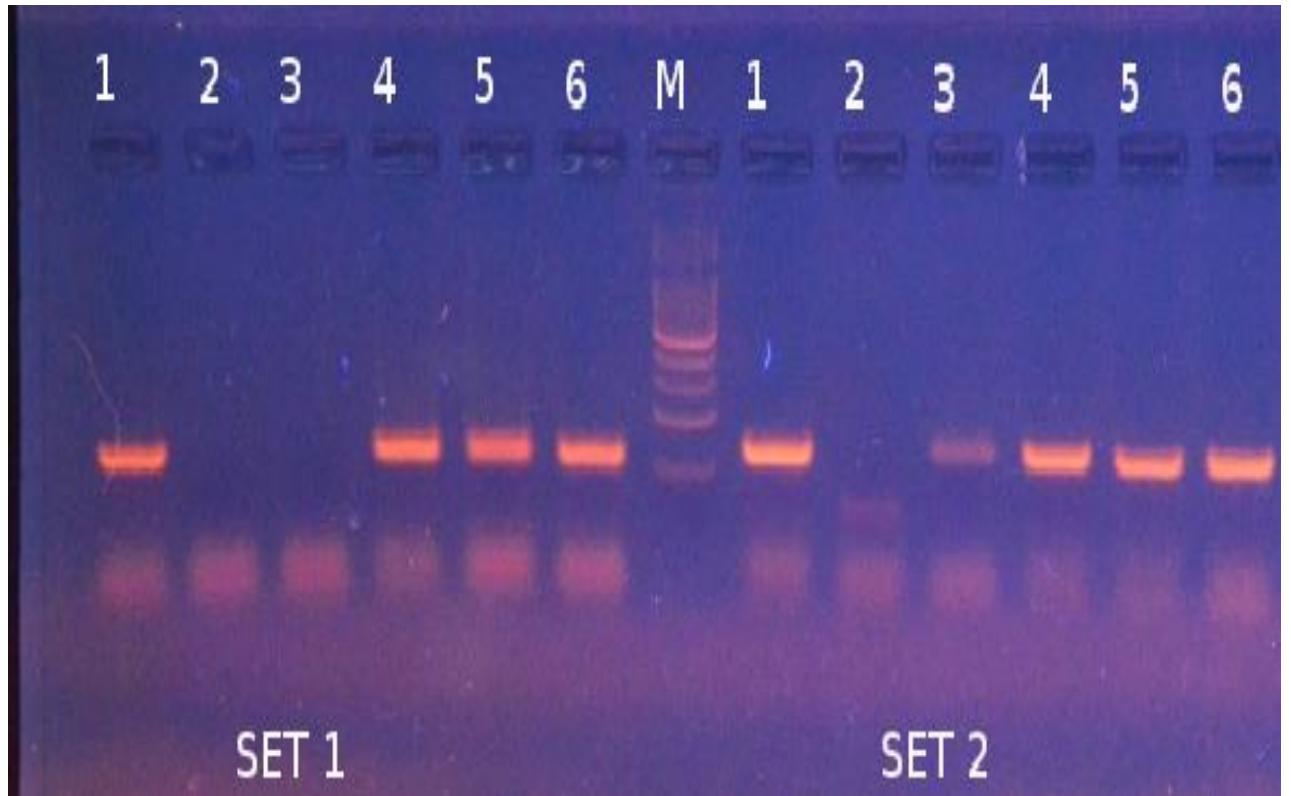


Рис. 7.3.1. Результати апробації ПЛР

1 – початковий зразок, що використовували для зараження перещеплювальних ліній культур клітин для накопичення культуральної вірусної маси; 2 – вірусний ізолят на культурі клітин СПЕВ; 3 – вірусний ізолят на культурі клітин ВНК-21; 4 – вірусний ізолят на культурі клітин РК-13; 5 – зразок отриманий від тварин після експериментального відтворення ПВІ; 6 – збірна проба після концентрування зворотним діалізом 1:10; М – маркер молекулярних мас *100 bp DNA Ladder*.

За результатами молекулярно-генетичних досліджень нами вперше сконструйовано олігонуклеотидні праймери, CPVF (agacgtggtgtaactcaaatg) і CPVR (gcacatcaagatacaggaag), для виявлення та ідентифікації геному парвовірусу собак у полімеразно-ланцюговій реакції (ПЛР), які дозволяють ампліфікувати певні ділянки геному вірусу з високою специфічністю

У таблиці 7.3.1 представлені дві пари праймерів для виявлення парвовірусу у патологічному матеріалі. У результаті наших досліджень щодо ідентифікації культурального парвовірусу більш придатною виявилась пара праймерів Set 2.

**Послідовності олігонуклеотидних праймерів до парвовірусу собак
«Антей»**

SET1- FORWARD (CPVF)	5'- tctttgcctcaatctgaagg -3'
SET1- REVERSE (CPVR)	5'- cagtaatatagtttgatttcc -3'
PROBE	5'-agacgtggtgtaactcaaatg-3'
SET2- FORWARD (CPVF)	5'- gcatttggtagacaacatgg -3'
SET2- REVERSE (CPVR)	5'- ttgaatccaatctccttctgg -3'
PROBE	5'- gcacatcaagatacaggaag-3'

ВИСНОВКИ ДО РОЗДІЛУ 7

Результати наших досліджень свідчать про те, що напруженість поствакцинального імунітету триває 8 – 9 місяців. Було встановлено, що вакцинацію цуценят потрібно проводити тільки після визначення рівня імуноглобулінів класу *G* (*IgG*) у 5- тижневому віці і в разі виявлення показника *Ig G* більше 50 Од/мл вакцинувати *Puppy DP* й далі за схемою у 7–8 тижнів – імунізація вакциною *DHPPI+L* і у 9–11 тижнів ревакцинація *DHPPI+LR*. Якщо у 5- тижневому віці показник *Ig G* менше 40 Од/мл, вакцинувати слід за загальною схемою починаючи з 7–8 тижнів і з однією ревакцинацією через 21 добу. Даний факт пов'язаний з можливістю цуценят пасивно набувати материнські антитіла, колостральний імунітет, які у значній концентрації здатні перешкоджати «доброякісному перехворюванню» внаслідок вакцинації, що і загальмує синтез життєво необхідних активних антитіл.

Ми провели дослідження щодо очистки і концентрації імуноглобулінів класу *Ig G*, із сироватки крові собак, гіперімунізованих проти вірусних хвороб (аденовірус двох типів, парвовірус, коронавірус та пароміксовірус), шляхом афінної хроматографії. Результат – отримання очищених антитіл у високій концентрації, які проявляли стабільність за тривалого зберігання. Виділений *Ig G* придатний для удосконалення діагностики та як препарат специфічної терапії. У разі застосування останнього собакам, не виявлено алергічних, токсичних або інших негативних наслідків, тварини були стабільно клінічно здорові.

Виділення парвовірусного та коронавірусного польового ізоляту проводили шляхом культивування на культурах клітин. У результаті нашого експерименту було встановлено, що найбільш чутливою лінією культур клітин для культивування польового ізоляту парвовірусу були нирка кроля і дещо гірше нирка хом'яка після третього пасажі, у перші три пасажи чутливішою була культура клітин нирки свині. Найбільш чутливою лінією культур клітин для культивування польового ізоляту коронавірусу собак була нирка хом'яка.

Отриманий культуральний парвовірус проявляв неспецифічну реакцію у ході діагностичного дослідження у стандартному ПЛР. Було проведено підбір праймерів і корекцію режимів реакції, що розширило можливості діагностики парвовірусної інфекції у собак.

РОЗДІЛ 8. АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ

Однією з перших одомашнених людиною тварин, більше 10 тисяч років тому, були собаки, і на сьогодні налічується більше 700 порід собак. Дрібні тварини, а саме собаки у більшості країн світу є лідерами серед домашніх улюбленців, кількість яких постійно зростає і за останні 10 років має приріст на 1,4 % на відміну від цього показника у людей – на 1,2 % відповідно. За даними Стенли Колена опублікованими у журналі *Psychology Today* (2015), поголів'я собак у світі становить 525 млн. Україна є одним із світових лідерів щодо кількості собак на 100 чоловік населення, а загальне поголів'я їх за різним підрахунками складає близько 5,1 млн.

Збільшення популяції дрібних тварин, у тому числі собак, неминуче веде до загострення епізоотичної ситуації [318, 406, 492]. Хвороби собак різної етіології переважно не несуть економічних витрат, але мають значну моральну складову для власників, адже, безумовно, втрата внаслідок загибелі через хворобу їхнього улюбленця може бути непоправною.

У зв'язку з підвищенням інтересу до розведення та утримання дрібних домашніх тварин і зростанням кількості поголів'я останніх в особистому та службовому користуванні почастишали випадки реєстрування різних інфекційних захворювань. Але на сьогодні знань про діагностику, патологію більшості інфекційних захворювань, застосування ефективних методів терапії недостатньо.

За даними В. П. Фасолі (2001; 2008) [149, 306], провідне місце серед інфекційних хвороб займають кишкові інфекції, які залишаються однією із найважливіших проблем, а бактеріальні та вірусні діареї є найбільш поширеними у світі серед інфекційних хвороб тварин [175, 501].

У ході проведених нами досліджень було встановлено, що найрозповсюдженішим ентеритом вірусної етіології за 2007 – 2015 роки був парвовірус – 1237 (51,6 %) позитивних проб з 2396 досліджуваних. За 2010 –

2015 роки корона- та ротавірусний ентерит діагностували у 18,5 % та 23,5 % проб, отриманих від хворих собак.

Значне розповсюдження має сумісне ураження збудниками двох типів ПВЕ з КВЕ – 43 собак та ПВЕ з РВЕ – 34, а з трьома збудниками встановлено – 8 тварин [235], що певною мірою збігається з дослідженнями іноземних науковців [394, 398].

Встановлено, що вірусні ентерити призводять до тяжких розладів таких систем, як шлунково-кишкова, серцево-судинна та дихальна. Зрілі собаки рідко хворіють на ентерити такої етіології і якщо хворіють, то здебільшого з благоприємним прогнозом. Смертельну небезпеку ентерити вірусної етіології створюють для цуценят. Не вакцинований молодняк, отриманий від не вакцинованих собак, в умовах розплідників хворіє тяжко, із значною летальністю – від 30 до 80 % [203, 492]

Закордонні автори повідомляють, що під час проведення серологічних досліджень на території Японії цей вірус діагностували у 57 %, а в Австралії – серопозитивних 85 % собак. Аналізуючи літературні джерела, встановили, що коронавірусний ентерит має широке розповсюдження, антитіла до нього виявляють у сироватках крові майже 54 % домашніх собак, а в деяких популяціях за вол'єрного утримання, ця цифра досягає майже 100 % [192, 197, 406].

У подальших дослідження ми вирішили встановити нозологічних профіль найбільш розповсюджених хвороб собак зі специфічним проявом геморагічної діареї. Так, за 2014 – 2015 рр. у ході проведення експерименту було відібрано для комплексного аналізу проби від 146 собак, з яких причину незаразної етіології встановлено у 13, а заразної – у 87 % дослідних тварин. Виявлено, що найпоширенішою хворобою є лямбліоз – 19,5 %, вірусний гепатит 18,8 %, парвовірусний ентерит – 13,6 %, криптоспоридіоз – 11,7 %, ротавірусний ентерит – 9,8 %, неоспороз – 6,5 %, коронавірусний ентерит та чума м'ясоїдних у 5,8 %, кампілобактеріоз – у 4,6 % дослідних проб відповідно, і найменше під час проведення моніторингу виявляли сальмонельоз – 3,9 % проб.

У етіології серед вірусних ентеритів домінували аденовірусний та парвовірусний інфекційні агенти, що збігається з літературними даними наукових досліджень в Україні [153, 318]. Значну зацікавленість викликає розповсюдження коронавірусного та ротавірусного ентериту. Водночас це питання в Україні майже не вивчали, проте світова література повідомляє про їх значне розповсюдження на різних континентах [327, 362, 387, 434, 462]. Нами була встановлена значна роль у етіологічному аспекті геморагічних ентеритів протозойним агентам – лямбліям, неоспорам та криптоспорам, що має відповідність щодо досліджень закордонних авторів [532]. Безумовно, цей факт потрібно враховувати під час диференційної діагностики та вибору напрямів лікування і, як наслідок, корекції профілактичних заходів.

Зазвичай у ветеринарних клініках собакам з симптомокомплексом геморагічна діарея ставлять діагноз – парвовірусний ентерит. Так, ми проаналізували статистичні дані ветеринарних клінік за 2007 – 2015 рр. щодо діагностики вірусних ентеритів з підтвердженням лабораторно. Серед 3302 дослідних проб від хворих собак у 1423 зразках виявляли вірусний агент, з яких 51,6 % – парвовірус, 23,5 % – ротавірус і 18,5 % – коронавірус відповідно. Дещо занижкий відсоток коронавірусного та ротавірусного ентериту пояснюється тим, що в більшості лабораторій України дослідження на вище згадані хвороби почали лише з 2010 року. Враховуючи це, визначено значний відсоток сумісного інфікування собак вірусами двох або навіть трьох типів. Так парво- та коронавірусу в організмі собак виявлено у 21,6 % від 199 дослідних проб, а парво- та ротавірусу – 29,6 % від 115 дослідних проб. Певною мірою отримані нами дані пересікаються з результатами закордонних дослідників А. F. Ortega (2017). За їх даними, сумісне інфікування парво- з ротавірусом виявили у 14 % з 50 досліджуваних собак у Мексиці. За даними Себієла Гур та Вілмаж (2008), на деяких територіях Туреччини виявляли серопозитивність до коронавірусу на рівні від 75 % до 96 %. У публікаціях S. A. Godsall (2010) висвітлюється про розповсюдження парвовірусу у 58 % проб, а коронавірусу у 8 % з 355 зразків від собак у Англії. У роботах S. Chosh (2014) наведені дані про значне

розповсюдження ротавірусу у значній кількості не тільки домашніх і продуктивних, а й серед диких тварин [354, 400, 411, 501].

Однією з особливостей діагностики інфекційних захворювань є епізоотологічний аналіз. Надалі ми вивчали епізоотологічні особливості, такі як вікова, породна, природна схильність. Щодо вікової схильності нами було встановлено, що за парво- та ротавірусного ентериту характерно два піки виявлення хвороб, це у групі тварин 6–12 місяців та 3–5 років, а стосовно коронавірусного ентериту, то тільки у групі 6–12 місяців. Цей факт пояснюється короткочасним поствакцинальним захистом у тварин віком близько року, а у групі старших тварин, на жаль власники інколи нехтують проведення специфічної профілактики, хибно думаючи, що такі захворювання притаманні лише цуценятам. Незважаючи на часто латентний перебіг коронавірусної інфекції, вірус здатний персистувати в організмі і дорослих тварин, що було виявлено J. Stavisky (2008) у собак шестирічного віку [561]. Ми зафіксували випадки наявності вірусного антигену цих хвороб у досить дорослих собак, при цьому клінічні ознаки були досить розмитими і не явно вираженими. На нашу думку, саме дорослі тварини можуть відігравати роль у збереженні і перенесенні вірусного агента, чим і підтримують епізоотичний процес. Сезонність прояву вірусних ентеритів мала такі особливості: парвовірусний – осінь-літньо-весняний період, коронавірусний – весняно-літній, а ротавірусний ентерит найчастіше реєстрували навесні та восени. Найбільшу схильність до парвовірусу проявляли такі породи собак як: Лайка Англійський бульдог та Бульмастиф, щодо коронавірусного ентериту були схильними породи собак, такі як Ротвейлер Джек рассел тер'єр та Бігль, а на ротавірусний – Шотландський тер'єр, Коллі і Померанський шпіц, що відповідає літературним даним в Україні та близькому зарубіжжі [13, 105, 196].

З отриманих нами результатів досліджень та публікацій А. Мукхерея (2012) [485] встановлено, що ротавірусний ентерит має латентний перебіг і зазвичай за рахунок своєї персистенції зумовлює ослаблення імунітету, тільки

підсилюючи дію іншого інфекційного або інвазійного агента, тому об'єктом наших наступних досліджень стали парво- та коронавірусний ентерит.

Комплексна діагностика парвовірусної та коронавірусної інфекції у собак розроблена недостатньо і, враховуючи значну варіабельність клінічних ознак та складність апеляції великою кількістю якісних показників, постановка діагнозу на ці захворювання для практичних лікарів ветеринарної медицини є досить складною. У сфері клінічного обслуговування дрібних тварин, як і в клініці гуманної медицини, все більшого значення набуває лабораторна діагностика і загальний аналіз крові, який є економічно доцільним скринінгом і виявляє багато аномалій та патологічний стан організму [214, 302, 394].

Серед вітчизняних вчених певною мірою, морфологічні та показники еритроцитопоезу щодо парвовірусного ентериту собак, вивчали В. В. Лісова, К. А. Чумаков (2011) та А. В. Дідух (2015) Стосовно коронавірусного ентериту то на території колишнього СРСР вивчала його лише А. А. Ольшанська (1997) [78, 159, 196]. Більшість закордонних авторів зазначають зміни лише серед лейкоцитів крові [347, 399, 578]. Нами було вперше проведено повний спектр гематологічних, біохімічних досліджень та показників еритроцитопоезу за різних форм прояву хвороби (враховуючи експериментальне відтворення) і розрахунок інтегральних індексів інтоксикації, таких як показники лейкоцитопоезу, за різних стадій розвитку патологічного процесу.

Встановлено, що за парвовірусного ентериту незначні відхилення від фізіологічних лімітів, залежно від форми прояву захворювання, які в основному характеризують функціональний стан печінки та серця, пояснюють поліорганну недостатність з розвитком патологічної імуносупресії і гепаторенального синдрому. Багато авторів виявляли у собак панкреатит і розвиток гепаторенального синдрому за подібних морфологічних та біохімічних показниках крові [408, 428, 441, 458, 504, 563, 595].

Проведені комплексні дослідження доводять, що у собак, хворих на коронавірусний ентерит, характерними є зміни морфологічного та біохімічного складу крові. При цьому виявлено еритроцитопенію, лейкоцитопенію,

лімфоцитопенію, гіпопротеїнемію, гіперактивність лужної фосфатази, збільшення ШОЕ. Аналізуючи результати, представлені нами щодо індексів морфологічних показників еритроцитопоезу, встановлено нормацитарну анемію, але з тенденцією переходу до макроцитарної, причому зміни біохімічних показників специфічні й відображають глибину патологічних процесів, які ускладнюють перебіг коронавірусного ентериту. Одержані результати частково збігаються з даними закордонних дослідників і показали, що в інфекційний процес втягується печінка [346, 347]

Проаналізувавши отримані результати клінічного дослідження, визначили певну особливість, щодо тяжкості клінічного перебігу ентеритів за тромбоцитозу, часто з летальним кінцем, порівнюючи зі зниженням кількості тромбоцитів, коли прогноз був більш сприятливим. Цей факт частково відображений у досліджах закордонних авторів [319, 337, 481].

Додатковим гематологічним маркером наявності інфекційного агента за ПВЕ є гемоліз еритроцитів, що супроводжується достовірно вираженою еритропенією – $P < 0,01$. Достовірний розвиток лейкопенії (за ПВЕ і КВЕ – $P < 0,001$), на нашу думку, спричинено швидким діленням, під час розмноження вірусу у клітинах кісткового мозку – лейкоцитах. Безумовною відповіддю організму на наявність вірусного антигену ми вважаємо діагностовану лімфоцитопенію (за ПВЕ і КВЕ – $P < 0,001$), що може бути наслідком синтезу інтерферонів на дію інфекційного агента. Збільшення величини ШОЕ ($P < 0,001$) – ще один морфологічний показник, який може відображати реактивність імунної відповіді, а саме збільшення білків гострої фази за ПВЕ. Еозинофілія ($P < 0,001$) за ПВЕ і КВЕ характерна для еозинофільного гастроентериту. Для ПВЕ встановлено характерний дегенеративний ядерний зсув вліво, який, на нашу думку, характеризується розвитком інфекції та інтоксикацією на тлі запального процесу і як наслідок, пригніченням функції кровотворення кістковим мозком. За КВЕ визначено зсув лейкоцитарної формули вправо, це, на нашу думку, свідчить про розвиток гепаторенального синдрому, на що також і вказує гіпопротеїнемія ($P < 0,05$), збільшення вмісту загального білірубину

($P < 0,05$), зниження концентрації сечовини ($P < 0,05$) та показника коефіцієнта Де Рітиса і розвиток нормацитарної анемії.

Аналізуючи біохімічні показники крові за ПВЕ, слід зазначити поліорганну недостатність, а саме розвиток гепаторенального синдрому з ушкодженням жовчних протоків та ураженням підшлункової залози і ССС, на що вказують такі показники, як збільшення вмісту загального білірубину ($P < 0,01$), зниження концентрації креатиніну ($P < 0,001$), гіпопротеїнемія ($P < 0,001$), збільшення показника коефіцієнта Де Рітиса та розвиток макроцитарної анемії.

Одним з найважливіших напрямів розвитку сучасної ветеринарної медицини є удосконалення та впровадження сучасних методів діагностики й прогнозування перебігу захворювань на основі визначення ступеня порушення функціональної активності і можливості корекції захисних функцій організму [322, 438]. Для встановлення порушення гуморальної та клітинної ланок імунної системи, мікро- і макрофагальної системи, зниження неспецифічного захисту організму був проведений аналіз інтегральних лейкоцитарних індексів на основі формули крові, що відображає стан нейрогуморального гомеостазу та імунологічної реактивності організму [59, 241, 242].

У ході аналізу динамічних змін інтегральних гематологічних індексів, отриманих під час математичної обробки лейкограми, у собак, хворих на парвовіроз, виявлено динамічне зростання паличкоядерних нейтрофілів майже у три рази, на 70 % ядерного індексу, що свідчить про тяжкий стан тварин у термінальну стадію хвороби і розвиток дегенеративного процесу зсуву ядра вліво за рахунок молодих клітин. Це також відображається у значному зниженні індексу співвідношення нейтрофілів і моноцитів майже у три рази. Значне збільшення вмісту еозинофілів і базофілів у хворих собак означає розвиток еозинофільного гастроентериту та запалення у шлунково-кишковому тракті [242]. Розвиток інфекційного процесу у хворих собак також призводить до динамічного зниження величини індексу співвідношення сегментоядерних нейтрофілів та паличкоядерних нейтрофілів майже втричі, що означає про

гіпофункцію підшлункової залози. Саме такі дані стосовно зміни кількісного показника нейтрофілів вважають показником, характерним для патології підшлункової залози, Showkat et al., (2013) та Castro et al. (2013) [346, 556].

У процесі інтерпретації морфологічних досліджень крові собак за парвовірозу у різні стадії розвитку хвороби встановлено лейкоцитоз лише на початковій її стадії, це не випадково, оскільки відбувається, на нашу думку, адекватна імунореактивна відповідь на потрапляння в організм чужорідного агента. Потім з розвитком патологічного процесу спостерігали подальше зменшення кількості лейкоцитів у розгорнуту стадію хвороби на 50 % та термінальну – на 75 % відповідно, що вказує на розвиток імуносупресії. Інтегральним маркером імунореактивності організму є індекс зсуву лейкоцитів крові, який зростав на 60 % у початкову стадію парвовірозу, потім динамічно знижувався, при цьому у термінальну стадію хвороби він був на 20 % вищим за референтний показник щодо клінічно здорових собак. Порушення лейкоцитопоезу за парвовірусної інфекції у собак поверхнево пояснюють деякі іноземні науковці [546]. Дослідження глибини імунореактивності щодо лейкоцитарних змін широко використовують у гуманній медицині для більш детального вивчення патологічних процесів [285].

За парвовірусної інфекції у собак також відбувався різкий підйом таких показників, як реактивна відповідь нейтрофілів (у 5 разів) та індексу співвідношення нейтрофілів і лімфоцитів (у 3 рази), з подальшим спадом, лишаючись при цьому вище фізіологічного ліміту. Такі індекси свідчать про декомпенсацію ендогенної інтоксикації з переходом у термінальну стадію субкомпенсації цього процесу. Крім того, за розвитку хвороби відбувається домінування неспецифічних захисних клітин і розвиток важкого ступеня інтоксикації, на що вказує збільшення індексу Кребса. Подібні зміни виявляли і у продуктивних тварин вітчизняні вчені [411].

Проведені нами дослідження показали, що у собак за парвовірозу відбувається спад інтегральних гематологічних показників, а саме ЛП, ІСЛМ, ІГ, ІА, ІЛГ та ІР (за Шабаловим), з подальшим зростанням, але нижче

фізіологічного ліміту. За інтерпретації цих даних слід відмітити пригнічення імунної системи, зокрема клітинної ланки, дефіцит лейкоцитів і супресію кісткового мозку, гіпоксію головного мозку та дефіцит цитокінів. Подібні зміни виявляли і в людей за онкологічних хвороб вітчизняні вчені [334].

Стосовно показників інтегральних індексів інтоксикації, то вони відрізнялись у собак за експериментального відтворення хвороби від спонтанного її перебігу. За спонтанного перебігу коронавірусного ентериту, згідно з аналізом лейкоцитарних індексів, більш вираженим був гострий запальний процес з порушенням імунної реактивності за рахунок активності лише клітинної ланки імунітету і токсичним ураженням кісткового мозку, на що вказують зміни інтегральних показників, а саме підвищення ЛП, ІЗЛК, ПІ та зниження ЯІ з ЗІ. Стосовно аналізу лейкоцитарних індексів за експериментального відтворення коронавірусного ентериту, то ці показники свідчили про тяжкий стан організму тварин за підгострого перебігу з характерним розвитком інтоксикації і пригнічення функціонування кісткового мозку.

Аналізуючи показники інтегральних індексів неспецифічної реактивності, відмічаємо часткову тотожність у показниках за спонтанного і експериментального перебігу коронавірусного ентериту, з тією відмінністю, що натуральна хвороба значно агресивніше впливає на організм тварини. Значно сильніше розвинена ендогенна інтоксикація, порушення ефекторних і афекторних ланок імунітету з пригніченням його функцій, що відображається у нестачі блокаторів запалення, цитокінів, та свідчить про супресії кісткового мозку на фоні гіпоксії головного мозку. Вищенаведені зміни отримані шляхом вивчення змін лейкоцитарних індексів, а саме збільшення ІСНЛ, ІСНМ, ІСЕЛ та зменшення ІСЛМ, ІСЛЕ, ІГ, ІА та ІР [241].

Аналіз індексів інтоксикації та показників активності запалення за коронавірусного ентериту, а саме зниження ІСЛШОЕ, ІЛГ та ІСЛМШОЕ, вказують на пригнічення імунної відповіді організму у зв'язку з постінфекційною інтоксикацією у собак за спонтанного перебігу КВЕ, проте за

експериментального відтворювання хвороби такі показники значно менш виражені.

Коронавірусний ентерит у собак супроводжується ендогенною інтоксикацією, ступінь якої можна визначити на основі розрахунку інтегральних гематологічних індексів. За результатами наших досліджень, рівень ендогенної інтоксикації був більш вираженим у собак за спонтанного інфікування коронавірусним ентеритом. На нашу думку, це пов'язано з контрольованим інфекційним процесом за експериментального інфікування і своєчасним відбором крові для дослідження на початковій стадії хвороби. Після встановлення діагнозу і виявлення перших неспецифічних клінічних ознак тварин піддавали евтаназії, що унеможливило виконання повторні гематологічні дослідження. За спонтанного перебігу коронавірусного ентериту власники собак зверталися за допомогою до фахівців ветеринарних клінік, коли у тварин вже розвивався повний симптомокомплекс хвороби і звісно показники ендогенної інтоксикації мали більш виражений характер.

З огляду на відсутність специфічних засобів нейтралізації вірусів у організмі, головна роль у цьому процесі належить імунокомпетентним клітинам, а саме Т- і В- лімфоцитам. У доступних нам літературних джерелах зазвичай повідомляли про показники поствакцинального імунітету [28] та використання імуностимулюючої лікувальної терапії [213, 265]. Ми вивчали імунний статус собак за парво- і коронавірусного ентериту за змінами кількості Т- і В- лімфоцитів. Встановлено достовірне зниження кількості Т- лімфоцитів за ПВЕ на ~ 37 %, а за КВЕ на ~ 15 % відповідно, здебільшого за рахунок значного зниження кількості Т- хелперів, що є ознакою затяжної інфекційного процесу.

Відображенням зниження нормальної відповіді є імуnoreгуляторний індекс, величина якого за КВЕ була у межах норми, а за ПВЕ на ~ 25 % нижче від фізіологічного ліміту. Одним з основних продуцентів антитіл є В-лімфоцити, кількість яких достовірно знижувалась у собак за досліджуваних хвороб. За ентеритів вірусної етіології виявляли чітко виражені порушення

імунного гомеостазу у вигляді Т-лімфопенії, вираженого зниження функціональної активності Т-клітин, зменшення кількості циркулюючих Т-хелперів ($P < 0,001$), які відіграють важливу роль на початку хвороби, саме вони активізують клітинні та гуморальні реакції організму. Тому і кількість Т-супресорів, які координують кількість і функції субпопуляцій імунокомпетентних клітин, була нижче від норми на 30–40 %.

Важливе значення в опірності організму належить імунітету, що передає мати нащадкам, а саме системі гуморального імунітету, який починає активізуватися в утробі матері і передається плоду через плаценту під час вагітності. Головною складовою гуморального імунітету є імуноглобуліни класу G, які складають ~ 75 % антитіл, що контролюють інфекцію будь-кого генезу. Доведено, що концентрація переданих (набутих) антитіл залежить від типу плаценти матері і тому найбільше транспортується імуних комплексів, близько 75 % через плаценту гемохоріального типу, а досить незначна кількість антитіл потрапляє через плаценту синдесмохоріального типу. Стосовно собак, які мають гемоендотеліохоріальний тип плаценти, то деякі автори, M. H. Stoffel (2000) і O. V. Carvalho та ін. (2012), припускають можливість передачі від 5 до 25 % материнських антитіл [343, 563]. Вітчизняні автори повідомляють про передачу материнських антитіл у межах 4–7 % [31]. Вищезгадані науковці досліджували питання трансплацентарного імунітету за чуми м'ясоїдних і визначали цей показник, як титр антитіл, шляхом серологічних реакцій.

Нами було проведено дослідження щодо концентрації специфічного, проти парвовірусного ентериту, імуноглобуліну класу G у ІФА, у вакцинованих під час щенності сук та їх цуценят. Тим самим визначено доцільність вакцинації під час щенності. Було встановлено, материнські антитіла передаються трансплацентарно в межах від 6,7 до 8,2 % відповідно. З огляду на отримані результати, вважаємо за доцільне проведення вакцинації під час щенності сук, що безумовно покращить опірну здатність і розвиток гуморального імунітету у щойно народжених цуценят. Питанню вивчення імунітету присвячена значна кількість робіт закордонних науковців, які

вважають за необхідне постійний контроль поствакцинального імунітету та материнського [325, 328, 470].

Враховуючи вищенаведену інформацію, досить суперечливим постає питання щодо термінів вакцинації. Так, у своїх роботах А. П. Полковниченко (2017) [213] рекомендує проводити першу вакцинацію цуценят не раніше 10–14 - тижневого віку. Проте існуючі нині на ринку України вакцини зазвичай застосовують з 8- тижневого віку. Тому ми вивчали показники напруженості імунітету, а саме показника *Ig G* до ПВС в ІФА у собак у різні поствакцинальні терміни, під час хвороби у різні стадії її прояву та після перехворювання. Експериментально доведено, що вакцинацію цуценят потрібно проводити тільки після встановлення рівня напруженості імунітету шляхом визначення імуноглобулінів класу *G* (*Ig G*) у 5- тижневому віці, за виявлення показника *Ig G* більше 50 Од/мл вакцинувати *Puppy DP* і далі по схемі: 7–8 тижнів імунізація вакциною *DHPPI+L*, у 9–11 – ревакцинація *DHPPI+LR*. Якщо у 5-тижневому віці показник *Ig G* менше 40 Од/мл, вакцинувати потрібно за загальною схемою починаючи з 7–8 тижнів і з однією ревакцинацією через 21 добу. Даний факт пов'язаний з можливістю цуценят пасивно набувати материнські антитіла, колостральний імунітет, які у значній концентрації здатні перешкоджати «доброякісному перехворювання» внаслідок вакцинації, що і загальмує синтез життєво необхідних активних антитіл. При цьому слід зазначити, що концентрація поствакцинальних антитіл, через 7–8 місяців після вакцинації, є на досить низькому рівні і передбачає відновлення. Такі результати також підтвердили вивчаючи поствакцинальний рівень імунного статусу за змінами кількості Т- і В- лімфоцитів. Отримавши вищенаведені дані, можливо припустити, що напруженість поствакцинального імунітету триває 7–9 місяців залежно від типу вакцини. Також останнім часом все більше з'являється інформації щодо маси тіла собак і утворення титру антитіл, не тільки, проти парвовірусного ентериту [570]. Ці результати потрібно враховувати під час складання календарного плану вакцинацій для різновікових груп собак, з обов'язковим врахуванням одноразової дегельмінтизації, а для

цуценят – дворазової, адже, як повідомляв К. І. Скрябін (1923) – «Глистная инвазия открывает ворота инфекции!».

Безпечний і ефективний спосіб забезпечення живого організму активним імунітетом можливий за вакцинації, яка активізує роботу імунної системи, задля утворенню набутого імунітету. Нами проаналізовано безпечність даного процесу шляхом виявлення випадків поствакцинальних ускладнень у собак до року і встановлено, що з 1080 профілактичних щеплень їх кількість становила 26 тварин. У залежності від типу вакцини показник ускладнень, що відображався розвитком клінічних ознак парвовірусного ентериту, знаходився в межах від 0,34 до 5 %. На нашу думку ця кількість була досить незначною і найчастіше такі ускладнення проявлялась перехворюванням собак на парвовірусний ентерит у легкій формі. Подібні результати були отримані і закордонними дослідниками [117, 310, 483].

Враховуючи високу вірулентність парвовірусу і значну контагіозність ентеритів вірусної етіології актуальним є питання удосконалення лікувальних заходів. На сьогодні повідомляють про терапевтичне використання за межами України імуноглобуліном *G* [567, 584]. Вітчизняні вчені зазвичай удосконалюють лікування, використовуючи імуностимулятори [279, 300]. Ми, використовуючи афінну хроматографію за допомогою сорбентів на основі іммобілізованих імуноглобулін зв'язувальних білків, зокрема, рекомбінантного білка *A Staphylococcus aureus*, забезпечило отримання фракції тотальних *Ig G* собаки з чистотою близько 90 %, що на сьогодні є кращим, ніж у існуючих на ринку біопрепаратах. На основі методики сорбції і концентрування отримали високоочищений концентрований імуноглобулін з високим рівнем стабільності не менше 6 місяців, який був апробований на собаках. Під час експерименту у жодної з дослідних собак не виявлено відхилень від фізіологічного стану, що свідчить про безпечність і не токсичність препарату.

Враховуючи результати дисертаційної роботи щодо отримання високоочищеного специфічного імуноглобуліну виникає можливість використання його як компонента у тест-наборі для діагностики парвовірусної та

коронавірусної інфекції. На сьогодні стає все більш актуальним високочутливий аналітичний метод визначення специфічних білків – вестерн-блот. Цей діагностичний тест у здебільшого використовують за наявності онкологічного агента як у тварин так і в людей [209, 390, 427, 542, 555, 579], тому детальне вивчення цього напряму діагностики вірусних ентеритів є актуальним і необхідним.

Відомо, що віруси розмножуються лише у живих клітинах, і виділення збудника в зараженій культурі клітин є одним з основних методів у діагностиці вірусної інфекції, а також у разі визначення інфекційних властивостей вірусів [299, 454, 460]. Тому на наступному етапі ми вивчали вірусологічні властивості польових штамів парвовірусу і коронавірусу на культурах клітин. Парвовірус отримали із патологічного матеріалу (з тонкого кишечника) собаки, що була піддана евтаназії, а коронавірус – з ректального змиву хворої тварини.

Для виділення, адаптації та накопичення парвовірусу використовують первинно-трипсинізовані і перещеплювальні культури клітин. Успішне культивування вірусів здійснюється на культурах клітин, отриманих від чутливих до цього вірусу тварин. Найбільш ефективно розмноження парвовірусу собак відбувається у клітинах, отриманих з органів собак і кішок, у тому числі: на культурах клітин нирки кішки або собаки, легень норки, без прояву цитопатогенної дії. Але, за даними інших дослідників, парвовірус собак здатний виявляти цитопатогенну дію вірусу на клітинній лінії нирки кішки [413, 435, 455, 502, 515]. Малочутливими або нечутливими до зараження ентеровірусами були культури клітин: фібробластів ембріона курки і перепела, нирки ембріона свині та ембріона корови, тестикули бика, нирки кроля, легені норки і нирки бика [5, 47, 105].

Аналізуючи літературні джерела встановили, що більшість авторів схиляється до думки – найкраще культивувати ентеровіруси на епітеліальних клітинах нирки [435, 455, 502, 515]. Враховуючи різноманітність парвовірусу і коронавірусу серед тварин, для вірусологічних досліджень, а саме культивування польових штамів парвовірусу і коронавірусу

собак ми використовували такі лінії перещеплювальних культур клітин, як нирка кроля (RK-13), нирка свині (СПЕВ) , нирка хом'яка (ВНК-21) та нирка бика (MDBK).

У організмі тварин ентеровіруси проявляють тропізм до молодих клітин, що швидко діляться, це епітеліальні клітини кишечника. Ми провели їх апробацію, різну за часом, після пересівання і клітинного заселення культур клітин. Встановлено, що для інкубації вірусомісного ізоляту найбільш чутливими виявилися щойно пересіяні, після 24 годинної інкубації, з не менше 70 % і не більше 80 % моношаром клітин. Контроль за кількістю внесених клітин під час пересівання проводили з використанням камери з сіткою Горяєва. Найбільш оптимальною була посівна концентрація від $1,0 \times 10^5$ до $2,0 \times 10^5$ кл./мл. Для культивування перещеплювальних ліній культур клітин використовували живильне середовище, до складу якого входили середовища 199 і ДМЕМ – по 45 %, фетальної бичачої сироватки – 10 % і антибіотики.

Встановлено, що найбільша чутливість для культивування польового ізоляту парвовірусу була виражена на культурі клітин нирка кроля. Титр інфекційної активності на початку експерименту становив в середньому $1,5 \lg \text{ТЦД}_{50/\text{см}^3}$, після третього пасажу – до $2,7 \pm 0,06 \lg \text{ТЦД}_{50/\text{см}^3}$, а після п'ятого зростав і становив $3,8 \pm 0,08 \lg \text{ТЦД}_{50/\text{см}^3}$.

Стосовно польового ізоляту коронавірусу, то найбільш чутливою лінією культур клітин для культивування виявилась нирка хом'яка. Титр інфекційної активності становив від $1,2 \lg \text{ТЦД}_{50/\text{см}^3}$ (перший пасаж), до $3,7 \pm 0,03$ (третій), а після п'ятого пасажу – до $4,8 \pm 0,04 \lg \text{ТЦД}_{50/\text{см}^3}$. Нами експериментально доведено, що прояв і розвиток цитопатогенної дії польових вірусних ізолятів залежав від густини засіву клітин на матраці, за концентрації клітин у 70 % моношарі, ЦПД виявляли через ~ 48 годин, у 80 – через ~ 72, у понад 90 % моношарі деструкція клітин відбувалась досить мляво.

Отримання культурального антигену з польового ізоляту і його накопичення дає можливість апробувати їх у різних сферах. Нині триває широке використання культур клітин у різних галузях медицини і біології для

приготування діагностичних препаратів та тест-систем, за допомогою яких можна поставити діагноз і визначити напруженість імунітету шляхом виявлення антитіл.

Вірусовмісний матеріал перед внесенням на культуру клітин перевіряли на наявність антигену у ІХА з обов'язковим підтвердженням у ПЛР. Під час вірусологічних досліджень встановлено, що культуральна рідина після інкубації з проявом ЦПД і переморожуванням за діагностики у ІХА і ПЛР не виявляла парвовірусного та коронавірусного антигену. Враховуючи необхідність підтвердження наявності цих вірусів, використали класичний вірусологічний метод – біопробу на 45- добових цуценятах. У результаті проведення досліду спостерігали розвиток парвовірусного ентериту на 4 добу, а коронавірусного – на 6 добу. Наявність парвовірусного і коронавірусного антигену перевіряли у польових умовах, використовуючи тест-системи (ІХА), а після евтаназії лабораторно у ПЛР було підтверджено присутність парвовірусу і коронавірусу.

Кишкові інфекції залишаються однією із найважливіших проблем охорони здоров'я. За даними ВООЗ, найбільш поширеними у світі серед інфекційних хвороб є бактеріальні та вірусні діареї. Подібна ситуація реєструється і серед хвороб собак, де ентерити заразної етіології посідають провідне місце [175, 305, 306, 410]. Для виключення бактеріального впливу на експериментальне відтворення ентеритів вірусної етіології ми вивчали мікрофлору тонкого і товстого кишечника.

Мікробіота ШКТ відіграє важливу роль у здоров'ї собак, стимулюючи імунну систему, впливаючи на структуру кишечника, сприяючи захисту від патогенних мікроорганізмів і забезпечуючи умови для повноцінного існування тварини [19, 335, 422]. На жаль, є обмежена кількість інформації стосовно метаболічних наслідків дисбактеріозу кишечника у собак з гострим початком діареї. Метою наших досліджень було оцінити мікробіоту кишечника, для розуміння причин розвитку патологічного процесу за парвовірусного і коронавірусного ентериту. Мікробіота кишечника собак на початковій стадії

експериментального розвитку парвовірусного та коронавірусного ентериту у популяційному пейзажі й кількісному показнику майже не відрізнялась від такої у нормі [335, 422, 444, 474, 565, 589]. J. S. Park (2019) повідомляє про значний мікробний дисбіоз кишкової мікрофлори [505]. При цьому потрібно врахувати, що вищезгадані науковці досліджували фекальні зразки. Потрібно зауважити, що ми проводили евтаназії дослідних тварин за перших, навіть не специфічних, клінічних ознак, тому вірогідно метаболічні процеси організму собак знаходились ще у стані задовільного фізіологічного функціонування. До того ж, ми досліджували вміст тонкого і товстого кишечника на присутність мікробних асоціацій, а не фекалій.

Наступним етапом дисертаційної роботи було удосконалення діагностики парвовірусного ентериту у молекулярно діагностичній-системі ПЛР. Цей метод діагностики вважають на сьогодні одним із найбільш чутливих, але при цьому його постійно удосконалюють шляхом моніторингу праймерів. ПЛР широко використовують у багатьох країнах світу для визначення лінії тих самих парвовірусів методом секвенування [332, 401, 446, 500, 517, 588, 591]. Нуклеотидну послідовність праймерів та для виявлення парвовірусу собак підібрано із використанням програми *Primer Express (Applied Biosystems)*. Отримані результати аналізували за допомогою електрофорезу у 2 % агарозному гелі. Результатом молекулярної діагностики є підтвердження наявності парвовірусного антигену у гетерологічних культурах клітин. Завдяки ПЛР було підтверджено можливість застосування перещеплювальної лінії культури клітин нирки кроля для культивування і накопичення парвовірусу собак. Завдяки вдалому підбору праймерів розширюється спектр діагностичних можливостей парвовірусної інфекції на території України.

Проведеними дослідженнями встановлено, що макроскопічні зміни в органах і тканинах спонтанно хворих на парвовірусну інфекцію собак були подібними до таких у експериментально інфікованих тварин. Основною ознакою за патологоанатомічного розтину було запалення тонкої кишки.

Проведеними нами гістологічними та гістохімічними дослідженнями встановлено, що мікроскопічні та гістохімічні зміни в органах і тканинах експериментально інфікованих собак дещо відрізнялися від таких у спонтанно хворих на парвовірусну інфекцію.

В обох випадках найбільш виразні мікроскопічні зміни локалізувалися в криптах тонкої кишки. Тут виявляли некроз і руйнування епітеліальних клітин. У ядрах багатьох епітеліальних клітин крипт знаходили еозинофільні тільця-включення. Такі тільця-включення є місцем скупчення вірусних частинок чи їх білків [199, 351, 558].

Виразні мікроскопічні зміни виявляли в усіх лімфоїдних органах і тканинах. У тимусі відбувалася дезорганізація тимічних тілець і з'являлись невеликі за розмірами осередки некрозу лімфоцитів. В усіх соматичних і вісцеральних лімфатичних вузлах переважна більшість лімфоїдних вузликів не мали світлих центрів. Натомість у центральній ділянці багатьох з них спостерігали досить великі осередки некрозу лімфоцитів. Розміри лімфоїдних вузликів шлунка та поодиноких і скупчених лімфоїдних вузликів тонкої й товстої кишок були помітно зменшені, у них виявляли осередки некрозу лімфоцитів.

Частина лімфоцитів у тимусі, лімфовузлах, лімфоїдних вузликах селезінки, у лімфоїдних вузликах шлунка, поодиноких і скупчених лімфоїдних вузликах тонкої й товстої кишок та частина лімфоцитів у внутрішніх органах (печінка, нирки тощо) містили внутрішньоядерні еозинофільні тільця-включення, що збігаються з результатами інших науковців [198, 269, 296, 329, 351, 558].

У печінці частина гепатоцитів перебувала в стані зернистої чи гідропічної дистрофії. У підшлунковій залозі спостерігали зернисту дистрофію й руйнування панкреатоцитів та усіх типів клітин панкреатичних острівців. У нирках виявлено екстракапілярний серозний гломерулонефрит і зернисту дистрофію епітеліоцитів каналців. У легенях мікроскопічні зміни були характерними для венозного застою та набряку цього органа.

Гістохімічними методами, які дають можливість з'ясувати вміст та локалізацію хімічних сполук [63, 64], виявлено ознаки виснаження келихоподібних клітин.

Поряд з цим у спонтанно хворих на парвовірусну інфекцію собак і експериментально заражених тварин знаходили певні відмінності у мікроскопічних змінах.

У спонтанно хворих собак у тонкій кишці більшість ворсинок досить добре збережена. В окремих ворсинках відбувався відрив їх апікальної частини у просвіт тонкої кишки.

За підгострого перебігу хвороби руйнувалася частини крипт. Зруйновані крипти заміщувалися волокнистою сполучною тканиною. Стінка тонкої кишки була виразно потовщена за рахунок значної гіпертрофії її м'язової оболонки [62, 154, 157, 227, 233].

У експериментально інфікованих парвовірусом собак у тонкій кишці спостерігали виразне руйнування значної частини ворсинок. У ядрах багатьох епітеліоцитів ворсинок виявляли еозинофільні тільця-включення. З цього можна зробити висновок, що у цуценят, експериментально заражених ізолятом парвовірусу собак, культивованим у гетерологічній культурі клітин, збудник знаходився в ядрах ентероцитів ворсинок.

Раніше було встановлено, що парвовірус собак, як і інші парвовіруси, має односпіральну ДНК, внаслідок чого здатний розмножуватися тільки у проліферуючих клітинах, оскільки для його реплікації необхідні компоненти ДНК-синтезуючого апарату клітини, особливо α - і γ -ДНК-полімерази, які синтезуються в S-фазі клітини [350, 558].

Також було показано, що здатність збудника розмножуватись у клітинах, які активно діляться, зумовлює розвиток того або іншого синдрому за парвовірусної інфекції собак, що пов'язано з віком тварин. У цуценят до 3-тижневого віку активно діляться клітини міокарда, після досягнення цього віку – клітини крипт кишечника [257].

Враховуючи одержані нами результати та раніше відомі факти, можна стверджувати, що парвовірус собак, культивований нами в гетерологічній культурі клітин, або ж набув здатності більш повільно розмножуватись у клітинах, внаслідок чого уражені клітини крипт встигали переміщуватися аж на верхівки ворсинок, або ж (що менш ймовірно, але теоретично можливо) використовувати для своєї реплікації якісь інші клітинні механізми.

У сліпій і ободовій кишках собак за експериментального зараження парвовірусом спостерігали руйнування крипт, а в ядрах досить великої кількості епітеліальних клітин у верхніх ділянках крипт – еозинофільні внутрішньоядерні тільця-включення. Таких змін не помічали за спонтанної парвовірусної інфекції.

На нашу думку, наявність внутрішньоядерних еозинофільних тілець-включень в ентероцитах ворсинок тонкої кишки та ентероцитах крипт сліпої і ободової кишок вказує на те, що в результаті культивування парвовірусу в гетерогенній культурі клітин відбулася зміна його біологічних властивостей. Це також підтверджується й тим, що в ядрах частини мезангіоцитів у багатьох клубочках нирок експериментально інфікованих тварин виявлялись еозинофільні тільця-включення. Останнє свідчить про можливість реплікації парвовірусу собак у нирках *in vivo*. Непрямим підтвердженням такої можливості є те, що цей збудник у лабораторних умовах культивують на первинних і перещеплювальних культурах клітин нирки собаки [413, 435, 455, 502].

Патоморфологічні зміни за коронавірусної інфекції собак у доступній світовій літературі висвітлені вкрай поверхнево [476, 514, 599]. Раніше було показано, що морфологічні зміни у собак, заражених коронавірусом, обмежені лише кишечником і мезентеріальними лімфатичними вузлами, в яких знаходили розширення й збільшення кишкових петель, заповнених фекальними масами та набряклі мезентеріальні лімфовузли. Мікроскопічні зміни характеризувались атрофією і злипанням ворсинок слизової кишечнику, розширенням крипт зі сплюсненням епітеліальних клітин [519].

Також був описаний випадок смертельної пантропної коронавірусної інфекції в собаки породи Пекінес. На розтині знайдено фібринозно-гнійну бронхопневмонію, множинні інфаркти у кірковій речовині нирок, спостерігали жирову дистрофію гепатоцитів із невеликими осередками некрозу цих клітин у печінці, а також численні крововиливи та зменшення кількості лімфоцитів у селезінці [599].

За експериментального зараження собак новим пантропним ізолятом клінічно визначали діарею та лімфопенію. Під час проведення патоморфологічних досліджень значні мікроскопічні зміни в основному спостерігали в кишечнику і лімфоїдних тканинах, хоча у деяких тварин виявили також виразні зміни і в паренхіматозних органах [378].

За експериментального відтворення коронавірусної інфекції собак ми встановили, що у разі її хвороби в цуценят основні макроскопічні зміни локалізувалися в тонкій кишці і характеризувалися серозним катаром. У шлунку і товстій кишці будь-яких макроскопічних змін не виявляли. В усіх досліджених соматичних і вісцеральних лімфовузлах знаходили серозний лімфаденіт.

Також встановлено наявність панкреатиту. Підшлункова залоза в усіх цуценят була гіперемійована й виразно набрякла, внаслідок чого добре вирізнялася часточковість її будови.

Печінка була збільшена, нерівномірно темно-червоного кольору, з поверхні розрізу виділялася темно-червона кров. Жовчний міхур дещо розтягнутий жовтувато-зеленою розрідженою жовчю.

Нирки з поверхні мали нерівномірний коричнюватий колір. На розрізі такий же колір мала вся кіркова речовина. Мозкова речовина була нерівномірно синюшною. При цьому межі між кірковою й мозковою речовинами була досить виразна.

Мікроскопічними дослідженнями встановили, що основні мікроскопічні зміни локалізувались у тонкій кишці. Тут спостерігали некроз верхівок ворсинок та їх руйнування, а в криптах – зернисту й гідропічну дистрофію та

руйнування частини ентероцитів. Також була виявлена гіперплазія та гіпертрофія поодиноких і скупчених лімфоїдних вузликів. Лімфоцити в них розташовувалися розріджено. У частині крипт сліпої та ободової кишок спостерігали некроз і руйнування їх верхньої ділянки. В інших криптах виявляли гіперплазію келихоподібних клітин.

За експериментального відтворення коронавірусної інфекції у хворих собак знаходили некроз апікальної частини ворсинок та їх руйнування у тонкому відділі кишечника. При цьому подібні зміни виявляли вкрай рідко, що частково збігається з дослідженнями інших вчених [514, 395]. Водночас спостерігали зернисту та гідропічну дистрофію епітеліоцитів крипт кишечника, та руйнування частини ентероцитів. Крім того, виявляли гіперплазію та гіпертрофію поодиноких скупчень лімфоїдних вузлів. Лімфоцити в них розташовувалися розріджено. Виявлені, на нашу думку, такі мікроскопічні зміни у тонкому відділі кишечника, можливо, пов'язані з порушенням обмінних процесів в організмі експериментально заражених коронавірусом цуценят у відповідь на дію збудника, про що свідчать наші гістохімічні дослідження (накопичення у цитоплазмі ентероцитів основних і кислих білків, гіперсекреція слизу келихоподібними клітинами, зменшення у цитоплазмі ентероцитів ШЙК-позитивних речовин).

Крім того, за результатами наших досліджень, при фарбуванні гістопрепаратів гематоксилін і еозином у цитоплазмі поодиноких ентероцитів ворсинок виявляли базофільні тільця-включення. Такі клітини мали добре збережені ядра, а тому не могли являти собою фрагменти ядер, які утворюються у разі їх розпаду.

Відомо, що реплікація *canina* коронавірусу відбувається в цитоплазмі інфікованих ним клітин, а також розмножується в епітеліальних клітинах саме ворсинок тонкої кишки [467, 454]. Виходячи саме з цього, можна було б припустити, що ці внутрішньо цитоплазматичні базофільні тільця-включення утворюються внаслідок інфікування ентероцитів ворсинок збудником хвороби і вірогідно являють собою його вірусореплікативний комплекс. Проте такі

тілець-включення нами були знайдені лише в поодиноких ентероцитах ворсинок, що не відповідає загальній кількості дистрофічно змінених і зруйнованих клітин. До того ж, у доступній літературі ми не знайшли повідомлень про утворення у клітинах інфікованих коронавірусом собак таких внутрішньо цитоплазматичних базofilних тілець-включень. Можливо формування таких тілець-включень в апікальній і середній ділянках цитоплазми у поодиноких ентероцитах ворсинок епітеліальної пластинки слизової оболонки тонкого відділу кишечника означає про перебудову організму собак, зумовлену інфекційним процесом у відповідь на збудника коронавірусу.

В усіх лімфовузлах і лімфоїдних вузликах селезінки спостерігали гіперплазію лімфоїдних вузликів. Лімфоцити в них розташовувались розріджено, світлі центри зазвичай відсутні.

У печінці більша частина гепатоцитів знаходилась у стані зернистої чи гідропічної дистрофії. У підшлунковій залозі всі ацинозні клітини перебували в стані виразної зернистої дистрофії. В усіх типах інсулярних клітин панкреатичних острівців спостерігали виразну зернисту та гідропічну дистрофію. Частина клітин усіх типів руйнувалась.

У нирках виявляли екстракапілярний серозний гломерулiт і мезангіопроліферативний гломерулiт. У звивистих каналцях встановлено переважно зернисту, іноді – гідропічну дистрофію епітеліоцитів та некроз епітелію невеликої частини цих каналців. У прямих каналцях нирок знайдено зернисту й гідропічну дистрофію епітелію та його руйнування.

У серці цуценят, експериментально інфікованих коронавірусом, виявляли набряк та зернисту дистрофію кардіоміоцитів, а в легенях – мікроскопічні зміни, характерні для венозного застою і набряку цього органа.

Таким чином, експериментальне відтворення коронавірусної інфекції собак дозволило нам найбільш повно охарактеризувати патоморфологічні зміни за цієї хвороби.

За результатами літературних джерел [106, 280, 298] з моменту відкриття вірусів Д. І. Івановським у 1892 році і розвитком вірусології, починаючи з 30-х років на тлі створення та використання електронної мікроскопії, на сьогодні відкрито більше 600 збудників різних вірусних інфекцій людини і тварин [166, 463]. Серед них до останнього часу мало уваги приділяли хворобам вірусної етіології у собак. Так, з моменту перших повідомлень у 1978 році щодо парвовірусної інфекції і сьогодні реєструють значні спалахи, які призводять до 90 – 100 % летальності цуценят. Незважаючи на значний перелік специфічних методів лікування, летальність за його проведення складає 60 – 70 %, а за відсутності терапевтичної допомоги сягає 90 %, що підтверджують з Європи колеги [399, 488]. Враховуючи «спустошеність» ринку специфічних біопрепаратів для лікування вірусних хвороб собак, відсоток їх летальності в Україні значно вищий, ніж у Європі. Стосовно специфічної профілактики, то це імунопрофілактика, яка є одним із найважливіших методів для попередження захворювань. На ринку представлена значна кількість вакцин, але слід зазначити, що парвовірус має еволюційну швидкість, найближчу до такої з РНК-вірусів. Це має наслідки не тільки для діагностики, епідеміології та лікування, а й формування імунної відповіді.

До того ж коронавірусу, як патогену, довгі роки не приділяли належної уваги ветеринарні і гуманні лікарі, що мало негативний ефект, а саме спалах атипової пневмонії у людей у 2002 році. Саме з цього часу коронавірусним інфекціям надали належну увагу і почали вивчати на більш досконалому рівні. У 2002 році був ідентифікований коронавірус SARS-Cov, якому належить роль збудника важкого гострого респіраторного синдрому, а в 2012 році причиною респіраторного синдрому на Середньому сході був коронавірус MERS-Cov. Наймасштабніший спалах пандемії за останні 100 років належить коронавірусу TORS-Covid-19, який взяв свій початок з китайського міста Ухань наприкінці 2019 року. На початок 2020 року світова пандемія коронавірусу охопила майже весь світ, що виводить це захворювання на перші шпальти багатьох профільних поважних видань. Враховуючи повідомлення китайських вчених про

вірогідність зараження людини від тварини (зоонотичні властивості) на пташиному ринку в місті Ухань, та те, що ці респіраторні коронавіруси є зоонозами, безумовно актуальним є питання поглибленого і всебічного вивчення такої інфекції у собак на території не тільки України, а й за її межами.

Останні сорок років – рівно стільки людство потерпає від парвовірусного ентериту у собак. Незважаючи на такий тривалий термін часу, на жаль, не створено належних засобів лікування і профілактики, а, враховуючи стійкість вірусу у зовнішньому середовищі і здатність до мутації, завжди необхідною є кореляція діагностичних методів, що, відповідно, свідчить про актуальність вивчення парвовірусної інфекції у собак.

Підсумовуючи вищенаведені результати літературних джерел вітчизняних та закордонних дослідників і результати дисертаційної роботи, встановили значне розповсюдження ентеритів вірусної етіології, багатогранність їх клінічних ознаках та патоморфологічних особливостей, що ускладнює своєчасну діагностику і, як наслідок, надання лікарської допомоги. Враховуючи високу контагіозність на тлі не завжди ефективної вакцинації, отримуємо постійну циркуляцію збудників, особливо у місцях значного скупчення за утримання собак. Все вищенаведене характеризує ентерити вірусної етіології, як захворювання архіактуального напрямку у вивченні науковцями не тільки ветеринарного, а й біологічного спрямування.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі, із застосуванням комплексних методів досліджень, з'ясовано біологічні властивості парво- та коронавірусів собак, а саме: виявлена придатність їх культивування на гетерологічних перещеплювальних лініях культур клітин з можливістю накопичення вірусної біомаси для відтворення експериментальної інфекції в інтактних цуценят з метою детального і поглибленого обґрунтування патогенезу вірусних ентеритів, їх своєчасної диференційної діагностики, ефективного лікування та специфічної профілактики.

Встановлено епізоотологічні, гематологічні, біохімічні, імунологічні та патоморфологічні особливості парво- й коронавірусної інфекції; запропоновані схеми удосконалення методів діагностики та лікувально-профілактичних заходів.

1. Нозологічний профіль заразних хвороб (87 % патологій) собак з діарейним симптомокомплексом у м. Житомир формується із 10 нозоодиниць. Частка парвовірусної інфекції у заразній патології складає 13,6, а коронавірусної – 5,8 %. Найчастіше парвовіроз у собак виявляють у літньо-осінній період за домінуючою схильністю порід

2. Ентеритам вірусної етіології притаманний складний патогенез хвороби, розвиток якого залежить від прояву гематологічних змін:

– за змішаної форми парвовірусної інфекції виявляли еритропенією на 10 % ($P < 0,01$), лейкопенією на 35 % ($P < 0,001$) та лімфопенією на 40 % ($P < 0,001$), зниженням гематокритної величини на 2,5 %, збільшення кількості тромбоцитів на 40 % ($P < 0,05$), збільшення *МСН* на 15 % ($P < 0,05$), зменшення рівня загального білка на 30 % ($P < 0,001$) та альбумінів на 40 % ($P < 0,001$), збільшення вмісту білірубіну ($P < 0,01$), гіперферментацію лужної фосфатази ($P < 0,001$) та збільшення коефіцієнта де Рітца $P < 0,05$ і гіперферментацію АсАТ на 20 % ($P < 0,05$);

– за кардіальної форми прояву парвовірусної інфекції у собак встановлено зниження кількості лімфоцитів у 3 рази ($P < 0,001$) та вмісту

загального білка – на 30 % ($P < 0,001$), збільшення кількості моноцитів на 40 % ($P < 0,05$), гіперферментацію АсАТ ($P < 0,001$) у 2,8 рази і збільшення коефіцієнта де Рітиса на 30 % ($P < 0,05$), показників еритропоезу, а саме *MCH* – на 5 %, *MCV* – на 7 % та *MCHC* – на 3 %;

– за кишкової форми прояву парвовірусного ентериту у хворих собак виявляли зниження кількості еритроцитів і лейкоцитів на 15 %, вмісту загального білка на 29 % ($P < 0,001$), рівня креатиніну ($P < 0,001$) та зменшення коефіцієнта де Рітиса ($P < 0,001$), при цьому встановлено збільшення ШОЕ ($P < 0,05$) та гіперферментацію АлАТ ($P < 0,001$);

– коронавірусний ентерит характеризується зменшенням гематокритної величини на 20 %, еритропенією на 15 %, збільшенням кількості тромбоцитів на 35 % ($P < 0,05$), *MCHC* на 5 %, лейкопенією та лімфопенією у 2 рази ($P < 0,001$), збільшенням вмісту білірубину ($P < 0,05$), зменшенням рівня загального білка на 40 % ($P < 0,05$), альбумінів у 3 рази ($P < 0,001$) та білкового коефіцієнта ($P < 0,01$), зниженням коефіцієнта де Рітиса ($P < 0,05$) і вмісту сечовини на 20 % ($P < 0,05$), гіперферментацією лужної фосфатази удвічі ($P < 0,001$), порівняно з фізіологічним лімітом;

– аналіз результатів індексів морфологічних показників еритроцитопоезу свідчить про розвиток нормоцитарної та макроцитарної анемії за КВЕ і за ПВЕ відповідно.

3. У собак за парвовірусної інфекції відбуваються порушення в системі лейкоцитопоезу, що проявляється лейкопенією, еозинофілією, базофілією, збільшенням молодих клітин нейтрофільного ряду, зсувом ядра вліво, що свідчить про розвиток поліорганної патології: гепаторенальний синдром, панкреатит, розлади роботи шлунково-кишкового тракту, деградація клітин і тканин, а також ендогенна інтоксикація, що спричинює ураження імунної системи.

4. Враховуючи показники інтегральних гематологічних індексів за коронавірусної інфекції, встановили інтоксикацію, дефіцит цитокінів та нестачу блокаторів запалення, несприятливу динаміку імунних реакцій, а саме

домінування клітинної системи імунітету з порушенням взаємодії ефекторних і афекторних ланок імунної відповіді.

5. За ентеритів вірусної етіології у собак визначено достовірне зменшення кількості Т-лімфоцитів (за ПВІ – на 37 % ($P < 0,001$), а за КВІ – на 15 % ($P < 0,01$)) та зниження кількості антиген презентуючих клітин – В-лімфоцитів (за ПВІ на 25 % ($P < 0,001$), а за КВІ на 35 %), що означає ослаблення імунної відповіді і розвиток імуносупресії.

6. Встановлено, що для польового ізоляту парвовірусу найбільш чутливою є перещеплювальна лінія культури клітин РК-13. Після адаптації вірусу цитопатогенну дію спостерігали через 72 години інкубації, повну руйнацію моношару спостерігали на 7–8 добу. Титр інфекційної активності зростав з кожним новим пасажем і до п'ятого становив $3,8 \pm 0,08 \text{ lg ТЦД}_{50/\text{см}^3}$. До польового ізоляту коронавірусу собак найбільш чутливими є лінії перещеплювальних культур клітин ВНК-21: первинну цитопатогенну дію фіксували через 48 год а на 5–6 добу повну руйнацію моношару. Титр інфекційної активності послідовно зростав і до п'ятого пасажу становив $4,8 \pm 0,04 \text{ lg ТЦД}_{50/\text{см}^3}$ відповідно. Експериментальне відтворення польового ізоляту парво- та коронавірусної інфекції у інтактних цуценят можливе за перорального способу введення культурального вірусомісного матеріалу з розрахунку 5 мл/кг маси тіла тварини.

7. Патологоанатомічні зміни за коронавірусного ентериту цуценят 45–55 добового віку характеризувались: катарально-десквативним ентеритом, застійною гіперемією та дистрофією печінки, панкреатитом, дилатацією правого шлуночка серця, застійною гіперемією та набряком легень. Мікроскопічно у дванадцятипалій, порожній та клубовій кишках запальний процес супроводжувався некрозом верхніх частин ворсинок і їх десквамацією.

8. Мікроскопічно в органах імуногенезу цуценят (за експериментального відтворення парвовірусного ентериту) виявлено: у тимусі – набряк, дезорганізацію тимічних тілець, порушення процесів диференціації лімфоцитів

у кірковій та мозковій речовинах часточок; у селезінці – набряк, значні ділянки накопичення гемосидерину, як наслідок розпаду великої кількості еритроцитів.

9. У дослідних цуценят за парвовірозу мікроскопічно виявлено: в серці – дифузний набряк міжм'язової сполучної тканини, зерниста дистрофія кардіоміоцитів; у легнях – набряк, венозний застій; у тонкій кишці – дезорганізація та руйнування крипт, некроз і десквамацію епітелію ворсинок, помірна гіпертрофія лімфоїдних вузликів слизової оболонки. Характерним є наявність еозинофільних тілець-включень в цитоплазмі епітеліоцитів крипт.

10. Мікроскопічні зміни у собак за кишкової форми спонтанного парвовірусного ентериту характеризуються дистрофічно-некробіотичними змінами в печінці, підшлунковій залозі та нирках, що свідчить про наявність у хворих собак гепато-панкреато-ренального синдрому.

11. У собак після вакцинації проти парвовірусної інфекції впродовж 21 доби зростає вміст специфічних імуноглобулінів класу *G* (до $340 \pm 22,3$ Од/мл), з подальшим зниженням впродовж 7–8 місяців (після останньої вакцинації) до критичного рівня ($\leq 20,8 \pm 1,8$ Од/мл), що передбачає проведення бустер імунізації задля створення напруженого специфічного імунітету.

12. Дослідженнями доведено, що експериментально отриманий шляхом висолюванням сульфатом амонію препарат КПВІ (*Ig G*) за чистотою та кількісним умістом загального імуноглобуліну був на рівні комерційно доступних препаратів Глобкан-5 та Гіскан-5 – 70 %, а застосування афінної очистки на сорбенті з іммобілізованим білком А *Staphylococcus aureus* забезпечило отримання фракції тотальних *Ig G* собаки з чистотою близько 90 % і високою стабільністю не менше 6 місяців.

13. Для виявлення та ідентифікації геному парвовірусу собак у ПЛР підібрані олігонуклеотидні праймери *SET2 – CPVF* (*gcatttggtagacaacatgg*) *CPVR* (*ttgaatccaatctccttctgg*), що дозволяють ампліфікувати певні ділянки геному вірусу з високою специфічністю.

ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ

1. Для встановлення патоморфологічного діагнозу на парвовірусну і коронавірусну інфекцію собак доцільно використовувати методичні рекомендації «Патоморфологічна діагностика парвовірусного та коронавірусного ентериту у собак», затверджені НМР «Науково-методичного центру інформаційно-аналітичного забезпечення діяльності вищих навчальних закладів «Агроосвіта» (протокол № 6 від 01.10.2018 р.)

2. Для отримання інформації щодо ендогенної інтоксикації організму собак, стану неспецифічної реактивності на різних стадіях його патологічного процесу за хвороб різної етіології пропонуємо використовувати методичні рекомендації «Інтегральні гематологічні індекси оцінки ступеня ендогенної інтоксикації у собак» затверджені НМР Держпродспоживслужби України (протокол № 3 від 20.12.2018 р.)

3. Для вірусологічних досліджень з метою виділення, адаптації та накопичення парвовірусу і коронавірусу собак рекомендуємо використовувати методичні рекомендації «Особливості культивування вірусів собак родини *Parvoviridae* та *Coronaviridae*», затверджені НМР «Науково-методичного центру інформаційно-аналітичного забезпечення діяльності вищих навчальних закладів «Агроосвіта» (протокол № 6 від 01.10.2018 р.).

4. Для біологічної промисловості запропоновано спосіб виділення імуноглобуліну класу G ($Ig G$) собаки, специфічного до парвовірусної інфекції, який може бути використаний з лікувальною (створення специфічного глобуліну) та діагностичною (як компонент для вестерн-блоту) метою.

5. Вакцинацію цуценят проводити тільки після визначення рівня імуноглобулінів класу G ($Ig G$) у 5-тижневому віці, за визначення $Ig G$ більше 50 Од/мл вакцинувати *Puppy DP*, далі за схемою: у 7–8 тижнів – імунізація вакциною *DHPPI+L* та у 9–11 тижнів – ревакцинація *DHPPI+LR*. У разі зменшення у 5-тижневому віці показника $Ig G$ до 40 Од/мл і нижче –

вакцинувати за загальною схемою, починаючи у 7–8 тижнів з однією ревакцинацією через 21 добу.

6. Уперше на території України виділений штам «*Nick*» коронавірусу собак, задепонований у депозитарії Національного центру штамів мікроорганізмів Державного науково-контрольного інституту біотехнології і штамів мікроорганізмів (наказ № 66 від 17.12.2018 р.) та штам «*Антей*» парвовірусу собак, виділений на гетерологічних перещеплювальних лініях культур клітин задепонований у депозитарії Національного центру штамів мікроорганізмів Державного науково-контрольного інституту біотехнології і штамів мікроорганізмів (наказ № 66 від 17.12.2018 р.).

7. Уперше в Україні запропоновано схему використання гетерологічних ліній культур клітин для виділення, культивування та накопичення коронавірусу собак (патент України на корисну модель «Спосіб культивування коронавірусу собак» № u 201811498) і парвовірусу собак (патент України на корисну модель «Спосіб культивування парвовірусу собак» № u 201902860).

8. Отримані результати пропонуємо використовувати під час написання відповідних розділів підручників і навчальних посібників з епізоотології, вірусології, імунології, патологічної анатомії та лабораторної діагностики.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ЛІТЕРАТУРНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Автандилов Г. Г. Медицинская морфометрия : руководство. Москва : Медицина, 1990. 384 с.
2. Алтухов М. А. Мероприятия по ликвидации и профилактике парвовирусного энтерита собак. Омск : ОГИВМ, 2001. 14 с.
3. Амвросьева Т. В., Поклонская Н. В., Кишкурно Е. П. Инструкция по лабораторной диагностике энтеровирусных инфекций. Минск : ГУ РНМБ, 2005. 28 с.
4. Ангельські С., Домінічак М., Якубовські З. Клінічна біохімія. Сопот, 1998. 451 с.
5. Антонов Б. И., Борисова В. В., Волкова П. М. Лабораторные исследования в ветеринарии, бактериальные инфекции. Москва : Агропромиздат, 1986. С. 279–326.
6. Антонова О. С., Корнева Н. А., Белов Ю. В., Курочкин В. Е. Эффективные методы выделения нуклеиновых кислот для проведения анализов в молекулярной биологии. *Научное приборостроение*. 2010. Т 20, № 1. С. 3–9.
7. Анфьорова М. В., Головаха В. І., Піддубняк О. В., Тишківський М. Я. Зміни властивостей еритроцитів у собак. *Науковий вісник ЛНУВМ та БТ ім. С. З. Гжицького*. 2016. Т. 18, № 3 (71). С. 3–6.
8. Апатенко В. М. Ветеринарна імунологія та імунопатологія. Київ : Урожай, 1994. 128 с.
9. Апатенко В. М. Вирусные инфекции сельскохозяйственных животных. Харьков : РВВ ХГЗВА, 2003. С. 122–125.
10. Аркадьева-Берлин Н. Г. Лечение собак : справочник ветеринара. Москва : Вече, 2007. 176 с.
11. Атлас по медицинской микробиологии, вирусологии и иммунологии : учеб. пособие / под ред. А. А. Воробьева, А. С. Быкова. Москва : Медицинское информационное агентство, 2003. С. 114.

12. Байнбридж Д., Эллиот Д. Нефрология и урология собак / пер. с англ. В. В. Домановская, В. В. Дубяга, А. А. Кухарская, Д. В. Шулковский, О. Г. Курбатова. Москва : Аквариум–Принт, 2008. С. 60–78.
13. Балабанова В. И. Патоморфология парвовирусного энтерита собак : автореф. дис. ... канд. вет. наук : 16.00.02. Санкт Петербург, 2005. 23 с.
14. Белов А. Д., Данилов Е. П., Дукур И. И. Болезни собак. Москва : Колос, 1995. С. 270–271.
15. Белоусов Ю. Б., Моисеев В. С., Лепахин В. К. Клиническая фармакология и фармакотерапия. Москва : Универсум–Пабблишинг, 1997. 530 с.
16. Белоусова Р. В., Преображенская Э. А., Третьякова И. В. Ветеринарная вирусология. Москва : Колос, 2007. 424 с.
17. Белоусова Р. В., Троценко Н. И., Преображенская Э. А. Практикум по ветеринарной вирусологии. Москва : Колос, 2006. 248 с.
18. Бернет Ф. Клеточная иммунология. Москва : Мир, 1971. 542 с.
19. Беюл Е. А., Куваева И. Б. Дисбактериозы кишечника и их клиническое значение. *Клиническая медицина*. 1986. № 11. С. 12–14.
20. Биргер М. О. Справочник по микробиологическим и вирусологическим исследованиям. Москва : Медицина, 1992. 462 с.
21. Боль Б. К. Патологоанатомическое вскрытие сельскохозяйственных животных. Москва : Сельхозгиз, 1950. 264 с.
22. Борисевич Б. В., Айшпур М. В., Чумаков К. А. Деякі епізоотологічні особливості, клінічні ознаки та патолого-анатомічні зміни при кишковій формі парвовірусної інфекції собак. *Вісник СНАУ. Сер. Ветеринарна медицина*. 2009. Вип. 3 (24). С. 5–7.
23. Борисевич Б. В., Шумілович Н. В. Клінічні ознаки і патоморфологічні зміни при хронічному (атиповому) перебігу кишкової форми парвовірусної інфекції собак. *Науковий вісник НАУ*. 2001. № 38. С.33–36.
24. Борисевич Б. В., Скрипка М. В., Лісова В. В. Довідник патологоанатомічних термінів. Київ, 2011. 124 с.
25. Борисевич В. Б., Борисевич Б. В. Болезни собак. Киев, 1996. 364 с.

26. Борисевич В. Б., Борисевич Б. В. Заразные и незаразные болезни собак. Киев, 1997. 435 с.
27. Борисевич Б. В., Мазур Н. В. Патоморфологія парвовірусної інфекції собак. *Ветеринарна медицина : міжвід. темат. науковий збірник Харків : ХДЗВА*, 2003. Вип. 82. С. 110–112.
28. Брошков М. М. Динаміка показників клітинного і гуморального імунітету у цуценят залежно від ступеня стресованності організму. *Науковий вісник ЛНУВМ та БТ ім. С. З. Гжицького*. 2014. Т. 16, № 3 (60), ч. 2. С. 41–46.
29. Брошков М. М. Динаміка показників клітинного імунітету у цуценят упродовж неонатального періоду. *Біологія тварин*. 2015. Т. 17, № 1. С. 16–20.
30. Брошков М. М. Показники клітинного імунітету у собак різних порід. *Науковий вісник ЛНУВМ та БТ ім. С. З. Гжицького*. 2015. Т. 17, № 1 (61). С. 3–9.
31. Брошков М. М. Трансплацентарна та колостральна передачі специфічних антитіл у собак. *Наукові доповіді НУБіПУ*. 2013. № 3. С. 23–30.
32. Брошков М. М., Смолянiнов Б. В. Оцінка впливу імуномодельюючих препаратів на імунологічну реактивність організму собак. *Біологія тварин*. 2012. Т. 14, № 1–2. С. 510–512.
33. Б'ятець В., Новіцька О. В. Діагностика хвороб м'ясоїдних, що проявляються розладами шлунково-кишкового тракту. *Здобутки студентської молоді у вирішенні науково-практичних питань ветеринарної медицини : матеріали II (69) міжнар. студ. наук.-практ. конф. Київ, 2015*. С. 232–233.
34. Вахрушев Я. М., Шкатова Е. Ю. Лабораторные методы диагностики. Ростов-на-Дону : Феникс, 2007. 96 с.
35. Вербицький П. І., Бусол В. О., Достоевський П. П. Довідник лікаря ветеринарної медицини. Київ : Урожай, 2004. 1280 с.
36. Верина Е. Вирусный энтерит. *Зооафиша*. 2015. № 2. С. 34–37.
37. Верховский О. А. Тест-система «Парвокан»: высокоэффективный экспресс-метод диагностики парвовирусного энтерита собак. *Ветеринария*. 1999. № 10. С. 51–53.

38. Вершигора А. Е. Общая иммунология. Киев : Вища школа, 1990. 735 с.
39. Ветеринарна клінічна біохімія / Левченко В. І. та ін. ; за ред. В. І. Левченка, В. Л. Галяса. Біла Церква, 2002. 400 с.
40. Виксман М. Г., Бендукидзе А. Г., Берлашвили Н. Д. Определение иммунорегуляторных субпопуляций Т- и В-лимфоцитов у детей. *Вопросы иммунологии*. 1985. № 2. С. 23.
41. Вингфилд В. Е. Секреты неотложной ветеринарной помощи ; пер. с англ. ; под ред. Н. И. Новикова, В. В. Костикова. Санкт-Петербург : Невский диалект, 2000. С. 422–428.
42. Вирусный энтерит у собак. Zveridom.com : URL : <http://zverivdom.com/article/virusnyje-enterity-u-sobak> (дата обращения 03.08.2019).
43. Вікторов О. П. Сучасні підходи до вивчення та контролю побічної дії ліків. *Фармацевтичний журнал*. 1995. № 6. С. 6–12.
44. Влізло В. В., Слівінська Л. Г., Максимович І. А., Леньо М. І., Галяс В. Л. Лабораторна діагностика у ветеринарній медицині : довідник. Львів : Афіша, 2014. 152 с.
45. Волкова О. Я., Афанасьев Б. В., Эмануэль В. Л. Иммуногематологические исследования в клинической практике. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2007. № 2. С. 25–32.
46. Воронин Е. С., Петров А. М., Серых М. М., Девришов Д. А. Иммунология. Москва : Колос-Пресс, 2002. 408 с.
47. Галкина Т. С. Изучение биологических свойств полевых изолятов парвовируса собак. *Ветеринарная патология*. 2007. № 3. С. 55–57.
48. Галкина Т. С. Иммунобиологические свойства возбудителей парвовирусного энтерита и чумы плотоядных, используемых для изготовления биопрепаратов : автореф. дис. ... канд. вет. наук : 16.00.03. Владимир, 2008. 25 с.
49. Галкина Т. С., Глобенко Л. А. Изучение и оптимизация условий выделения возбудителей парвовирусного энтерита собак. *Всеросс. 15-й междунар. вет. конгресс по болезням мелких домашних животных*. Москва, 2007. С. 4–5.

50. Галкина Т. С., Глобенко Л. А., Мороз Н. В. Динамика накопления вирусспецифических антител против чумы плотоядных и парвовирусного энтерита при вакцинации собак. *Ветеринарная патология* : междунар. науч.-практ. журнал по фундаментальным и прикладным вопросам ветеринарии. 2006. № 4. С. 149–152.

51. Герасимов В. В. Применение ИФА для диагностики инфекционных болезней мелких домашних животных. Мат. междунар. науч. конф. Казань, 2000. С. 159–160.

52. Гизатуллина Ф. Г., Гизатуллин А. Н. Клиническое значение отдельных гематологических показателей при парвовирусном энтерите собак. *Ветеринария*. 2002. № 2. С. 17–19.

53. Гильмутдинов Р. Я., Курбанов Р. З. Исследование крови животных. Казань : ТГГИ, 2000. 240 с.

54. Гістологія з основами гістологічної техніки : підручник / за ред. В. П. Пішака. Київ : КОНДОР, 2008. 400 с.

55. Головин Д. И. Вскрытие трупов (Метод полной эвисцерации Шора) Кишенёв : ГИМ, 1957. 110 с.

56. Горальська І. Ю., Пінський О. В. Показники гемопоезу собак за бабезіозу. *Науковий вісник ЛНУВМ та БТ ім. С. З. Гжицького*. 2016. Т. 18, № 2 (66). С. 40–43.

57. Горальський Л. П. Особливості гістоархітекtonіки імунних органів свійських тварин. *Ветеринарна медицина України*. 2003. № 2. С. 22–23.

58. Горальський Л. П., Радзиховський М. Л. Патоморфолгічні зміни в органах травлення собак за коронавірусного ентериту. *Сучасні проблеми ветеринарної медицини з питань інфекційної патології та патоморфології тварин* : матер. всеукр. наук.-практ. інтернет-конф., 18–19 трав. 2017 р. Полтава. 2017. С. 74–75.

59. Горальський Л. П., Радзиховський М. Л., Дишкант О. В. Інтегральні гематологічні індекси оцінки ступеня ендогенної інтоксикації у собак. Житомир: Рута, 2018. 20 с.

60. Горальський Л. П., Радзиховський М. Л., Дишкант О. В. Мікроскопічна будова серця, органів кровотворення та імунного захисту собак за експериментального відтворення парвовірозу. *Наукові горизонти*. 2019. № 6 (79). С. 9–14.

61. Горальський Л. П., Радзиховський М. Л., Дишкант О. В. Патент України № 133896: Спосіб культивування коронавірусу собак: № U201811498; заявл. 23.11.2018; опубл. 25.04.2019, Бюл. № 8.

62. Горальський Л. П., Радзиховський М. Л., Заїка С. С. Патоморфологічна диференційна діагностика парвовірусного та коронавірусного ентериту у собак. *Наукові горизонти*. 2018. № 9-10 (71). С. 3–7.

63. Горальський Л. П., Хомич В. Т., Кононський О. І. Основи гістологічної техніки і морфофункціональні методи досліджень у нормі та при патології : навч. пос. Житомир : Полісся, 2011. 288 с.

64. Горальський Л. П., Хомич В. Т., Кононський О. І. Основи гістологічної техніки і морфофункціональні методи досліджень у нормі та при патології : навч. посібник. Житомир : Полісся, 2015. 286 с.

65. Горбань Н. И. Вирусные респираторные болезни животных. Киев : Урожай, 1981. 64 с.

66. Горбатюк О. Б., Цапенко М. В., Павлова М. В., Окунев О. В., Кордюм В. А. Биоаффинный сорбент на основе иммобилизованного белка A *Staphylococcus aureus*: создание и использование. *Biopolymers & Cell*. 2012. Vol. 28 (2). P. 141–148

67. ГОСТ 28085-89. Препараты биологические. Метод бактериологического контроля стерильности [Действ. от 1990-01-01]. Изд. офиц. Москва : Стандартинформ, 2007. 35 с.

68. Гринин А. С., Титов И. Н. Очистка, концентрирование и фракционирование вирусов животных. Москва : Колос, 1971. 238 с.

69. Губергриц Н. Б. Панкреатология: от прошлого к будущему. *Вестник клуба панкреатологов*. 2009. № 2. С. 13–23.

70. Данилейченко В. В., Федечко Й. М., Корнійчук О. П. Мікробіологія з основами імунології. 2-ге вид. Київ : Медицина, 2009. 392 с.
71. Двойрин В. В., Клименко А. А. Методика контролируемых клинических испытаний. Москва : Медицина, 1985. 144 с.
72. Де Робертис Э., Новинский В., Саэс Ф. Биология клетки / пер. с англ. А. В. Михеева, В. И. Самойлов, И. В. Цоглина. Москва : Мир, 1973. 294 с.
73. Демина А. В., Нетесов С. В. Энтеровирусные инфекции : многообразие клинических проявлений. Новосибирск, 2009. 10 с.
74. Державна фармакопея України. Перше видання. Доповнення 2 / під ред. О. І. Гризодуба. Харків : РІРЕГ, 2008. 617.
75. Джупина С. И. Методы эпизоотологического исследования и теория эпизоотологического процесса. Новосибирск : Наука, 1991. 134 с.
76. Джупина С. И., Колосов А. А. Методы эпизоотологических исследований : метод. рекомендации. Новосибирск : СО РАСХН, 1991. 60 с.
77. Дика О. В. Імунологічні методи досліджень у лабораторіях ветеринарної медицини : метод. рекомендації. Біла Церква, 1997. С. 62–68.
78. Дідух А. В. Парвовірусна інфекція собак (діагностика, лікування) : автореф. дис. ... канд. вет. наук : 16.00.03. Київ, 2015. 20 с.
79. Дмитренко Н. І., Колич Н. Б. Окремі показники крові та клінічного стану собак за парвовірусного ентериту. *Ветеринарна медицина*. 2010. № 4. С. 113–115.
80. Довгій Ю. Ю., Радзиховський М. Л., Дубова О. А., Фещенко Д. В., Нікітін О. А., Бахур Т. І., Дишкант О. В., Довгій М. Ю. Паразитарні та інфекційні хвороби м'ясоїдних тварин : навч. посібник / под ред. Ю. Ю. Довгія ; вид. 2-ге, пер. і доп. Житомир: Полісся, 2016. 320 с.
81. Довідник ветеринарних препаратів / І. Я. Коцюмбас та ін. Львів : ТзОВ ВФ Афіша, 2013. 1596 с.
82. Доклінічні дослідження ветеринарних лікарських засобів / І. Я. Коцюмбас та ін.; за ред. І. Я. Коцюмбаса. Львів : Тріада плюс, 2006. 360 с.

83. Дослідження крові тварин та клінічна інтерпретація отриманих результатів : метод. рекомендації / В. І. Левченко та ін. Біла Церква : БДАУ, 2002. 56 с.

84. Дроган М., Челнокова В. Н. Всё о собаке. Ростов-на-Дону : Владис, 2003. 640 с.

85. Дубков Ю. А. Усовершенствование методов специфической профилактики парвовирусного энтерита собак : автореф. дис. ... канд. вет. наук : 16.00.03. Москва, 2000. 22 с.

86. Дубков Ю. А., Парамошин А. Н., Уласов В. И., Элизбарашвили Э. И. Парвовирусный энтерит собак. *Ветеринария*. 1998. № 6. С. 59–60.

87. Дубова О. А., Фещенко Д. В., Бахур Т. І., Антіпов А. А., Згозінська О. А., Дубовий А. А. Протозойні хвороби м'ясоїдних тварин. Біла Церква : БНАУ, 2019. 254 с.

88. Дуда О. К., Коцюбайло Л. П. Коронавірусні інфекції: загроза з Близького Сходу, спричинена MERS-CoV? *Здоров'я України*. 2015. № 17 (366). С. 57–58.

89. Дюк В., Эммануэль В. Информационные технологии в медико-биологических исследованиях. Санкт-Петербург : Питер, 2003. 528 с.

90. Європейська конвенція про захист домашніх тварин від 13 лютого 1987 р. URL: http://zakon.nau.ua/doc/?code=994_a15. (дата звернення 17.03.2015).

91. Європейська конвенція про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей від 18 березня 1986 року. *Збірка договорів Ради Європи*. Київ : Парламентське видавництво, 2000. URL: https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/994_137 (дата звернення 03.08. 2019).

92. Європейська конвенція щодо захисту хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей від 18 березня 1986 р. URL: http://zakon2.rada.gov.ua/laws/show/994_137.

93. Євстаф'єва В. О., Кручиненко О. В., Клименко О. С., Мельничук В. В. Юридичні аспекти щодо адаптації українського законодавства до вимог

Європейського Союзу з питань жорстокого поводження з тваринами. *Вісник ПДА*. 2017. № 1–2. С. 104–107.

94. Єсіна Е., Потоцький М. Значення патоморфологічних досліджень у діагностиці захворювань тварин. *Ветеринарна медицина України*. 2007. № 3. С. 27–30.

95. Жаков М. С. Анализ патологоанатомического вскрытия животных. Минск : Ураджай, 1977. 128 с.

96. Жаров А. В., Иванов И. В., Стрельников А. П. Вскрытие и патоморфологическая диагностика болезней животных. Москва : Колос, 2000. 400 с.

97. Жигарев С. Н., Ермолаев В. И., Розыкулыев М. Л. ПЦР-диагностика парвовирусного энтерита собак и панлейкопении кошек. *Актуальные вопросы ветеринарной медицины* : мат. Сибирского междунар. вет. конгр. Новосибирск, 2005. С. 26–27.

98. Загальна епізоотологія / Ярчук Б. М. та ін. ; за ред. Б. М. Ярчука, Л. Є. Корнієнка. Біла Церква : БДАУ, 2002. 656 с.

99. Закон України «Про захист тварин від жорстокого поводження» від 21.02.2006 р. *Відомості Верховної Ради*. 2006. № 27. С. 230.

100. Зарецкая Ю. М. Клиническая иммунология. Москва : Медицина, 1983. 207 с.

101. Заріцька А. О. Клініко-морфологічні зміни за парвовірусного ентериту собак. *Наукові праці ПДАА. Сер. Ветеринарна медицина*. 2013. № 6. С. 33–36.

102. Зон Г. А., Скрипка М. В., Іванівська Л. Б. Патологоанатомічний розтин тварин : навч. посібник. Донецьк, 2009. 190 с.

103. Инфекционные болезни животных / под ред. А. А. Кудряшова, А. В. Святковского. Санкт-Петербург : Лань, 2007. 608 с.

104. Исследования по использованию лекарственных средств. Методы и применение / под ред. М. Н. Дьюкса. *Региональные публикации ВОЗ, Европейская серия*. Бишкек, 1995. Т. 45. 219 с.

105. Іліна О. В. Індикація збудників та удосконалення вакцинопрофілактики парвовірусного ентериту і чуми собак : автореф. дис. ... канд. вет. наук : 16.00.03. Луганськ, 2011. 21 с.

106. Калініна О. С., Панікар І. І., Скибіцький В. Г. Ветеринарна вірусологія : підручник. Київ : Вища освіта, 2004. 432 с.

107. Калініна О. С. Таксономічна характеристика РНК-геномних вірусів хребетних тварин і людини . *Науковий вісник ЛНУВМ та БТ ім. С. З. Гжицького*. 2017. Т. 19, № 78. С. 30–35. doi:10.15421/nvlvet7807

108. Калініна О. С. Таксономічна характеристика ДНК-геномних вірусів хребетних тварин і людини. *Науковий вісник ЛНУВМ та БТ ім. С. З. Гжицького*. 2016. Т. 18, № 2 (66). С. 83–87. doi:10.15421/nvlvet6618

109. Камышников В. С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике. Москва : Медпресс-информ, 2004. С. 152–223.

110. Камышников В. С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике : в 2 т. Минск : Беларусь, 2000. Т. 1. 495 с.

111. Карпуть И. М. Гематологический атлас сельскохозяйственных животных. Минск : Ураджай, 1986. 183 с.

112. Карпуть И. М. Иммунология и иммунопатология болезней молодняка. Минск : Ураджай, 1993. 288 с.

113. Карчевська Т. М., Чумаков К. А. Парвовірусний ентерит (Парвовірусна інфекція) собак : в кн. Інфекційні хвороби собак. Кам'янець-Подільський, 2017. С. 15–28.

114. Каталог колекції клітинних культур / С. Г. Юрков та ін. Покров : ВНДІВВІМ, 2000. С. 59–63.

115. Катаман Т. Ю. Распространенность парвовирусного энтерита в г. Омске. *Ветеринар*. 1999. № 2. С. 36.

116. Кишкун А. А. Биохимические исследования в клинической практике: Руководство для врачей. Москва : Медицинское информ. агенство, 2014. 528 с.

117.Клаасен Е., Бергман Ж. Деякі факти та цифри про вакцинацію собак проти парвовірусної інфекції. *Проблеми ветеринарного обслуговування дрібних домашніх тварин* : матеріали. VII міжнар. наук.-практ. конф., 2-5 жов. 2002 р. Київ НАУ. 2002. С. 20-24.

118.Клиническая лабораторная диагностика в ветеринарии / И. Кондрахин и др. Москва : Агропромиздат, 1985. 286 с.

119.Клинические испытания лекарств / В. И. Мальцев и др. ; под ред. В. И. Мальцева, Т. К. Ефимцевой, Ю. Б. Белоусова ; 2-е изд., перераб. и доп. Киев : Морион, 2006. 456 с.

120.Клициунова Н. В., Гостева В. В., Горохова С. Л. Распространенность инфекционных агентов среди домашних животных в Московском регионе. *Ветеринарная патология*. 2005. № 1. С. 39–44.

121.Клінічна діагностика внутрішніх хвороб тварин / В. І. Левченко та ін. Біла Церква : БНАУ, 2017. 544 с.

122.Клінічна діагностика внутрішніх хвороб тварин / Левченко В. І. та ін. ; за ред. В. І. Левченка. Біла Церква : БДАУ, 2004. 608 с.

123.Ковалев Н. А, Усеня М. М., Красочко П. А. Разработка и конструирование поливалентной вакцины против бешенства, чумы, парвовирусного энтерита и инфекционного гепатита плотоядных животных. *Сельское хозяйство – проблемы и перспективы* : сборник науч. трудов. 2013. Т. 20. С. 98–108.

124.Колесников П. В., Шинкаренко А. Н. Нозологический профиль сердечно-сосудистых заболеваний собак. *Ветеринарная патология*. 2012. № 1 (39). С. 31–33.

125.Колесников П. В., Шинкаренко А. Н. Профиль заразных болезней собак с развитием острой сердечной недостаточности. *Аграрная наука основа успешного развития АПК и сохранения экосистем* : материалы междунар. научно-практ. конф. Волгоград : ВГАУ, 2012. Т. 3. С. 101–103.

126.Колешко О. И., Заверзенова Т. В. Микробиология с основами вирусологии. Иркутск, 1999. 452 с.

127.Комплексна оцінка впливу ветеринарних препаратів на морфофункціональний стан імунної системи : методичні рекомендації / І. Я. Коцюмбас та ін. Львів, 2009. 63 с.

128.Конарев В. Г., Тютюрев С. Л. Методы биохимии и цитохимии нуклеиновых кислот. Ленинград : Колос, 1970. 127 с

129.Конопатов Ю. В., Рудаков В. В. Биохимические показатели кошек и собак. Санкт-Петербург, 2002. 50 с.

130.Константинов В. М., Шаповалова С. П. Сравнительная анатомия позвоночных животных. Москва : Академия, 2005. 304 с.

131.Корнюшин В. В., Малишко Е. І., Малєга О. М. Свійські собаки і коти як резервенти природно вогнищевих і зоонозних гельмінтозів у сучасних умовах України. *Ветеринарна медицина*. 2013. № 97. С. 383–387.

132.Коронавирус и парвовирусный энтерит у собак : симптомы, лечение, вакцинация. Почему собака : веб-сайт. URL:<http://pochemu-sobaka.info/virusnyi-enterit-u-sobak-symptomu-lechenie> (дата обращения 10.03.2018).

133.Коронавирус у собак : описание, симптомы, лечение. *Все о собаках и кошках*. Ветеринарный сетевой журнал : веб-сайт. URL:<http://vetserv.ru/koronavirus-u-sobak-opisanie-simptomu-lechenie.html> (дата обращения 03.09.2019).

134.Коронавирусный энтерит собак. Котофей : веб-сайт. URL:<http://kotofey.dp.ua/cure/89-canine-coronavirus-infection-in-dogs>. (дата обращения 03.09.2019).

135.Коронавирусный энтерит собак. Московский ветеринарный веб-центр: веб-сайт. URL: <http://webmvc.com/bolezni/catdog1/koronent.php>. (дата обращения 03.09.2019).

136.Кот Т. Ф., Житова О. П., Гуральська С. В. Особливості анатомії м'ясоїдних тварин : навч. посібник. Житомир : О. О. Євєнюк, 2019. 204 с.

137.Коцюмбас І. Я., Малик О. Г., Жила М. І., Косенко Ю. М. До питання проведення клінічних досліджень ветеринарних лікарських засобів. *Біологія тварин*. Львів, 2012. Т. 14, № 1–2. С. 34–41.

138. Кочетков С. А. Разработка методов выявления генома энтеровируса и парвовирусов КРС : автореф. дис. ... канд. биол. наук : 03.02.02. Владимир, 2010. 17 с.

139. Краснолобова Е. П. Распространение и этиология гепатопатий собак в условиях г. Тюмени. *Фундаментальные исследования*. 2012. № 9, ч. 1. С. 44–46.

140. Кудрявцев А. А., Кудрявцева Л. А., Привольнев Т. И. Клиническая гематология животных. Москва : Колос, 1974. 399 с.

141. Кудрявченко О. П. Діагностика токсоплазмозу котів і собак : автореф. дис. ... канд. вет. наук : 16.00.11. Львів, 2016. 20 с.

142. Кузьмин А. А. Парвовирусный энтерит собак. Терапия при парвовирусном энтерите собак. *Ветеринария*. 1993. № 11–12. С. 52–55.

143. Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині : довідник / В. В. Влізло та ін. ; за ред. В. В. Влізла. Львів. 2012. 764 с.

144. Лабораторные исследования в ветеринарии, бактериальные инфекции : справочник / Б. И. Антонов и др. ; под ред. Б. И. Антонова. Москва : Агропромиздат, 1986. 352 с.

145. Лавріненко І. В. Отодектоз собак і котів (епізоотологія, діагностика, лікування) : автореф. ... канд. вет. наук : 16.00.11. Київ, 2010. 20 с.

146. Лактюшина О. А. Лечение лайм-боррелиоза у собак. *Ветеринарная патология*. 2013. № 4. С. 40–44.

147. Лапач С. Н., Чубенко А. В., Бабич П. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. Киев : Марион Лтд, 2000. 134 с.

148. Леви А., Сикевич Ф. Структура и функция клетки / пер. с англ. Е. Э. Казакевич, Н. Ф. Кастрикина, Л. Г. Тер-Саркисян ; под ред. Б. Ф. Поглазова, Ю. С. Ченцова. Москва : Мир, 1971. 356 с.

149. Левченко В. І., Фасоля В. П., Головаха В. І., Дикий О. А. Диспансеризація службових собак : метод. рекомендації. Біла Церква : БДАУ, 2008. 63 с.

150. Лечебное питание в гастроэнтерологии / под ред. В. Б. Гриневича. Петрозаводск, 2003. 140 с.

151. Лечение инфекционных заболеваний, вызванных парвовирусом 2 типа, у собак в условиях питомника : компания «Мериал». *Ветеринарный доктор*. 2007. № 5. С. 32.

152. Лилли Р. Патогистологическая техника и практическая гистохимия / пер. с англ. ; под ред. В. В. Португалова. Москва : Мир, 1969. 648 с.

153. Лісова В. В., Зубко О. Патологоанатомічні зміни в собак за інфекційного гепатиту. *Науковий вісник ЛНУВМ та БТ ім. С. З. Гжицького*. 2015. Т. 17, № 1 (61), ч. 1. С. 88–92.

154. Лісова В. В., Радзиховський М. Л. Морфологічні особливості різних форм парвовірусної інфекції собак. *Ukrainian journal of veterinary sciences*. 2019. Vol. 10 (2). P. 37–44.

155. Лісова В. В., Дубіненко О. Гістологічні зміни в собак за коронавірусної інфекції. *Науковий вісник ЛНУВМ та БТ ім. С. З. Гжицького*. 2017. Т. 19, № 78. С. 154–157.

156. Лісова В. В., Радзиховський М. Л. Коронавірусна інфекція собак : монографія. Київ : Компринт, 2019. 126 с.

157. Лісова В. В., Радзиховський М. Л. Патоморфологічна діагностика ентеритів вірусної етіології у собак. *Науковий вісник ЛНУВМ та БТ ім. С. З. Гжицького*. 2018. Т. 20, № 83. С. 299–303.

158. Лісова В. В., Радзиховський М. Л., Стеблінова А. О. Мікроскопічні зміни в печінці й підшлунковій залозі собак при кишковій формі парвовірусного ентериту. *Науковий вісник НУБіП України. Сер. Ветеринарна медицина, якість і безпека продукції тваринництва*. 2018. № 285. С. 346–351.

159. Лісова В. В., Чумаков К. А. Парвовірусна інфекція собак. Житомир : Полісся, 2011. 208 с.

160. Логинов Г. Г. Современные данные о парвовирусах. *Клуб служебного собаководства*. 1996. С. 140.

161. Локес П. І., Локес-Крупка Т. П. Диференційна діагностика хвороб печінки у свійських собак і котів. *Вісник ПДАА. Сер. Ветеринарна медицина*. 2014. № 1. С. 58–61.

162. Лопач С. Н., Губенко А. В., Бабич П. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. Киев : Морион, 2000. 320 с.

163. Лоуренс Д. Р., Бенит П. Н. Клиническая фармакология / пер. с англ. А. Я. Ивлева, М. Н. Преображенская. Москва : Медицина, 1991. Т. I. 656 с.

164. Луппа Х. Основы гистохимии / пер. с нем. И. Б. Бухвалова, Е. Д. Вальтер ; под. ред. Н. Т. Райхлина. Москва : Мир, 1980. 344 с.

165. Лурия С., Дарнелл Дж. Общая вирусология. Москва : Мир, 1981. С. 234.

166. Люта В. А., Кононов О. В. Мікробіологія з технікою мікробіологічних досліджень, вірусологія та імунологія : підручник. 2-ге вид. Київ : ВСВ «Медицина». 2018. 576 с.

167. Люта В. А., Кононов О. В. Практикум з мікробіології : навч. посібник. 2-ге вид. Київ : ВСВ «Медицина». 2011. 184 с.

168. Лярски З. Диагностика вирусных болезней животных. Москва : Колос, 1980. С. 133–136.

169. Маев И. В., Самсонов А. А. Болезни двенадцатиперстной кишки. Москва : МЕДпресс-информ, 2005. 512 с.

170. Мазур Н. В. Парвовірусна інфекція собак у м. Києві. *Науковий вісник НАУ*. 2002. Вип. 55. С. 225–227.

171. Мазур Т. Константні методи математичної обробки кількісних показників. *Ветеринарна медицина України*. 1998. № 11. С. 35–37.

172. Максимов Н. А. Лечение собак при парвовирусном энтерите. Москва : Ветеринария, 2009. № 5. С. 72–73.

173. Мальцев В. І. Організація проведення клінічних випробувань лікарських засобів в Україні. *Ліки*. 1995. № 5. С. 7–9.

174. Медична мікробіологія, вірусологія та імунологія : підручник / за ред. В. П. Широкобокова. Вінниця : Нова книга, 2011. 952 с.

175. Медова Е. В., Мамлеева Д. А., Пивоваренко Е. А. Домашние плотоядные как популяции эпидемического/эпизоотического риска на урбанизированных территориях. Ветеринарная патология. 2005. № 4. С. 134–137.

176. Международная ветеринарная анатомическая номенклатура на латынском и русском языках / пер. и рус. термин. Н. В. Зеленецкого. Москва : Мир, 2003. 352 с.

177. Мейер Д., Харви Дж. Ветеринарная лабораторная медицина. Интерпритация и диагностика : пер. с англ. Москва : Софион. 2007. 456 с.

178. Мелихов О. Г., Прудников Д. Н. История и основные положения правил проведения клинических испытаний. *Клиническая фармакология и терапия*. 1997. № 1. С. 54–57.

179. Меркулов Г. А. Курс патологической техники. Ленинград : Медицина, 1969. 423 с.

180. Методи дослідження природної резистентності свиней / А. М. Нікітенко та ін. Біла Церква, 2004. 68 с.

181. Методи лабораторної клінічної діагностики хвороб тварин / Левченко В. І. та ін. ; за ред. В. І. Левченка. Київ : Аграрна освіта, 2010. 437 с.

182. Методичні рекомендації з оформлення дисертаційних робіт здобувачами наукових ступенів доктора наук, доктора філософії (кандидата наук) / уклад. Т. В. Крутьких та ін. Київ, 2017. 42 с.

183. Методичні рекомендації по використанню електронної таблиці EXCEL для обробки матеріалів наукових досліджень / укл. А. В. Булашенко. Суми : СумДУ, 2000. 46 с.

184. Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики : справочник / под ред. И. П. Кондрахина. Москва : Колос, 2004. 520 с.

185. Методы лабораторной диагностики вирусных болезней животных / В. Н. Сюрин и др. Москва : Агропромиздат, 1986. 351 с.

186. Методы статистической обработки медицинских данных : метод. рекомендации для ординаторов и аспирантов медицинских учебных заведений, научных работников / сост. А. Г. Кочетов и др. Москва : РКНПК, 2012. 42 с.

187. Микробиологические и вирусологические методы исследований в ветеринарной медицине / А. Н. Головкин и др. ; под ред. А. Н. Головкин. Харьков : НТМТ, 2007. 512 с.

188. Морозова И. В., Трещалина Е. М. Гемостимулирующие свойства гранулоцитарного колониестимулирующего фактора *Российский биотерапевтический журнал*. 2005. № 4(4). С. 24–28.

189. Назаренко Г. И., Кишкун А. А. Клиническая оценка результатов лабораторных исследований. Москва : Медицина, 2006. 544 с.

190. Нестина А. С., Петрова О. Г. Особенности эпизоотического процесса парвовирусного энтерита в г. Екатеринбурге, совершенствование методов диагностики, профилактики и лечения. *Аграрный вестник Урала. Сер. Ветеринария*. 2011. № 5 (84). С. 35–36.

191. Никоненко Т. Б., Мельцов И. В., Барышников П. И. Ассоциированные вирусные инфекции собак в городе Иркутске. *Вестник Алтайского ГАУ*. 2017. № 8 (154). С. 165–170.

192. Ниманд Х. Г., Сутер П. Б. Болезни собак. Практическое руководство для ветеринарных врачей (организация ветеринарной клиники, обследование, диагностика заболеваний, лечение) / пер. с нем. Москва : Аквариум, 1998. 816 с.

193. Новак В. П., Мельниченко А. П. Цитологія, гістологія, ембріологія: навч. посібник. Біла Церква. 2005. 256 с.

194. Новиков О. К., Новиков В. И. Клеточные методы иммунодиагностики. Минск : Беларусь, 1979. 222 с.

195. Ночевная Т. В. Оптимизация условий культивирования штаммов вируса энтерита норки и изучение его биологических свойств : автореф. дис. ... канд. биол. наук. : 03.00.06. Москва, 2006. 29 с.

196. Ольшанская А. А. Биологические свойства и диагностика коронавирусного энтерита собак : автореф. дис. ... канд. биол. наук : 03.00.06. Москва, 1997. 21 с.
197. Ольшанская А. А. Диагностика и профилактика коронавирусной инфекции собак. *Ветеринарная патология*. 2006. № 3. С. 26–31.
198. Орлянкин Б. Г. Парвовирусы животных. *Сельскохозяйственная биология*. 1986. № 11. С. 23–34.
199. Орлянкин Б. Г., Непоклонов Е. А., Алипер Т. И. Классификация и номенклатура вирусов позвоночных. *Ветеринария*. 2001. № 10. С. 15–20.
200. Пальцев М. А., Аничков Н. М. Патологическая анатомия : в 2 т. Москва : Медицина, 2001. Т. 1. С. 170–207.
201. Панікар І. І., Скибицький В. Г., Калініна О. С. Практикум з ветеринарної вірусології. Суми : Козацький вал, 1997. 236 с.
202. Парвовирусы плотоядных и вызываемые ими болезни / Н. А. Власов и др. Ульяновск, 2000. 37 с.
203. Парвовірусні інфекції собак і хутрових звірів / Л. Є. Корнієнко та ін. Біла Церква : БДАУ, 2001. 55 с.
204. Патологічна анатомія тварин / П. П. Урбанович та ін. ; за ред. П. П. Урбановича і М. К. Потоцького. Київ : Ветінформ, 2008. 896 с.
205. Патологоанатомическая диагностика вирусных болезней животных : справочное издание / Н. И. Архипов и др. ; под. ред. Н. И. Архипова. Москва : Колос, 1984. 176 с.
206. Патоморфология и диагностика новых и малоизученных болезней животных / В. С. Прудников и др. Витебск, 2002. С. 27.
207. Пашкина Ю. В. Эпизоотологический надзор при заразной патологии домашних плотоядных в условиях города. *Ветеринарная патология*. 2005. № 4. С. 89–92.
208. Пичугин П. М., Акулов А. В. Практикум по патанатомии сельскохозяйственных животных. Москва : Колос, 1980. 288 с.

209. Подгурский Г. М. Новые возможности линейных блотов в диагностике инфекционных заболеваний. *Лабораторная диагностика*. 2015. № 8 (138). С. 32.

210. Показатели точности, правильности, прецизионности методик количественного химического анализа. Методы оценки : рекомендации по межгосударственной стандартизации. Москва : Стандартинформ, 2012. 60 с.

211. Полімеразна ланцюгова реакція у практиці ветеринарної медицини: наук.-метод. посібник / під ред. Б. Т. Стегнія та А. П. Геріловича. Харків : ННЦ ІЕКВМ, 2006. 110 с.

212. Поліщук В. П., Будзанівська І. Г., Шевченко Т. П. Посібник з практичних занять до курсу «Загальна вірусологія». Київ : Фітосоціоцентр, 2005. 204 с.

213. Полковниченко А. П., Захаркина Н. И. Эффективность препарата Ронколейкин в качестве адьюванта вакцины против парвовирусной инфекции собак. *Ветеринария*. 2017. № 4 (66). С. 150–153.

214. Половинка В. В. Усовершенствование методов диагностики и лечения при парвовирусном энтерите собак : автореф. дис. ... канд. вет. наук : 16.00.03. Ставрополь, 2005. 22 с.

215. Пономарев А. П., Мищенко В. А. Электронная микроскопия вирусов животных и некоторых условно-патогенных микроорганизмов. Владимир : Фолиант, 2005. 158 с.

216. Практикум з ветеринарної вірусології / В. Г. Скибіцький та ін. Київ : Вища школа, 2005. 208 с.

217. Про внесення змін до Закону України «Про ветеринарну медицину» : Закон України від 16.11.2006. № 361-V. *Відомості Верховної Ради України*. 2007. № 5–6. 53 с.

218. Проявление эпизоотического процесса и оценка его интенсивности : методические указания по эпизоотологическому исследованию / под ред. И. А. Бакулова, А. Д. Третьякова. Москва : Колос, 1979. С.137–156.

219. Радзиховский Н. Л., Дышкант О. В., Бахур Т. И., Патафеева В. А. Сравнительные показатели эритроцитопоза у собак при энтеритах вирусной этиологии. *Ученые записки УО ВГАВМ*. 2018. Т. 54, вып. 3. С. 37–40.

220. Радзиховский Н. Л., Заика С. С., Дышкант О. В. Патолого-анатомические изменения у собак при ассоциированном течении парвовирусного энтерита с аденовирусным гепатитом. *Сельское хозяйство проблемы и перспективы. Сер. Ветеринария*. 2018. Т. 40. С. 182–190.

221. Радзиховский Н. Л., Никитин О. А. Заразные болезни собак и кошек в городе Житомир. *Инфекционные болезни животных и антимикробные средства* : междунар. науч.-прак. конф. Саратов, 2016. С. 183–186.

222. Радзиховский Н., Дышкант О. Эпизоотологические особенности болезней собак, вызванных энтеровирусами. *Ученые записки УО ВГАВМ*. 2018. Т. 54, вып. 2, С. 51–55.

223. Радзиховский Н., Дышкант О., Бахур Т., Столярова Ю. Сравнение чувствительности перевиваемых культур клеток к парвовирусу собак. *Ветеринарный журнал Беларуси*. 2018. Вып. 2 (9). С. 57–60.

224. Радзиховський М. Л. Герпесвірусні інфекції коней першого та другого типів (удосконалення діагностики та лікування) : дис. ... канд. вет. наук : 16.00.03. Київ, 2009. 162 с.

225. Радзиховський М. Л. Гематологічні та біохімічні показники крові собак уражених коронавірусним ентеритом. *Науковий вісник ЛНУВМ та БТ ім. С. З. Гжицького*. 2017. Т. 19, № 77. С. 170–174.

226. Радзиховський М. Л. Гістологічні зміни в печінці та нирках за експериментального відтворення парвовірозу у собак. *Науково-технічний бюлетень ДНДКІ ветеринарних препаратів та кормових добавок України і Інституту біології тварин НААН*. 2019. № 1, вип. 20. С. 123–129.

227. Радзиховський М. Л. Гістологічні зміни у собак за кишкової форми парвовірусного ентериту. *Ветеринарія, технології тваринництва та природокористування*. 2018. № 2. С. 59–62.

228.Радзиховський М. Л. Епізоотологічні особливості коронавірусного ентериту собак. *Науковий вісник НУБіП України. Сер. Ветеринарна медицина, якість і безпека продукції тваринництва*. 2016. № 237. С. 321–328.

229.Радзиховський М. Л. Епізоотологічні особливості парвовірусного ентериту собак. *Проблеми зооінженерії та ветеринарної медицини*. 2016. Вип. 32, ч. 2. С. 130–132.

230.Радзиховський М. Л. Епізоотологічні особливості ротавірусного ентериту собак. *Наук.-техн. бюл. НДЦ біобезпеки та екологічного контролю ресурсів АПК*. 2016. № 4, т. 4. С. 49–53.

231.Радзиховський М. Л. Макроскопічні зміни у цуценят за експериментального відтворення коронавірусного ентериту. *Вісник ПДАА. Сер. Ветеринарна медицина*. 2018. № 4. С. 174–177.

232.Радзиховський М. Л. Мікроскопічні зміни в товстій кишці цуценят за експериментального зараження ізолятом парвовіруса, культивованим у гетерологічній культурі клітин. *Науковий вісник ЛНУВМ та БТ ім. С. З. Гжицького*. 2018. Т. 20, № 88. С. 98–101.

233.Радзиховський М. Л. Мікроскопічні зміни в тонкій кишці цуценят при експериментальному зараженні ізолятом парвовіруса, культивованим у гетерологічній культурі клітин. *Науковий вісник ветеринарної медицини*. 2018. Вип. 1 (140). С. 122–127.

234.Радзиховський М. Л. Мікрофлора кишечника собак за коронавірусного ентериту. *BTRP Ukraine Regional One Health Research Symposium : 20–24 May 2019*. Kyiv, 2019. P. 248.

235.Радзиховський М. Л. Моніторинг ентеритів вірусної етіології у собак *Науковий вісник ЛНУВМ та БТ ім. С. З. Гжицького. Сер. Ветеринарні науки*. 2016. Т. 18, № 1 (65), ч. 1. С. 138–142.

236.Радзиховський М. Л. Морфологічні показники крові у собак за різних форм прояву парвовірусного ентериту. *Науково–технічний бюлетень ДНДКІ ветеринарних препаратів та кормових добавок України і Інституту біології тварин НААН*. 2018. № 2, вип. 19. С. 152–157.

237. Радзиховський М. Л. Нозологічний профіль ентеритів у собак. *Біологія тварин. Актуальні проблеми сучасної біології тваринництва та ветеринарної медицини* : матеріали міжнар. наук.-прак. конф., 29-30 вер. 2016 р. Львів. 2016. Т. 18, № 3. С. 176.

238. Радзиховський М. Л. Показники еритроцитопоезу у собак за парвовірусного ентериту. *Науковий вісник ветеринарної медицини*. 2017. Вип. 2 (136). С. 97–101.

239. Радзиховський М. Л. Порівняння чутливості перещеплювальних ліній культур клітин до коронавірусу собак. *Вісник ДДАЕУ*. 2018. № 1-2 (47). С. 157–160.

240. Радзиховський М. Л., Розумнюк А. В., Полупан І. М. Показники еритроцитопоезу у собак за коронавірусного ентериту. *Ветеринарна біотехнологія*. 2017. Вип. 31. С. 128–134.

241. Радзиховський М. Л., Горальський Л. П., Борисевич Б. В., Дишкант О. В. Інтегральні індекси інтоксикації у собак за коронавірусного ентериту. *Науковий вісник ветеринарної медицини*. 2018. Вип. 2 (144). С. 13–19.

242. Радзиховський М. Л., Горальський Л. П., Дишкант О. В. Динаміка лейкоцитарних індексів за парвовірусного ентериту у собак. *Theoretical and Applied Veterinary Medicine*. 2019. Vol. 7 (1). С. 3–7.

243. Радзиховський М. Л., Горальський Л. П., Заїка С. С. Патологоанатомічні зміни при коронавірусному ентериті у собак. *Вісник ЖНАЕУ*. 2017. Т. 3, № 1 (60). С. 303–307.

244. Радзиховський М. Л., Горальський Л. П., Костюк В. К. Особливості культивування вірусів собак родини Parvoviridae та Coronaviridae. Житомир: Рута, 2018. 20 с.

245. Радзиховський М. Л., Горальський Л. П., Костюк В. К. Патоморфологічна діагностика парвовірусного та коронавірусного ентериту у собак : методичні рекомендації. Житомир: Рута, 2018. 20 с.

246. Радзиховський М. Л., Дишкант О. В. Інфекційні ентерити у собак *Актуальні проблеми ветеринарної біотехнології та інфекційної патології*

тварин : матеріали щорічної наук.-практ. конф. молодих вчених, 16 черв. 2016 р. Київ : НААН України, Інститут ветеринарної медицини, 2016. С. 68–70.

247. Радзиховський М. Л., Дишкант О. В. Моніторинг заразних хвороб собак і котів у м. Житомир. *Актуальні проблеми ветеринарної біотехнології та інфекційної патології тварин* : матеріали щорічної наук.-практ. конф. молодих вчених, присв. 100-річчю НААН України, 19 лип. 2018 р. Київ : Компринт, 2018. С. 79–80.

248. Радзиховський М. Л., Дишкант О. В. Морфологічні особливості показників крові у собак за інфекційних ентеритів. *Актуальні проблеми ветеринарної біотехнології та інфекційної патології тварин* : матеріали щорічної наук.-практ. конф. молодих вчених, присв. 40-річчю заснування Інституту ветеринарної медицини ІВНААН. Київ, 2017. С. 72–74.

249. Радзиховський М. Л., Дишкант О. В. Патент України № 137015: Спосіб культивування парвовірусу собак № U201902860; заявл. 22.03.2019; опубл. 25.09.2019, Бюл. № 18.

250. Радзиховський М. Л., Дишкант О. В., Лісова В. В., Пінський О. В. Гемаглютинувальні властивості парвовірусу собак. *Проблеми зооінженерії та ветеринарної медицини. Сер. Ветеринарні науки*. 2018. Т. 3, вип. 35, ч. 2. С. 46–50.

251. Радзиховський М. Л., Дишкант О. В., Нікітіна Ю. О. Мікроскопічні зміни в підшлунковій залозі собак за парвовірусного ентериту. *Science and technology of the present time : priority development directions of Ukraine and Poland*, 19–20 Oct. 2018. Wolomin, Republic of Poland. 2018. Vol. 6. P. 78–82.

252. Радзиховський М. Л., Дишкант О. В., Розумнюк А. В. Морфологічні та біохімічні показники крові собак уражених парвовірусним ентеритом. *Ветеринарна біотехнологія. Бюлетень Інститут ветеринарної медицини НААН*. Київ, 2016. Вип. 29. С. 226–232.

253. Радзиховський М. Л., Заїка С. С. Патоморфологічна характеристика парвовірусного ентериту в собак. *Науковий вісник ЛНУВМ та БТ ім. С. З. Гжицького*. 2017. Т. 19, № 82. С. 45–49.

254.Рахманин П. П. Методические указания по применению перевиваемых клеточных культур для диагностики вирусных заболеваний сельскохозяйственных животных. Москва, 1988. 12 с.

255.Рахманина М. М. Выделение парвовируса собак и изучение некоторых биологических свойств. Разработка методов контроля биологических препаратов и диагностических средств. Москва: ВГНКИ, 1989. С. 114–121.

256.Рахманина Н. А. Клинико-эпизоотологические особенности и диагностика инфекционного перитонита кошек : автореф. дис. ... канд. вет. наук. : 16.00.03. Москва, 2007. 25 с.

257.Репродукция вирусов животных / Б. Г. Орлянкин и др. Москва : Агропромиздат, 1985. 471 с.

258.Реутская Д. И. Парвовирусный энтерит собак (эпизоотология, иммунология, профилактика и меры борьбы) : автореф. дис. ... канд. вет. наук : 16.00.03. Москва, 2006. 23 с.

259.Риган В. Дж., Сандерс Т. Г., Деникола Д. Б. Атлас ветеринарной гематологии / пер. с англ. Е. Б. Махиянов. Москва : Аквариум-Принт, 2014. 135 с.

260.РМГ 61-2010. Государственная система обеспечения единства измерений. Показатели точности, правильности, прецизионности методик количественного химического анализа. Методы оценки. [Действ. от 2012-09-01]. Изд. офиц. Москва : Стандартинформ, 2013. 41 с.

261.Рудик С. Курс лекцій з порівняльної анатомії. Київ : АНВШУ, 2002. 108 с.

262.Руководство по клиническим испытаниям лекарственных веществ / под ред. О. В. Стефанова, В. И. Мальцева, Т. К. Ефимцевой. Киев : Авицена, 2001. 426 с.

263.Руководство по общей эпизоотологии / Р. М. Алёхин и др. ; под ред. И. А. Бакулова, А. Д. Третьякова. Москва : Колос, 1979. С. 242–243.

264. Самуйленко А. Я., Кузнецов Д. П., Кузнецова С. В. Иммуноферментный анализ в ветеринарной медицине. *Ветеринария*. 2001. № 12. С. 20–23.

265. Санин А. В., Пронин А. В., Наровлянский А. Н., Тимофеева Т. Ю., Санина В. Ю., Герасимова Е. В. ... Анников В. В. Терапевтическая эффективность гамавита при лечении больных парвовирусным энтеритом собак: контролируемое исследование. 2016. *Современные фармако и биопрепараты РВЖ МДЖ*. № 5. С. 16–20.

266. Свенсон К., Уэбстер П. Клетка / пер. с англ. Т. Днепропетровская. Москва : Мир, 1980. 382 с.

267. Семанюк Н. В. Показники імунітету у собак за хронічного катарального гінгівіту *Науковий вісник ЛНУВМ та БТ ім. С. З. Гжицького*. 2014. Т. 16 (2), № 2. С. 306–311.

268. Семенов Б. Ф., Каулен Д. Р., Баландин И. Г. Клеточные и молекулярные основы противовирусного иммунитета. Москва : Медицина, 1982. С. 114.

269. Сергеев В. А. Вирусные вакцины. Киев : Урожай, 1983. 233 с.

270. Сергеев В. А., Непоклонов Е. А., Алипер Т. И. Вирусы и вирусные вакцины. Москва : Библионика, 2007. 524 с.

271. Середа О. М., Недосеков В. В., Полупан І. М. Роль парвовірусної інфекції в нозологічному профілі інфекційних хвороб собак і котів у місті Києві. *Ветеринарна біотехнологія* : бюлетень Інституту ветеринарної медицини НААН. Київ, 2016. Вип. 28. С. 254–259.

272. Серов В. В. Дистрофии : в кн. Общая патология человека : Руководство для врачей ; под ред. А. И Струкова, В. В. Серова, Д. С. Саркисова : в 2 т. Москва : Медицина, 1990. Т. 1. С. 104–208.

273. Серов В. В. Патология клетки : в кн. Общая патология человека : Руководство для врачей ; под ред. А. И Струкова, В. В. Серова, Д. С. Саркисова : в 2 т. Москва : Медицина, 1990. Т. 1. С. 41–103.

274.Симонович В. Н., Бондаренко В. В. Парвовирусный энтерит собак (профилактика, лечение). *Ветеринария*. 2011. № 12. С. 65–66.

275.Симпсон Дж., Элс У. Родерик Болезни пищеварительной системы собак и кошек / под ред. В. В. Гриценко ; пер. с англ. Г. Н. Пимочкиной. Москва : Аквариум Бук , 2003. 496 с.

276.Скрипка М. В., Колич Н. Б. Навчально-методичний посібник з патологічної анатомії для лабораторних занять. Полтава, 2011. 146 с.

277.Скрипка М. В., Панікар І. І., Колич Н. Б. Атлас патологічної морфології тварин. Полтава, 2012. 83 с.

278.Скрыпник К. А., Косоруков В. С. Человеческий гранулоцитарный колониестимулирующий фактор в клинической практике. *Российский биотерапевтический журнал*. 2011. № 2 (10). С. 19–24.

279.Сливка Г. В. Вплив Ізамбену (Амізону) на ефективність імунопрофілактики та терапії дрібних домашніх тварин при захворюваннях різної етіології : автореф. дис. ... канд.. вет. наук : 16.00.04. Львів, 2005. 21 с.

280.Собко А. И., Сюсюкин А. А. Методы лабораторной диагностики вирусных болезней животных: справ. Москва : Агропромиздат, 1986. С. 220–240.

281.Современные проблемы биохимии. Методы исследований / Е. В. Барковский и др. ; под ред. А. А. Чиркина. Минск : Вышэйшая школа, 2013. 491с.

282.Соколюк В. М., Радзиховський М. Л, Дишкант О. В., Колеснік Н. Л. Парвовірусний ентерит собак. *Science, research, development #12 Economy. Management. State and Law v. 2 Belgrade (Serbia) 29.12.2018 – 30.12.2018. P. 7–12.*

283.Соколюк В. М., Радзиховський М. Л, Дишкант О. В., Колеснік Н. Л. Коронавірусний ентерит собак. *Science, research, development #12 Economy. Management. State and Law v. 2 Belgrade (Serbia) 29.12.2018 –30.12.2018. P 12-19*

284.Сосов Р. Ф., Глушков А. А. Методические указания по применению статистических методов в эпизоотологии. Москва, 1974. 68 с.

285. Сперанский И. И., Самойленко Г. Е., Лобачева М. В. Общий анализ крови – все ли его возможности исчерпаны? Интегральные индексы интоксикации как критерии оценки тяжести течения эндогенной интоксикации, ее осложнений и эффективности проводимого лечения. *Здоровье Украины*. 2009. № 6 (19). С. 51–57.

286. Справочник по болезням домашних и экзотических животных / С. С. Липницкий и др. Минск : Ураджай. 1996. 447 с.

287. Старке Г. Практическая вирусология / пер. с нем. З. Ф. Богаутдинова и Я. С. Ландсберга. Москва : Колос, 1970. 352 с.

288. Старченков С. В. Заразные болезни собак и кошек. Санкт-Петербург : СПС, 2001. 368 с.

289. Стекольников А. А. Кормление и болезни собак и кошек : справочник. Санкт-Петербург : Лань, 2005. 608 с.

290. Стекольников А. А., Коробов А. В. Профессиональная этика врача ветеринарной медицины. Санкт-Петербург : Лань, 2004. 288 с.

291. Струков А. И., Пауков В. С., Кауфман О. Я. Воспаление : в кн. Общая патология человека : Руководство для врачей ; под ред. А. И. Струкова, В. В. Серова, Д. С. Саркисова : в 2 т. Москва : Медицина, 1990. Т. 2. С. 3–73.

292. Суворов А. Б., Коробов А. В. Применение гиперборической оксигенации при лечении острых гастритов у собак разных возрастных групп. *Сборник трудов десятого московского междунар. вет. конгресса* : 11–13 апр. 2002 г. Москва, 2002. С. 210.

293. Сукманський О. І. Ветеринарна гематологія : навч. посібник для студентів вищих навч. закладів. Одеса : ВМВ, 2009. 168 с.

294. Сулимов А. А., Уласов В. И., Могильный Ю. И. Парвовирусная инфекция животных семейства псовых. *Сборник научных трудов ВГНКИ*. 2005. Т. 66. С. 60–64.

295. Сулимов А. А., Уласов В. И. Парвовирусный энтерит собак. *Российский ветеринарный журнал: мелкие домашние животные*. 2008. № 2. С. 40–45.

296.Сюрин В. Н., Фомина Н. В. Частная ветеринарная вирусология. Москва : Колос, 1979. 472 с.

297.Сюрин В. Н., Белоусова Р. В., Фомина Н. В. Диагностика вирусных болезней животных. Москва : Агропромиздат, 1991. 528 с.

298.Сюрин В. Н., Самуйленко А. Я., Соловьёв Б. В., Фомина Н. В. Вирусные болезни животных. Москва : ВНИТИБЦ, 1998. 928 с.

299.Тилли Л., Смит Ф. мл. Болезни кошек и собак / пер. с англ. Е. П. Копенкин ; под ред. Е. П. Копенкина. Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2010. 838 с.

300.Топурия Л. Ю. Структурно-функциональная и клиническая оценка влияния иммуномодуляторов природного происхождения на организм животных : автореф. дис. ... д-ра биол. наук : 16.00.02. Оренбург, 2008. 43 с.

301.Троценко Н. И., Белоусова Р. В., Преображенская Э. А. Практикум по ветеринарной вирусологии. Москва : Колос, 1999. 272 с.

302.Уиллард Майкл Д. Лабораторная диагностика в клинике мелких домашних животных / под. ред. В. В Макарова ; пер. с англ. Л. И. Евлевой, Г. Н. Пимочкиной, Е. В. Свиридовой. Москва : Аквариум бук, 2004. 432 с.

303.Усевич В. М., Дрозд М. Н. Практикум по лабораторной диагностике : уч. пособие / Исследование крови. Ч. 1. Екатеринбург : УрГАУ, 2014. 80 с.

304.Уховський В. В., Розумнюк А. В. Зміна показників еритроцитопоезу крові кролів за внутрішньом'язового введення інактивованої полівалентної вакцини проти лептоспірозу великої рогатої худоби. *Біологія тварин*. 2014. № 4, т. 16. С. 171–179.

305.Фасоля В. П. Диспансеризація собак службових порід : автореф. дис. ... д-ра вет. наук : 16.00.01. Біла Церква, 2008. 38 с.

306.Фасоля В. П. Структура внутрішніх хвороб собак у м. Житомирі. *Вісник БДАУ*. 2001. Вип. 18. С. 158–163.

307.Холод В. М., Курдеко А. П. Клиническая биохимия. Витебск : УО ВГАВМ, 2005. Ч. 1. 188 с.

308.Хомов В. В., Сизов А. А., Барановская Г. А., Шульгина Е. О. Точечный

твёрдофазный иммуноферментный анализ (dot-ИФА) для диагностики чумы и парвовирусного энтерита собак. *Ветеринария*. 1997. № 7. С. 21–23.

309. Чижов В. А., Данилов Е. П., Дукур И. И. Парвовирусные энтериты. *Болезни собак / под ред. В. Н. Сайтаниди*. Москва : Агропромиздат, 2000. С. 270–273.

310. Шаталов А. В., Данников С. П., Кононов А. Н., Скрипкин В. С. Иммунопрофилактика парвовирусного энтерита собак. *Ветеринария сегодня* 2018. № 4(27). С. 63–67. DOI 10.29326/2304-196X-2018-4-27-63-67

311. Широбокова М. А. Парвовирусный энтерит. *Ваши домашние четвероногие друзья / сост. и ред. Н. П. Бацанов*. Санкт-Петербург: Лениздат, 2002. С. 400–403.

312. Шкрылев А. Н. Распространение парвовирусного энтерита собак и совершенствование методов его диагностики : дис. ... канд. вет. наук : 16.00.03. Омск, 2000. 136 с.

313. Шубич М. Г., Могильная Г. М. Гликопротеины и протеогликаны. Принципы их гистохимического анализа. *Архив анатомии, гистологии и эмбриологии*. 1979. Т. 77. № 8. С. 92–99.

314. Шуляк Б. Ф. Вирусные инфекции собак. Москва : ОЛИТА, 2004. С. 173–215.

315. Эвтаназия животных : гуманность или убийство? Pravda.ru : веб-сайт. URL : <https://www.pravda.ru/society/zoo/veterinary/22-07-2010/1041783-euthanasia>. (дата обращения : 03.08.2019).

316. Энтерит у собак: симптомы и лечение. Питомец.ру : веб-сайт. URL: <http://www.pitomec.ru/articles/dogs/health/565> (дата обращения : 03.09.2019).

317. Яцынская С. Б. Экспресс-диагностика вирусных болезней кошек и собак *Ветеринария*. 2004. № 5. С. 25–29.

318. Ящук О. В., Черевач Н. В., Вінніков А. І. Моніторинг розповсюдження вірусів серед домашніх котів і собак у м. Дніпропетровськ. *Вісник ДНУ. Серія Біологія, медицина*. 2014. № 5 (1). С. 23–27.

319. Agnihotri D., Singh Yu., Maan S., Jain V. K., Kumar A., Sindhu N., Jhamb R., Goel P., Kumar A. Molecular detection and clinico-haematological study of viral gastroenteritis in dogs. *Haryana Veterinarian*. 2017. № 56 (1). P.72–76.

320. Aldaz J., García-Díaz J., Calleros L. Sosa K., Iraola G., Marandino A., ... Pérez R. Highlocal genetic diversity of canine parvovirus from Ecuador. *Veterinary Microbiology*. 2013. Vol. 166. P. 214–219. DOI: 10.1016/j.vetmic.2013.06.012.

321. Allison A. B., Harbison C. E., Pagan I., Stucker K. M., Kaelber J. T., Brown J. D., ... Parrish C. R. Role of multiple hosts in the cross-species transmission and emergence of a pandemic parvovirus. *Journal of virology*. 2012. Vol. 86. P. 865–872. DOI:10.1128/JVI.06187-11.

322. Allison A. B., Kohler D. J., Fox K. A., Brown J. D., Gerhold R. W., Shearn-Bochsler V. I., ... Holmes E. C. Frequent cross-species transmission of parvoviruses among diverse carnivore hosts. *Journal of Virology*. 2013. Vol. 87. P. 2342–2347. DOI:10.1128/JVI.02428-12.

323. Allison A. B., Kohler D. J., Ortega A., Hoover E. A., Grove D. M., Holmes E. P., Parrish C. R. Host-specific parvovirus evolution in nature is recapitulated by in vitro adaptation to different carnivore species. *PLoS Pathogence*. 2014. Vol. 11. P. 6–10. DOI:10.1371/journal.ppat.1004475.

324. Amude A. M., Alfieri A. A., Balarin M. R., Reis A. C., Alfieri A. F. Cerebrospinal fluid from a 7-month-old dog with seizure-like episodes. *Veterinary Clinical Pathology*. 2006. Vol. 35 (1). P. 119–122.

325. Anderson K., Case A., Woodie K., Waddell W., Reed H. Duration of immunity in red wolves (*Canis rufus*) following vaccination with a modified live parvovirus and canine distemper vaccine. *Journal Zoo and Wildlife Medicine*. 2014. Vol. 45(3). P. 550–554. DOI: 10.1638/2013-0227R2.1.

326. Arden K. E., Nissen M. D., Shots T. P., Mackay I. M. New coronavirus, HCoV-NL63, associated with severe lower respiratory tract disease in Australia. *Journal of Medical Virology*. 2005. Vol. 75. P. 455–462. DOI:10.1002/jmv.20288.

327. Avci O., Bulut O., Yapici O., Hasircioglu S., Simsek A. Canine coronavirus infection in dogs in Turkey: Virological and serological evidence *Indian Journal Of Animal Research*. 2016. Vol. 50(4). P. 565–568.

328. Babalola E. T., Ijaopo O. K., Okonko I. O. Evaluation of Immunity and Seropositivity of Ig G Antibodies to Canine Parvoviruses in Vaccinated and Unvaccinated Dogs in Abeokuta, Nigeria. *Journal Immunoassay & Immunochemistry*. 2016. Vol. 37 (1). P. 16–28. DOI: 10.1080/15321819.2015.1040159.

329. Bachman P. A., Hoggan M. D., Kurstak E., Melnik J. L. Classification of some animal viruses. *Intervirology*. 1979. Vol. 11 (3). P. 248–254.

330. Banja B. K., Sahoo N., Panda H. K., Ray S. K., Das P. K. Epizootiological status of canine viral haemorrhagic gastroenteritis in Bhubaneswar city. *Indian Veterinary Journal*. 2002. Vol. 79. P. 851–856.

331. Battilani M., Gallina L., Vaccari F., Morganti L. Co-infection with multiple variants of canine parvovirus type 2 (CPV-2). *Veterinary Research Communications*. 2007. Vol. 31. P. 209–212. DOI:10.1007/s11259-007-0007-6.

332. Battilani M., Modugno F., Mira F., Purpari G., Di Bella S., Guercio A., Balboni A. Molecular epidemiology of canine parvovirus type 2 in Italy from 1994 to 2017: recurrence of the CPV-2b variant. *BMC veterinary research*. 2019. Vol. 15 (1) P. 393–406. DOI:10.1186/s12917-019-2096-1.

333. Beersma M. F. C., Claas E. C., Sopaheluakan T., Kroes A. C. M. Parvovirus B19 viral loads in relation to VP1 and VP2 antibody responses in diagnostic blood samples. *Journal of Clinical Virology*. 2005. Vol. 34. P. 71–75. DOI: 10.1016/j.jcv.2005.04.005.

334. Bel'skaya L. V., Kosenok V. K., Massard G. Endogenous intoxication and saliva lipid peroxidation in patients with lung cancer. *Journal Diagnostics*. 2016. Vol. 6 (4). DOI:10.3390/diagnostics6040039.

335. Bell J. A., Kopper J. J., Turnbull J. A., Barbu N. I., Murphy A. J., Mansfield L. S. Ecological characterization of the colonic microbiota of normal and

diarrheic dogs. *Interdisciplinary perspectives on infectious diseases*. 2008. DOI: 10.1155/2008/149694/

336. Berensmeier S. Magnetic Particles for the Separation and Purification of Nucleic Acids. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2006. Vol. 73. P. 495–504. DOI:10.1007/s00253-006-0675-0.

337. Bhargavi M., Shobhamani B., Nalini Kumari K., Srilatha Ch. Diagnostic Aspects and Haematobiochemical Changes Associated with Canine Parvoviral Enteritis in Dogs. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. 2017. Vol. 6 (11). P. 3357–3364. DOI:10.20546/ijcmas.2017.611.394.

338. Boom R., Sol C. J., Salimans M. M., Jansen C. L., Wertheim-van Dillen P. M., van der Noordaa J. Rapid and Simple Method for Purification of Nucleic Acids. *Journal of Clinical Microbiology*. 1990. Vol. 28. P. 495–503

339. Bowtell D. D. Rapid Isolation of Eukaryotic DNA. *Analytical Biochemistry*. 1987. Vol. 162. P. 463–465. DOI:10.1016/0003-2697(87)90421-0.

340. Breadmore M. C., Wolfe K. A., Arcibal I. G., Leung W. K., Dickson D., Giordano B. C., ... Landers J. P. Microchip-Based Purification of DNA from Biological Samples. *Analytical Chemistry*. 2003. Vol. 75. P. 1880–1886. DOI:10.1021/ac0204855.

341. Buonavoglia C., Decaro N., Martella V., Elia G., Campolo M., Desario C., Castagnaro M., Tempesta M. Canine Coronavirus Highly Pathogenic for Dogs. *Emerging Infectious Diseases*. 2006. Vol. 12, № 3. P. 492–494. DOI:10.3201/eid1203.050839.

342. Buonavoglia C., Martella V., Pratelli A., Tempesta M., Cavalli A., Buonavoglia D., ... Carmichael L. Evidence for evolution of canine parvovirus type 2 in Italy. *Journal of General Virology*. 2011. Vol. 82. P. 3021–3025. DOI:10.1099/0022-1317-82-12-3021.

343. Caddy S. L. New viruses associated with canine gastroenteritis. *Veterinary Journal*. 2018. № 232. P. 57–64. DOI:10.1016/j.tvjl.2017.12.009.

344. Carvalho O. V., Botelho C. V., Ferreira C. G. T., Scherer P. O., Soares-Martins J. A. P., Almeida M. R., Júnior A. S. Immunopathogenic and Neurological

Mechanisms of Canine Distemper Virus. *Advances in virology*. 2012. DOI: 10.1155/2012/163860.

345. Castro T. X., Miranda S. C., Labarthe N. V., Silva L. E., Cubel Garcia R. C. Clinical and epidemiological aspects of canine parvovirus (CPV) enteritis in the State Rio de Janeiro: 1995-2004. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 2007. Vol. 59 (2). P.115–120. DOI:10.1590/S0102-09352007000200010.

346. Castro T., Cassia R., Cubel Garcia N., Gonçalves L. P. S., Costa E. M., Marcello G. C. G., Labarthe V. N. & Mendes-de-Almeida F. Clinical, hematological and biochemical findings in puppies with coronavirus and parvovirus enteritis. *Canadian Veterinary Journal*. 2013. Vol. 54 (9). P. 885–893.

347. Castro T., Garcia R., Gonçalves L., Costa E., Marcello G., Labarthe N., Almeida F. Clinical, hematological and biochemical findings in puppies with coronavirus and parvovirus enteritis. *Canadian Veterinary Journal*. 2013. Vol. 54 (9). P. 885–893.

348. Cavalli A., Martella V., Desario C., Camero M., Bellacicco A. L., De Palo P., ... Buonavoglia C. Evaluation of the antigenic relationships among canine parvovirus type 2 variants. *Clinical and Vaccine Immunology*. 2008. Vol. 15 (3). P. 534–539. DOI:10.1128/CVI.00444-07.

349. Céron J., Eckersall P., Martínez-Subiela S. Acute phase proteins in dogs and cats: current knowledge and future perspectives. *Veterinary Clinical Pathology*. 2005. Vol. 34 (2). P.85–99.

350. Charmichael L. E., Binn L. N. New enteric viruses in the dog. *Advances in veterinary science & comparative medicine*. 1981. Vol. 25 (1). P. 1–37.

351. Cheville N. F. Cytopathology in viral diseases. *Monographs in Virology*. 1975. Vol. 10 (1). P. 1–99.

352. Chiang C.-L., Sung C.-S., Wu T.-F., Chen C. Y., Hsu C. Y. Application of Superparamagnetic Nanoparticles in Purification of Plasmid DNA from Bacterial Cells. *Journal of Chromatography B*. 2005. Vol. 822. P. 54–60. DOI: 10.1016/j.jchromb.2005.05.017.

353. Chirgwin J. M., Przybyla A. E., MacDonald R. J., Rutter W. J. Isolation of Biologically Active Ribonucleic Acid from Sources Enriched in Ribonuclease. *Biochemistry*. 1979. Vol. 18. P. 5294–5299.

354. Chosh S., Kobayashi N. Exotic rotaviruses in animals and rotaviruses in exotic animals. *Indian virological*. 2014. № 82 (1). P. 158-172. DOI:10.1007/s13337-014-0194-z.

355. Cilli V., Castrucci G. Viral diarrhea of young animals: a review. *Comparative immunology, microbiology & infectious diseases*. 1981. Vol. 4 (3-4). P. 229–242.

356. Cirone F., Pratelli A. The Polarity of Entry and Release of Canine Coronavirus From Epithelial Cells. *Biomedical journal of scientific and technical research*. 2018. № 2 (1). P. 31–42. DOI:10.26717/BJSTR.2018.02.000675.

357. Clegg S. R., Coyne K. P., Parker J., Dawson S., Godsall S. A., Pinchbeck G., ... Radford A. D. Molecular epidemiology and phylogeny reveal complex spatial dynamics in areas where canine parvovirus is endemic. *Journal of virology*. 2011. Vol. 85. P. 7892–7899. DOI:10.1128/JVI.01576-10.

358. Coignoul F., Deweale A. Canine haemorrhagic enteritis – pathology of a syndrome. *Annals of Veterinary Medicine*. 1979. Vol. 123 (1). P. 47–54.

359. Coombs L. M., Pigott D., Proctor A., Eydmann M., Denner J., Knowles M. A. Simultaneous Isolation of DNA, RNA and Antigenic Protein Exhibiting Kinase Activity from Small Tumour Samples Using Guanidine Isothiocyanate. *Analytical Biochemistry*. 1990. Vol. 188. P. 338–343. DOI:10.1016/0003-2697(90)90617-i.

360. Cooper R. A., Durocher J. R., Leslie M. H. Decreased fluidity of red cell membrane lipids in abetalipoproteinemia. *Journal of clinical investigation*. 1977. Vol. 60 (1). P. 115–121. DOI:10.1172/JCI108747.

361. Costa E. M., de Castro T. X., Bottino Fde O., Garcia Rde C. Molecular characterization of canine coronavirus strains circulating in Brazil. *Veterinary Microbiology*. 2014. Vol. 168. P. 8–15. DOI:10.1016/j.vetmic.2013.10.002.

362. Craig E. Greene Infectious Diseases of the Dog and Cat - E-Book / Craig E. Greene. 2013. 1376 p.

363. Craige E., Sykes J. Infections diseases of the dog and cat : 4th edition. St. Louis, Missouri : Saunders, 2012. 1376 p.

364. Cvanagh D. Coronavirases in poultry and other birds. *Avian Pathology*. 2005. Vol. 34, № 6. P. 439–448. DOI:10.1080/03079450500367682.

365. D'Oliveira P. S. B., Cargnelutti J. F., Masuda E. K., Fighera R. A., Kommers G. D., Da'Silva M. C., Weiblen R., Flores E. F. Epidemiological, clinical and pathological features of canine parvovirus 2c infection in dogs from southern Brazil. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 2018. Vol. 38 (1). P. 113–118. DOI:10.1590/1678-5150-pvb-5122.

366. Da Rocha Gizzi A. B., Oliveira S. T., Leutenegger C. M., Estrada M., Kozemjakin D. A., Stedile R., Marcondes M. & Welker A. Biondo Presence of infectious agents and co-infections in diarrheic dogs determined with a real time PCR based panel. *BMC Veterinary research*. 2014. № 6. P. 81–90. DOI:10.1186/1746-6148-10-23.

367. Decario N., Desario C., Addie D. D., Martella V., Vieira M. J., Elia G., ... Buonavoglia C. Molecular epidemiology of canine parvovirus. Europe. *Emerging infections disease*. 2007. Vol. 13. P. 1222–1224. DOI:10.3201/eid1308.070505.

368. Decaro N., Buonavoglia C. Canine parvovirus-a review of epidemiological and diagnostic aspects, with emphasis on type 2c. *Veterinary Microbiology*. 2012. Vol. 155 (1). P. 1–12. DOI:10.1016/j.vetmic.2011.09.007.

369. Decaro N., Campolo M., Lorusso A., Desario C., Maril V., Colaianni M. L., ... Buonavoglia C. Experimental infection of dogs with a novel strain of canine coronavirus causing systemic disease and lymphopenia. *Veterinary Microbiology*. 2008. Vol. 128 (3–4). P. 253–260. doi:10.1016/j.vetmic.2007.10.008

370. Decaro N., Cordonnier Z., Demeter H., Egberink G., Elia A., Grellet A., ... Buonavoglia C. European surveillance for pantropic canine coronavirus *Journal of Clinical Microbiology*. 2013. Vol. 51. P. 83–88. DOI:10.1128/JCM.02466-12.

371. Decaro N., Crescenzo G., Desario C., Cavalli A., Losurdo M., Colaianni M. L., ... Buonavoglia C. Long-term viremia and fecal shedding in pups after modified-live canine parvovirus vaccination. *Vaccine*. 2014. Vol. 32 (30). P. 3850–3853. DOI:10.1016/j.vaccine.2014.04.050.

372. Decaro N., Desario C., Billi M., Lorusso E., Colaianni M. L., Colao V., ... Buonavoglia C. Evaluation of an in-clinic assay for the diagnosis of canine parvovirus. *Veterinary Journal*. 2013. Vol. 198 (2). P. 504–507. DOI:10.1016/j.tvjl.2013.08.032.

373. Decaro N., Desario C., Billi M., Mari V., Elia G., Cavalli A., Martella V., Buonavoglia C. Western European epidemiological survey for parvovirus and coronavirus infections in dogs. *Veterinary journal*. 2009. Vol. 187. P. 195–199. DOI:10.1016/j.tvjl.2009.10.027.

374. Decaro N., Desario C., Elia G., Campolo M., Lorusso A., Mari V., ... Buonavoglia C. Occurrence of severe gastroenteritis in pups after canine parvovirus vaccine administration: a clinical and laboratory diagnostic dilemma. *J. Vaccine*. 2007. Vol. 25 (7). P. 1161–1166. DOI:10.1016/j.vaccine.2006.10.020.

375. Decaro N., Desario C., Elia G., Martella V., Mari V., Lavazza A., ... Buonavoglia C. Evidence for immunisation failure in vaccinated adult dogs infected with canine parvovirus type 2c. *New Microbiologica*. 2008. Vol. 31. P. 125–130.

376. Decaro N., Mari V., Campolo M., Lorusso A., Camero M., Elia G., ... Buonavoglia C. Recombinant canine coronaviruses related to transmissible gastroenteritis virus of Swine are circulating in dogs. *Journal of virology*. 2009. Vol. 83. P. 1532–1537. DOI:10.1128/JVI.01937-08.

377. Decaro N., Mari V., Elia G., Addie D. D., Camero M., Lucente M. S., Martella V. & Buonavoglia C. Recombinant Canine Coronaviruses in Dogs, Europe. *Emerging Infectious Diseases journal*. 2010. № 1. P. 41–47. DOI:10.3201/eid1601.090726.

378. Decaro N., Mari V., Reitzenstein M., Lucente M. S., Cirone F., Elia G. ... Buonavoglia C. Pantropic canine coronavirus genetically related to the prototype

isolate CB/05. *Veterinary Microbiology*. 2012. Vol. 159 (1–2). P. 239–244. DOI:10.1016/j.vetmic.2012.03.039.

379. Decaro N., Martella V., Ricci D., Elia G., Desario C., Campolo M., ... Buonavoglia C. Genotype-specific fluorogenic RT-PCR assays for the detection and quantitation of canine coronavirus type I and type II RNA in faecal samples of dogs. *Journal of Virological Methods*. 2005. Vol. 130. P. 72–80. DOI:10.1016/j.jviromet.2005.06.005.

380. Deepa P. M., Saseendranath M. R. Incidence of canine parvoviral infection in immunized dogs. *Indian Veterinary Journal*. 2002. Vol. 79. P. 643–644.

381. Deepa P. M., Saseendranath M. R., Mini M. Epidemiological studies on canine parvoviral infection. *Indian journal of animal sciences*. 2000. Vol. 70. P. 261–262.

382. Deka D., Phukan A., Sarma D. K. Epidemiology of Parvovirus and Corona Virus Infections in Dogs in Assam. *Indian Veterinary Journal*. 2013. Vol. 90 (9). P. 49–51.

383. Denison M. R., Graham R. L., Donaldson E. F., Eckerle L. D., Baric R. S. Coronaviruses: An RNA proofreading machine regulates replication fidelity and diversity. *RNA Biology*. 2011. № 8. P. 270–279. DOI:10.4161/rna.8.2.15013.

384. Directive EEC CVMP/VICH/393388/06. Target Animal Safety: Pharmaceuticals Sep. 2008.

385. Directive EEC CVMP/816/00 Statistical principles for veterinary clinical trials Dec. 2001.

386. Doki M., Fujita K., Miura R., Yoneda M., Ishikawa Y., Taneno A., Kai C. Sequence analysis of VP2 gene of canine parvovirus isolated from domestic dogs in Japan in 1999 and 2000. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*. 2006. Vol. 29. P. 199–206. DOI:10.1016/j.cimid.2006.05.001.

387. Drost G. A. Canine viral enteritis prevalence of parvo-, corona-, rotavirus infections in dogs in the Netherlands. *Veterinary quarterly*. 2015. № 2. P. 181–190.

388. Duffy A., Dow S., Ogilvie G., Rao S., Hackett T. Hematologic improvement in dogs with parvovirus infection treated with recombinant canine

granulocyte-colony stimulating factor. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. 2010. Vol. 33 (4). P. 352–356. DOI:10.1111/j.1365-2885.2009.01153.x.

389.Elia G., Decaro N., Martella V., Lorusso E., Mari V., Maria S. L., Cordioli P., Buonavoglia C. An ELISA based on recombinant spike protein S for the detection of antibodies to transmissible gastroenteritis virus of swine-like canine coronaviruses. *Journal of Virological Methods*. 2010. Vol. 163 (2). P. 309–321. DOI: 10.1016/j.jviromet.2009.10.015.

390.Ema Y., Igase M., Takeda Y., Yanase T., Umeki S., Hiraoka H., Okuda M., Mizuno T. Investigation of the cytotoxic effect of flavopiridol in canine lymphoma cell lines. *Veterinary and comparative oncology*. 2016. Vol. 14(1). P. 95–106. DOI: 10.1111/vco.12130.

391.Emery S. L., Erdman D. D., Bowen M. D., Newton B. R., Winchell J. M., Meyer R. F., ... Anderson L. J. Real-time reverse transcription-polymerase chain reaction assay for SARS-associated coronavirus. *Journal Emerging infectious diseases*. 2004. Vol. 10 (2). P. 311–316. DOI:10.3201/eid1002.030759.

392.Erles K. Longitudinal Study of Viruses Associated with Canine Infectious Respiratory Disease. *Journal of clinical microbiology*. 2004. Vol. 42 (10). P. 4524–4529. DOI:10.1128/JCM.42.10.4524-4529.2004.

393.Erles K., Toomey C., Brooks H. W., Brownlie J. Detection of a group 2 coronavirus in dogs with canine infectious respiratory disease. *Journal of Virology*. 2003. Vol. 310. P. 216–239. DOI:10.1016/s0042-6822(03)00160-0.

394.Evermann J. F., Abbott J. R., Han S. Canine coronavirus-associated puppy mortality without evidence of concurrent canine parvovirus infection. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 2005. № 17. P. 610–614. DOI:10.1177/104063870501700618.

395.Fehr A. R., Perlman S. Coronaviruses: An Overview of Their Replication and Pathogenesis. *Methods in Molecular Biology*. 2015. Vol. 1. P. 1282–1301. DOI: 10.1007/978-1-4939-2438-7_1.

396. Filipov C., Decaro N., Desario C., Amorisco F., Sciarretta R., Buonavoglia C. Canine parvovirus epidemiology in Bulgaria. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 2011. Vol. 23. P. 152–154. DOI:10.1177/104063871102300129.

397. Gaunt E. R., Hardie A., Claas E. C., Simmonds P., Templeton K. E. Epidemiology and clinical presentations of the four human coronaviruses 229E, HKU1, NL63, and OC43 detected over 3 years using a novel multiplex real-time PCR method. *Journal of clinical microbiology*. 2010. Vol. 48 (8). P. 2940–2947. DOI:10.1128/JCM.00636-10.

398. Geetha M. Epidemiology, pathogenesis, clinical findings and diagnosis of canine parvo viral infection – a mini review. *International Journal of Scientific Engineering and Applied Science*. 2015. № 1 (9). P. 21–27.

399. Goddard A., Leisewitz A., Christopher M., Duncan N. M., Becker P. J. Prognostic usefulness of blood leukocyte changes in canine parvoviral enteritis. *Journal of veterinary internal medicine*. 2008. Vol. 22 (2). P. 3009–3027. DOI: 10.1111/j.1939-1676.2008.0073.x.

400. Godsall S. A., Clegg S. R., Stavisky J. H., Radford A. D, Pinchbeck G. Epidemiology of canine parvovirus and coronavirus in dogs presented with severe diarrhea to PDSA Pet Aid hospitals. *Veterinary Record*. 2010. Vol. 167 (6). P. 196–201. DOI:10.1136/vr.c3095.

401. Gogone B., Possatti F., Alfieri A. A., Takiuchi E. Detection of canine parvovirus types 2b and 2c in canine faecal samples contaminating urban thoroughfares in Brazil. *Canadian journal of microbiology*. 2019. Vol. 12. P. 1–6. DOI:10.1139/cjm-2019-0137.

402. Gogos C., Droosou E., Bassaris H., Skoutelis A. Pro-versus anti-inflammatory cytokine profile in patients with severe sepsis: a marker for prognosis and future therapeutic options. *Journal of Infectious Diseases*. 2000. Vol. 181. P. 176–180. DOI:10.1086/315214.

403. Gombac M., Švara T., Tadić M., Pogačnik M. Retrospective study of canine parvovirus in Slovenia. *Slovenian Veterinary Research*. 2008. Vol. 45 (2). P. 73–80.

404. Goralskii L., Radzikhovskiy N., Dyshkant O., Dunaievska O., Sokulskiy I. Experimental study of tropism in cultivated canine coronavirus in the small intestine of puppies. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. 2019. Vol. 10 (4). P. 489–496. DOI:10.15421/021972.

405. Gray L. K., Crawford P. C., Levy J. K., Dubovi E. J. Comparison of two assays for detection of antibodies against canine parvovirus and canine distemper virus in dogs admitted to a Florida animal shelter. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 2012. Vol. 240 (9). P. 1084–1087. DOI:10.2460/javma.240.9.1084.

406. Greene C. E., Decaro N. Canine Viral Enteritis. URL : Режим доступу: <https://veteriankey.com/canine-viral-enteritis/>.

407. Grigonis A., Mačijauskas V., Zamokas G. Parvovirosis in dogs and factors influencing their morbidity. *Veterinaria and zootechnika*. 2002. Vol. 18 (40). P. 35–41.

408. Guadarrama-Olhovich M., Ortuno L. E. G., Remolina J. A. R., Lopez Buitrago C., Ramirez Lezama J., Bouda J. Acute pancreatitis, azotaemia, cholestasis and haemolytic anaemia in a dog: a case report. *Veterinarni Medicina*. 2013. Vol. 58 (1). P. 44–49.

409. Guan Y., Zheng B. J., He Y. Q., Zheng B. J., He Y. Q., Butt K. M., ... Poon L. L. Isolation and characterization of viruses related to the SARS coronavirus from animals in southern China. *Science*. 2003. Vol. 302. P. 276–284.

410. Guard B. C., Barr J. W., Reddivari L., Klemashevich C., Jayaraman A., Steiner J. M., Vanamala J., Suchodolski J. S. Characterization of Microbial Dysbiosis and Metabolomic Changes in Dogs with Acute Diarrhea. *PLoS ONE*. 2015. Vol. 10 (5). P. 1–24. DOI: 10.1371/journal.pone.0127259.

411. Gur S., Gencay A., Dogan N. A Serologic Investigation for Canine Corona Virus Infection in Individually Reared Dogs in Central Anatolia. *Journal Faculty Of Veterinary Medicine - Erciyes University*. 2008. Vol. 5 (2) P. 67–71.

412. Gutyj B., Grymak Y., Drach M., Bilyk O., Matsjuk O., Magrelo N., Zmiya M., Katsaraba O. The impact of endogenous intoxication on biochemical

indicators of blood of pregnant cows. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. 2017. Vol. 8 (3). P. 438–443. DOI:10.15421/021768.

413.Hafenstein S., Palermo L. M., Kostyuchenko V. A., Xiao C., Morais M. C., Nelson C. D., ... Rossmann M. G. Asymmetric binding of transferrin receptor to parvovirus capsids. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2007. Vol. 16. P. 6585–6589. DOI:10.1128/JVI.02532-08.

414.Hammond M. M., Timoney P. J. An electron microscopic study of viruses associated with canine gastroenteritis. *Cornell veterinarian*. 1983. Vol. 73 (1). P. 82-97.

415.He B., Zhang Y., Xu L., Yang W., Yang F., Feng Y., ... Tu C. Identification of diverse alphacoronaviruses and genomic characterization of a novel severe acute respiratory syndrome-like coronavirus from bats in china. *Journal of virology*. 2014. Vol. 88 (12). P. 7070–7082. DOI:10.1128/JVI.00631-14.

416.Headley S. A., Alfieri A. A., Fritzen J. T. Concomitant canine distemper, infectious canine hepatitis, canine parvoviral enteritis, canine infectious tracheobronchitis, and toxoplasmosis in a puppy. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 2013. Vol. 25 (1). P. 129–135. DOI:10.1177/1040638712471344.

417.Heegaard E. D., Brown K. E. Human parvovirus B19. *Clinical Microbiology Reviews*. 2002. Vol. 3. P. 485–505. DOI:10.1128/CMR.15.3.485-505.2002.

418.Hematology : Basic Principles and Practice : 6th ed. / R. Hoffman et al. London : Elsevier, 2012. 1347 p.

419.Hematology in Clinical Practice : 5th ed. / R. S. Hillman, K. A. Ault, M. Leporrier, H. M. Rinder. U.S: McGraw-Hill, 2011. 2044 p.

420.Herbst W., Danner K., Lange H., Krauss H. Electron microscopy diagnosis of viruses in enteritis of dogs during the period from 1980 to 1986. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr*. 1987. Vol. 100 (10). P. 325–333.

421.Hoelzer K., Shackelton L. A., Parrish C. R., Holmes E. C. Phylogenetic analysis reveals the emergence, evolution and dispersal of carnivore parvoviruses.

Journal of general virology. 2008. Vol. 89. P. 2280–2289. DOI:10.1099/vir.0.2008/002055-0.

422.Hooda S., Minamoto Y., Suchodolski J. S., Swanson K. S. Current state of knowledge: the canine gastrointestinal microbiome Current state of knowledge: the canine gastrointestinal microbiome. *Journal Animal Health Research Reviews*. 2012.Vol. 13(1). P. 78–88. DOI: 10.1017/S1466252312000059.

423.Hoorfar J., Cook N., Malorny B., Wagner M., De Medici D., Abdulmawjood A., Fach P. Making Internal Amplification Control Mandatory for Diagnostic PCR. *Journal of Clinical Microbiology*. 2003. Vol. 41. P. 5835. DOI: 10.1128/JCM.41.12.5835.2003.

424.Hoshino Y., Wyatt R. G., Scott F. W., Appel M. J. Isolation and characterization of a canine rotavirus. *Archives of virology*. 1982. № 72. P. 113–125.

425.Hoskins J. D., Dimski D. S. The digestive system. *Veterinary Pediatrics dogs and cats*. 2005. № 2. P.133–187.

426.Houston D. M., Ribble C. S., Head L. L. Risk factors associated with parvovirus enteritis in dogs: 283 cases (1982-1991). *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 1996. Vol. 208. P. 542–546.

427.Hwang C. C., Umeki S., Igase M., Coffey M., Noguchi S., Okuda M., Mizuno T. The effects of oncolytic reovirus in canine lymphoma cell lines. *Veterinary and comparative oncology*. 2016. Vol. 14 (1). P. 61–73. DOI: 10.1111/vco.12124.

428.Ichii O., Yabuki N., Sasaki N. Pathological correlations between podocyte injuries and renal functions in canine and feline chronic kidney diseases. *Histology and histopathology*. 2011. Vol. 26 (10). P. 1243–1255. DOI:10.14670/HH-26.1243.

429.Jacobsen N., Nielsen P. S., Jeffares D. C., Eriksen J., Ohlsson H., Arctander P., Kauppinen S. Direct Isolation of Poly(A)(+) RNA from 4 M Guanidine Thiocyanate-Lysed Cell Extracts Using Locked Nucleic Acid-Oligo(T) Capture. *Nucleic Acids Research*. 2004. Vol. 32. P. 64. DOI:10.1093/nar/gnh056.

430.Jonassen C. M., Kofstad T., Larsen I. L., Løvland A., Handeland K., Follestad A., Lillehaug A. Molecular identification and characterization of novel

coronaviruses infecting graylag geese (*Anser anser*), feral pigeons (*Columbia livia*) and mallards (*Anas platyrhynchos*). *Journal general virology*. 2005. Vol. 86. P. 1597–607. DOI:10.1099/vir.0.80927-0.

431. Joshi D. V., Singh S. P., Rao V. D. P., Patel B. J. Seroprevalence of canine parvovirus infection in Tarai Region of Uttar Pradesh. *Indian journal of animal sciences*. 2000. Vol. 24. P. 141–142.

432. Jozwik A., Frymus T. Comparison of the immunofluorescence assay with RT-PCR and nested PCR in the diagnosis of canine distemper. *Veterinary research communications*. 2005. Vol. 29(4). P. 347–359.

433. Kalli I., Leontides L., Mylonakis M. Factors affecting the occurrence, duration of hospitalization and final outcome in canine parvovirus infection. *Research in Veterinary Science*. 2010. Vol. 89. P. 174–178.

434. Kang B. K., Song D. S., Jung K. I., Lee C. S., Park S. J., Oh J. S. ... Park B. K. Genetic characterization of canine rotavirus isolated from a puppy in Korea and experimental reproduction of disease. *Journal Veterinary Diagnostic Investigation*. 2007. Vol. 19 (1). P. 78–83. DOI: 10.1177/104063870701900112.

435. Kapil S., Cooper E., Lamm C., Murray B., Rezabek G., Johnston L., Campbell G. & Johnson B. Canine Parvovirus Types 2c and 2b Circulating in North American Dogs in 2006 and 2007. *Journal of Clinical Microbiology*. Vol. 45 (12). P. 4044–4047. DOI:10.1128/JCM.01300-07.

436. Khatri R., Mohan H., Prasad M., Pundir C. S. Epidemiology, Pathogenesis, Diagnosis and Treatment of Canine Parvovirus Disease in Dogs: A Mini Review. *Journal of Veterinary Science & Medical Diagnosis*. 2017. Vol. 6 (3). P. 178–202. DOI: 10.4172/2325-9590.1000233.

437. Kilian E., Suchodolski J. S., Hartmann K., Mueller R. S., Wess G., Unterer S. Long-term effects of canine parvovirus infection in dogs. *PLoS One*. 2018. Vol. 13 (3). P. 287–293. DOI:10.1371/journal.pone.0192198.

438. Kim T. Y., Kim S. J., Kim Y. S., Lee J. W., Park E. J., Lee S. J., Lee K. J., Cha Y. S. Delta neutrophil index as an early predictive marker of severe acute

pancreatitis in the emergency department *United European Gastroenterol Journal*. 2019. Vol. 7(4). P. 488–495. doi: 10.1177/2050640619838359

439. Kimball C. P., Murlin J. R. Aqueous extracts of pancreas III. Some precipitation reactions of insulin. *Journal of Biological Chemistry*. 1923. Vol. 1. P. 337–348.

440. Kjelgaard-Hansen M., Luntang-Jensen M., Wilesen J., Jensen A. L. Measurement of serum interleukin-10 in the dog. *The Veterinary Journal*. 2007. Vol. 173. P. 361–365. DOI:10.1016/j.tvjl.2005.11.016.

441. Klimes J., Vlasin M., Svobodova V. Diseases of gastrointestinal system and peritoneum / in : M. Svoboda, D. F. Senior, J. Doubek, J. Klimes (eds.) : *Diseases of Dog and Cat* (in Czech). 1-st ed. Brno: Noviko, 2000. P. 659–948.

442. Klintschar M., Neuhuber F. Evaluation of an Alkaline Lysis Method for the Extraction of DNA from Whole Blood and Forensic Stains for STR Analysis. *Journal of Forensic Sciences*. 2000. Vol. 45. P. 669–673.

443. Kogika M., Pereira D., Elias F., Kikuyo N. M. Determinacao sérica de haptoglobina, ceruloplasmina e acid- α - glycoprotein in dogs with haemorrhagic gastroenteritis. *Ciencia Rural*. 2003. Vol. 33 (3). P. 513–517. DOI:10.1590/S0103-84782003000300019.

444. Kondoh H., Ball C. B., Adler J. Identification of a Methyl-Accepting Chemotaxis Protein for the Ribose and Galactose Chemoreceptors of Escherichia-Coli. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1979. Vol. 76 (1). P. 260–264. DOI:10.1073/pnas.76.1.260.

445. Krieg P., Amtmann E., Sauer G. The Simultaneous Extraction of Highmolecular-Weight DNA and of RNA from Solid Tumours. *Analytical Biochemistry*. 1983. Vol. 134. P. 288–294.

446. Kulkarni M. B., Deshpande A. R., Gaikwad S. S., Majee S. B., Suryawanshi P. R., Awandkar S. P. Molecular epidemiology of Canine parvovirus shows CPV-2a genotype circulating in dogs from western India. *Infection, genetics and evolution journal of molecular epidemiology*. 2019. Vol. 75. DOI:10.1016/j.meegid.2019.103987.

447.Kumar A., Singh Saini N., Bisht S. Treatment of hemorrhagic gastroenteritis in dog. *International Journal of Information Research and Review*. 2014. Vol. 1 (12). P. 193–194.

448.Kumar M., Nandi M., Manohar S. Comparison of virus isolation and haemagglutination assay with polymerase chain reaction for diagnosis of Canine Parvovirus. *Indian Veterinary Journal*. 2010. Vol. 87. P. 849–852.

449.Kumar M., Nandi S., Chidri S. Development of a polyclonal antibody – based AC – ELISA and its comparison with PCR for diagnosis of canine parvovirus infection. *Virologica sinica*. 2010. Vol. 5. P. 352–360. DOI:10.1007/s12250-010-3132-x.

450.Larson L. J., Schultz R. D. Three-Year Serologic Immunity against Canine Parvovirus Type2 and Canine Adenovirus Type2 in Dogs Vaccinated with a Canine Combination Vaccine. *Veterinary Therapeutics*. 2007. Vol. 8 (4). P. 305–310.

451.Lauber C., Ziebuhr J., Junglen S., Drosten C., Zirkel F., Nga P. T., ... Gorbalenya A. E. Mesoniviridae: a proposed new family in the order Nidovirales formed by a single species of mosquito-borne viruses. *Archives of virology*. 2012. Vol. 157 (8). P. 1623–1628. DOI:10.1007/s00705-012-1295-x.

452.Le Poder S. Feline and canine coronaviruses: common genetic and pathobiological features. *Advances in Virology*. 2011. Vol. 94. P. 60–65. DOI: 10.1155/2011/609465.

453.Levy G., Liu M., Ding J., Yuwaraj S., Leibowitz J., Marsden P., ... Phillips M. J. Molecular and functional analysis of the human prothrombinase gene (HFGL2) and its role in viral hepatitis. *American journal of pathology*. 2000. Vol. 156. P. 1217–1225. DOI:10.1016/S0002-9440(10)64992-9.

454.Licitra B. N., Duhamel G. E., Whittaker G. R. Canine enteric coronaviruses: emerging viral pathogens with distinct recombinant spike proteins. *Viruses*. 2014. Vol. 6 (8). P 3363–3376. DOI:10.3390/v6083363.

455.Licitra B. N., Whittaker G. R., Dubovi E. J., Duhamel G. E. Genotypic Characterization of Canine Coronaviruses Associated with Fatal Canine Neonatal

Enteritis in the United States. *Journal of Clinical Microbiology*. 2014. Vol. 12 (52). P. 4230–4238. doi: 10.1128/JCM.02158-14.

456.Ling M., Norris J. M., Kelman M., Ward M. P. Risk factors for death from canine parvoviral-related disease in Australia. *Veterinary microbiology*. 2012. Vol. 158 (3–4). P. 280–290. DOI:10.1016/j.vetmic.2012.02.034.

457.Litster A. L., Pressler B., Volpe A., Dubovi E. Accuracy of a point-of-care ELISA test kit for predicting the presence of protective canine parvovirus and canine distemper virus antibody concentrations in dogs. *Veterinary Journal*. 2012. Vol. 193 (2). P. 363–366. DOI:10.1016/j.tvjl.2012.01.027.

458.Lobo A., Vinodkumar K, Tresamol P. V, Justin Davis K., Priya P. M. Hematological Changes in Dogs with Parvovirus Enteritis in Thrissur District *Imperial Journal of Interdisciplinary Research* 2017 Vol. 3(6), P. 1323–1325.

459.Lund E. M., Arm-strong P. J., Kirk C. A., Kolar L. M., Klausner J. S. Health status and population characteristics of dogs and cats examined at private veterinary practices in the United States. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 1999. Vol. 214. P. 1336–1341.

460.Mak N., Leung C., Wei X., Shen X. L., Wong R. N., Leung K. N., Fung M. C. Inhibition of RANTES expression by indirubin in influenza. *Biochemical Pharmacology*. 2004. Vol. 67 (1). P. 167–174. DOI:10.1016/j.bcp.2003.08.020.

461.Marcovich J. E., Stucker K. M., Carr A. H., Harbison C. E., Scarlett J. M., Parrish C. R. Effects of canine parvovirus strain variations on diagnostic test results and clinical management of enteritis in dogs / *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 2012. Vol. 241 (1). P. 66–72. DOI:10.2460/javma.241.1.66.

462.Martella V., Pratelli A., Elia G., Decaro N., Tempesta M. Isolation and genetic characterization of two G3P5A[3] canine rotavirus strains in Italy. *Canio Buonavoglia Journal of Virological Methods*. 2001. Vol. 96 (1). P. 43-49. [https://doi.org/10.1016/S0166-0934\(01\)00312-3](https://doi.org/10.1016/S0166-0934(01)00312-3).

463.Masters P. S., Perlman S. Coronaviridae in Fields. *Virology* : 6th ed. Philadelphia, PA, USA : Williams and Wilkins, 2013. P. 825–858.

464. Maxwell I. H., Terrell K. L., Maxwell F. Autonomous parvovirus vectors. *Methods*. 2002. Vol. 28 (2). P. 168–181.

465. McCaw D., Hoskins J. Canine Viral Enteritis in Greene C. Infectious Diseases of the Dog and Cat : 3^a edição. Philadelphia, USA : WB Saunders, 2006. Cap. 8. P. 63–71.

466. McClure V., Schoor van M., Thompson P. N., Kjelgaard-Hansen M., Goddard A. Evaluation of the use of serum C-reactive protein concentration to predict outcome in puppies infected with canine parvovirus. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 2013. Vol. 243 (3). P. 361–366. DOI:10.2460/javma.243.3.361.

467. Meese E., Blin N. Simultaneous Isolation of High Molecular Weight RNA and DNA from Limited Amounts of Tissues and Cells. *Gene Analysis Techiques*. 1987. Vol. 4. P. 45–49.

468. Mentzer W. C. Spiculated cells (echinocytes and acanthocytes) and target cells. *UpToDate*. 2012. Vol. 20 (1). P. 21–24.

469. Mihindukulasuriya K. A., Wu G., St Leger J., Nordhausen R. W., Wang D. Identification of a novel coronavirus from a beluga whale by using a panviral microarray. *Journal of virology*. 2008. Vol. 82 (10). P. 5084–5088. DOI:10.1128/JVI.02722-07.

470. Mila H., Grellet A., Feugier A., Desario C., Decaro N., Buonavoglia C., ... Chastant-Maillard S. General and type 2 parvovirus-specific passive immune transfer in puppies - Evaluation by early growth. *Reproduction in domestic animals*. 2018. Vol. 53 (3) P. 96–102. DOI:10.1111/rda.13334.

471. Mira F., Dowgier G., Purpari G., Vicari D., Di Bella S., Macaluso G., ... Guercio A. Molecular typing of a novel canine parvovirus type 2a mutant circulating in Italy. *Journal of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics of Infectious Diseases*. 2018. Vol. 18. P. 67–73. DOI:10.1016/j.meegid.2018.03.010.

472. Miranda C., Parrish C. R. Thompson G. Epidemiological evolution of canine parvovirus in the Portuguese domestic dog population. *Veterinary microbiology*. 2016. Vol. 183. P. 37–42. DOI:10.1016/j.vetmic.2015.11.037.

473. Miranda C., Thompson G. Canine parvovirus: the worldwide occurrence of antigenic variants. *Journal of General Virology*. 2016. Vol. 97. P. 2043–2057. DOI: 10.1099/jgv.0.000540.

474. Misawa N., Kawashima K., Kondo F., Kushima E., Kushima K., Vandamme P. Isolation and characterization of *Campylobacter*, *Helicobacter*, and *Anaerobiospirillum* strains from a puppy with bloody diarrhea. *Veterinary Microbiol.* 2002. Vol. 87(4). P. 353–364. DOI: 10.1016/s0378-1135(02)00086-x).

475. Mitchell J. A., Cardwell J. M., Leach H., Walker C. A., Le Poder S., Decaro N., ... Brownlie J. European surveillance of emerging pathogens associated with canine infectious respiratory disease. *Veterinary Microbiology*. 2017. Vol. 212. P. 31–38. DOI:10.1016/j.vetmic.2017.10.019.

476. Mitchell J. A., Cardwell J. M., Renshaw R. W., Dubovi E. J. & Brownlie J. Detection of Canine Pneumovirus in Dogs with Canine Infectious Respiratory Disease. *Journal of Clinical Microbiology*. 2013. Vol. 51 (12). P. 4112–4119. DOI: 10.1128/JCM.02312-13.

477. Mochizuki M. Growth characteristics of canine pathogenic viruses in MDCK cells cultured in RPMI 1640 medium without animal protein. *Vaccine*. 2006. Vol. 10, № 24 (11). P. 1744–1748. DOI:10.1016/j.vaccine.2005.07.114.

478. Mochizuki M., Hashimoto M., Ishida T. Recent epidemiological status of canine viral enteric infections and *Giardia* infection in Japan. *Journal of veterinary medical science*. 2001. Vol. 63 (5). P. 573–575. DOI:10.1292/jvms.63.573.

479. Mochizuki M., Nakagomi O., Shibata S. Hemagglutinin activity of two distinct genogroups of feline and canine rotavirus strains. *Archives of virology*. 1992. Vol. 122. P. 373–381.

480. Mochizuki M., Ohshima T., Une Y., Yachi A. Recombination between vaccine and field strains of canine parvovirus is revealed by isolation of virus in canine and feline cell cultures. *Journal of Veterinary Medical Science*. 2008. Vol. 70. P. 1305–1314. DOI:10.1292/jvms.70.1305.

481. Monteiro K., Allendorf S. D., Vicente A. F., Appolinário C. M., Peres M. G., Cortez A., Heinemann M. B., Megid J. Viral type characterization and

clinical aspects of canine parvovirus in naturally infected dogs in São Paulo State, Brazil. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 2016. Vol. 36 (12). P. 1181–1185. DOI:10.1590/s0100-736x2016001200007.

482. Moon H. S., Lee S. A., Lee S. G., Choi R., Jeoung S. Y., Kim D., Hyun C. Comparison of the pathogenicity in three different Korean canine parvovirus 2 (CPV-2) isolates. *Veterinary Microbiology*. 2008. Vol. 131. P. 47–56. DOI:10.1016/j.vetmic.2008.02.016.

483. Moore G. E., Guptill L. F., Ward M. P., Glickman N. W., Faunt K. K., Lewis H. B., Glickman L. T. Adverse events diagnosed within three days of vaccine administration in dogs *Journal of the American Veterinary Medical Association*. – 2005. Vol. 227 (7). P. 1102–1108. DOI: 10.2460/javma.2005.227.1102.

484. Moss D., Harbison S. A., Saul D. J. An Easily Automated, Closed-Tube Forensic DNA Extraction Procedure Using a Thermostable Proteinase. *International Journal of legal medicine*. 2003. Vol. 117. P. 340–349. DOI:10.1007/s00414-003-0400-9.

485. Mukherjee A., Chatopadhyay S., Chawla-Sarkar M. Rotavirus infection in India. *Division of Virology, National Institute of Cholera and Enteric Diseases*. 2012. Vol. 82 (1). P. 135–151. DOI 10.1007/s40011-011-0011-z.

486. Mukherjee A., Chawla-Sarkar M. Rotavirus infection in India. *Division of Virology. National Institute of Cholera and Enteric Diseases*. 2012. № 82 (1). P. 135–151.

487. Müller C., Hardt M., Schwudke D., Neuman B. W., Pleschka S., Ziebuhr J. Inhibition of Cytosolic Phospholipase A₂α Impairs an Early Step of Coronavirus Replication in Cell Culture. *Journal of virology*. 2018. Vol. 92 (4). P. 345–362. DOI:10.1128/JVI.01463-17.

488. Mylonakis M., Kalli I., Rallis T. Canine parvoviral enteritis: an update on the clinical diagnosis, treatment, and prevention. *Journals Veterinary Medicine*. 2016. Vol. 7. P. 91–100. DOI:10.2147/VMRR.S80971.

489. Nakamura M., Nakamura K., Miyazawa T., Tohya Y., Mochizuki M. & Akashi H. Monoclonal Antibodies That Distinguish Antigenic Variants of Canine

Parvovirus. *Clinical and diagnostic laboratory immunology*. 2003. Vol. 10 (6). P. 1085–1089. DOI:10.1128/CDLI.10.6.1085-1089.2003.

490.Nandi S., Kumar M. Canine Parvovirus : Current Perspective. *Indian Journal of Virology*. 2010. Vol. 21 (1). P. 31–44. DOI: 10.1007/s13337-010-0007-y.

491.Nelson C. D. S., Palermo L. M., Hafenstein S. L., Parrish C. R. Different mechanisms of antibody-mediated neutralization of parvoviruses revealed using the Fab fragments of monoclonal antibodies. *Virology*. 2007. Vol. 361. P. 283–293. DOI: 10.1016/j.virol.2006.11.032.

492.Netherton C. L., Wileman T. Virus factories, double membrane vesicles and viroplasm generated in animal cells. *Current opinion in virology*. 2011. № 1. P 381–387. DOI:10.1016/j.coviro.2011.09.008.

493.Neuman S., Justi A. Zur diagnostik von Lebererkrankungen beim Hung. *Deutsche tierärztliche Wochenschrift*. 1996. № 103. S. 422–428.

494.Nga P. T., Parquet Mdel C., Lauber C., Parida M., Nabeshima T., Yu F. ... Gorbalenya A. E. Discovery of the first insect nidovirus, a missing evolutionary link in the emergence of the largest RNA virus genomes. *PLoS Pathogens*. 2011. Vol. 7 (9). P. 100–122. DOI:10.1371/journal.ppat.1002215.

495.Ntafis V., Mari V., Decaro N., Papanastassopoulou M., Papaioannou N., Mpatziou R., Buonavoglia C., Xylouri E. Isolation, tissue distribution and molecular characterization of two recombinant canine coronavirus strains. *Veterinary Microbiology*. 2011. Vol 151. P. 238–244. DOI:10.1016/j.vetmic.2011.03.008.

496.Ntafis V., Xylouri E., Kalli I., Desario C., Mari V., Decaro N., Buonavoglia C. Characterization of canine parvovirus type 2 (CPV-2) variants circulating in Greece. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 2010. Vol. 22 (5). P. 737–740. DOI: 10.1177/104063871002200512.

497.Oh J. S., Ha G. W., Cho Y. S., Kim M. J., An D. J., Hwang K.-K., ... Song D. S. One-Step Immunochromatography Assay Kit for Detecting Antibodies to Canine Parvovirus. *Vaccine Immunol*. 2006. Vol. 13 (4). P. 520–524. DOI:10.1128/CVI.13.4.520-524.2006.

498. Ohaly R. A., Adel M. Histology of the urinary passage : веб-сайт. URL:http://ksumsc.com/download_center/Archive/1st/pdf. (дата звернення 03.08.2019).

499. Ohshima T, Mochizuki M. Evidence for recombination between feline panleukopenia virus and canine parvovirus type 2. *Journal of veterinary medical science*. 2009. Vol. 71. P. 403–408. DOI:10.1292/jvms.71.403.

500. Oosthuizen A., Brettschneider H., Dalton D. L., Plessis E. C., Jansen R., Kotze A., Mitchell E. P. Canine parvovirus detected from a serval (*Leptailurus serval*) in South Africa. 2019. *Journal south African veterinary association*. Vol. 90. P. 1–6. DOI:10.4102/jsava.v90i0.1671.

501. Ortega A. F., Martínez-Castaneda J. S., Bautista-Gómez L. G. Identification of co-infection by rotavirus and parvovirus in dogs with gastroenteritis in Mexico. *Brazilian journal of microbiology*. 2017. Vol. 48. P. 769–773. DOI:10.1016/j.bjm.2017.03.008.

502. Pakkanen K., Nykky J., Vuento M. Late steps of parvoviral infection induce changes in cell morphology. *Virus research*. 2008. Vol. 137. P. 271–274. DOI: 10.1016/j.virusres.2008.07.019.

503. Paludan S. Interleukin-4 and interferon- γ : the quintessence of a mutual antagonistic relationship. *Scandinavian Journal of Immunology*. 1998. Vol. 48. P. 459–468.

504. Parambeth J. C., Steiner J. M. Exocrine pancreatic insufficiency in dogs. *Consultant on Call*. 2011. P. 55–59.

505. Park J. S., Guevarra R. B., Kim B. R., Lee J. H., Lee S. H., Cho J. H., ... Kim H. B. Intestinal Microbial Dysbiosis in Beagles Naturally Infected with Canine Parvovirus. *Journal microbiology and biotechnology*. 2019. Vol. 29(9). P. 1391–1400. DOI:10.4014/jmb.1901.01047.

506. Park S. A., Park S. Y., Song C. S., Choi I.-S., Kim H. Y., Lee J.-B. & Lee N.-H. Development of a novel vaccine against canine parvovirus infection with a clinical isolate of the type 2b strain. *Clinmical and experimental vaccine research*. 2012. Vol. 1 (1). P. 70–76. DOI:10.7774/cevr.2012.1.1.70.

507.Parker J. S. L., Parrish C. R. Cellular uptake and infection by canine parvovirus involves rapid dynamin-regulated clathrin-mediated endo-cytosis, followed by slower intracellular trafficking. *Journal of Virology*. 2000. Vol. 74. P. 1919–1930. DOI:10.1128/jvi.74.4.1919-1930.2000.

508.Parker J. S., Murphy W. J., Wang D., O'Brien S. J., Parrish C. R. Canine and feline parvoviruses can use human or feline transferrin receptors to bind, enter, and infect cells. *Journal of Virology*. 2001. Vol. 75. P. 3896–3902. DOI: 10.1128/JVI.75.8.3896-3902.2001.

509.Parker J., Murphy M., Hueffer K., Chen J. Investigation of a Canine Parvovirus Outbreak using Next Generation Sequencing. *Scientific Reports*. 2017. Vol. 96. P. 27–33. DOI:10.1038/s41598-017-10254-9.

510.Parrish C. R., Burtonboy G., Carmichael L. E. Characterisation of a nonhemagglutinating mutant of canine parvovirus. *Virology*. 1988. Vol. 163. P. 230–232.

511.Perez R., Bianchi P., Calleros L., Francia L., Hernández M., Maya L., ... Zoller S. Recent spreading of a divergent canine parvovirus type 2a (CPV-2a) strain in a CPV-2c homogenous population. *Veterinary microbiology*. 2012. № 155. P. 214–219. DOI:10.1016/j.vetmic.2011.09.017.

512.Perez R., Calleros L., Marandino A., Sarute N., Iraola G., Grecco S., Blanc H., Vignuzzi M. Phylogenetic and Genome-Wide Deep-Sequencing Analyses of Canine Parvovirus Reveal Co-Infection with Field Variants and Emergence of a Recent Recombinant Strain. *PloS One Pathogens*. 2014. Vol. 9. P. 1–10. DOI:10.1371/ journal.pone.0111779.

513.Perez R., Francia L., Romero V., Maya L, López I, Hernández M. First detection of canine parvovirus type 2c in South America. *Veterinary Microbiology*. 2007. № 124. P. 147–152. DOI:10.1016/j.vetmic.2007.04.028.

514.Perlman S., Netland J. Coronaviruses post-SARS: update on replication and pathogenesis. *Nature reviews microbiology*. 2009. Vol. 7 (6). P. 439–450. DOI:10.1038/ nrmicro2147.

515. Peter J. M. Rottier Feline and Canine Coronaviruses: Common Genetic and Pathobiological Features (2011) *Advances in Virology*. Available at: DOI:10.1155/2011/609465

516. Pirintr P., Poolpol M., Kaewmaneerat S., Wattanodorn S., Oraveerakul K. Detection of canine parvovirus in canine fecal samples by hemagglutination test and seminested PCR. Material of 11 International symposium of the world association of veterinary laboratory. 2003. P. 76–77.

517. Polat P. F., Şahan A., Aksoy G., Timurkan M. O., Dinçer E. Molecular and restriction fragment length polymorphism analysis of canine parvovirus 2 (CPV-2) in dogs in southeast Anatolia, Turkey. *Onderstepoort journal veterinary research*. 2019. Vol. 86 (1). DOI:10.4102/ojvr.v86i1.1734.

518. Prasad V., Fetscher S., Baum R. P. Changing role of somatostatin receptor targeted drugs in NET: Nuclear Medicine's view. *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences*. 2007. Vol. 10 (2). P. 321–337.

519. Pratelli A. Canine Coronavirus Infection / in : Recent Advances in Canine Infectious Diseases. L. Carmichael ed. al. Ithaca N. Y. : International Veterinary Information Service. URL: http://www.ivis.org/advances/Infect_Dis_Carmichael/pratelli/chapter.asp?LA=1. (last updated 29.04.2005).

520. Pratelli A. Infection Genetic evolution of canine coronavirus and recent advances in prophylaxis. *Veterinary Research. BioMed Central*. 2006. Vol. 37 (2). P. 191–200. DOI:10.1051/vetres:2005053.

521. Pratelli A. The Evolutionary Processes of Canine Coronaviruses. *Advances in virology*. 2011. Vol. 56. P. 28–31. DOI:10.1155/2011/562831.

522. Pratelli A., Decaro N., Tinelli A. Two genotypes of canine coronavirus simultaneously detected in fecal samples of dogs with diarrhea. *Journal of Clinical Microbiology*. 2004. Vol. 42. P. 1797–1806. DOI:10.1128/JCM.42.4.1797-1799.2004.

523. Pratelli A., Martella V., Decaro N., Tinelli A., Camero M., Cirone F., ... Buonavoglia C. Genetic diversity of a canine coronavirus detected in pups with diarrhoea in Italy. *Journal of Virological Methods*. 2003. Vol. 9. P. 110–117.

524. Priestnall S. L., Mitchell J. A., Walker C. A., Erles K., Brownlie J. New and emerging pathogens in canine infectious respiratory disease. *Veterinary Pathology*. 2014. Vol. 51 (2). P. 492–504. DOI:10.1177/0300985813511130.

525. Prittie J. Canine Parvoviral enteritis: a review of diagnosis, management, and prevention. *Journal of veterinary emergency and critical care*. 2004. Vol. 14 (3). P. 167–176. DOI:10.1111/j.1534-6935.2004.04020.x.

526. Proksch A. L., Unterer S., Speck S., Truyen U., Hartmann K. Influence of clinical and laboratory variables on faecal antigen ELISA results in dogs with canine parvovirus infection. *Veterinary Journal*. 2015. Vol. 204 (3). P. 304–308. DOI: 10.1016/j.tvjl.2015.03.009.

527. Puscasau V. New data on actiology and epidemiology of parvovirus infection in dogs. *Medicina Veterinaria*. 2002. Vol. 45. P. 629–635.

528. Quintarelli G. Histochemical identification of salivary mucins. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1963. Vol. 106, N 2. P. 339–363.

529. Radzykhovskiy N., Dyshkant O. Peculiarities of cultivation on enterovirus cell cultures of dogs BTRP Ukraine Regional. *One Health Research Symposium* : 16-20 April 2018. Kyiv, 2018. P. 210.

530. Raha S., Merante F., Proteau G., Reed J. K. Simultaneous Isolation of Total Cellular RNA and DNA from Tissue Culture Cells Using Phenol and Lithium Chloride. *Gene Anal. Tech.* 1990. Vol. 7. P. 173–177.

531. Rampoldi L., Danek A., Monaco A. P. Clinical features and molecular bases of neuroacanthocytosis. *Journal of molecular medicine (Berlin, Germany)*. 2002. Vol. 80 (8). P. 475–491. DOI:10.1007/s00109-002-0349-z.

532. Raza A., Rand J., Qamar A. G., Jabbar A., Kopp S. Gastrointestinal Parasites in Shelter Dogs: Occurrence, Pathology, Treatment and Risk to Shelter Workers. *Journals Animals*. 2018. Vol. 8 (7). P. 1–23. DOI:10.3390/ani8070108.

533. Reed L. J., Muench H. A simple method of estimating fifty percent endpoints. *American journal of hygiene*. 1938. Vol 27. P. 493–497.

534. Regan A. D., Millet K. J., Tse V. P. L., Chillag Z., Rinaldi D. V., Licitra N., ... Whittaker R. G. Characterization of a recombinant canine coronavirus with a

distinct receptor-binding (S1) domain. *Virology*. 2012. № 430 (2). P. 90–99. DOI:10.1016/j.virol.2012.04.013.

535.Rima B. K., Duprex W. P. Morbilliviruses and human disease. *Journal of Pathology*. 2006. Vol. 208 (2). P. 199–214. DOI:10.1002/path.1873.

536.Rimmelzwaan G. F., Groen J., Egberink H., Borst G. H., Uytde Haag F. G., Osterhaus A. D. The use of enzyme-linked immunosorbent assay systems for serology and antigen detection in parvovirus, coronaviras and rotavirus infection in dogs in the Netherlands. *Veterinary microbiology*. 1991. Vol. 26. P. 25–40,

537.Roseto A., Lema F., Cavalieri F., Dianoux L., Sitbon M., Ferchal F., Lasneret J., Peries J. Electron microscopy detection and characterization of viral particles in dog stools. *Archives of Virology*. 1980. Vol. 66 (2). P. 89–93.

538.Russo L. M., Bakris G. L., Comper W. D . Renal handling of albumin : a critical review of basic concepts and perspective. *American journal of kidney diseases*. 2002. Vol. 39 (5). P. 899–919. DOI:10.1053/ajkd.2002.32764.

539.Sail L. J., Rosen I. B., Kang Sh.-Y., Miller L. K. Cell culture propagation of rotaviruses. *Journal of tissue culture method*. 1988. № 3. P 147–156.

540.Saito T. B., Alfieri A. A., Wosiacki S. R., Negrão F. J., Morais H. S., Alfieri A. F.Detection of canine distemper virus by reverse transcriptase-polymerase chain reaction in the urine of dogs with clinical signs of distemper encephalitis. *Research in Veterinary Science*. 2006. Vol. 80 (1). P. 116–119. DOI: 10.1016/j.rvsc.2005.03.002.

541.Šajdíková M., Nováková L. Functional morphology of the kidneys / Funkce buněk a lidského těla. Multimediální skripta se cvičebnicí. Prague: 3rd Faculty of Medicine, Charles University. 2014. 627 p.

542.Sakai O., Sakurai M., Sakai H., Kubo M., Hiraoka H., Baba K., ... Mizuno T. Molecular cloning of canine Wilms' tumor 1 for immunohistochemical analysis in canine tissues. *Journal of veterinary medical science*. 2017. Vol. 79 (7). P. 1272–1277. DOI:0.1292/jvms.17-0229.

543.Sambrook J., Fritsch E. F., Maniatis T. Molecular Cloning. A Laboratory Manual: 2nd ed. NY : Cold Spring Harbor Laboratory, 1989. 404 p.

544.Sanchez-Morgado J. M., Poynter S., Morris T. Molecular characterization of a virulent canine coronavirus BGF strain. *Virus Research*. 2004. Vol. 104. P. 27–31. DOI:10.1016/j.virusres.2004.02.038.

545.Satokari R. M., Kataja K., Söderlund H. Multiplexed Quantification of Bacterial 16S rRNA by Solution Hybridization with Oligonucleotide Probes and Affinity Capture. *Microbial ecology*. 2005. Vol. 50. P. 120–127. DOI:10.1007/s00248-004-0136-1.

546.Schaudien D., Polizopoulou Z., Koutinas A., Schwab S., Porombka D., Baumgärtner W., Herden C. Leukoencephalopathy associated with parvovirus infection in Cretan hound puppies. *Journal of clinical microbiology*. 2010. Vol. 48 (9). P. 3169–3175. DOI:10.1128/JCM.01582-09.

547.Schmitz S., Coenen C., König M., Thiel H. J., Neiger R. Comparison of three rapid commercial Canine parvovirus antigen detection tests with electron microscopy and polymerase chain reaction. *Journal of veterinary diagnostic investigation*. 2009. Vol. 21 (3). P. 344–349. DOI:10.1177/104063870902100306.

548.Schoeman J. P., Goddard A., Leisewitz A. L. Biomarkers in canine parvovirus enteridis. *New Zealand Veterinary Journal*. 2013. Vol. 61. P. 217–222. DOI:10.1080/00480169.2013.776451.

549.Sekar M., Ramkrishna J., Manickam R. Occurrence of parvoviral enteritis in and around Bombay city. *Indian Journal of Comparative Microbiology, Immunology and Infectious Diseases*. 2001. Vol. 22. P. 147–148.

550.Shackelton L. A., Parrish C. R., Truyen U., Holmes E. C. High rate of viral evolution associated with the emergence of carnivore parvovirus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*. 2005. Vol. 102. P. 379–384. DOI:10.1073/pnas.0406765102.

551.Sharma C., Singh M., Upmanyu V., Chander V., Verma S., Chakrovarty S., ... Gupta V. K. Development and evaluation of a gold nanoparticle-based immunochromatographic strip test for the detection of canine parvovirus. *Archives of Virology*. 2018. Vol. 8. P. 2359–2368. DOI:10.1007/s00705-018-3846-2.

552. Shashidhara Y., Sanjay K. Simple Tests for Rapid Detection of Canine Parvovirus Antigen and Canine Parvovirus-Specific Antibodies. *Clinical and Vaccine Immunology*. 2009. Vol. 16. P. 127–131. DOI:10.1128/CVI.00304-08.

553. Shcherbak Y. I., Schislenko S. A. Epizootic monitoring contagious diseases cats in Krasnoyarsk. *European journal of biomedical and life sciences*. 2015. Vol. 3. P. 81–83. DOI:10.29013/ELBLS-15-3-81-83

554. Shin Y. J., Cho K. O., Cho H. S., Kang S. K., Kim H. J., Kim Y. H., ... Park N. Y. Comparison of one-step RT-PCR and a nested PCR for the detection of canine distemper virus in clinical samples. *Veterinary Journal*. 2004. Vol. 82 (1–2). P. 83–86. DOI:10.1111/j.1751-0813.2004.tb14651.x.

555. Shosu K., Sakurai M., Inoue K., Nakagawa T., Sakai H., Morimoto M., ... Mizuno T. Programmed Cell Death Ligand 1 Expression in Canine Cancer. *In vivo*. 2016. Vol. 30 (3). P. 195–204.

556. Showkat S. A., Sood N. K., Wani B. N. Haemato-biochemical changes in canine parvoviral infection. *Indian Journal of Veterinary Pathology*. 2013. Vol. 37 (2). P. 131–133.

557. Siedek E. M., Schmidt H., Sture G. H., Raue R. Vaccination with canine parvovirus type 2 (CPV-2) protects against challenge with virulent CPV-2b and CPV-2c. *Berliner und Münchener tierärztliche Wochenschrift*. 2011. Vol. 124 (1–2). P. 58–64.

558. Siegl G. The parvoviruses. *Virology Monographs*. 1976. Vol. 15 (1). P. 1–109.

559. Sorenson R. L., Brelje T. C. Atlas of human histology. A Guide to Microscopic Structure of Cells, Tissues and Organs. University of Minnesota: Bookstore, 2014. 1011 p.

560. Stadler J., Lemmens R., Nyhammar T. Plasmid DNA Purification. *Journal of gene medicine*. 2004. Vol. 6. P. 54–66. DOI:10.1002/jgm.512.

561. Stavisky J., Pinchbeck G. L., German A. J., Dawson S., Gaskell R. M., Ryvar R., Radford A. D. Prevalence of canine enteric coronavirus in a cross-sectional

survey of dogs presenting at veterinary practices *Veterinary Microbiology*. 2008. Vol. 140 (1–2). P. 378–396. DOI:10.1016/j.vetmic.2009.07.012.

562. Steinel A., Parrish C. R., Bloom M. E., Truyen U. Parvovirus Infections in Wild Carnivores. *Journal of Wildlife Diseases*. 2001. № 37 (3). P. 594–607. DOI: 10.7589/0090-3558-37.3.594.

563. Stewart A. F. Pancreatitis in dogs and cats: cause, pathogenesis, diagnosis, and treatment. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian*. 1994. Vol. 16. P. 1423–1430.

564. Stoffel M. H., Friess A. E., Hartmann S. H. Ultrastructural evidence of transplacental transport of immunoglobulin G in bitches. *Journal of Reproduction and Fertility*. 2000. Vol. 118. P. 315–326.

565. Suchodolski J. S., Markel M. E., Garcia-Mazcorro J. F., Unterer S., Heilmann R. M., Dowd S. E., ... Toresson L. The fecal microbiome in dogs with acute diarrhea and idiopathic inflammatory bowel disease. *PloS one*. 2012. Vol. 7 (12). DOI:10.1371/journal.pone.0051907.

566. Suffys Ph., Vanderborght P. R., Santos B. P., Correa L. A., Bravin Y., Kritski A. L. Inhibition of the Polymerase Chain Reaction by Sputum Samples from Tuberculosis Patients after Processing Using a Silicaguanidinium-thiocyanate DNA Isolation Procedure. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 2001. Vol. 96 (8). P. 1137–1139. DOI:10.1590/s0074-02762001000800019.

567. Sykes J. E. Canine and feline infectious diseases. St. Louis : Saunders Elsevier, 2014. 924 p.

568. Szczepanski A., Owczarek K., Milewska A., Baster Z., Rajfur Z., Mitchell J. & Pyrc K. Canine respiratory coronavirus employs caveolin-1-mediated pathway for internalization to HRT-18G cells. *Veterinary Research*. 2018 Vol. 49 (1). P. 55–69. DOI:10.1186/s13567-018-0551-9.

569. Taguchi F. Cell entry mechanism of coronaviruses: implication in their pathogenesis. *Uirusu*. 2006. Vol. 56. Vol. 2. P. 165-171. DOI: 10.2222/jsv.56.165.

570. Taguchi M., Namikawa K., Maruo T., Saito M., Lynch J., Sahara H. Effects of body weight on antibody titers against canine parvovirus type 2, canine distemper

virus, and canine adenovirus type 1 in vaccinated domestic adult dogs. *Canadian Journal of Veterinary Research*. 2012. Vol. 76(4). P. 317–319.

571. Tajpara M. T. Epidemiological study on canine Parvoviral diarrhea in dogs by polymerase chain reaction and its comparative efficacy with other diagnostic assays. *Veterinary Science*. 2003. Vol. 3. P. 123–125.

572. Takano T., Yamashita S., Murata-Ohkubo M., Saton K. Prevalence of canine coronavirus (CCoV) in dog in Japan: detection of CCoV RNA and retrospective serological analysis. *Journal of Veterinary Medical Science*. 2016. Vol. 78 (2). P. 341–346.

573. Takeuchi A., Binn L. N., Jervis H. R., Keenan K. P., Hildebrandt P. K., Valas R. B., Bland F. F. 3rd Electron microscope study of experimental enteric infection in neonatal dogs with a canine coronavirus. *Laboratory Investigation*. 1976. Vol. 34 (6). P. 539–549.

574. Target Animal Safety for Veterinary Pharmaceutical Products. VICH GL 43. Pharmaceuticals. London: European Medicines Agency, 2009. 17 p.

575. Tattersall P., Kerr J. R., Bloom M. E., Linden R. M. The evolution of parvoviral taxonomy. Hodder Arnold : London. 2006. P. 5–14.

576. Teeters M. A., Conrardy S. E., Thomas B. L., Root T. W., Lightfoot E. N. Adsorptive Membrane Chromatography for Purification of Plasmid DNA. *Journal of chromatography*. 2003. Vol. 989. P. 165–173. DOI:10.1016/s0021-9673(03)00027-x.

577. Tennant B. J., Gaskell R. M., Kelly D. F., Carter S. D., Gaskell C. J. Canine coronavirus infection in the dog following oronasal inoculation. *Research in Veterinary Science*. 1991. Vol. 51 (1). P. 11–18. DOI:10.1016/0034-5288(91)90023-H.

578. Terzungwe T. M. Hematological Parameters of Dogs Infected With Canine Parvovirus Enteritis in Sumy Ukraine. *World Journal of Innovative Research*. 2018. Vol. 5 (3), P. 1–5.

579. Thamm D. H., Hayes D. F., Meuten T., Laver T., Thomas D. G. Epithelial Cell Adhesion Molecule Expression in Canine Tumours. *Journal of comparative pathology*. 2016. Vol. 155 (4). P. 299–304. DOI:10.1016/j.jcpa.2016.07.010.

580. Tietz N. W. Clinical guide to laboratory tests : 3rd ed. Philadelphia : Saunders company, 1995. 480 p.

581. Timurkan M., Oguzoglu T. Molecular characterization of canine parvovirus (CPV) infection in dogs in Turkey. *Veterinaria Italiana*. 2015. Vol. 51. P. 39–44. DOI:10.12834/VetIt.263.908.3.

582. Truyen U. A. Evolution of canine parvovirus and need for new vaccines. *Veterinary microbiology*. 2006. Vol. 117. P. 9–13. DOI:10.1016/j.vetmic.2006.04.003.

583. Tuchiya K., Kasaoka T., Azetaka M., Takahashi E., Konishi S. Plaque assay for canine coronavirus in CRFK cells. *Nihon Juigaku Zasshi*. 1987. Vol. 49 (3). P. 571–574.

584. Umar S., Ali A., Younus M., Maan M. K., Ali S., Waseem A. K. & Irfan M. Prevalence of Canine Parvovirus Infection at Different Pet Clinics in Lahore, Pakistan. *Pakistan Journal of Zoology*. 2015. Vol. 47 (3). P. 657–663.

585. Vihinen-Ranta M., Suikkanen S., Parrish C. R. Pathways of Cell Infection by Parvoviruses and Adeno-Associated Viruses. *Journal of Virology*. 2004. Vol. 78 (13). P. 6709–6714. DOI: 10.1128/JVI.78.13.6709-6714.2004.

586. Vihinen-Ranta M., Wang D., Weichert W. S., Parrish C. R. The VPI N-Terminal Sequence of Canine Parvovirus Affects Nuclear Transport of Cap-sids and Efficient Cell Infection. *Journal of Virology*. 2002. Vol. 76 (4). P. 1884–1891. DOI: 10.1128/JVI.76.4.1884-1891.2002.

587. Vihinen-Ranta M., Yuan W. & Parrish C. R. Cytoplasmic trafficking of the canine parvovirus capsid and its role in infection and nuclear transport. *Journal of Virology*. 2000. Vol. 74. P. 4853–4859. DOI:10.1128/jvi.74.10.4853-4859.2000.

588. Voorhees I. E. H., Lee H., Allison A. B., Lopez-Astacio R., Goodman L. B., Oyesola O. O., ... Parrish C. R. Limited intrahost diversity and background evolution accompany 40 years of canine parvovirus host adaptation and spread. *Journal virology*. 2019. Vol. 94 (1). DOI:10.1128/JVI.01162-19.

589. Wang B., Wang X. L. Species diversity of fecal microbial flora in *Canis lupus familiaris* infected with canine parvovirus. *Veterinary Microbiology*. 2019. Vol. 237. DOI:10.1016/j.vetmic.2019.108390.

590. Wang J., Cheng S., Cheng Y. Evidence for natural recombination between mink enteritis virus and canine parvovirus. *Journal of Virology*. 2012. Vol. 9. P. 252–569. DOI: 10.1186/1743-422X-9-252.

591. Wang S. L., Tu Y. C., Lee M. S., Wu L. H., Chen T. Y., Wu C. H., ... Li W. T. Fatal canine parvovirus-2 (CPV-2) infection in a rescued free-ranging Taiwanese pangolin (*Manis pentadactyla pentadactyla*). *Transboundary and emerging diseases*. 2019. DOI:10.1111/tbed.13469.

592. Weinstein A. M. Mathematical models of tubular transport. *Annual Review of Physiology*. 1994. Vol. 56 (4). P. 691–709. DOI:10.1146/annurev.ph.56.030194.003355.

593. Weiss D. J., Gagne J. M., Armstrong P. J. Relationship between inflammatory hepatic disease and inflammatory bowel disease, pancreatitis and nephritis in cats. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 1996. Vol. 209 (6). P. 1114–1116.

594. Weiss J., Evanson A., Sykes J. A retrospective study of canine pancytopenia. *Veterinary clinical pathology*. 1999. Vol 28 (3). P. 83–88.

595. Woo P. C., Huang Y., Lau S. K., Yuen K. Y. Coronavirus genomics and bioinformatics analysis. *Viruses*. 2010. № 2. P. 1804–1820. DOI:10.3390/v2081803.

596. Wu G. F., Dandekar A. A., Pewe L., Perlman S. CD4 and CD8 T cells have redundant but not identical roles in virus-induced demyelination. *Journal of Immunology*. 2000. Vol. 165. P. 2278–2286. DOI:10.4049/jimmunol.165.4.2278.

597. Yuan W., Parrish C. R. Comparison of two single chain antibodies that neutralize canine parvovirus: analysis of antibody -combining site and mechanisms of neutralization. *Journal of Virology*. 2000. Vol. 269. P. 471–480.

598. Zaki A. M., van Boheemen S., Bestebroer T. M. Isolation of a novel coronavirus from a man with pneumonia in Saudi Arabia. *New England Journal of Medicine*. 2012. Vol. 367. P. 1814–1820. DOI:10.1056/NEJMoa1211721.

599. Zappulli V., Caliarì D., Cavicchioli L. Systemic fatal type II coronavirus infection in a dog: Pathological findings and immunohistochemistry. *Research in Veterinary Science*. 2008. Vol. 84, №2. P. 278–282.

600. Zarlenga D. S., Gamble H. R. Simultaneous Isolation of Preparative Amounts of RNA and DNA from *Trichinella spiralis* by Cesium Trifluoroacetate Isopycnic Centrifugation. *Analytical Biochemistry*. Vol. 162. P. 569–574.

601. Zenker M., Machuca E., Antignac C. Genetics of nephrotic syndrome: new insights into molecules acting at the glomerular filtration barrier. *Journal of molecular medicine (Berlin, Germany)*. 2009. Vol. 87 (9). P. 849–857. DOI:10.1007/s00109-009-0505-9.

602. Zhou P., Zeng W., Zhang X., Li S. The genetic evolution of canine parvovirus – A new perspective. *PLoS One Pathogens*. Vol. 12 (3). P. 172–200. DOI:10.1371/journal.pone.0175035.

603. Zicola A., Jolly S., Mathijs E., Ziani D., Decaro N., Mari V., Thiry E. Fatal outbreaks in dogs associated with pantropic canine coronavirus in France and Belgium. *Journal of small animal practice*. 2012. Vol. 53. P. 297–300. DOI:10.1111/j.1748-5827.2011.01178.x.

ДОДАТКИ

Список опублікованих праць за темою дисертації**Монографія:**

48. Лісова В.В., Радзиховський М.Л. Коронавірусна інфекція собак : монографія. Київ: ЦП «Компринт», 2019. 126 с. *(Здобувачем проведено аналіз літературних даних порівняно з одержаними результатами вивчення особливостей коронавірусу та його патогенний вплив на організм собак, оформлено ілюстративний матеріал, підготовлено монографію до друку).*

Статті у наукових фахових виданнях України:

49. Радзиховський М.Л. Епізоотологічні особливості парвовірусного ентериту собак. *Проблеми зооінженерії та ветеринарної медицини*. Харків, 2016. Вип. 32, Ч. 2. С. 130–134.

50. Радзиховський М.Л. Моніторинг ентеритів вірусної етіології у собак *Науковий вісник ЛНУВМ та БТ ім. С.З. Гжицького. Сер. Ветеринарні науки*. Львів, 2016. Т. 18, № 1 (65), Ч. 1. С. 138–142.

51. Радзиховський М.Л. Епізоотологічні особливості ротавірусного ентериту собак. *Наук.-техн. бюл. НДЦ біобезпеки та екологічного контролю ресурсів АПК*. Дніпро, 2016. Т. 4, № 4. С. 49–53.

52. Радзиховський М.Л., Дишкант О.В., Розумнюк А.В. Морфологічні та біохімічні показники крові собак уражених парвовірусним ентеритом. *Ветеринарна біотехнологія. Бюлетень Інституту ветеринарної медицини НААН*. Київ, 2016. Вип. 29. С. 226–232. *(Здобувачем здійснені морфологічні дослідження крові та їх аналіз).*

53. Радзиховський М.Л., Горальський Л.П., Заїка С.С. Патологоанатомічні зміни при коронавірусному ентериті у собак. *Вісник ЖНАЕУ*. Житомир, 2017. Т. 3, № 1 (60). С. 303–307. *(Здобувачем здійснені патологоанатомічні дослідження та їх аналіз).*

54. Радзиховський М.Л. Показники еритроцитопоезу у собак за парвовірусного ентериту. *Науковий вісник ветеринарної медицини*. Біла Церква, 2017. Вип. 2 (136). С. 97–101.

55. Радзиховський М.Л., Розумнюк А.В., Полупан І.М. Показники еритроцитопоезу у собак за коронавірусного ентериту. *Ветеринарна біотехнологія*. Київ, 2017. Вип. 31. С. 128–134. (Здобувачем здійснені лабораторні дослідження та їх аналіз).

56. Радзиховський М.Л., Дишкант О.В., Лісова В.В., Пінський О.В. Гемаглютинувальні властивості парвовірусу собак. *Проблеми зооінженерії та ветеринарної медицини. Сер. Ветеринарні науки*. Харків, 2018. Т. 3, Вип. 35, Ч. 2. С. 46–50. (Здобувачем здійснені лабораторні дослідження та їх аналіз).

57. Радзиховський М.Л. Морфологічні показники крові у собак за різних форм прояву парвовірусного ентериту. *Науково-технічний бюлетень ДНДКІ ветеринарних препаратів та кормових добавок України і Інституту біології тварин НААН*. Львів, 2018. № 2, Вип. 19. С. 152–157

58. Горальський Л.П., Радзиховський М.Л., Заїка С.С. Патоморфологічна диференційна діагностика парвовірусного та коронавірусного ентериту у собак. *Наукові горизонти*. Житомир, 2018. № 9–10 (71). С. 3–7. (Здобувачем здійснені патоморфологічні дослідження та їх аналіз).

59. Радзиховський М.Л. Мікроскопічні зміни в тонкій кишці цуценят при експериментальному зараженні ізолятом парвовірусу, культивованим у гетерологічній культурі клітин. *Науковий вісник ветеринарної медицини*. Біла Церква, 2018. Вип. 1 (140). С. 122–127.

60. Радзиховський М.Л., Горальський Л.П., Борисевич Б.В., Дишкант О.В. Інтегральні індекси інтоксикації у собак за коронавірусного ентериту. *Науковий вісник ветеринарної медицини*. Біла Церква, 2018. Вип. 2 (144). С. 13–19. (Здобувачем здійснені лабораторні дослідження та їх аналіз).

61. Радзиховський М.Л. Гістологічні зміни у собак за кишкової форми парвовірусного ентериту. *Ветеринарія, технології тваринництва та природокористування*. Харків, 2018. № 2. С. 59–62.

62. Радзиховський М.Л. Макроскопічні зміни у цуценят за експериментального відтворення коронавірусного ентериту. *Вісник ПДАА. Сер. Ветеринарна медицина*. Полтава, 2018. № 4. С. 174–177.

63. Радзиховський М.Л. Гістологічні зміни в печінці та нирках за експериментального відтворення парвовірозу у собак. *Науково-технічний бюлетень ДНДКІ ветеринарних препаратів та кормових добавок України і Інституту біології тварин НААН*. Львів, 2019. № 1, Вип. 20. С. 123–129.

Статті у наукових фахових виданнях України, включених до міжнародних наукометричних баз даних:

64. Радзиховський М.Л. Епізоотологічні особливості коронавірусного ентериту собак. *Науковий вісник НУБіП України. Сер. Ветеринарна медицина, якість і безпека продукції тваринництва*. Київ, 2016. № 237. С. 321–328.

65. Радзиховський М.Л. Гематологічні та біохімічні показники крові собак уражених коронавірусним ентеритом. *Науковий вісник ЛНУВМ та БТ ім. С.З. Гжицького*. Львів, 2017. Т. 19, № 77. С. 170–174.

66. **Радзиховський М.Л.**, Заїка С.С. Патоморфологічна характеристика парвовірусного ентериту в собак. *Науковий вісник ЛНУВМ та БТ ім. С.З. Гжицького*. Львів, 2017. Т. 19, № 82. С. 45–49. (Здобувачем здійснені патологоанатомічні дослідження та їх аналіз).

67. Лісова В.В., **Радзиховський М.Л.** Патоморфологічна діагностика ентеритів вірусної етіології у собак. *Науковий вісник ЛНУВМ та БТ ім. С.З. Гжицького*. Львів, 2018. Т. 20, № 83. С. 299–303. (Здобувачем здійснені патологоанатомічні дослідження та їх аналіз).

68. Лісова В.В., **Радзиховський М.Л.**, Стеблінова А.О. Мікроскопічні зміни в печінці й підшлунковій залозі собак при кишковій формі

парвовірусного ентериту. *Науковий вісник НУБіП України. Сер. Ветеринарна медицина, якість і безпека продукції тваринництва*. Київ, 2018. № 285. С. 346–351. (Здобувачем здійснені гістологічні дослідження та їх аналіз).

69. Радзиховський М.Л. Порівняння чутливості перещеплювальних ліній культур клітин до коронавірусу собак. *Вісник ДДАЕУ*. Дніпро, 2018. № 1–2 (47). С. 157–160.

70. Радзиховський М.Л. Мікроскопічні зміни в товстій кишці цуценят за експериментального зараження ізолятом парвовіруса, культивованим у гетерологічній культурі клітин. *Науковий вісник ЛНУВМ та БТ ім. С.З. Гжицького*. Львів, 2018. Т. 20, № 88. С. 98–101.

71. **Радзиховський М.Л.**, Горальський Л.П., Дишкант О.В. Динаміка лейкоцитарних індексів за парвовірусного ентериту у собак. *Theoretical and Applied Veterinary Medicine*. Дніпро, 2019. Vol. 7 (1). С. 3–7. (Здобувачем здійснені лабораторні дослідження та їх аналіз).

72. Горальський Л.П., **Радзиховський М.Л.**, Дишкант О.В. Мікроскопічна будова серця, органів кровотворення та імунного захисту собак за експериментального відтворення парвовірозу. *Наукові горизонти*. 2019. № 6 (79). С. 9–14. (Здобувачем здійснені гістологічні дослідження та їх аналіз).

73. Лісова В.В., **Радзиховський М.Л.** Морфологічні особливості різних форм парвовірусної інфекції собак. *Ukrainian journal of veterinary sciences*. Київ, 2019. Vol. 10 (2). Р. 37–44. (Здобувачем здійснені патологоанатомічні дослідження та їх аналіз).

74. Goralskii L., **Radzikhovsky N.**, Dyshkant O., Dunaievskia O., Sokulskiy I. Experimental study of tropism in cultivated canine coronavirus in the small intestine of puppies. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. 2019. Vol. 10 (4). Р. 489–496. doi: 10.15421/021972 (Здобувачем здійснені гістологічні дослідження та їх аналіз).

Статті у наукових фахових виданнях інших держав, включених до міжнародних наукометричних баз даних:

75. Радзиховский Н.Л., Заика С.С., Дышкант О.В. Патолого-анатомические изменения у собак при ассоциированном течении парвовирусного энтерита с аденовирусным гепатитом. *Сельское хозяйство проблемы и перспективы. Сер. Ветеринария*. Гродно, 2018. Т. 40. С. 182–190.

(Здобувачем здійснені патологоанатомічні дослідження та їх аналіз)

76. Радзиховский Н., Дышкант О. Эпизоотологические особенности болезней собак, вызванных энтеровирусами. *Ученые записки УО ВГАВМ*. Витебск, 2018. Т. 54, Вып. 2. С. 51–55. *(Здобувачем здійснений епізоотологічний аналіз)*

77. Радзиховский Н.Л., Дышкант О.В., Бахур Т.И., Патафеева В.А. Сравнительные показатели эритроцитопоеза у собак при энтеритах вирусной этиологии. *Ученые записки УО ВГАВМ*. Витебск, 2018. Т. 54, Вып. 3. С. 37–40. *(Здобувачем здійснені морфологічні дослідження крові та їх аналіз)*.

78. Радзиховский Н., Дышкант О., Бахур Т., Столярова Ю. Сравнение чувствительности перевиваемых культур клеток к парвовирусу собак. *Ветеринарный журнал Беларуси*. Витебск, 2018. Вып. 2 (9). С. 57–60. *(Здобувачем здійснені вірусологічні дослідження та їх аналіз)*.

Патенти:

79. Радзиховський М.Л., Дышкант О.В. Патент України № 137015: Спосіб культивування парвовірусу собак № U201902860; заявл. 22.03.2019; опубл. 25.09.2019, Бюл. № 18. *(Здобувач брав участь у проведенні досліджень і оформленні патенту України)*.

80. Горальський Л.П., Радзиховський М.Л., Дышкант О.В. Патент України № 133896: Спосіб культивування коронавірусу собак: № U201811498; заявл. 23.11.2018; опубл. 25.04.2019, Бюл. № 8. *(Здобувач брав участь у проведенні досліджень і оформленні патенту України)*.

Посібник:

81. Довгій Ю.Ю., Радзиховський М. Л., Дубова О.А., Фещенко Д.В., Нікітін О.А., Бахур Т.І., Дишкант О.В., Довгій М.Ю.. Паразитарні та інфекційні хвороби м'ясоїдних тварин : навч. посібник / за ред. Ю.Ю. Довгія. Вид. 2-ге, пер. і доп. Житомир: Полісся, 2016. 320 с. *(Здобувачем написано розділ «Вірусні хвороби»).*

Методичні рекомендації:

82. Радзиховський М.Л., Горальський Л.П., Костюк В.К. Патоморфологічна діагностика парвовірусного та коронавірусного ентериту у собак : методичні рекомендації. Житомир: Рута, 2018. 20 с. (Затверджено НМР Науково-методичного центру інформаційно-аналітичного забезпечення діяльності вищих навчальних закладів «Агроосвіта», 1 жовтня 2018 року, протокол № 6). *(Здобувач проводив морфологічні дослідження та узагальнення отриманих результатів).*

83. Радзиховський М.Л., Горальський Л.П., Костюк В.К. Особливості культивування вірусів собак родини Parvoviridae та Coronaviridae. Житомир: Рута, 2018. 20 с. (Затверджено НМР «Науково-методичного центру інформаційно-аналітичного забезпечення діяльності вищих навчальних закладів «Агроосвіта», 1 жовтня 2018 року, протокол № 6). *(Здобувач особисто проводив вірусологічні дослідження та узагальнення отриманих результатів).*

84. Радзиховський М.Л., Горальський Л.П., Дишкант О.В. Інтегральні гематологічні індекси оцінки ступеня ендогенної інтоксикації у собак. Житомир: Рута, 2018. 20 с. Затверджені Науково - методичною радою Держветфітослужби № 3 від 20.12 2018 року. *(Здобувач проводив статистичні дослідження та узагальнення отриманих результатів і підготовку матеріалів до друку).*

Тези наукових доповідей:

85. **Радзиховський М.Л.,** Дишкант О.В. Інфекційні ентерити у собак *Актуальні проблеми ветеринарної біотехнології та інфекційної патології тварин* : матеріали щорічної наук.-практ. конф. молодих вчених, 16 червня 2016 р. Київ : НААН України, Інститут ветеринарної медицини, Київ, 2016. С. 68–70. (Здобувачем здійснені моніторингові дослідження та їх аналіз).

86. **Радзиховський Н.Л.** Никитин О.А. Заразные болезни собак и кошек в городе Житомир. *Инфекционные болезни животных и антимикробные средства* : междунар. науч.-практ. конф. Саратов, 2016. С. 183–186. (Здобувачем здійснені моніторингові дослідження та їх аналіз).

87. Радзиховський М.Л. Нозологічний профіль ентеритів у собак. *Біологія тварин. Актуальні проблеми сучасної біології тваринництва та ветеринарної медицини* : матеріали міжнар. наук.-практ. конф., 29–30 вересня 2016 р. Львів, 2016. № 3, Т. 18. С. 176.

88. Горальський Л.П., **Радзиховський М.Л.** Патоморфологічні зміни в органах травлення собак за коронавірусного ентериту. *Сучасні проблеми ветеринарної медицини з питань інфекційної патології та патоморфології тварин* : матер. всеукр. наук.-практ. інтернет-конф., 18–19 травня 2017 р. Полтава, 2017. С. 74–75. (Здобувачем здійснені патоморфологічні дослідження та їх аналіз).

89. **Радзиховський М.Л.,** Дишкант О.В. Морфологічні особливості показників крові у собак за інфекційних ентеритів. *Актуальні проблеми ветеринарної біотехнології та інфекційної патології тварин* : матеріали щорічної наук.-практ. конф. молодих вчених, присв. 40-річчю заснування Інституту ветеринарної медицини ІВМНААН. Київ, 2017. С. 72–74. (Здобувачем здійснені морфологічні дослідження крові та їх аналіз).

90. **Radzykhovskiy N.,** Dyshkant O. Peculiarities of cultivation on enterovirus cell cultures of dogs BTRP Ukraine Regional. *One Health Research*

Symposium : 16–20 April 2018. Kyiv, 2018. P. 210. (Здобувачем здійснені лабораторні дослідження та їх аналіз).

91. **Радзиховський М.Л.**, Дишкант О.В. Моніторинг заразних хвороб собак і котів у м. Житомир. *Актуальні проблеми ветеринарної біотехнології та інфекційної патології тварин* : матеріали щорічної наук.-практ. конф. молодих вчених, присв. 100-річчю НААН України, 19 липня 2018 р. Київ : Компринт, 2018. С. 79–80. (Здобувачем здійснені моніторингові дослідження та їх аналіз).

92. **Радзиховський М.Л.**, Дишкант О.В., Нікітіна Ю.О. Мікроскопічні зміни в підшлунковій залозі собак за парвовірусного ентериту. *Science and technology of the present time : priority development directions of Ukraine and Poland*, 19–20 October 2018. Wolomin, Republic of Poland. 2018. Vol. 6. С. 78–82. (Здобувачем здійснені мікроскопічні дослідження та їх аналіз).

93. Соколюк В.М., **Радзиховський М.Л.**, Дишкант О.В., Колеснік Н.Л. Парвовірусний ентерит собак. Коронавірусний ентерит собак. *Science, research, development* #12 Economy. Management. State and Law Vol. 2 Belgrade (Serbia) 29.12.2018–30.12.2018. P. 7–19. (Здобувачем здійснені моніторингові і лабораторні дослідження та їх аналіз).

94. Радзиховський М.Л. Мікрофлора кишечника собак за коронавірусного ентериту. *BTRP Ukraine Regional One Health Research Symposium* : 20–24 May 2019. Kyiv, 2019. P. 248.

Відомості про апробації результатів дисертації

1. міжнародній науково-практичній конференції «Заразні хвороби тварин: сучасні методи діагностики, лікування та профілактики» (Житомир, 2015);
2. міжнародній науково-практичній конференції «Актуальні проблеми сучасної біології тваринництва та ветеринарної медицини» (Львів, 2016);
3. науково-практичній конференції молодих вчених «Актуальні проблеми ветеринарної біотехнології та інфекційної патології тварин» (Київ, 2016);
4. науково-практичній і навально методичній конференції науково-педагогічних працівників Харківської державної зооветеринарної «Проблеми, новітні здобутки та перспективи розвитку ветеринарної медицини (Харків 2016);
5. международной научно-практической конференция «Инфекционные болезни животных и антимикробные средства» (Саратов 2016);
6. міжнародній науково-практичній конференції «Теорія, практика та перспективи ветеринарної медицини» присвяченій 115- річчю з дня народження академіка І.О. Поваженка (Київ 2016);
7. міжвузівській науково-практичній конференції викладачів і студентів «Актуальні аспекти біології тварин, ветеринарної медицини та ветеринарно-санітарної експертизи» (Дніпропетровськ 2016);
8. XIII міжнародній науково-практичній конференції морфологів України «Актуальні проблеми сучасної морфології» (Житомир, 2017);
9. науково-практичній конференції молодих вчених «Актуальні проблеми ветеринарної біотехнології та інфекційної патології тварин» (Київ, 2017);
10. всеукраїнській науково-практичній Інтернет-конференції «Сучасні проблеми ветеринарної медицини з питань інфекційної патології та патоморфології тварин» (Полтава, 2017);
11. науково-практичній конференція молодих вчених «Актуальні проблеми ветеринарної біотехнології та інфекційної патології тварин» (Київ, 2017);

12. третьому щорічному регіональному науковому симпозиумі в рамках концепції «Єдине здоров'я» за підтримки ПЗБЗ в Україні (Київ, 2018);
13. міжнародній науково-практичній конференції «Актуальні проблеми сучасної біології, тваринництва та ветеринарної медицини» присвяченої 100-річчю заснування НААН України (Львів, 2018);
14. міжнародній науково-практичній конференції «Інфекційна патологія тварин: сучасні методи діагностики, лікування та профілактики» (Дніпро, 2018);
15. XVII всеукраїнській науково-практичній конференції молодих вчених «Молоді учені у вирішенні актуальних проблем біології, тваринництві та ветеринарної медицини» присвяченої 100-річчю з дня народження професора В.І. Третивича (Львів 2018);
16. international Multidisciplinary Conference Science and Technology of the present time: Priority Development Directions of Ukraine and Poland (19-20 october, 2018 Wolomin. Republic of Poland);
17. VI всеукраїнській науково практичній конференції «Сучасні підходи забезпечення здоров'я тварин та якості кормів і харчових продуктів» (Житомир, 2019);
18. четвертому щорічному регіональному науковому симпозиумі в рамках концепції «Єдине здоров'я» за підтримки ПЗБЗ в Україні (Київ, 2019);
19. міжнародній науково-практичній конференції «Актуальні проблеми епізоотології та заразних хвороб тварин» присвяченої 80-річчю з дня народження професора Атамася В.Я. (Одеса 2019);
20. зборах з начальниками відділень (груп) безпечності харчових продуктів та ветеринарної медицини органів Держприкордонслужби на базі Кінологічного навчального центру м. В. Мости (Львівська область, Сокальський район, 2019).

Патенти на корисну модель



Патенти на корисну модель



Методичні рекомендації

Державна служба України з питань безпеки
харчових продуктів та захисту споживачів
Житомирський національний агроекологічний університет

ІНТЕГРАЛЬНІ ГЕМАТОЛОГІЧНІ ІНДЕКСИ ОЦІНКИ СТУПЕНЯ ЕНДОГЕННОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ У СОБАК



КИЇВ 2018

УДК 619:636.7:591.111:616.98

*Методичні рекомендації розглянуті та схвалені на засіданні науково-технічної ради «Науково-інноваційного інституту ЖНАЕУ»
Протокол № 2 від 16.10.2018.*

Методичні рекомендації розглянуті, затверджено і прийнято до впровадження в практику ветеринарної медицини Науково-методичною радою Державної служби України з питань безпечності харчових продуктів та захисту споживачів протокол № 3 від 20.12.2018 р.

Рецензенти:

Борисевич Б. В., доктор ветеринарних наук, професор кафедри анатомії і гістології тварин ім. академіка В. Г. Касьяненка Національного університету біоресурсів і природокористування України;

Довгій Ю. Ю., доктор ветеринарних наук, професор, академік АН ВШ України, завідувач кафедри паразитології ветеринарно-санітарної експертизи та зоогієни Житомирського національного агроекологічного університету.

Розробники: Горальський Л. П., Радзиховський М. Л., Дишкант О. В.

Інтегральні гематологічні індекси оцінки ступеня ендогенної інтоксикації у собак / [Л. П. Горальський, М. Л. Радзиховський, О. В. Дишкант]. – Київ : «ЖНАЕУ», Вид. ПП «Рута».ю 2018. – с. 20.

У методичних рекомендаціях викладено аналіз інтегральних лейкоцитарних індексів на основі формули крові, що відображають стан нейрогуморального гомеостазу та імунологічної реактивності організму, для встановлення порушення гуморальної та клітинної ланок імунної системи, мікро- і макрофагальної системи, зниження неспецифічного захисту організму.

Рекомендації призначені для наукових працівників навчальних та науково-дослідних закладів і установ ветеринарної медицини. А також практичних фахівців ветеринарної медицини, працівників діагностичних лабораторій та інших суміжних галузей.

УДК 619:636.7:591.111:616.98

ISBN 978-617-581-418-2

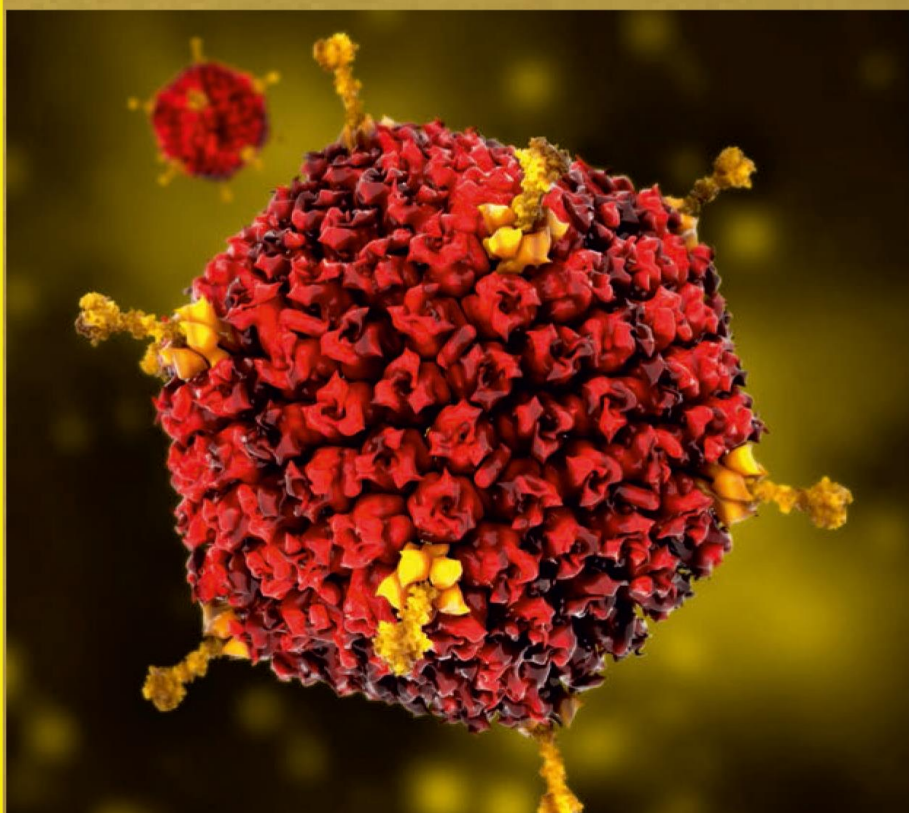
© Горальський Л. П., 2018
© Радзиховський М. Л., 2018
© Дишкант О. В., 2018
© ПП «Рута», 2018

Методичні рекомендації

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
Житомирський національний агроекологічний університет
Факультет ветеринарної медицини
Кафедра анатомії і гістології

**ОСОБЛИВОСТІ
КУЛЬТИВУВАННЯ
ВІРУСІВ СОБАК
РОДИНИ PARVOVIRIDAE
ТА CORONAVIRIDAE**

Методичні рекомендації



ЖИТОМИР 2018

Методичні рекомендації

УДК 619.9:636.7

*Затверджено науково-технічною радою
«Науково-інноваційного інституту ЖНАЕУ»
Протокол № 1 від 14.09.2018.*

*Затверджено НМР «Науково-методичного центру інформаційно-аналітично
забезпечення діяльності вищих навчальних закладів «Агроосвіта»,
1 жовтня 2018 року, протокол № 6*

Рецензенти:

Несосков Віталій Володимирович, доктор ветеринарних наук, завідувач кафедри епізоотології та організації ветеринарної справи Національного університету біоресурсів і природокористування України;

Полупан Іван Миколайович, кандидат ветеринарних наук, старший науковий співробітник, завідувач лабораторії з діагностики сказу, науково-дослідного вірусологічного відділу Державного науково-дослідного інституту з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи.

Методичні рекомендації підготували :

Радзиховський Микола Леонідович, кандидат ветеринарних наук, доцент, докторант кафедри анатомії і гістології Житомирського національного агроекологічного університету;

Горальський Леонід Петрович, доктор ветеринарних наук, професор, завідувач кафедри анатомії і гістології Житомирського національного агроекологічного університету;

Костюк Володимир Кіндратович, доктор ветеринарних наук, професор кафедри анатомії, гістології і патоморфології тварин ім. акад. В. Г. Касьяненка Національного університету біоресурсів і природокористування України

Особливості культивування вірусів собак родини Parvoviridae та Coronaviridae : Методичні рекомендації. – Житомир, Вид. ПП "Рута", 2018. – 20 с.

У методичних рекомендаціях викладено особливості культивування вірусів родин Parvoviridae і Coronaviridae, зокрема збудників парвовірусного та коронавірусного ентериту у собак, а також методи їх диференціації.

Рекомендації призначені для працівників навчальних та науково-дослідних закладів і установ ветеринарної медицини, діагностичних лабораторій, практичних фахівців ветеринарної медицини та інших суміжних галузей, а також студентів закладів вищої освіти III та IV рівнів акредитації.

ISBN 978-617-581-417-3

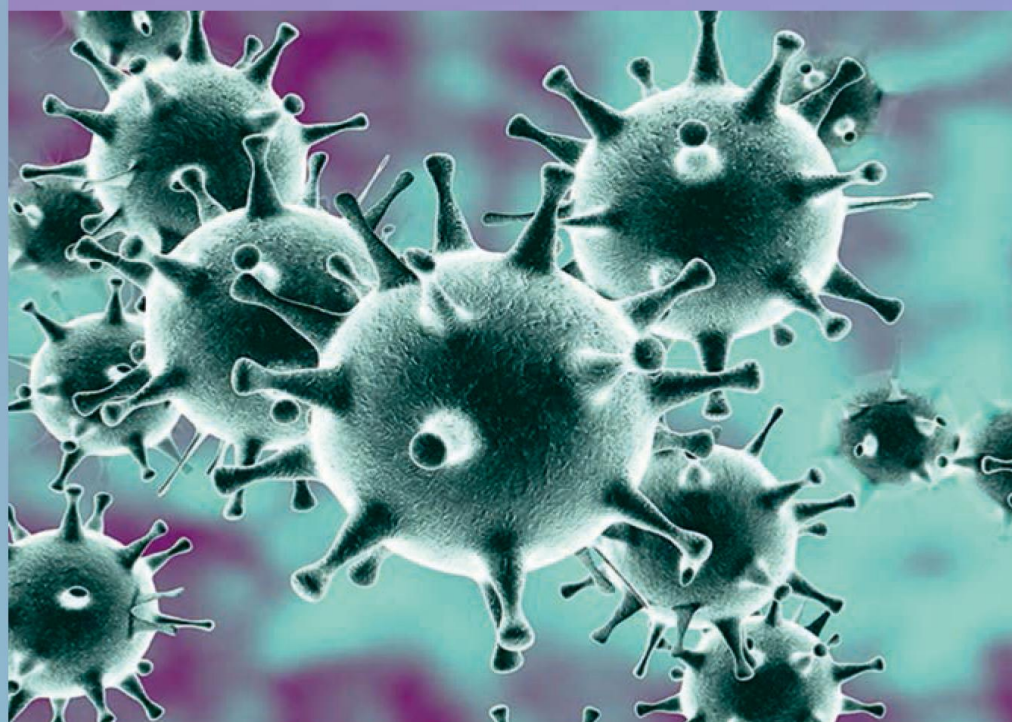
© Радзиховський М. Л., 2018
© Горальський Л. П., 2018
© Костюк В. К., 2018
© ПП «Рута», 2018

Методичні рекомендації

Житомирський національний агроекологічний університет
Факультет ветеринарної медицини
Кафедра анатомії і гістології

ПАТОМОРФОЛОГІЧНА ДІАГНОСТИКА ПАРВОВІРУСНОГО ТА КОРОНАВІРУСНОГО ЕНТЕРИТУ У СОБАК

Методичні рекомендації



ЖИТОМИР 2018

Методичні рекомендації

УДК 619.9:636.7

Затверджено науково-технічною радою
«Науково-інноваційного інституту ЖНАЕУ»
Протокол № 1 від 14.09.2018.

Затверджено НМР «Науково-методичного центру інформаційно-аналітично
забезпечення діяльності вищих навчальних закладів «Агроосвіта»,
1 жовтня 2018 року, протокол № 6

Рецензенти:

Борисевич Борис Володимирович, доктор ветеринарних наук, професор кафедри анатомії і гістології тварин ім. академіка В.Г. Касьяненка Національного університету біоресурсів і природокористування України;

Гуральська Світлана Василівна, доктор ветеринарних наук, професор кафедри анатомії і гістології Житомирського національного агроєкологічного університету;

Методичні рекомендації підготували :

Радзиховський Микола Леонідович, кандидат ветеринарних наук, доцент, докторант кафедри анатомії і гістології Житомирського національного агроєкологічного університету;

Горальський Леонід Петрович, доктор ветеринарних наук, професор, завідувач кафедри анатомії і гістології Житомирського національного агроєкологічного університету;

Костюк Володимир Кіндратович, доктор ветеринарних наук, професор кафедри анатомії і гістології тварин ім. академіка В.Г. Касьяненка Національного університету біоресурсів і природокористування України

Патоморфологічна діагностика парвовірусного та коронавірусного ентериту у собак : Методичні рекомендації. – Житомир, Вид. ПП "Рута" 2018. – 20 с.

У методичних рекомендаціях викладено патоморфологічні методи діагностики парвовірусного та коронавірусного ентериту у собак та їх диференціація. За допомогою патологоанатомічних та гістологічних методів встановлено морфологічні особливості за парвовірусного та коронавірусного ентериту у собак.

Рекомендації призначені для наукових працівників навчальних та науково-дослідних закладів і установ ветеринарної медицини. А також практичних фахівців ветеринарної медицини, працівників діагностичних лабораторій та інших суміжних галузей.

ISBN 978-617-581-416-4

© Радзиховський М. Л., 2018
© Горальський Л. П., 2018
© Костюк В. К., 2018
© ПП «Рута», 2018

Монографія

В.В. ЛІСОВА, М.Л. РАДЗИХОВСЬКИЙ

КОРОНАВІРУСНА ІНФЕКЦІЯ СОБАК

МОНОГРАФІЯ



Київ – 2019

Монографія

УДК 636.7.09:616.98:578

Л63

Рекомендовано до друку Вченою радою Національного університету біоресурсів і природокористування України (протокол № 1 від 28 серпня 2019 р.)

Рецензенти:

Недосєков В. В. – доктор ветеринарних наук, професор, Національний університет біоресурсів і природокористування України, м. Київ

Горальський Л. П. – доктор ветеринарних наук, професор, Житомирський національний агроекологічний університет, м. Житомир

Скрипка М. В. – доктор ветеринарних наук, професор, Одеський державний аграрний університет, м. Одеса

Лісова В. В.

Л63 Коронавірусна інфекція собак: [Монографія] / В. В. Лісова, М.Л. Радзиховський. – К.: ФОП Ямчинський О.В., 2019. – 126 с.

ISBN 978-617-7804-45-0

У монографії узагальнено дані сучасної літератури та наведені результати власних досліджень щодо коронавірусної інфекції собак, зокрема хвороба розглядається з різних сторін і на різних рівнях деталізації біологічних і молекулярно-генетичних характеристик етіологічного фактору, філогенезу, патогенетичних механізмів та особливостей епідеміології та епізоотології, клінічного прояву та патоморфологічних змін. З урахуванням одержаних авторами даних, детально описано макроскопічні й мікроскопічні зміни в різних органах за коронавірусної інфекції в собак.

Монографія розрахована на фахівців ветеринарної медицини, науковців і студентів напряму (спеціальності) «Ветеринарна медицина».

УДК 636.7.09:616.98:578

ISBN 978-617-7804-45-0

© В. В. Лісова, 2019
© М. Л. Радзиховський 2019

Навчальний посібник

Ю. Ю. Довгій, М. Л. Радзиховський, О. А. Дубова,
Д. В. Фещенко, О. А. Нікітін, Т. І. Бахур,
О. В. Дишкант, М. Ю. Довгій

Паразитарні та інфекційні хвороби м'ясоїдних тварин



Навчальний посібник

ББК 48.7Н20
УДК 619:616 – 036.4(477)

*Гриф надано Міністерством освіти і науки України
(лист « 1/11-5576 від 15.04.2014*

Автори: Ю. Ю. Довгій, М. Л. Радзиховський, О. А. Дубова, Д. В. Фещенко,
О. А. Нікітін, Т. І. Бахур, О. В. Дишкант, М. Ю. Довгій

Рецензенти: **В. П. Фасоля**, доктор ветеринарних наук
(директор клініки ветеринарної медицини «Шанс»),
В. А. Бурлака, доктор сільськогосподарських наук,
професор
(Житомирський національний агроекологічний університет),
Б. М. Ярчук, кандидат ветеринарних наук, професор
кафедри епізоотології та інфекційних хвороб
(Білоцерківський НАУ).

Паразитарні та інфекційні хвороби м'ясоїдних тварин / Ю. Ю. Довгій,
М. Л. Радзиховський, О.А. Дубова та ін. [2-ге вид., пер. і доп.]. – Житомир:
Полісся, 2016. – 320 с: іл.

ISBN 978-966-655-815-5

Навчальне видання містить основні відомості щодо гельмінтозів та інфекційних хвороб м'ясоїдних тварин і хутрових звірів (собак, котів, сріблястих лисиць, песців) з урахуванням останніх досягнень науки. В посібнику викладені дані літературних джерел і власних експериментальних досягнень. Значна увага приділена епізоотичному та патогенетичному аспекту розвитку хвороб. Наведено новітні методи діагностики, схеми лікування та профілактичні заходи при гельмінтозах та інфекційних хворобах м'ясоїдних тварин.

Для студентів, магістрантів, аспірантів, викладачів, а також лікарів ветеринарної медицини, наукових співробітників.

ISBN 978-966-655-815-5

© Ю. Ю. Довгій, М. Л. Радзиховський,
О. А. Дубова та ін. 2016

Висновок біоетичної експертизи

ЗАТВЕРДЖУЮ

Житомирського національного
агроєкологічного університету

О.В. Скидан

2018 року

ВИСНОВОК БІОЕТИЧНОЇ ЕКСПЕРТИЗИ

експериментальних досліджень докторанта кафедри анатомії і гістології Житомирського національного агроєкологічного університету кандидата ветеринарних наук, доцента Радзиховського Миколи Леонідовича на тему: «Патоморфологія, діагностика, лікування та профілактика ентеритів вірусної етіології у собак», представленої на здобуття наукового ступеня доктора ветеринарних наук за спеціальністю 16.00.02. – патологія, онкологія і морфологія тварин.

Комісія в складі: голови, доктора ветеринарних наук, професора Ю.Ю. Довгія та членів комісії, кандидата ветеринарних наук, доцента І.М. Сокульського, кандидата ветеринарних наук, доцента В.В. Карпока вивчила матеріали експериментальних досліджень, проведених докторантом на собаках, білих мишах та інших свійських тваринах і встановила наступне:

1. Експерименти виконані протягом 2013 – 2018 років на курках, білих мишах та свійських тваринах: собаки, коти, кролі, ВРХ, ДРХ, коні.
2. В експериментальних дослідженнях були використані еритроцити вище згаданих тварин, отриманих зі стабілізованої крові.
3. Проведені дослідження не включали експериментів зі штучного моделювання захворювань на тваринах, окрім собак, які були

Висновок біоетичної експертизи

використані в кількості 10 собак (5 – для відтворення парвовірусного ентериту і 5 – для відтворення коронавірусного ентериту).

4. Для проведення макро- та мікроскопічних досліджень, природно або штучно інфікованих парвовірусом або коронавірусом собак, евтаназію тварин виконували шляхом внутрішньовенного введення Тіопенату в дозі 60 мг на 1 кг маси тіла (в 1 г порошка якого міститься тіопентал натрію — 950 мг).

ВИСНОВОК: Експерименти виконані докторантом Радзиховським Миколою Леонідовичем на тваринах проведені відповідно до концепції 3R (reduction, refinement and replacement) згідно із загальними принципами експериментів на тваринах, які ухвалені на Першому національному конгресі з біоетики (Київ, 2001) узгоджені з положеннями Європейської конвенції про захист хребетних тварин, яких використовують для експериментальних та інших наукових цілей (Страсбург, 1985) і відповідають Закону України «Про захист тварин від жорсткого поводження» (Київ, 2006).

Голова комісії, доктор вет.
наук, професор

Ю.Ю. Довгій

кандидат вет. наук,
доцент

І.М. Сокульський

кандидат вет. наук,
доцент

В.В. Каршок

**ДОЗВІЛ НА ПРОВЕДЕННЯ НАУКОВИХ ЕКСПЕРИМЕНТІВ,
ТЕСТУВАНЬ, З ВИКОРИСТАННЯМ ЕКСПЕРЕМЕНТАЛЬНИХ ТВАРИН**

ЗАТВЕРДЖУЮ

Головне управління

Держпродспоживслужби

в Житомирській області

« 6 » _____ 2018 року



**ДОЗВІЛ НА ПРОВЕДЕННЯ НАУКОВИХ ЕКСПЕРИМЕНТІВ,
ТЕСТУВАНЬ, З ВИКОРИСТАННЯМ ЕКСПЕРЕМЕНТАЛЬНИХ
ТВАРИН**

Керуючись **Законом України** про захист тварин від жорстокого поводження (*Відомості Верховної Ради України (ВВР), 2006, № 27, ст.230*)

(Із змінами, внесеними згідно із Законами

№ 1759-VI від 15.12.2009, ВВР, 2010, № 9, ст.76

№ 5456-VI від 16.10.2012, ВВР, 2013, № 46, ст.640 - зміни набирають чинності з 18.11.2012, крім положень, які стосуються передачі повноважень від територіальних органів центрального органу виконавчої влади, що забезпечує формування та реалізує державну політику у сфері охорони навколишнього природного середовища, обласним, Київській, Севастопольській міським державним адміністраціям, органам виконавчої влади Автономної Республіки Крим, які набирають чинності з 18.05.2013 - див. пункт 1 розділу II Закону № 5456-VI від 16.10.2012

№ 5459-VI від 16.10.2012, ВВР, 2013, № 48, ст.682

№ 406-VII від 04.07.2013, ВВР, 2014, № 20-21, ст.712

№ 1193-VII від 09.04.2014, ВВР, 2014, № 23, ст.873

№ 322-VIII від 09.04.2015, ВВР, 2015, № 25, ст.194

№ 323-VIII від 09.04.2015, ВВР, 2015, № 25, ст.195

№ 222-VIII від 02.03.2015, ВВР, 2015, № 22, ст.158

№ 766-VIII від 10.11.2015, ВВР, 2015, № 52, ст.482

№ 1832-VIII від 07.02.2017, ВВР, 2017, № 12, ст.131

№ 2120-VIII від 22.06.2017, ВВР, 2017, № 34, ст.371

№ 440-IX від 14.01.2020)

Беручи до уваги підписання Україною Угоди про асоціацію з ЄС у сфері забезпечення добробуту тварин, що розділяє за об'єктами захисного впливу на акти щодо поводження з тваринами, яких використовують у межах проведення наукових та промислових дослідів (*Європейська конвенція про захист хребетних тварин, що використовуються для експериментів або в інших наукових цілях 1986 р., Директива Ради Європи 2010/63/ЄС про захист тварин, використовуваних у наукових цілях, Рекомендація Європейської Комісії про настанови щодо приміщень та піклування про тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей*).

Висновком біоетичної комісії (Затвердженим 27.02.2018 р. Біоетичною комісією Житомирського національного агроекологічного університету, у складі: голова комісії – доктор вет. наук, професор Ю. Ю. Довгій та члени комісії канд. вет. наук, доценти І. М. Сокульський і В. В. Карпюк).

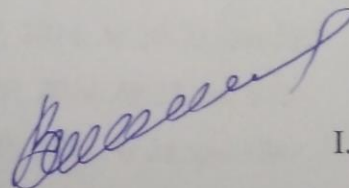
Згідно **Статті 1** загального положення, тварини – біологічні об'єкти, що відносяться до фауни: сільськогосподарські, домашні, дикі, у тому числі домашня і дика птиця, хутрові, лабораторні, зоопаркові, циркові, за умови виконання **Статті 18** (*Загальні правила поводження з тваринами, що виключають жорстокість і не суперечать принципам захисту тварин від жорстокого поводження*) **ДОЗВОЛИТИ** кандидату ветеринарних наук, доценту, докторанту кафедри анатомії і ністології ЖНАЕУ, Радзиховському Миколі Леонідовичу використання тварин у наукових експериментах, біологічному тестуванні враховуючи положення **Статті 26** (*Правила поводження з тваринами, що використовуються в наукових експериментах, тестуванні, навчальному процесі, виробництві біологічних препаратів. Використання тварин (мінімальна кількість) у наукових експериментах, біологічному тестуванні, навчальному процесі допускається лише в разі,*

якщо відсутня можливість заміни їх іншими альтернативними методами і об'єктами).

1. Експерименти виконані протягом 2013 – 2018 років на курах, білих мишах та свійських тваринах: собаки, коти, кролі, ВРХ, ДРХ, коні.
2. В експериментальних дослідженнях були використані еритроцити вище згаданих тварин, отриманих зі стабілізованої крові.
3. Проведені дослідження не включали експериментів зі штучного моделювання захворювань на тваринах, використовуючи 10-ти собак, (5 – для відтворення парвовірусного ентериту і 5 – для відтворення коронавірусного ентериту).

Нежиттєздатна експериментальна тварина умертвляється методами евтаназії (*евтаназія – гуманні методи умертвіння тварин, що виключають їх передсмертні страждання (Стаття 1)*), до настання у тварини страждань. Для проведення макро- та мікроскопічних досліджень, природно або штучно інфікованих парвовірусом або коронавірусом собак, евтаназію тварин виконували шляхом внутрішньовенного введення Тіопенату в дозі 60 мг на 1 кг маси тіла (в 1 г порошка якого міститься тіопентал натрію — 950 мг), враховуючи положення **Статті 17 Умертвіння тварин**.

Перший заступник начальника
Головного управління
Держпродспоживслужби
в Житомирській області
канд. вет. наук



І. А. Волківський

Акт про проведення експериментального відтворення коронавірусної інфекції у собак

АКТ

ПРО ПОВЕДЕННЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ВІДТВОРЕННЯ КОРОНАВІРУСНОЇ ІНФЕКЦІЇ СОБАК

Для експериментального відтворення коронавірусної інфекції були відібрані цуценята 45 денного віку. Було використано 8 цуценят метис лабрадора з безпородною. На момент початку роботи тварини були в задовільному стані без будь яких ознак захворювання чи патології.

Для виключення впливу на дослід паразитарного агента на 21 та 34 день від народження собак проводили дегельмінтизацію за допомогою антигельмінтика - Пірантел.

В 45 денному віці, вагою ~3 кг цуценят відлучили від суки і розділили на групи, перша – культуральним коронавірусом і друга – контрольна для виявлення спонтанного виникнення хвороби на випадок інфікування до початку експерименту

Для зараження використовували виділений та підтверджений в ПЛР польовий коронавірус отриманий від загиблої собаки. Інфікований біологічний матеріал культивували на гетерологічних культурах клітин, а саме перещеплювальні лінії культур клітин СПЕВ (нирки ембріона свині), ВНК-21 (нирки сирійського хом'яка), РК-13 (нирки кроля). В експерименті використовували культуральний вірусний ізолят, що мав 90 – 100%-ий прояв ЦПД впродовж 10 діб. Вірусомісний культуральний ізолят заморожували при мінус 24 °С. Перед використанням розморожували при кімнатній температурі і час від часу різкими рухами, матрац з культуральною рідиною, струшували для покращення лопання клітин та виходу віруса.

Інфікували дослідних тварин *per os* один раз на добу в дозі 5 мл/кг.

Перші загальні симптоми коронавірусної інфекції спостерігали на 8 день, а початок специфічних клінічних ознак виявляли на 10 день. У цей день провели діагностику ІХА використовуючи тест системи *VetExpert* на наявність антигену.

Акт про проведення експериментального відтворення коронавірусної інфекції у собак

Отримавши позитивний результат щодо інфікованості коронавірусом, була проведена активна евтаназія, використовуючи внутрішньовенне введення Тіопенат (діюча речовина - тіопентал натрію в дозі 60 мг на 1 кг маси тіла (в 1 г порошка якого міститься тіопентал натрію — 950 мг) в дозі), що забезпечують швидке безболісне настання смерті відповідно до Європейської Конвенції із захисту хребетних тварин, що використовуються для експериментальних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986).

Після евтаназії був проведений патологоанатомічний розтин. У собак інфікованих культурально вірусомісною рідиною спостерігали типові патоморфологічні зміни для коронавірусної інфекції. Під час розтину був відібраний патологічний матеріал (фрагмент тонкої кішки) та направлений в лабораторію для підтвердження діагнозу.

Діагноз був підтверджений у ПЛР – детекція в режимі real-time «КОРОНАВИР» фірми «АМПЛИСЕНС».

Завідуючий кафедрою
анатомії і гістології
д. вет. н., професор

Л. П. Горальський

Доцент кафедри мікробіології,
вірусології та епізоотології
к. вет. н., доцент

О. В. Дишкант

Докторант кафедри
анатомії і гістології
к. вет. н., доцент

М. Л. Радзиховський

ПІДПИС ЗАСВІДЧУЮ
Начальник відділу кадрів
Житомирського національного
агроєкологічного університету

_____ 20__ р.



Акт про проведення експериментального відтворення парвовірусної інфекції у собак

АКТ

ПРО ПРОВЕДЕННЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ВІДТВОРЕННЯ ПАРВОВІРУСНОЇ ІНФЕКЦІЇ СОБАК

Для експериментального відтворення парвовірусної інфекції були відібрані цуценята 45 денного віку. Було використано 8 цуценят метис лабратора з безпородною. На момент початку роботи тварини були в задовільному стані без будь яких ознак захворювання чи патології.

Для виключення впливу на дослід паразитарного агента на 21 та 34 день від народження собак проводили дегельмінтизацію за допомогою антигельмінтика - Пірантел.

В 45 денному віці, вагою ~3 кг цуценят відлучили від суки і розділили на групи, перша – культуральним парвовірусом і друга – контрольна для виявлення спонтанного виникнення хвороби на випадок інфікування до початку експерименту

Для зараження використовували виділений та підтверджений в ПЛР польовий парвовірус отриманий від загиблої собаки. Інфікований біологічний матеріал культивували на гетерологічних культурах клітин, а саме перещеплювальні лінії культур клітин СПЕВ (нирки ембріона свині), ВНК-21 (нирки сирійського хом'яка), РК-13 (нирки кроля). В експерименті використовували культуральний вірусний ізолят, що мав 90 – 100%-ий прояв ЦПД впродовж 10 діб. Вірусомісний культуральний ізолят заморожували при мінус 24 °С. Перед використанням розморожували при кімнатній температурі і час від часу різкими рухами, матрац з культуральною рідиною, струшували для покращення лопання клітин та виходу вірусу.

Інфікували дослідних тварин *per os* один раз на добу в дозі 5 мл/кг.

Перші загальні симптоми парвовірусної інфекції спостерігали на 4 день, а початок специфічних клінічних ознак виявляли на 6 день. У цей день провели діагностику ІХА використовуючи тест системи *VetExpert* на наявність антигену.

Акт про проведення експериментального відтворення парвовірусної інфекції у собак

Отримавши позитивний результат щодо інфікованості парвовірусом, була проведена активна евтаназія, використовуючи внутрішньовенне введення Тіопенат (діюча речовина - тіопентал натрію в дозі 60 мг на 1 кг маси тіла (в 1 г порошка якого міститься тіопентал натрію — 950 мг) в дозі), що забезпечують швидке безболісне настання смерті відповідно до Європейської Конвенції із захисту хребетних тварин, що використовуються для експериментальних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986).

Після евтаназії був проведений патологоанатомічний розтин. У собак інфікованих культуральною вірусомісною рідиною спостерігали типові патоморфологічні зміни для парвовірусної інфекції. Під час розтину був відібраний патологічний матеріал (фрагмент тонкої кішки) та направлений в лабораторію для підтвердження діагнозу.

Діагноз був підтверджений у ПЛР – детекція в режимі real-time «ПАРВОВИР» фірми «АМПЛИСЕНС».

Завідуючий кафедрою
анатомії і гістології
д. вет. н., професор

Л. П. Горальський

Доцент кафедри мікробіології,
вірусології та епізоотології
к. вет. н., доцент

О. В. Дишкант

Докторант кафедри
анатомії і гістології
к. вет. н., доцент

М. Л. Радзиховський

ПІДПИС ЗАСВІДЧУЮ
Начальник відділу кадр
Житомирського національного
агрозоологічного університету



20...р

**Свідоцтво про первинне депонування штаму мікроорганізму в Депозитарії
Державного науково-контрольного інституту біотехнології і штамів
мікроорганізмів**

СВІДОЦТВО

про первинне депонування штаму мікроорганізму
в Депозитарії Державного науково-контрольного інституту біотехнології і штамів
мікроорганізмів

Кому видано: Житомирський національний агроекологічний університет

Цим підтверджується, що штаму мікроорганізму

коронавірус собак «Nick»

первинно депонований в Депозитарії Державного науково-контрольного
інституту біотехнології і штамів мікроорганізмів

Реєстраційний номер, наданий штаму мікроорганізму Депозитарієм: 735

Супроводжувальна документація від депозитора одержана: клопотання, паспорт,
акти, зразки штаму

Дата первинного депонування: 10.12.2018

Місце зберігання: Житомирський національний агроекологічний університет,
10008, м. Житомир, бульвар Старий, 7

М.П.
26.02.2019



[Handwritten signature]
А.М. Головка

**Свідоцтво про первинне депонування штаму мікроорганізму в Депозитарії
Державного науково-контрольного інституту біотехнології і штамів
мікроорганізмів**

СВІДОЦТВО

про первинне депонування штаму мікроорганізму
в Депозитарії Державного науково-контрольного інституту біотехнології і штамів
мікроорганізмів

Кому видано: Житомирський національний агроекологічний університет

Цим підтверджується, що штаму мікроорганізму

Парвовірус собак «Антей»

первинно депонований в Депозитарії Державного науково-контрольного
інституту біотехнології і штамів мікроорганізмів

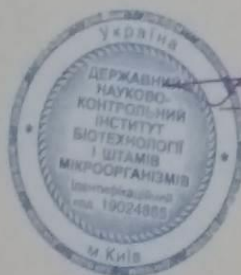
Ресстраційний номер, наданий штаму мікроорганізму Депозитарієм: 734

Супроводжувальна документація від депозитора одержана: клопотання, паспорт,
акти, зразки штаму

Дата первинного депонування: 10.12.2018

Місце зберігання: Житомирський національний агроекологічний університет,
10008, м. Житомир, бульвар Старий, 7

М.П.
26.02.2019



[Handwritten signature]
А.М. Головка

Акти впровадження результатів дисертаційної роботи у навчальний процес та науково-дослідну роботу на кафедрах закладів освіти:

1. Білоцерківський національний аграрний університет

- кафедра лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи Інституту післядипломного навчання керівників і спеціалістів ветеринарної медицини (ІПНКСВМ);
- кафедра епізоотології та інфекційних хвороб;
- кафедра ветеринарно-санітарної експертизи, гігієни продуктів тваринництва та патологічної анатомії імені Й. С. Загаєвського

2. Житомирський національний агроекологічний університет

- кафедра мікробіології, фармакології та епізоотології;
- кафедра анатомії і гістології

3. Харківська державна зооветеринарна академія

- кафедра нормальної та патологічної морфології

4. Одеський державний аграрний університет

- кафедра нормальної і патологічної анатомії та патофізіології;
- кафедра фізіології, біохімії і мікробіології;
- кафедра епізоотології і паразитології.

5. Дніпровський державний аграрно-економічний університет

- кафедра епізоотології та інфекційних хвороб тварин;
- кафедра нормальної і патологічної анатомії сільськогосподарських тварин.

6. Подільського державного аграрно-технічного університету

- кафедра інфекційних та інвазійних хвороб

7. Сумський національний аграрний університет

- кафедра анатомії нормальної та патологічної фізіології тварин

8. Національний університет біоресурсів і природокористування України

- кафедра епізоотології та організації ветеринарної справи

9. ЗО Вітебська «Знак пошани» державна академія ветеринарної медицини (Республіка Білорусь).

- кафедра патологічної анатомії і гістології;
- кафедра епізоотології і інфекційних хвороб тварин;
- кафедра мікробіології і вірусології;
- кафедра хвороб дрібних тварин і птиці

Акти впровадженнь результатів дисертаційної роботи у виробництво

1. ТОВ-центр ветеринарної діагностики «ЦВД», м. Київ.
2. ТОВ «Бальд», ветеринарна лабораторія, м. Київ.
3. Клініка ветеринарної медицини «Багіра», м. Житомир.
4. Навчально-науково-виробничої клініка ветеринарної медицини факультету ветеринарної медицини ЖНАЕУ, м. Житомир.
5. Клініка ветеринарної медицини «Доктор ZOO», м. Житомир.
6. Клініка ветеринарної медицини «Шанс», м. Житомир.
7. Міська державна лікарня ветеринарної медицини м. Житомир.
8. Клініка ветеринарної медицини «Айболит» м. Бердичів.
9. Ветеринарний центр «Юпітер» м. Вінниця.
10. Клініка ветеринарної медицини ФОП Дейнега, м Київ.
11. Амбулаторія ветеринарної медицини «Крихітка Єнот», м Київ.
12. Клініка ветеринарної медицини «Зоолукс», м. Київ.
13. Клініка ветеринарної медицини «Вікторія», м. Київ.
14. Племінний розплідник кінологічного центру прикордонних військ Західного оперативного командування м. Великі Мости, Сокальського району, Львівської області (військова частина № 2418).

Реєстраційна картка НДР І ДКР (РК)

РЕЄСТРАЦІЙНА КАРТКА НДР І ДКР (РК)							
5436	Державний реєстраційний номер	017U 00 3609			5256	Особливі позначки	5
5517	Реєстраційний номер, що змінюється				7209	Статус виконавця	17
5418	№ дата супровідного листа	21 08 17* 1038					
7146	Підстави для проведення роботи НДР (ДКР)	43			7021	Шифр роботи	Радзихівський М.Л.
7210	Державний реєстраційний номер роботи НДР (ДКР) головного виконавця						
ВІДОМОСТІ ПРО ВИКОНАВЦЯ							
2457	Код за ЄДРПОУ (ідентифікаційний номер)	00493681					
2151	Повне найменування юридичної особи (або П.І.Б.)						
	1. Житомирський національний агроєкологічний університет						
	2. Житомирский национальный агроэкологический университет						
	3. Zhytomir National Agroecological University						
2358	Скорочене найменування юридичної особи	ЖНАЕУ					
2655	Місцезнаходження	10008, м Житомир, бульвар Старий 7					
2934	Телефон / Факс	(0412)37-49-31					
2394	E-mail / WWW	znau_dillovod@i.ua					
1332	Відомча підпорядкованість	Міністерство освіти і науки України					
1133	Сектор науки	ВУЗ					
2142	Співвиконавці						
ВІДОМОСТІ ПРО ЗАМОВНИКА							
2458	Код за ЄДРПОУ (ідентифікаційний номер)	00493681					
2152	Повне найменування юридичної особи (або П.І.Б.) Житомирський національний агроєкологічний університет						
2656	Місцезнаходження	10008, м Житомир, бульвар Старий, 7					
2935	Телефон / Факс	(0412)37-49-31					
2395	E-mail / WWW	znau_dillovod@i.ua					
ДЖЕРЕЛА, НАПРЯМИ ТА ОБСЯГИ ФІНАНСУВАННЯ НДР (ДКР)							
7700	КПКВК						
7201	Напрямок фінансування	2 2					
7023	Назва ДЦП						
7022	Код ДЦП						
Код джерела фінансування	Загальний обсяг фінансування, тис. грн.	у тому числі за роками					
		200-	200-	20--	20--	20--	
7704							
ТЕРМІНИ ВИКОНАННЯ РОБОТИ							
7353	Початок	09 17					
7362	Закінчення	12 21					
9036	Порядковий №, початок та закінчення етапу, вид звітного документа з НДР (ДКР), назва етапу (див. продовження)						
	1. 09 17, 12 21 91. Удосконалення діагностики, профілактики та лікування ентеритів вірусної етіології у собак						
	2. 09 17, 12 21 91. Вивчення макро та мікроскопічних змін при ентеритах вірусної етіології у собак						

Реєстраційна картка НДР і ДКР (РК)

ОСНОВНІ ВІДОМОСТІ ПРО НДР (ДКР)	
9027. Назва НДР (ДКР)	(1- українською мовою, 2 - російською мовою, 3 - англійською мовою)
1. Патоморфологія, діагностика, лікування та профілактика ентеритів вірусної етіології у собак 2. Патоморфологія, діагностика, лечение и профилактика энтеритов вирусной этиологии у собак 3. Dogs have pathology morphology, diagnostics, treatment and prophylaxis of enteritises of viral etiology	
9126. Мета НДР (ДКР)	Вивчення вірусологічних властивостей парво та коронавірусів, що викликають ентерити у собак. Удосконалити діагностику та схеми лікування і профілактики ентеритів вірусної етіології. Вивчити макро та мікроскопічні особливості парво і коронавірусного ентериту у собак.
7199. Пріоритетний напрям	4
7191. Вид НДР (ДКР)	
9153. Очікувані результати	007 03
9155. Галузь застосування	ветеринарна медицина
9156. Експертний висновок	
ЗАКЛЮЧНІ ВІДОМОСТІ	
5634. Індекс УДК	619.591.434.636.7
5616. Коди тематичних рубрик	68.41.01
6111. Керівник юридичної особи	Скидан Олег Васильович (прізвище, ім'я по батькові)
6210. Науковий ступінь, вчене звання керівника юридичної особи	д.е.н., професор
Підпис	
6120. Керівник роботи	(1 - українською мовою, 2 - російською мовою, 3 - англійською мовою) (прізвище, ім'я по батькові)
1. Радзиховський Микола Леонідович 2. Радзиховский Николай Леонидович 3. Radsikhovskii N	
6228. Науковий ступінь, вчене звання керівника роботи	к.вет.н., доцент
Підпис	
6141. Відповідальний за підготовку реєстраційних документів	Телефон Радзиховський Микола Леонідович 067-7256507 (прізвище, ім'я по батькові)
Підпис	
6140. Керівник відділу УкрІНТЕІ	Юрчило Т.А. (прізвище, ім'я по батькові)
Підпис	
6142. Реєстратор	Радзиховська Н.М. (прізвище, ім'я по батькові)
Підпис	 М.П.

Реєстраційна картка НДР і ДКР (РК)

ДОВІДКА

Видана Радзиховському Миколі Леонідовичу в тому, що його дисертаційна робота на тему: «Патоморфологія, діагностика, лікування та профілактика ентеритів вірусної етіології у собак», складала частину (за 2015 – 2016 рр.) науково-дослідної роботи кафедри мікробіології, фармакології та епізоотології факультету ветеринарної медицини Житомирського національного агроекологічного університету: «Крайова епізоотологія, удосконалення діагностики і профілактики інфекційних хвороб тварин» (номер державної реєстрації 0115U006074)

Керівник теми,
доктор ветеринарних наук,
професор



О. Є. Галатюк

Реєстраційна картка НДР І ДКР (РК)

РЕЄСТРАЦІЙНА КАРТКА НДР І ДКР (РК)					
5436	Державний реєстраційний номер	0111U001477	5256	Особливі позначки	5
5517	Реєстраційний номер, що змінюється		7209	Статус виконавця	17
5418	№, дата супровідного листа	209/03/02/11			
7146	Підстави для проведення роботи НДР (ДКР)	43	7021	Шифр роботи	
7219	Державний реєстраційний номер НДР (ДКР) головного виконавця				
ВІДОМОСТІ ПРО ВИКОНАВЦЯ					
2457	Код за ЄДРПОУ (ідентифікаційний номер)	00493681			
2161	Повне найменування юридичної особи (або П.І.Б.)	1. Житомирський національний агроекологічний університет 2. Житомирський національний агроекологічний університет 3. Zhytomir National Agroecological University			
2158	Скорочене найменування юридичної особи	ЖНАРУ			
2655	Місцезнаходження	10008 м. Житомир, бульвар Старий, 7			
2934	Телефон / Факс	(0412) 374931			
2394	E-mail / WWW	ecos@academy.zit.ua			
1332	Відомча підпорядкованість	Міністерство аграрної політики України			
1133	Сектор науки	ВУЗ			
2142	Службові особи				
ВІДОМОСТІ ПРО ЗАМОВНИКА					
2458	Код за ЄДРПОУ (ідентифікаційний номер)	00493681			
2152	Повне найменування юридичної особи (або П.І.Б.)	Житомирський національний агроекологічний університет			
2656	Місцезнаходження	10008 м. Житомир, Старий бульвар, 7			
2935	Телефон / Факс	(0412) 374931			
2395	E-mail / WWW	ecos@academy.zit.ua			
ДЖЕРЕЛА, НАПРЯМИ ТА ОБСЯГИ ФІНАНСУВАННЯ НДР (ДКР)					
7700	КПКВК				
7201	Напрямок фінансування	202			
7023	Назва ДЦП				
7022	Код ДЦП				
Код джерела фінансування	Загальний обсяг фінансування тис. грн	у тому числі за роками			
		200-	200-	20--	20--
7704	50,00				
ТЕРМІНИ ВИКОНАННЯ РОБОТИ					
7350	Початок	03.11			
7352	Закінчення	12.15			
8036	Порядковий №, початок та закінчення етапу вид звітного документа з НДР (ДКР), назва етапу	1. 03.11; 2. 19.01. Крайова епізоціологія, вдосконалення моніторингу, профілактики та заходів боротьби з найбільш небезпечними заразливими хворобами тварин			

Реєстраційна картка НДР І ДКР (РК)

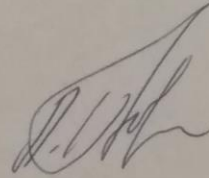
ОСНОВНІ ВІДОМОСТІ ПРО НДР (ДКР)				
№	Назва НДР (ДКР)	українською мовою	російською мовою	англійською мовою
1	Про національну систему моніторингу, профілактики та заходів боротьби з найбільш небезпечними заразними хворобами тварин			
2	Краткая информация о национальной системе мониторинга, профилактики и мероприятий по борьбе с наиболее опасными заразными болезнями животных			
3	Regional epidemiology, prevention of monitoring prophylaxis and measures of fight against the most dangerous zoonotic diseases of animals			
9126	Мета НДР (ДКР)	Удосконалити методи моніторингу та контролю найбільш небезпечних заразних хвороб тварин.		
9127	Задача НДР (ДКР)	Розроблено оптимальні схеми профілактики та методи оздоровлення найбільш		
9128	Сфера застосування	ветеринарія		
9129	Сектор діяльності			
ЗАКЛЮЧНІ ВІДОМОСТІ				
6039	Ідентифікатор	636 09 (477 41/42)		
6038	Код функціонального району	83 41 53		
6111	Керівник юридичної особи	Малиновський Антон Станіславович (прізвище, ім'я, по батькові)		
6210	Науковий співробітник (включаючи керівників юридичної особи)	д.е.н., професор		
6120	Керівник роботи	д.е.н., професор (прізвище, ім'я, по батькові)		
1	Галатюк Олександр Євстафійович			
2	Галатюк Олександр Євстафійович			
3	Oleksandr Ye. Galatjuk			
6026	Науковий співробітник (включаючи керівників юридичної особи)	д.е.н.		
6141	Відповідальний за підготовку реєстраційних документів	Галатюк Олександр Євстафійович (прізвище, ім'я, по батькові)		
6140	Керівник відділу експертизи	Піддєць Єліна Йосифівна (прізвище, ім'я, по батькові)		
6142	Реєстратор			

Реєстраційна картка НДР і ДКР (РК)

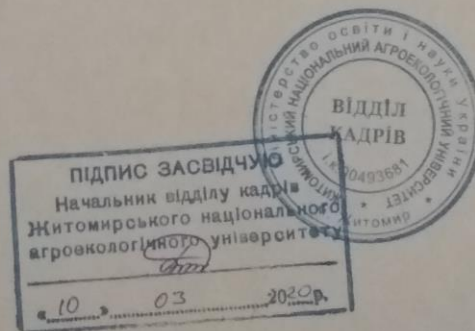
ДОВІДКА

Видана Радзиховському Миколі Леонідовичу в тому, що його дисертаційна робота на тему: «Патоморфологія, діагностика, лікування та профілактика ентеритів вірусної етіології у собак», виконано як складову частину наукових досліджень кафедри анатомії і гістології Житомирського національного університету за темою «Морфологія, імунологія коронавірусних інфекцій (інфекційний бронхіт курей, коронавірусний ентерит собак), їх діагностика та профілактика» (номер державної реєстрації 0118U003815, 2018 – 2029 рр.).

Керівник теми,
доктор ветеринарних наук,
професор



Л. П. Горальський



Реєстраційна картка НДР І ДКР (РК)

Реєстраційна картка НДДКР

Державний реєстраційний номер: 0118U003815

Відкрита

Дата реєстрації: 02-03-2018

Статус виконавця: 17 - головний виконавець



1. Загальні відомості

Підстава для проведення робіт: 34 - договір з МОН, іншими центральними органами виконавчої влади

КПКВК: 2201040

Напрямок фінансування: 2.2 - прикладні дослідження і розробки

Джерела фінансування

7713 - кошти держбюджету

Загальний обсяг фінансування (тис. грн.): 900

У тому числі по роках (тис. грн.):

Рік	Фінансування
2018	450
2019	450

2. Замовник

Назва організації: Міністерство освіти і науки України

Код ЄДРПОУ/ПН: 00027677

Адреса: пр. Перемоги, 10, м. Київ, Київ, 01135, Україна

Підпорядкованість: Кабінет Міністрів

Телефон: 0442878922

Телефон: 0442878922

E-mail: mon@mon.gov.ua

WWW: <https://mon.gov.ua/ua>

3. Виконавець

Назва організації: Житомирський національний агроекологічний університет

Код ЄДРПОУ/ПН: 00493681

Підпорядкованість: Міністерство освіти і науки України

Адреса: Старий бульвар, 7, м. Житомир, Житомирський р-н, Житомирська обл. 10008, Україна

Телефон: 04712111402

Телефон: 0412220417

Телефон: 0412228597

E-mail: znau_dilovod@ua

Реєстраційна картка НДР І ДКР (РК)

4. Співвиконавець

5. Науково-технічна робота

Назва роботи (укр)

Морфологія, імунологія коронавірусних інфекцій (інфекційний бронхіт курей, коронавірусний ентерит собак), їх діагностика та профілактика

Назва роботи (англ)

Morphology, immunology of coronavirus infections (chicken infectious bronchitis, coronavirus enteritis of dogs), their diagnosis and prevention

Мета роботи (укр)

1. Метою роботи є дослідження морфофункціонального стану органів курей за інфекційного бронхіту та при вакцинації. 2. Дослідити епізоотологічні, вірусологічні, патоморфологічні особливості коронавірусної інфекції собак та імунну відповідь організму на дію вакцин та при спонтанному і експериментальному зараженні.

Мета роботи (англ)

Пріоритетний напрям науково-технічної діяльності: Раціональне природокористування

Стратегічний пріоритетний напрям інноваційної діяльності:

Вид роботи: 48 - прикладна

Очікувані результати: Інший результат роботи

Галузь застосування: Сільське господарство, мисливство, лісове господарство

6. Етапи виконання

Номер	Початок	Закінчення	Звітний документ	Назва етапу
1	01.2018	12.2018	Проміжний звіт	Інфекційний бронхіт курей (патоморфологія та обґрунтування засобів профілактики)
2	01.2019	12.2019	Остаточний звіт	Патоморфологія, діагностика, лікування та профілактика ентеритів вірусної етіології у собак.

7. Індекс УДК тематичних рубрик НТІ

Коди тематичних рубрик НТІ: 68.41.21

Індекс УДК: 619:631.15, 619:616.2:636.5:616.34:636.7

Реєстраційна картка НДР І ДКР (РК)

ДОВІДКА

Видана Радзиховському Миколі Леонідовичу в тому, що його дисертаційна робота на тему: «Патоморфологія, діагностика, лікування та профілактика ентеритів вірусної етіології у собак», виконано як складову частину наукових досліджень кафедри анатомії і гістології Житомирського національного університету за темою «Розвиток, морфологія та гістохімія органів тварин у нормі та при патології» (номер державної реєстрації – 0113U000900 2013 – 2018 рр.).

Керівник теми,
доктор ветеринарних наук,
професор



Л. П. Горальський

Реєстраційна картка НДР І ДКР (РК)

РЕЄСТРАЦІЙНА КАРТКА НДР І ДКР (РК)

5436. Державний реєстраційний номер	0130 000400	5256. Особливі позначки	5
5517. Реєстраційний номер, що змінюється		7209. Статус виконавця	17
5418. №, дата супровідного листа	789 19.03.13		
7146. Підстави для проведення НДР (ДКР)	43	7021. Шифр НДР (ДКР)	
7210. Державний реєстраційний номер НДР (ДКР) головного виконавця			

ВІДОМОСТІ ПРО ВИКОНАВЦЯ

2457. Код за ЄДРПОУ (ідентифікаційний номер) 00493681

2151. Повне найменування юридичної особи (або П.І.Б.)

1. Житомирський національний агроекологічний університет

2. Житомирский национальный агроэкологический университет

3. Zhytomir National Agroecological University

2358. Скорочене найменування юридичної особи ЖНАЕУ

2655. Місцезнаходження 10008, м. Житомир, бульвар Старий, 7

2934. Телефон/Факс (0412) 37-49-31

2394. E-mail/WWW ecos@ecos.zhitomir.ua

1332. Відомча підпорядкованість Міністерство аграрної політики та продовольства України

1133. Сектор науки ВНЗ

2142. Співвиконавці 1. 2901006031 Сокульський Ігор Миколайович, м. Житомир, вул. Ватутіна 37, кв. 184

2. 2040714626 Гуральська Світлана Василівна, м. Житомир, вул. Будинок особового складу 1493, кор. 118

3. 3180919108 Колеснік Наталія Леонідівна, Житомирський р-н, с. Клітчин, вул. Бистрянська 42-А

ВІДОМОСТІ ПРО ЗАМОВНИКА

2458. Код за ЄДРПОУ (ідентифікаційний номер) 00493681

2152. Повне найменування юридичної особи (або П.І.Б.) Житомирський національний агроекологічний університет

2656. Місцезнаходження (місце проживання) 10008, м. Житомир, бульвар Старий, 7

2935. Телефон/Факс (0412) 37-49-31

2395. E-mail/WWW znau.edu.ua

ДЖЕРЕЛА, НАПРЯМИ ТА ОБСЯГИ ФІНАНСУВАННЯ НДР (ДКР)

7700. КПКВК

7201. Напрямок фінансування

7023. Назва ДЦП

7022. Код ДЦП

Код джерела фінансування	Загальний обсяг фінансування, тис. грн.	у тому числі за роками				
		20-	20-	20-	20-	20-
7706						

ТЕРМІНИ ВИКОНАННЯ РОБОТИ

7353. Початок 04.13

7362. Закінчення 04.18

9036. Порядковий №: початок та закінчення етапу; вид звітнього документа з НДР (ДКР); назва етапу

1. 04.13. 04.18. 91. „Розвиток, морфологія та гістохімія органів тварин у нормі та при патології”

Реєстраційна картка НДР і ДКР (РК)

ОСНОВНІ ВІДОМОСТІ ПРО НДР (ДКР)

9027. Назва НДР (ДКР) (1 - українською мовою, 2 - російською мовою, 3 - англійською мовою):

1. Розвиток, морфологія та гистохімія органів тварин у нормі та при патології
2. Развитие, морфология и гистохимия органов животных в норме и при патологии
3. Development, morphology and histochemistry organs of animals in normal and pathological

9126. Мета НДР (ДКР)

З'ясувати особливості розвитку, макро- та мікроскопічну будову органів і тканин у нормі, при патології та за впливу різноманітних чинників навколишнього середовища

7199. Пріоритетний напрям 03

7191. Вид НДР (ДКР) 48

9153. Очікувані результати 03

9155. Галузь застосування

ветеринарна медицина

9156. Експертний висновок

ЗАКЛЮЧНІ ВІДОМОСТІ

5634. Індекс УДК 619:636:504

5616. Коди тематичних рубрик 68-41

6111. Керівник юридичної особи

Микитюк Валерій Мар'янович

(прізвище, ім'я, по батькові)

6210. Науковий ступінь, вчене звання керівника юридичної особи

кандидат сільськогосподарських наук, професор

Підпис

6120. Керівник роботи

(1- українською мовою, 2- російською мовою, 3- англійською мовою)

(прізвище, ім'я, по батькові)

1. Горальський Леонід Петрович
2. Горальський Леонид Петрович
3. Goralskyi Leonid

6228. Науковий ступінь, вчене звання керівника роботи доктор ветеринарних наук, професор

Підпис

6141. Відповідальний за підготовку реєстраційних документів

Телефон

(прізвище, ім'я, по батькові)

Підпис

6140. Керівник відділу УкрІНТЕІ

(прізвище, ім'я, по батькові)

Підпис

6142. Реєстратор

(прізвище, ім'я, по батькові)

Підпис

**Паспорт на відповідність якості
перещеплювальної лінії культури клітин**

**НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ АГРАРНИХ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ**

Institute of Veterinary Medicine of the National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine

03151, м. Київ,

вул. Донецька, 30

Тел/факс 245-78-05

E-mail: ivm_naan@ukr.net



Donetska str. 30, Kiev

03151, Ukraine

Tel/fax 245-78-05

E-mail: ivm_naan@ukr.net

№ _____ від _____

ЗАТВЕРДЖУЮ

Заступник, директора ІВМ НААН

з наукової роботи

доктор ветеринарних наук

Ситюк М.П.



Паспорт якості перещеплю вальної лінії клітин

1. *Найменування лінії:* ВНК-21/13 "Baby Hamster Kidney"
2. *Шифр колекції* 11
3. *Видова належність:* клітини нирки новонародженого сірійського хом'ячка
4. *Історія одержання:*

У 1962 р І.А. Макферсон і М. Стокер отримали перещеплювальну лінію клітин ВНК-21 з нирок новонароджених сірійських хом'ячків

5. *Культуральні характеристики лінії:*

а) умови культивування:

культивують у поживному середовищі DMEM і 199 (1:1) з додаванням 5–10 % ембріональної сироватки крові великої рогатої худоби (ВРХ) при 37 °С; рН 7,0-7,2;

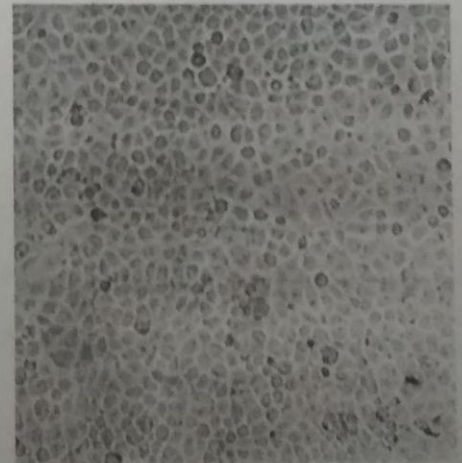
б) посівна доза: 70–110 тис. клітин в 1 см³;

в) спосіб культивування: моношаровий

г) тип росту: епітеліоподібний;

д) метод зняття та кратність розсіву:

для диспергування клітинного моношару при черговому пересіванні використовують суміш 0,02% Версену (75%) і 0,25% розчину трипсину (25%); при кратності розсіву 1:3–1:6 моношар утворюється на 2–3 добу вирощування.



моношар клітин (×56)

**Паспорт на відповідність якості
перещеплювальної лінії культури клітин**

6. Кріоконсервування клітин:

а) умови кріоконсервування: суміш поживних середовищ DMEM і 199 (1:1) (70%) ембріональна сироватка крові ВРХ (20%) та хімічно чистий диметилсульфоксид (ДМСО) (10%).

б) життєздатність після розморожування: життєздатність клітин на рівні 90–95% (фарбування три пановим синім); культура відновлює проліферативну активність через 2–3 пасажі.

в) пасаж, наявний у рідкому азоті: 12 пасаж з часу отримання.

7. Відомості щодо контамінантів культури:

а) бактерії: не виявлені.

б) гриби: не виявлені.

в) мікоплазми: не виявлені.

г) віруси: не виявлені.

8. Чутливість до вірусів:

Вірус сказу, простого герпесу, аденовіруси, реовіруси, вірус везикулярного стоматиту, ентеровіруси.

9. Мітотичний режим:

висока мітотична активність із максимальним піком на 2-у добу росту (50%); патологічні мітози не перевищують 20% від числа клітин, що діляться.

10. Морфологія:

клітина фібробластоподібна

11. Каріологічна характеристика:

модальний клас становлять клітини, які містять 36 хромосом (21 %).


12. Контроль видової ідентичності: цитогенетичний аналіз.

13. Область застосування:

ветеринарна медицина, вірусологія та біотехнологія.

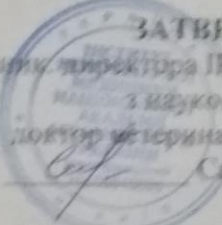
**Паспорт на відповідність якості
перещеплювальної лінії культури клітин**

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ АГРАРНИХ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ
Institute of Veterinary Medicine of the National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine
03151, м. Київ,
вул. Донецька, 30
Тел/факс 245-78-05
E-mail: ivm_naan@ukr.net



Donetska str. 30, Kiev
03151, Ukraine
Tel/fax 245-78-05
E-mail: ivm_naan@ukr.net

№ _____ від _____

ЗАТВЕРДЖУЮ
Заступник директора ІВМ НААН
з наукової роботи
доктор ветеринарних наук

Ситюк М.П.

Паспорт якості перещеплю вальної лінії клітин

- Найменування ліній:* RK-13
- Шифр колекції* 8
- Видова належність:* клітини нирки кроля
- Історія одержання:*
Lancet 1963; J. Pathol. Bacteriol. 1968; Annali Sclavo 1982.
- Культуральні характеристики лінії:*
 - умови культивування:*
культивують у поживному середовищі DMEM з додаванням 10 % ембріональної сироватки крові великої рогатої худоби (ВРХ) при 37 °С; рН 7,0-7,2;
 - посівна доза:* 90–110 тис. клітин в 1 см²;
 - спосіб культивування:* моношаровий
 - тип росту:* епітеліоїдний;
 - метод зняття та кратність розсіву:*
для диспергування клітинного моношару при черговому пересіванні використовують суміш 0,02% Версену (75%) і 0,25% розчину

моношар клітин (×56)

Паспорт на відповідність якості перещеплювальної лінії культури клітин

трипсину (25%); при кратності розсіву 1:2–1:6 моношар утворюється на 2–3 добу вирощування.

6. Кріоконсервування клітин:

а) умови кріоконсервування: суміш поживних середовищ DMEM (70%) ембріональна сироватка крові ВРХ (20%) та хімічно чистий діметилсульфоксид (ДМСО) (10%).

б) життєздатність після розморожування: життєздатність клітин на рівні 80–90% (фарбування три пановим синім); культура відновлює проліферативну активність через 3–4 пасажі.

в) пасаж, наявний у рідкому азоті: 11 пасаж з часу отримання.

7. Відомості щодо контамінантів культури:

а) бактерії: не виявлені.

б) гриби: не виявлені.

в) мікоплазми: не виявлені.

г) віруси: не виявлені.

8. Чутливість до вірусів:

герпесу, поксвірусу кролів, аденовірус приматів, віспи корів, везикулярному стоматиту, ринотрахеїт ВРХ

9. Мітотичний режим:

висока мітотична активність із максимальним піком на 2-у добу росту (50%); патологічні мітози не перевищують 20% від числа клітин, що діляться.

10. Морфологія:

клітина епітеліоподібна

11. Каріологічна характеристика:

модальний клас становлять клітини, які містять 66 хромосом (26 %).

12. Контроль видової ідентичності: цитогенетичний аналіз.

13. Область застосування:

ветеринарна медицина, вірусологія та біотехнологія.

**Паспорт на відповідність якості
перещеплювальної лінії культури клітин**

**НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ АГРАРНИХ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ**

Institute of Veterinary Medicine of the National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine

03151, м. Київ,

вул. Донецька, 30

Тел/факс 245-78-05

E-mail: ivm_naan@ukr.net



Donetska str. 30, Kiev

03151, Ukraine

Tel/fax 245-78-05

E-mail: ivm_naan@ukr.net

№ _____ від _____

ЗАТВЕРДЖУЮ
Заступник директора ІВМ НААН
з наукової роботи
доктор ветеринарних наук
Ситюк М.П.



Паспорт якості перещеплю вальної лінії клітин

1. *Найменування лінії:* СПЕВ (SPEV)
2. *Шифр колекції* 9
3. *Видова належність:* клітини нирки свині
4. *Історія одержання:*

перещеплювальна лінія клітин СПЕВ була отримана в 1959 р в Московському науково-дослідному інституті вірусних препаратів з нирки ембріона свині.

5. Культуральні характеристики лінії:

а) умови культивування:

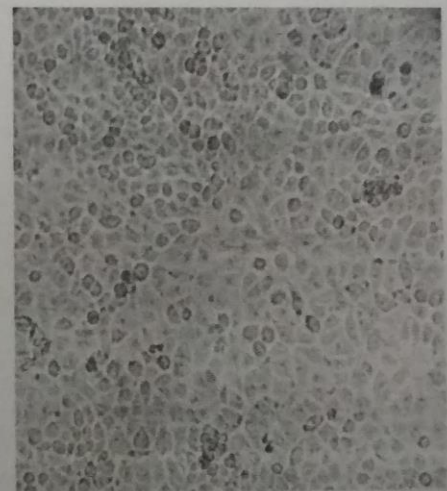
культивують у поживному середовищі DMEM і 199 (1:1) з додаванням 5–10 % ембріональної сироватки крові великої рогатої худоби (ВРХ) при 37 °С; рН 7,0-7,2;

б) посівна доза: 60–90 тис. клітин в 1 см³;

в) спосіб культивування: моношаровий

г) тип росту: епітеліоподібний;

д) метод зняття та кратність розсіву: для диспергування клітинного моношару при черговому пересіванні використовують суміш 0,02% Версену



моношар клітин (×56)

Паспорт на відповідність якості перещеплювальної лінії культури клітин

(90%) і 0,25% розчину трипсину (10%); при кратності розсіву 1:3–1:10 моношар утворюється на 2–3 добу вирощування.

6. Кріоконсервування клітин:

а) умови кріоконсервування: суміш поживних середовищ DMEM і 199 (1:1) (70%) ембріональна сироватка крові ВРХ (20%) та хімічно чистий диметилсульфоксид (ДМСО) (10%).

б) життєздатність після розморожування: життєздатність клітин на рівні 90–95% (фарбування три пановим синім); культура відновлює проліферативну активність через 2–3 пасажі.

в) пасаж, наявний у рідкому азоті: 10 пасаж з часу отримання.

7. Відомості щодо контамінантів культури:

а) бактерії: не виявлені.

б) гриби: не виявлені.

в) мікоплазми: не виявлені.

г) віруси: не виявлені.

8. Чутливість до вірусів:

ентеровірусів свиней, грипу, ротавірусів, корона вірусів, енцефаломіокардиту свиней, ящуру, арбовірусів, ринопневмонії коней

9. Мітотичний режим:

висока мітотична активність із максимальним піком на 2-у добу росту (40%); патологічні мітози не перевищують 20% від числа клітин, що діляться.

10. Морфологія:

культура складається із крупних епітеліоподібних клітин з округлими ядрами, що мають декілька ядерць різноманітної форми.

11. Каріологічна характеристика:

герероїдна популяція з набором хромосом від 26 до 94.

12. Контроль видової ідентичності: цитогенетичний аналіз.

13. Область застосування:

ветеринарна медицина, вірусологія та біотехнологія.

**Сертифікат відповідності якості
Діагностичних наборів ІХА (тест системи)**

ORIGINAL

CERTIFICATE OF FREE SALES

Manufacturer and owner of VetExpert brand: Vet Planet Ltd.
Brukowa 36/2
05-092 Łomianki
Poland

Veterinary Identity number : αPL1432010p

Importing (Requesting) authority : All countries

Applies to products:

Name of product
VetExpert Rapid CPV Ag Test Kit
VetExpert Rapid CHW Ag Test Kit
VetExpert Rapid CDV Ag Test Kit
VetExpert Rapid CCV Ag Test Kit
VetExpert Rapid CCV-CPV Ag Test Kit
VetExpert Rapid Rota Ag Test Kit
VetExpert B. brucella Ab Test Kit
VetExpert B. brucella Ab ELISA
VetExpert Rapid C. brucella Ab Test Kit
VetExpert B. brucella Ab ELISA 2.0
VetExpert Rapid Giardia Ag Test Kit
VetExpert Rapid FIV Ab/FeLV Ag Test Kit
VetExpert Rapid CIV A Type Ag Test Kit
VetExpert Rapid CPV-CCV-Giardia Ag Test Kit
VetExpert Rapid Leishmania Ab Test Kit
VetExpert Rapid E. canis Ab Test Kit
VetExpert Rapid CDV/CIV Ag Test Kit
VetExpert PRRS Ab ELISA 4.0
VetExpert Rapid FeLV Ag Test Kit
VetExpert Rapid FIV Ab Test Kit
VetExpert Rapid FIV Ab/FeLV Ag Test Kit
VetExpert Rapid FPV Ag Test Kit
VetExpert Rapid FCoV Ab Test Kit
VetExpert Rapid Lyme Ab Test Kit
VetExpert Rapid Anaplasma Ab Test Kit
VetExpert Rapid Total IgE Test Kit
VetExpert Rapid Feline Toxoplasma Ab Test Kit
VetExpert Rapid E.Canis/Anaplasma Ab Test Kit
VetExpert Rapid CaniV-4 Test Kit
VetExpert Rapid FHW Ab Test Kit

This is to certify that:

1. Products listed above are approved for sale and trading in Poland and other countries of the European Union and can be exported to the third countries.
2. The Free Sale Certificate has been drawn up at the request of the person representing the company Vet Planet Ltd. in order to be presented to appropriate authorities of the third country.



Ref. No. 3370/18
CERTIFIED
by the Polish Chamber of Foreign Trade
Warszawa 03.08.2018
GŁÓWNY SPECJALISTA
Anna Białobrzaska

Stanisław Chrzanowski
URZĘDOWY LEKARZ WETERYNARII
Powiatowy Inspektorat Weterynarii
05-850 Ożarów Maz. ul. Poznańska 129/133

143216

Vet Planet Sp. z o.o.

Anna Ruckowska
CZŁONEK ZARZĄDU

Vet Planet Sp. z o.o.
ul. Brukowa 36 lok. 2, 05-092 Łomianki
NIP: 527-25-81-427 KRS: 0000310213
REGON: 141519595

**Сертифікат відповідності якості
Діагностичних наборів ІХА (тест системи)**



*Animal and Plant Quarantine Agency
175 Anyang-ro, Manan-gu, Anyang-si, Gyeonggi-do, Republic of Korea
Tel. 82-31-467-4308, Fax: 82-31-467-4321*

CERTIFICATE OF FREE SALES

Animal and Plant Quarantine Agency certifies that the following product is manufactured and can be sold in foreign markets according to the Pharmaceutical Affairs Law of the Republic of Korea.

Product-licence holder (name and address) : BioNote, Inc.

22 Samsung1ro 4-gil, Hwaseong-si, Gyeonggi-do
Republic of Korea 445-170

Register number : 133

Importing (Requesting) authority : All countries

Products

Name of product	Dosage form	No. and date of product-licence
Anigen Rapid CPV Ag Test Kit	In Vitro Diagnostics	133-1, as of December 9, 2003
Anigen Rapid Canine Heartworm Ag Test Kit 2.0	In Vitro Diagnostics	133-2, as of December 9, 2003
Anigen Rapid CDV Ag Test Kit	In Vitro Diagnostics	133-3, as of April 6, 2004
Anigen Rapid CDV Ab Test Kit	In Vitro Diagnostics	133-4, as of July 23, 2004
Anigen Rapid CPV Ab Test Kit	In Vitro Diagnostics	133-5, as of July 23, 2004
Anigen Rapid Avian Influenza Virus Ag Test Kit	In Vitro Diagnostics	133-6, as of December 13, 2004
Anigen Rapid CCV Ag Test Kit	In Vitro Diagnostics	133-7, as of December 31, 2004
Anigen Rapid PED Ag Test Kit	In Vitro Diagnostics	133-8, as of January 21, 2005
Anigen Rapid CCV/CPV Ag Test Kit	In Vitro Diagnostics	133-9, as of March 15, 2005
Anigen Rapid Bovine TB Ab Test Kit	In Vitro Diagnostics	133-10, as of August 8, 2005
Anigen Rapid Rota Ag Test Kit	In Vitro Diagnostics	133-11, as of August 12, 2005
Anigen Rapid Rabies Ag Test Kit	In Vitro Diagnostics	133-12, as of August 12, 2005
Anigen Rapid B.brucella Ab Test Kit	In Vitro Diagnostics	133-13, as of September 6, 2005
AniGen B.brucella Ab ELISA	In Vitro Diagnostics	133-14, as of September 6, 2005
Anigen Rapid C.brucella Ab Test Kit	In Vitro Diagnostics	133-15, as of September 6, 2005
Anigen Rapid PED Ag/Rota Ag Test Kit	In Vitro Diagnostics	133-16, as of September 21, 2005
Anigen Rapid H5 Avian Influenza Virus Ag Test Kit	In Vitro Diagnostics	133-17, as of December 13, 2005
Anigen Rapid AIV Ag/H5 AIV Ag Test Kit	In Vitro Diagnostics	133-18, as of November 2, 2006
AniGen AIV Ab ELISA	In Vitro Diagnostics	133-19, as of May 14, 2007
AniGen FMDV NSP Ab ELISA	In Vitro Diagnostics	133-20, as of August 20, 2007
Anigen Rapid IBDV Ag Test Kit	In Vitro Diagnostics	133-21, as of November 11, 2008
AniGen Bovine brucella Ab ELISA 2.0	In Vitro Diagnostics	133-23, as of December 1, 2008
AniGen BTB Ab ELISA 2.0	In Vitro Diagnostics	133-24, as of January 19, 2009
Anigen Rapid Giardia Ag Test Kit	In Vitro Diagnostics	133-25, as of March 30, 2009
AniGen NDV Velo Ab ELISA	In Vitro Diagnostics	133-26, as of April 13, 2008
Anigen Rapid FIV-FeLV Ag Test Kit	In Vitro Diagnostics	133-27, as of April 13, 2009

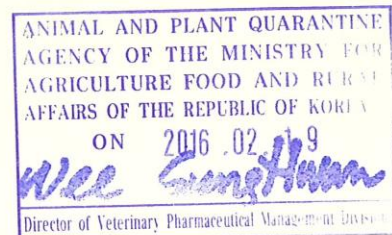
Сертифікат відповідності якості Діагностичних наборів ІХА (тест системи)



Animal and Plant Quarantine Agency
175 Anyang-Ro, Manan-Gu, Anyang-Si, Gyeonggi-Do, Republic of Korea
Tel: 82-31-467-4308, Fax: 82-31-467-4391

Anigen Rapid CIV A Type Ag Test Kit	In Vitro Diagnostics	133-28, as of August 19, 2009
Anigen Rapid CPV-CCV-Giardia Ag Test Kit	In Vitro Diagnostics	133-29, as of August 25, 2009
Anigen Rapid Leishmania Ab Test Kit	In Vitro Diagnostics	133-30, as of September 1, 2009
Anigen Rapid E.canis Ab Test Kit	In Vitro Diagnostics	133-31, as of September 1, 2009
Anigen Rapid NDV Ag Test Kit	In Vitro Diagnostics	133-32, as of September 1, 2009
Anigen Rapid AIV/NDV Ag Test Kit	In Vitro Diagnostics	133-33, as of September 1, 2009
Anigen Rapid AIV Ab Test Kit	In Vitro Diagnostics	133-34, as of October 1, 2009
Anigen Rapid Canine Influenza Ab Test Kit	In Vitro Diagnostics	133-35, as of March 9, 2010
Anigen Rapid H9 AIV Ag Test Kit	In Vitro Diagnostics	133-36, as of April 13, 2010
Anigen Rapid CDV/CIV Ag Test Kit	In Vitro Diagnostics	133-37, as of August 27, 2010
AniGen PRRS Ab ELISA 4.0	In Vitro Diagnostics	133-38, as of October 4, 2010
Anigen Rapid FeLV Ag Test Kit	In Vitro Diagnostics	133-39, as of April 12, 2011
Anigen Rapid FIV Ab Test Kit	In Vitro Diagnostics	133-40, as of April 12, 2011
Anigen Rapid FeLV Ag/FIV Ab Test Kit	In Vitro Diagnostics	133-41, as of April 18, 2011
AniGen TB-feron ELISA	In Vitro Diagnostics	133-42, as of January 1, 2012
Anigen Rapid Bovi-D5 Ag Test Kit	In Vitro Diagnostics	133-43, as of June 29, 2012
Anigen Rapid CPV Ab Test Kit 2.0	In Vitro Diagnostics	133-44, as of August 13, 2012
Anigen Rapid CDV Ab Test Kit 2.0	In Vitro Diagnostics	133-45, as of August 13, 2012
Anigen Rapid IBV Ag Test Kit	In Vitro Diagnostics	133-46, as of August 30, 2012
AniGen IBV Ab ELISA	In Vitro Diagnostics	133-47, as of December 10, 2012
AniGen CSFV Ab ELISA	In Vitro Diagnostics	133-48, as of December 20, 2012
AniGen NDV Ab ELISA	In Vitro Diagnostics	133-49, as of March 12, 2013
Anigen Rapid TGE Ag Test Kit	In Vitro Diagnostics	133-50, as of March 18, 2013
Anigen Rapid FPV Ag Test Kit	In Vitro Diagnostics	133-51, as of April 30, 2013
Anigen Rapid FCoV Ab Test Kit	In Vitro Diagnostics	133-52, as of May 27, 2013
Anigen IBDV Ab ELISA	In Vitro Diagnostics	133-53, as of September 3, 2013
Anigen Rapid Lyme Ab Test Kit	In Vitro Diagnostics	133-54, as of November 18, 2013
Anigen Rapid Anaplasma Ab Test Kit	In Vitro Diagnostics	133-55, as of November 18, 2013
Anigen Rapid Total IgE Test Kit	In Vitro Diagnostics	133-56, as of December 09, 2013
Anigen Rapid Feline Toxoplasma Ab Test Kit	In Vitro Diagnostics	133-57, as of December 09, 2013
Anigen Rapid E.canis/Anaplasma Ab Test Kit	In Vitro Diagnostics	133-58, as of January 23, 2014
Anigen Rapid CaniV-4 Test Kit	In Vitro Diagnostics	133-59, as of February 21, 2014
Anigen Rapid MERS CoV Ag Test Kit	In Vitro Diagnostics	133-60, as of December 26, 2014
Anigen PCV2 Ab ELISA	In Vitro Diagnostics	133-61, as of March 23, 2015
Anigen FMDV NSP Ab ELISA 2.0	In Vitro Diagnostics	133-62, as of July 24, 2015
Anigen Rapid FHW Ab Test kit	In Vitro Diagnostics	133-63, as of July 24, 2015

ngHuan



АКТ**ДОСЛІДЖЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ ЗАСТОСУВАННЯ БІОПРЕПАРАТУ
НА СОБАКАХ РІЗНИХ ВІКОВИХ ГРУП****ЗАТВЕРДЖУЮ**

Директор ГП «Багіра»
(клініка ветеринарної медицини «Багіра»)
 О. А. Нікітін
13 червня 2019 р.

АКТ**ДОСЛІДЖЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ ЗАСТОСУВАННЯ
БІОПРЕПАРАТУ НА СОБАКАХ РІЗНИХ ВІКОВИХ ГРУП**

від 13 червня 2019 р.

Нами, директор ГП «Багіра» (клініка ветеринарної медицини «Багіра») канд. вет. наук Нікітін О. А., канд. вет. наук доцент кафедри мікробіології, фармакології та епізоотології Житомирського національного агроекологічного університету (ЖНАЕУ) Радзиховським М. Л., науковим співробітником лабораторії генно-інженерних біотехнологій, відділу генних технологій ДУ «Інститут генетичної та регенеративної медицини НАМН України», канд. біол. наук Горбатюк О. Б. та завідувач Національного центру штамів мікроорганізмів ДНКІБШМ канд. вет. наук Напненко О. О. були проведені дослідження щодо визначення ефективності власне отриманого імуноглобуліну КПВІ (концентрований противірусний імуноглобулін) який був виготовлений 2.11.2018. Ефективність визначали за наступними показниками:

- стан здоров'я тварин впродовж 4 тижнів після застосування біопрепарату. Враховуючи відсутність ознак захворювання тварин на шлунково-кишкові та респіраторні захворювання;
- збереженість тварин. Враховували відсутність випадків загибелі тварин. Строк спостереження – 4 тижня;
- контролю якості очищення отриманого біопрепарату
- показник стабільності і термін придатності

Для отримання лікувального глобуліна використовували афінну хроматографію з використанням сорбентів на основі іммобілізованих імуноглобулінозв'язувальних білків, зокрема, рекомбінантного білка А *Staphylococcus aureus*

Виділення імуноглобуліну класу G (*Ig G*) собак, специфічних до парвовірусної інфекції проводили осадженням $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ із розрахунку 35 – 50 г на 100 мл сироватки крові. Нами були використані сироватки крові домашніх собак породи Німецька вівчарка віком 3 – 5 років та безпородних ідентичного віку (рис. 1).

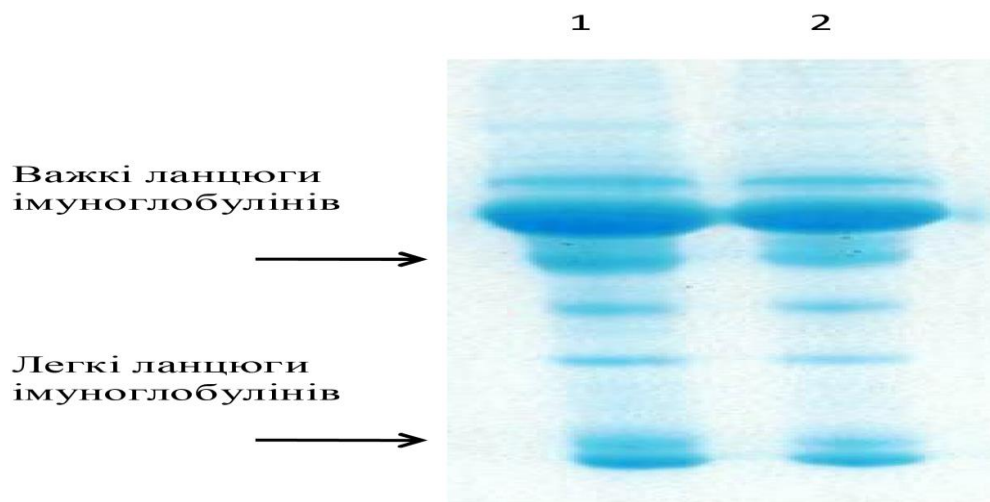


Рис. 1. Електрофореграма фракцій антитіл, очищених на біоафінному сорбенті: 1 – сироватка крові домашніх собак породи Німецька вівчарка віком 3 – 5 років; 2 – сироватка крові безпородних вуличних собак віком 3 – 5 років.

Висолювання відбувалося впродовж ночі за температури $t +4^{\circ}\text{C}$. Осад відділяли центрифугуванням при 10000 g впродовж 20 хв. Далі одержаний осад розчиняли в ФСБ (фосфатно-сольовий буфер) – 0,14 М NaCl; 2,7 mM KCl; 10 mM Na_2HPO_4 ; 1,8 mM KH_2PO_4 , рН 7,4, фільтрували через мембранний фільтр з розміром пор 0,45 мкм, діалізували та наносили на сорбент з іммобілізованим білком А *Staphylococcus aureus*. Потім проводили очищення імуноглобулінів: на хроматографічну колонку з 1 мл (зрівноваженого буфером *PBS*) біоафінного сорбенту нашаровували розведену буфером *PBS* дослідну сироватку крові собак.

Додаток С (3)

Чистоту елюйованих антитіл аналізували методом електрофорезу в 12 – 15 % поліакриламідному гелі з 0,1 % додецилсульфатом натрію (ДСН-ПААГ). Оцінку чистоти та кількості виділених *Ig G* собаки проводили шляхом денситометрії електрофореграм (рис. 2).

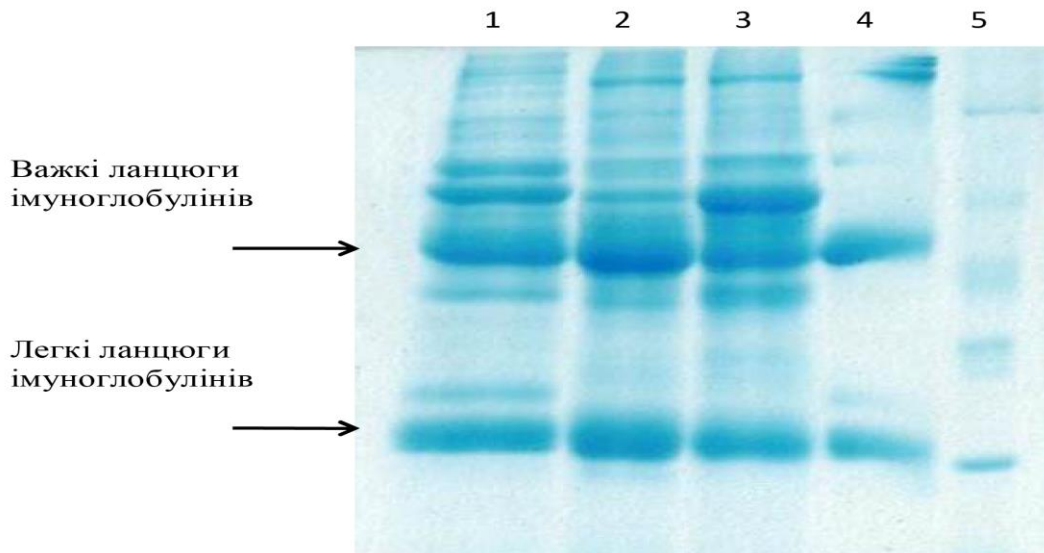


Рис. 2 Електрофореграма фракцій антитіл очищених на біоафінному сорбенті: 1 – фракція *Ig G* собаки, отримана шляхом висолювання сульфатом амонію; 2 – лікувальний глобулін Глобкан – 5; 3 – полівалентна сироватка Гіскан – 5; 4 – фракція *Ig G* собаки, отримана шляхом очищення на сорбенті з іммобілізованим білком А *Staphylococcus aureus*; 5 – білки-маркери молекулярної маси

Для контролю якості очищення дослідних сироваток використовували існуючі на ветеринарному ринку біопрепарати, а саме сироватку полівалентну проти вірусних хвороб собак (чума м'ясоїдних, парвовірусний ентерит, коронавірусний ентерит, аденовірусна інфекція першого та другого типу), Гіскан – 5 та імуноглобулін полівалентний проти вірусних хвороб собак (чума м'ясоїдних, парвовірусний ентерит, коронавірусний ентерит, аденовірусна інфекція першого та другого типу) Глобкан – 5.

Виявлено, що препарат *Ig G* собаки, отриманий висолюванням сульфатом амонію за чистотою ~ 70 % та кількісним умістом загального імуноглобуліну був на одному рівні з комерційно доступними препаратами Глобкан-5 та Гіскан-5 (див. рис. 2). Застосування афінної очистки на сорбенті з іммобілізованим білком А *Staphylococcus aureus* забезпечило отримання

Додаток С (4)

фракції тотальних *Ig G* собаки з чистотою близько 90 %, що на сьогодні є кращим, ніж у існуючих на ринку біопрепаратах (див. рис. 2).

Необхідно зазначити, що метод афінної хроматографії щодо концентрування і очистки можна застосовувати для отримання специфічної сироватки, яка може бути використана як компонент імунохімічного аналізу у імуноблотингу. Цей метод діагностики все більше зазнає розповсюдження на сьогодні у світі за рахунок специфічності і чутливості на рівні – 99 – 100 % та можливістю визначати антиген або антитіла у будь-якому біологічному середовищі організму з великою вірогідністю.

Також ми провели дослідження щодо визначення можливості використання вищезгаданих методів для отримання концентрування та очищення імуноглобулінів *G* із сироватки крові собак (табл. 1).

Таблиця 1

Вміст *Ig G* в дослідному матеріалі (досліджено у ІФА)

Нативний зразок (сироватка), Од/мл	Після концентрування сульфатом амонію (сироватка), Од/мл	Очищення на афінному сорбенті, Од/мл	Повторне концентрування сульфатом амонію, Од/мл
24,22	29,699	-	-
15,262	21,468	11,855	69,954
16,150	22,771		
16,475	23,529	10,949	65,256
14,388	19,550		

Аналізуючи результати (див. табл. 1) визначили, що концентрування сульфатом амонію збільшує вміст *Ig G* у середньому на ~ 30 %, при цьому значним був рівень насиченості різноманітними білковими фракціями (див. рис. 2.). Тому проводили очищення афінним сорбентом і отримали позитивний результат очистки ~ 90 %, але низький вміст *Ig G* ~ 11 Од/мл. Надалі дослідну очищену сироватку повторно концентрували сульфатом амонію, результат зростання вмісту імуноглобулінів класу *G* було майже в ~ 4 рази більшим

Додаток С (5)

порівняно з початковою пробою і в ~ 3 рази – порівняно з першим концентруванням. Таким чином підводячи підсумок отримано високоочищену пробу, більше 90 %, сконцентровану, майже в 4 рази сироватку з імуноглобулінами класу *G* (*Ig G*). Важливо зазначити, що дослідний імуноглобулін перш за все отримано від гомогенних тварин. Це знижує розвиток імунного конфлікту, який спостерігаються у разі використання комерційних сироваток та імуноглобулінів отриманих від ВРХ і коней. По – друге, рівень очистки становить близько 90 %, тоді як у існуючих комерційних біопрепаратів – на рівні 70 %. Отже, враховуючи вищенаведені результати ми запропонували отримані імуноглобуліни використовувати для специфічного лікування.

Наступним етапом було проведення експерименту щодо створення специфічної сироватки з високим умістом антитіл, придатної для удосконалення діагностики та можливості корекції лікування шляхом використання специфічного імуноглобуліну. Встановивши, що найбільша концентрація імуноглобуліну класу *G*, була на 21 добу після вакцинації – $340,1 \pm 22,3$ Од/мл. (див. табл. 2), саме тому в такий термін відібрано не стабілізовану кров і отримано сироватку для подальшої очистки та концентрації. Виділення імуноглобуліну класу *G* (*Ig G*), його очищення і регулювання концентрації проводили згідно з методикою описаною у підрозділі 3.9. Отриманому імуноглобуліну присвоїли робочу назву КПВІ (концентрований противірусний імуноглобулін). Надалі провели клінічні дослідження на безпечність та не токсичність. Експериментальні клінічні дослідження проводили на цільових тваринах – собаках (n-10) породи Лабрадор та Німецька вівчарка віком від 3 до 5 років. Враховуючи вищенаведені дані щодо електрофореграми фракцій антитіл на наявність супутніх білків, Глобкан-5 є більш «чистим», ніж Гіскан-5, тому для тварин контрольної групи ми обрали саме його. Також слід врахувати, що Гіскан-5 – це лікувальна сироватка, а Глобкан-5 – лікувальний глобулін, тому для

«чистоти» експерименту ми порівнювали отриманий нами специфічний глобулін з існуючим на ринку. Клінічний експеримент проводили згідно з існуючими подібними науковими публікаціями та міжнародними правилами щодо захисту тварин.

Тварини були розділені на дві дослідні групи по 5 собак у кожній. Перша дослідна (контрольна) група – собакам вводили Глобкан-5, друга дослідна (експериментальна) група – собакам вводили КПВІ (концентрований противірусний імуноглобулін). У дослідженні використовували дорослих собак вагою більше 20 кг. Згідно із діючою інструкцією Глобкан-5, з профілактичною метою, вводили таким тваринам внутрішньом'язово в дозі 4,0 см³ однократно. У зв'язку з тим, що фабричний глобулін може зумовлювати побічну дію у вигляді гіпертермії і алергічної реакції, його передбачено застосовувати з антигістамінними препаратами. У процесі нашого експерименту додаткові фармацевтичні препарати могли змінити хід і результат досліджень, тому було запропоновано застосовувати обидва препарати (дослідний і контрольний) в дозі 2,0 см³, але з повторним введенням через 24 години.

Після дворазового введення фабричного і дослідного глобуліну, тварини перебували під постійним наглядом, який включав огляд та термометрію. Впродовж усього часу, 21 добу, у жодної з дослідних собак не було виявлено хоча б мінімальних відхилень від фізіологічного стану. Такий результат свідчить про цілковиту безпечність отриманого препарату.

Важливим показником якості лікарських засобів є стабільність і термін придатності, тобто час, протягом якого не спостерігають негативних змін фізико-хімічних, фармакологічних і споживчих характеристик. Стабільність отриманого нами специфічного глобуліну визначали шляхом довготривалого зберігання за різних температурних режимів упродовж 6 місяців та органолептичного контролю. Визначали концентрацію імуноглобуліну класу G у початковому зразку, яка становила $825,1 \pm 14,2$ Од/мл., надалі розділили на 2 рівних проби і помістили першу в холодильник за температури $t = +4$ °С,

а другу заморозили і зберігали за $t = -24\text{ }^{\circ}\text{C}$. Через 6 місяців проби під час органолептичного огляду були без змін щодо прозорості та кольору, а на кількісний вміст імуноглобуліну класу G досліджено у ІФА. За температури $t = +4\text{ }^{\circ}\text{C}$ через 6 місяців зберігання вміст імуноглобуліну класу G становив $682,9 \pm 12,3$ Од/мл., а за $t = -24\text{ }^{\circ}\text{C}$ через 6 місяців зберігання він складав $775,81 \pm 12,7$ Од/мл. Встановлено достатню стабільність під час зберігання отриманого нами концентрованого очищеного специфічного імуноглобуліну КПВІ за різних температурних режимів.

Висновок

Отже, аналізуючи наведену вище інформацію, визначили високу стабільність препарату КПВІ, безпечність і не токсичність, а враховуючи те, що цей глобулін отриманий від гомогенних тварин, це практично зводить нанівець алергічну реакцію. Також слід зазначити вищий ступінь очистки за отримання препарату (див. рис. 2) і більший вміст антитіл за рахунок подвійного концентрування (див. табл. 1), аніж у фабричного глобуліну. Отриманий нами специфічний імуноглобулін доцільно використовувати як специфічний метод у лікувально-профілактичних заходах.

Директор ПП «Багіра»

(клініка ветеринарної медицини «Багіра») _____ О. А. Нікітін

Доцент кафедри мікробіології,

фармакології та епізоотології ЖНАЕУ _____ М. Л. Радзиховський

Науковий співробітник лабораторії

генно-інженерних біотехнологій, відділу

генних технологій ДУ «Інститут генетичної

та регенеративної медицини НАМН України" _____ О. Б. Горбатюк

Завідувач Національного центру

штамів мікроорганізмів ДНКІБШМ _____ О. О. Напненко

Відзнака

