

**КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА**

ННЦ «Інститут біології та медицини»
Кафедра вірусології

Завідувач кафедри професор Ірина БУДЗАНІВСЬКА

Протокол № ____ засідання кафедри

від “ ____ ” _____ 2024 р.

**ДІАГНОСТИКА ВІРУСНИХ ХВОРОБ КОТІВ В КЛІНІЧНО-
ДІАГНОСТИЧНОМУ ЦЕНТРІ ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ
ДНІПРОВСЬКОГО ДЕРЖАВНОГО АГРАРНО-ЕКОНОМІЧНОГО
УНІВЕРСИТЕТУ**

Кваліфікаційна робота бакалавра
денної форми навчання
за спеціальністю 091 Біологія
Малоокова Костянтина
Владиславовича
Науковий керівник від кафедри
Кандидат біологічних наук, доцент
Харіна А.В.

Робота виконана базі кафедри інфекційних хвороб тварин Дніпровського
державного аграрно-економічного університету

під керівництвом кандидата ветеринарних наук, доцента Зажарського В.В.

Оцінка захисту роботи

Київ – 2024 р.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

- ГВК – 1 – герпесвірус кішок 1 серотипу, збудник ринотрахеїту кішок
- FeLV – *Felina leukaemia virus*, збудник лейкозу кішок
- КК – культура клітин
- ЛПО – ліпопротеїнова оболонка вірусу, дериват ЦПМ клітини
- ЦПМ – плазматична оболонка клітини (подвійний шар фосфоліпідів з протеїнами)
- ЦПД – патологічний вплив вірусу при репродукуванні в КК
- ЦПЕ – патологічний ефект дії вірусу при репродукуванні в КК
- ТЦД_{50/CM³} – 50 % тканьова цитопатична дія вірусу
- КС – клітинна стінка
- Реконвалесценти – перехворіли тварин, резервенти збудника і джерело інфекції
- РЗК – реакція фіксації комплексу
- РН – реакція нейтралізації
- РНГА (РПГА) – реакція непрямой або пасивної аглютинації
- ВНА – віруснейтралізуючи антитіла
- БПЛ – бета пропіолактон, хімічний інактивант
- ДІЧ – дефектна інтерферуюча частина віріону, стан в якому вірус нездатний до самостійної репродукції без віруса-хелпера у вигляді гібриду з ЛПО і нуклеокапсиду двох вірусів (в даному випадку FeLV & SMRV)
- ЕМ – електронна мікроскопія
- ELISA – sive ІФА
- ІФА – імуноферментний аналіз
- НАФ – неповний ад'ювант Фрейнда
- ГОА – гідроокисалюмінію (сорбент, ад'ювант, інактивант)
- ФА – формальдегід, хімічний інактивант, дезінфекуючий засіб
- год – година
- хв – хвилина

с – секунда

Ат – антитіла

Аг – антиген

С – комплемент

ІК – імунний комплекс

мкл – мікролітр

нм – нанометр

ЦНС – головний і спинний мозок

ШКТ – харчова трубка з шлунку і кишок

ВДШ – верхні дихальні шляхи

ХВДШ – хвороби верхніх дихальних шляхів

ЗМІСТ

ВСТУП	5
РОЗДІЛ 1. ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ЗБУДНИКІВ ВІРУСНИХ ХВОРОБ КОТІВ	6
1.1. Ринотрахеїт кішок	6
1.2. Герпесвірусна інфекція кішок	11
1.3. Лейкемія кішок.....	13
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ	23
2.1. Реакція зв'язування комплементу.....	23
2.2. Реакція непрямой (пасивної) аглютинації (РНГА)	25
2.3. Реакції дифузійної преципітації	26
2.4. Імуноферментний аналіз	27
2.5. Полімеразна ланцюгова реакція	28
2.6. Індикація тілець-включень	28
2.7. Біопроба	29
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ОБГОВОРЕННЯ	30
3.1. Діагностика етіофактору інфектопатології кішки «Лера»	30
3.2. Біотестування імунологічної реактивності.	37
3.3. Моніторингові дослідження розповсюдження герпесвірусної інфекції.	40
3.4. Діагностика вірусного лейкозу.....	41
3.5. Моніторингові дослідження епідемічної ситуації вогнища лейкозної інфектопатології.....	44
ПРОПОЗИЦІЇ	47
ВИСНОВКИ	48
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	49

ВСТУП

Вірусні зоонозні інфектопатології приносять велику санітарну шкоду здоров'ю і навіть життю домашніх улюбленців. Для кішок найбільшу небезпеку становлять збудники з родин герпес- і ретровірусів, які індукують важкі контагіозні інфекційні захворювання, які потребують складного терапевтичного втручання. Найкращим способом боротьби з цим вірусними агентами є своєчасна вакцинопрофілактика і суворе дотримання мір карантинування неімунних тварин.

Герпесвіруси дуже підступні вірусні паразити ссавців, тому що в стратегії виживання вірусної популяції закладений біомеханізм довготривалої персистенції збудника у внутрішньому середовищі макроорганізму в результаті антигенної мімікрії за рахунок циркуляції в міжклітинній рідині в клітинних вакуолях, які несуть поверхневі антигенні детермінанти специфічності головного комплексу гістосумісності клітин-господаря. РТК – досить поширена інфектопатологія, яка може привести до фатальних наслідків за некоректної імунобіологічної відповіді макроорганізму на вірусну агресію. Діагностика інформативна, але повільна і потребує диференціації від збудників, які викликають подібний симптомокомплекс патологічних змін.

Ретровіруси являються єдиними вірусами в біосфері з диплоїдним набором хромосом і облігатною стадією реплікації вірусу у вигляді інтеграції вірусного нуклеоїду в геном клітини-хазяїна. Віруси цієї родини володіють здатністю трансформувати нормальні клітини в злоякісні, і однією з поширених патологій кішок є лейкемія. Лейкемія кішок – це важка хронічна патологія, яку складно діагностувати на ранніх стадіях і яка має малоефективну терапію. Це контрольована інфекція, що потребує своєчасного щеплення до інфікування та ретельного карантинування неінфікованих кішок перед вакцинацією.

Метою роботи було проведення індикації та ідентифікації вірусних хвороб котів в клінічно-діагностичному центрі ветеринарної медицини.

РОЗДІЛ 1

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ЗБУДНИКІВ ВІРУСНИХ ХВОРОБ КОТІВ

1.1. Ринотрахеїт кішок

Ринотрахеїт кішок – це вірусний контагіозний зооноз кішок з ураженням органів дихання. Захворювання розповсюджено по всьому світі і перебігає з лихоманкою, ринітом, запаленням повік, бронхітом, трахеїтом і як ускладнення пневмонією з летальністю до 30 %. Зазвичай хвороба продовжується тиждень, але реконвалесценти довготривало, до 3-4 років можуть бути носіями вірусу і джерелом вірулентного, відселекціонованого імунобіологічною системою макроорганізму збудника інфектопатології [1, 12, 53].

Синоніми: РТК, герпес кішок, епідемічна вірусна кориза кішок, вірусний інфекційний риніт кішок, *Felina viral rhinotracheitis* (англ.), *Katzenschnupfen*, *Infektioser Katzenschnupfen*, *Katzenstaube* (нім.).

Епізоотії РТК носять сезонний характер і уражають 50-75 % чутливих тварин в літній період. Збудник хвороби герпесвірус кішок 1 типу (ГВК – 1). Вірус вперше виділили і встановили видову приналежність Кранделл і Маурер в 1957 р. в США. В державах Європи ГВК – 1 був ізольований Бюрке в 1963 р. В 1974 р. Кранделл описав асоційований з ВГВК – 1 вірусний агент подібний до цитомегаловірусу, який в інфікованих клітинах індукував кристалічні утворення [1, 5, 47].

Властивості збудника

Таксономія. ГВК – 1 відноситься до родини *Herpesviridae*, підродини *Alphaherpesvirinae*, роду *Varicellavirus*.

Архітектоніка. Форма віріону овальна, діаметр 151-225 нм. Вірус складний, тобто має ЛПО з виступами до 8 нм, дериват ядерної мембрани ураженої клітини, представлений подвійним ліпідним шаром з вірусспецифічними глікопротеїнами завтовшки 8-9 нм. Виступи або шипи виконують функцію білків розпізнавання і адсорбції на чутливих клітинах. Далі знаходиться шар елетронощільного аморфного рихлого тегументу з ламінарних протеїнів, їх налічується більш 40 структурних білків – мінорних (20-100 амінокислот) і мажорних (до 1000 амінокислотних остатків). Основна функція протеїнів тегменту – індукція і регуляція синтезу ранніх білків на стадії депротейнізації [2, 16, 30]. Всередині віріону розташований ікосаедральний капсид кубічної симетрії, в якому нараховують 162 капсомери, з яких 150 – гексамери а 12 – пентамери, і вони знаходяться на 12 вершинах ікосаедра. Діаметр капсиду – 50-60 нм, в якому знаходиться безперервний подвійний ланцюг ДНК з внутрішнім білком – геном вірусу. Геномна ДНК має плавучу щільність $1,709 \text{ г/см}^3$, що відповідає 48 % ГЦ пар нуклеотидів. Молекулярна маса ДНК $70-85 \times 10^6$ МД. Геном структурно поділений на фрагменти – короткого (18 % геному) і довгого (82 % генного матеріалу). В склад нуклеоїду герпесвірусу входить до 150×10^3 пар нуклеотидів подвійного ланцюгу геномної ДНК, що кодують до 80 протеїнів, структурних і неструктурних, в том числі вірусспецифічні ферменти. Віріон складається з 5-6 % ДНК, 70 % білків, 22 % ліпідів і 2-3 % вуглеводів [2, 16, 30].

Репродукція герпесвірусу відбувається в ядрі ураженої клітини, тобто це типовий ядерний вірус. Процес відтворення вірусного потомства перебігає за типовою схемою і продовжується 12 – 72 год з накопиченням кількох мільйонів сформованих нуклеокапсидів збудника. При брункуванні через ядерну мембрану нуклеокапсид одягається в модифіковані фрагменти мембрани, яка формує пеплос з глікопротеїновими виступами, в цитоплазмі клітини вірус транспортується до зовнішньої ЦПМ в мембранних везикулах або по мікротрубочкам. Вихід зрілих віріонів відбувається за допомогою екзоцитозу і не стикаючись з навколочлітинною рідиною збудник потрапляє в наступну

клітину макроорганізму в результаті сплавлення (розчинення) вірусної ЛПО і ЦПМ клітини. Така стратегія інфекціогенезу вірусу надає можливість збуднику уникати контакту з гуморальними і клітинними фактору імунної системи та зберігатись за рахунок антигенної мімікрії від цензорної функції за генетичним гомеостазом внутрішнього середовища макроорганізму, яку в першу чергу і виконують імунокомпетентні клітини [3, 32].

Культивування вірусу в штучних умовах. ГВК – 1 добре репродукується з вираженим ЦПД в КК ембріонів кошенят і КК нирок кішок. Патологічні зміни в інфікованих КК розвиваються через добу у вигляді синцитія з інтраядерними тільцями-включеннями і формуванням великих рефрактильних округлих перероджених клітин.

В КК з нирок, насінників та легень кішок збудник викликає локальні пошкодження клітин з деструкцією моношару клітин на четверту добу. Також ГВК – 1 добре репродукується в фібробластах ембріону кішок і КК нирки кошенят з накопиченням інфекційного титру до $7,5 \text{ ТЦД}_{50/\text{CM}^3}$ з формуванням характерних фокусних уражень.

Окрім культивування в КК типового хазяїна, збудник репродукується в КК ВРХ, людини і мавп з формуванням гігантських багатоядерних клітин і внутріклітинних тілець-включень, які добре виявляються за фарбування гематоксилін-еозином, що має діагностичне значення.

Також можливе культивування вірусу в КК природньо резистентних, тобто нечутливих макроорганізмів за технологією спеціальної превентивної обробки цих клітин, за умови подолання КС еукаріотичних організмів реципієнтних клітин. ГВК – 1 здатний адсорбуватись до рецепторів ЦПМ клітин легень людини після сенсibiliзації їх інактивованим вірусом Сендай з подальшою елюцією попередника. В таких КК відбувається синтез компонентів ГВК – 1 без формування інфекційного вірусу [4, 13, 48].

Резистентність вірусу в зовнішньому середовищі. В результаті того, що вірус оточений ззовні ЛПО – він проявляє високу чутливість до жиророзчинників, неіонногенних детергентів, хлороформу і окислювачам. За

нейтрального рН вірус втрачає інфекційність через 154 доби при 4° С, при кімнатній температурі – через місяць, в термостаті за 37-38° С – 36-48 год, при 56-58°С - декілька хв. При зниженні рН до 6,0 – девіталізація збудника настає через 170 діб, при рН до 5,0 – вірус гине через 38-39 діб, при рН до 4,0 – вірус нейтралізується через добу. В присутності 0,02 % формаліні вірус інактивується впродовж доби. Репродукція віруса блокується 5-бром-дезоксіуридіном. Етіловий спирт діє повільно. Сублімаційне висушування зберігає вірус довготривалий термін.

Епідеміологія інфектопатології. Джерелом вірусної інфекції є хворі кішки і реконвалесценти. Інфікування відбувається респіраторним шляхом. Хворіють кішки в будь-якому віці, захворюваність складає до 50-60 %, летальність – 30 %.

Інкубаційний період продовжується до тижня. За гострого перебігу інфекції розвивається ринотрахеїт з серозно-катаральним кон'юнктивітом, ринітом, слезотечею, відмовою від корму, пригніченням, незначною лихоманкою. Далі серозно-катаральний ексудат змінюється гнійний і загальний стан погіршується. За сприятливого перебігу хвороби видужання настає через два тижні. При несприятливому перебігу загальний стан погіршується, з'являється атонія кишечника, потужний запор, риніт переходить у гнійну форму з ускладненням у вигляді запальних процесів у ВДШ та запаленням альвеолярного епітелія і розвитком важкої бронхопневмонії, а серозно-катаральний кон'юнктивіт переростає в виразковий кератит, що може привести до прориву роговиці і більма. Можливі ураження ЦНС з тремором кінцівок, атаксією, манежними рухами, содомами. На тлі прогресуючих клінічних ознак в стані глибокого ступору і депресії настає загибель тварини [9, 11, 51].

Патогістологічні зміни фіксують в покривному епітелії ВДШ та бронхів і навіть мікробронхів. В уражених епітеліальних клітинах знаходять еозинофільні тільця-включення типу А Коудрі, що є діагностичною ознакою РТК.

В дихальних шляхах реконвалесцентів ГВК – 1 реєструється до двох місяців, при цьому зустрічається латентне вірусоносійство здоровими тваринами, що представляє епідеміологічну загрозу.

У кішок-реконвалесцентів внаслідок патогенезу інфектопатології розвивається потужна імунна відповідь і синтезуються ВНА, які можна ідентифікувати в РЗК і РН. В антигенному відношенні ГВК – 1 гомогенний і відрізняється від інших вірусів кішок, він не дає перехресних серологічних реакцій зі збудником чуми кішок і іншими герпесвірусами.

Лабораторна діагностика базується на ізоляції і ідентифікації збудника інструментальними вірусологічними методами в гострий період захворювання і ретроспективній серологічній діагностиці, заснованій на феномені приросту антитіл за двотижневий період спостереження.

Важливим діагностичним тестом на РТК є мікроскопія препаратів-соскобів з кон'юнктиви уражених очей, пофарбованих за методом Гімза. При цьому специфічних внутрішньоядерних включень в епітеліальних клітинах немає, на відміну від хламідіозу (пневмонія кішок), де хламідії викликають формування багаточисельних цитоплазматичних включень в епітеліальних клітинах в перші два тижні захворювання [6, 10, 33].

Для підтвердження діагнозу ставлять РН в КК з легень або нирки кошенят, використовуючи біофабричний вірус і інактивовану сироватку з ВНА. Також використовують дані збереження збудника за різних температур і рН. Завершує дослідження біопроба на кроликах, коли на рогівку ока наноситься і втирається ексудат з уражених очей хворої кішки. В результаті внесення ГВК – 1 на епітелій рогівки очей кролика починається запально-дегенеративний процес з формуванням виразки і більма.

Вацинологія. Реконвалесценти отримують недовготривалий імунітет з невисоким титром ВНА. При імуннопрофілактиці РТК використовують атенуйовані та інактивовані вакцини, а саме живу атенуйовану вакцину за пар'ентерального введення; живу ліофілізовану атенуйовану вакцину за

інтраназального введення; інактивовану ад'ювант вакцину за пар'ентерального введення.

Для атенуації вірулентних штамів ГВК – 1 вірус пасажують в КК нирки кошенят більше 50 пересівів за температури 31-33° С. Імунітет зберігається впродовж року.

Інактивацію ГВК – 1 в культуральній рідині проводять за допомогою БПЛ. Інактивовані вакцини треба вводити два рази з ад'ювантом. ВНА циркулюють впродовж 10-12 місяців у протективних титрах. Друга вакцинація індукує бустер-ефект і значно підвищує титр циркулюючих антитіл.

Розробляються рекомбінантні вакцини з використанням ГВК – 1 як вектора антигенних детермінант специфічності при імунопрофілактиці кішок проти ретровірусних інфекцій [6, 41].

1.2. Герпесвірусна інфекція кішок

Інфектопатологія кішок герпесвірусної етіології, яка входить до групи заразних хвороб, коли переважно уражаються слизові оболонки ВДШ, є широко поширеним інфекційним захворюванням, яке викликається вірусом герпесу (FHV-1) і характеризується переважно гострим перебігом і ураженням очей і органів дихання. Лікування інфекцій, викликаних FHV-1, є складним завданням. Противірусні препарати можуть бути дорогими, їх багатоступеневе застосування вимагає максимальної уваги фахівців і власників. Крім того, такі засоби можуть викликати у тварин різні клінічні реакції. Тому пошук нових і вдосконалення існуючих протоколів терапії респіраторних вірозів у кішок завжди є актуальним питанням для ветеринарних фахівців. За спостереженнями [1], захворюваність котів на ІРТ у місті Харків та регіонах Харківської області серед загально інфекційних хвороб у 2021-2022 роках становила 30,7%. Частіше хворіли кошенята в діапазоні від півроку до 12 місячного віку – 61,7% випадків. Захворюваність породистих кішок становила

56,2%, а безпородних кішок хворіли на рівні 43,8%. Герпесвірусна інфекція котів проявлялась сезонно – переважно влітку і восени – 55 зареєстрованих інфекцій (75,3%). Весною і взимку патологія зустрічалась тільки 18 разів, що складає 24,7% від загальної чисельності уражень. Вищу ефективність показала терапевтична схема із застосуванням специфічного препарату «Сат-протект-4», імуностимулятора «Анфлурон», антибіотика «Верафлокс» та використання методів фізіологічного спрямованого лікування симптомокомплексу захворювання і комплексного використання вітамінних препаратів марки «Вітамікс» [1].

Вчені визначили, чи індукує введення лізатів клітин котячої нирки Кранделла-Різа (CRFK) або вакцин проти котячого вірусного ринотрахеїту, каліцивірусу та панлейкопенії (вакцини FVRCP), які, ймовірно, містять білки клітин CRFK, індукує антитіла проти клітин CRFK або котячих ниркових клітин (FRC) лізати у котів. Для цього в досліді використали 14 восьми тижневих котів. До та після дослідження у кожної кішки брали зразки ниркової біопсії для гістологічної оцінки. Кожну з 4 вакцин FVRCP вводили 2 котам на тижнях 0, 3, 6 та 50. Між тижнями 0 та 50 ще 3 пари котів отримали 11 інокуляцій клітинного лізату CRFK підшкірно (10, 50 або 50 мкг, змішаного з галуном). Клініко-патологічні оцінки та ELISA для виявлення сироваткових антитіл проти клітин CRFK або лізатів FRC проводили з певними інтервалами. Спочатку у кішок не було антитіл проти клітин CRFK або лізатів FRC. Усі коти, яким вводили клітинний лізат CRFK, неодноразово мали виявлені антитіла проти клітин CRFK або лізатів FRC. З 6 кішок, вакцинованих парентерально, 5 мали виявлені антитіла проти лізату клітин CRFK принаймні один раз, але всі 6 мали виявлені антитіла проти лізату FRC кілька разів. Кішки, яким вводили інтраназальну-інтраокулярну вакцину, не виробляли виявлених антитіл проти будь-якого лізату. Важливих клініко-патологічних або гістологічних відхилень під час дослідження не виявлено. Висновки та клінічна значущість досліду: парентеральне введення вакцин, що містять віруси, ймовірно вирощені на клітинах CRFK, індукованих антитілами проти

клітин CRFK і лізатів FRC у котів. Під час 56-тижневого дослідження гіперсенсibiliзація клітинними білками CRFK не призвела до захворювання нирок у котів [7, 34].

1.3. Лейкемія кішок

Лейкоз кішок – це хронічна ретровірусна зоонозна інфекція кішок, яка перебігає з розвитком анемії, перитоніту, гломерулонефриту, фібросаркоми, ураження молочної залози.

Синоніми: лімфатична лейкемія, лейкоз, лімфосаркома, *Felina leukaemia* (англ.).

Збудником лейкозу кішок є онкогенний онкорнавірус з родини ретровіриде – *Felina leukaemia virus* (FeLV). Перші повідомлення за збудника лейкозу кішок надійшли від Джаретт зі співробітниками, які в 1964 р. інфікували безклітинними екстрактами кошенят і викликали у них захворювання з подальшою ізоляцією та ідентифікацією вірусу, як FeLV. Далі в 1967 р. Каваками і окремо від нього Рікард зі співробітниками одержали аналогічні результати по індикації вірусу лейкозу у кішок, і нарешті в 1967 Харді ідентифікував FeLV за допомогою класичної реакції імунодифузії [8, 50].

Онковіруси кішок підрозділяються на ендогенні і екзогенні. Ендогенні онковіруси виділяються з уражених клітин мимоволі або вимушено, в разі дії індукторів і не передаються далі вертикально, вони неонкогенні. Ці віруси здатні репродукуватись в КК людини в мавп, але в КК кішок. В геномі нормальних соматичних клітин нараховується більше стоні копій цих вірусних агентів.

Екзогенні онковіруси, до яких належать FeLV та FeSV навпаки, здатні репродукуватись КК кішок, тобто хазяїна і передаються в епідеміологічному ланцюгу вертикально і вони високоонкогенні. Онковіруси FeSV викликають

злякiсну трансформацiю фiбробластiв та iндукують фiбросаркому, а онковiрус FeLV навпаки, трансформує лiмфоретикулярнi клiтини, iндукує лiмфосаркоми i саркоми ретикулярних клiтин, iнфiкує гемопоетичнi клiтини i тим самим опосередковує патогенез лейкозу [14, 31, 44].

Бiльшiсть статевозрiлих кiшок iнфiкованi екзогенними онковiрусами, але захворюванiсть порiвняльнo невелика, що можна пояснити нестерильним iмунiтетом, який виникає за рахунок субiмунiзуючого впливу малих доз iнфекту.

Таксономiя. Збудник належить до famioly *Retroviridae*, gender *Gammaretrovirus*, species *Felina leukaemia virus* (FeLV).

Архiтектонiка. Вiрус оболонковий, тобто має ЛПО з грибовидними виступами на поверхнi. Форма овальна, дiаметр вiрiону коливається в дiапазонi 70-130 нм.

На поверхнi ЛПО виступають 72 грибоподiбнi утворення, якi виконують функцiю поверхневих антигенних детермiнант специфiчностi i рецепторних бiлкiв вiрусу. Виступи складаються з глiкопротеiдiв i формують головку (knole) i вiдросток (spike). Knole складається з глiкопротеiду gp 120 (бiлок розпiзнавання клiтинних рецепторiв i приєднання до них), spike – з глiкопротеiду gp 41 (бiлок злиття i сплавлення мембран) [11, 37, 42].

Пiд ЛПО знаходиться шар матриксного неглiколізованого бiлка M – p17. Серцевина (core) вiрiону являє собою iкосаедр c кубiчним типом симетрiї i мiстить диплоiдний набiр хромосом у виглядi двох iдентичних позитивних одноланцюгових гвинтiвних молекул РНК. Геном представлений двома позитивними молекулами РНК з молекулярною масою 6×10^6 Д, якi формують диплоiдний набiр хромосом, що є приналежним лише для вiрусiв цiєї родини. В капсидi знаходяться оригiнальнi ферменти – ревертаза або зворотня транскриптаза (reverse transcriptase), ендонуклеаза або iнтеграза i протеаза та 10 структурних протеiнiв.

Репродукцiя. Вiдтворення батькiвського потомства вiдбувається в чутливих i пермiсивних клiтинах еукарiот вiдбувається за бiологiчними

особливостями, які сформувались в результаті довготривалого коеволюційного сукупного розвитку популяцій мікро- і макроорганізмів. Репродукція ретровірусів проходить всі типові стадії цього біологічного процесу – адсорбцію, пенетрацію, депротейнізацію, реплікацію, транскрипцію, асамблювання віріонів з їх дозріванням і брунькуванням, але абсолютно неповторним і оригінальним є процес реплікації геному вірусного потомства з батьківської РНК. При цьому за рахунок фермента ревертази потік генетичної інформації робить крок назад, навпаки основній догмі біології, яку проголосили Крік і Уотсон в 60 роках 20 століття.

Основна догма біології стверджує, що потік генетичної інформації в процесі експресії генів рухається тільки в одному напрямку і тільки по одному маршруту: ДНК – транскрипція – РНК – трансляція – протеїн. Девід Балтімор і Ховард Мартін Темін в 1970 р. відкрили фермент ревертазу і розшифрували біохімічні механізми реплікації генетичного матеріалу ретровірусів в процесі реплікації. коли генетична інформація рухається з РНК на ДНК і далі на РНК і синтез протеїну. Тобто вони доказали справедливість основної догми біології на прикладі оригінальної реплікації ретровірусів, за що були нагороджені в 1975 р. Нобелевською премією за праці в галузі фізіології і медицина «... за відкриття, які торкаються взаємодії між пухлинними вірусами і генетичним матеріалом клітини» [15, 43].

Реплікація відбувається в ядрі клітини з обов'язковою стадією інтеграції ДНК-провіруса в геном ураженої клітини-хазяїна. При цьому реплікація проходить ряд оригінальних молекулярних подій, які притаманні тільки ретровірусам. Після потрапляння в ядро клітини, починається функціональна діяльність ревертази в трьох її іпостасях – РНК-залежної-РНК-транскриптази, рібонуклеази H, РНК-залежної-ДНК-полімерази.

Спочатку на матриці батьківської позитивної РНК синтезується дзеркальна копія комплементарної негативної РНК, за допомогою РНК-залежної-РНК-транскриптази, як антигену і матриці для побудови відповідної комплементарної копії – негативної РНК. Для цього потрібно

відрізати батьківську позитивну РНК, цей процес ферментує ревертаза в функції рибонуклеази Н. Далі на антиматриці батьківської мінусової РНК синтезується комплементарний позитивний ланцюг за допомогою РНК-залежної-ДНК-полімерази і формується ДНК-провірус, який допомогою ферменту ендонуклеази, у якого дві функції – рестрикції ДНК і приєднання молекули ДНК-провіруса (лігазна функція), вбудовується в геном ураженої клітини і становиться органічною частиною геному клітини у вигляді неактивного або мовчазного гену.

Стадія інтеграції в залежності від типу патогенезу ретровірусної інфекції може тягнутись місяцями і роками за повільного типу інфекції і може бути короткочасною за гострого перебігу захворювання. Після дії клітинного індуктора відбувається активізація неактивного ДНК-провіруса, ядерні РНК-залежні-РНК-транскриптази транскрибують негативний ланцюг ДНК-провірусу і синтезують з пулу нуклеотидів ядра позитивну, тобто інформативну або інфекційну версію ланцюга іРНК, яка транспортується в цитоплазму клітини на рибосоми, де і відбуваються всі протеїнови синтези, необхідні для репродукції вірусу.

Подальший процес репродукції проходить за звичайним типом, тобто хімічні складові вірусу в результаті самозбирання (самоасоціації) формують нуклеокапсид, дозрівання відбувається брунькуванням на модифікованих ділянках ЦПМ клітини. Цикл продуктивної репродукції продовжується до двох діб [17, 54].

Культивування. FeLV культивується КК з фібробластів ембріону кішок без ЦПД. Для індикації репродукції вірусу в КК використовують КК лінії ХС отриману з пухлини криси, інфікованій вірусом саркоми Рауса. В зону штучного дефекту моношара вносять КК лінії ХС і через дві доби із індикаторних клітин формуються багаточисельні гігантські клітини з великою кількістю ядер. Також можливе культивування FeLV в КК собаки та людини.

В чутливі і пермісивні клітини FeLV проникає шляхом піноцитозу з подальшою пенетрацією. FeLV здатний долати міжвидові бар'єри та має

потенційну можливість заключити в свою ЛПО дефектний вірус – ДІЧ мишиної саркоми, який неспроможний до самостійної репродукції, а з ЛПО FeLV ДІЧ отримує можливість трансформувати клітини моношару в КК ембріона кішок.

На кошенятах досить легко можна відтворити експериментальну інфекцію при інфікуванні концентрованою суспензією вірусу і подальшим інкубаційним періодом до одного року. Патогенез характеризується тим, що спочатку вірус проникає в кров, а потім в клітини кісткового мозку, де активно розмножується, відкіля знову проникає в кров, що приводить до персистентної віремії.

Збудник можна пасажувати в біопробі на кошенятах і далі. На секції у загиблих тварин відмічають лімфоїдну малігнізацію і атрофію тимусу, ознаки лімфатичної лейкемії або лімфосаркоми. В експериментальних біопробах FeLV проявляє онкогенність як для кішок, так і по відношенню до собак і мавп [17, 43, 57].

Епідеміологія. FeLV досить розповсюджений в екологічній ніші свого нативного існування – в організмі кішок. Хворі тварини і реконвалесценти на 90 % інфіковані і можуть інфікувати патогенним вірусом місце існування та чутливих тварин. Вірус персистує не тільки в клітинах гемопоетичної системи, але його знаходять на слизових оболонках дихальної і травневої систем і в сечових шляхах, він рясно виділяється з уриною. Тому переважним способом розповсюдження вірусу в популяції чутливих тварин є горизонтальний, тобто вірус передається контактно, аерогенно, аліментарно, через урину і блох.

Вертикального шляху передачі вірусу потомству не зафіксовано. Внаслідок широкого латентного вірусоносійства клінічно здоровими тваринами розповсюджено інфікування некомітованих особин цим вірусом. Імунітет вивчений недостатньо, встановлено явище латентного інфікування і вірусоносійства умовно здорових кішок без розвитку специфічного захворювання, але з формуванням напруженого протилейкозного імунітету

внаслідок перманентної субімунізації маленькими заражаючими дозами польового вірусу [18, 55].

Діагностика заснована на ізоляції вірусу в КК і його ідентифікації серологічними і молекулярно-генетичними методами та за допомогою ЕМ. Збудник ідентифікують в ELISA (ІФА) та ізоляцією з плазми крові хворих тварин. Для виявлення групоспецифічного антигену використовують кров і мозок хворих тварин на секції, а в вітальних випадках досліджують плазму крові і в лейкоцитах периферичної крові методом непрямого ІФА виявлять цей антиген. Достовірність цього метода сягає до 90 %.

Вірусологічними методами вірус ізолюють з плазми крові, клітин кісткового мозку, трансформованих лейкомічних клітин посівом на КК з клітин кішок, собак або людини [20, 56].

Вакцинологія. Створена ефективна інактивована формолвакцина з штаму КТ- FeLV-UCD-1. Вірус накопичували в КК FL-74-UCD-1 з середовищем Лейбовиця з додаванням 30 % фетальної сироватки крові ВРХ на ролерних установах культивування.

Культуральний вірус інактивували додаванням формальдегіду в діапазоні пів-півтора відсотків за температури 37-38 °С до отримання негативної концентрації вітального збудника в концентрації 10^{-4} /л. В якості ад'юванту використовували неповний ад'ювант Фрейнда (НАФ) або ГОА. Вакцина ефективна і протидіє персистентному перебігу інфекції.

Широко використовуються рекомбінантні вакцинні препарати. Розроблена рекомбінантна вакцина, де в якості антигену використовується негліколізований протеїн ЛПО gr 70 і фрагмент (перші 34 амінокислоти) трансмембранного протеїна р15Е. Біопрепарат представляє собою хімічно очищену форму протеїна адсорбованого на ГОА з сапоніном. Препарат індукує синтез ВНА в протективному титрі [21, 29, 39].

Розроблені біопрепарати на основі глікопротеїдів ЛПО gr 70 & gr80 сорбованих на міцелах ад'юванту ГОА. Вакцина індукує ВНА і захищає від інфекції, але у деяких тваринах спостерігали латентний перебіг персистентної

інфекції за контактом з вірулентним польовим варіантом збудника. ВНА при цьому реєструвались в ІФА і не виявлялись в РН.

На сучасному етапі розвитку біотехнології найбільше розповсюдження мають вакцини Fort Dodge, Merial, Solvay, Pitman MOORE, Purevax FeLV et other. Вакцинацію тварин проводять два рази, повторно через місяць або три тижні. Ревакцинацію здійснюють через рік і далі повторюють щорічно. Перед проведенням вакцинопрофілактики потрібно сканувати антитільний статус піддослідної тварин в ІФА для отримання негативного результату присутності FeLV в організмі, тому що за персистенції збудника імунна відповідь макроорганізму буде неефективною [22, 35].

Вірус лейкемії кішок (FeLV) є найпоширенішою смертельною інфекційною хворобою котів. Найпоширенішим джерелом передачі є соціальна взаємодія, така як взаємний догляд або спільне використання їжі та води. Існує три тести, а саме: імуноферментний аналіз, імунофлуоресцентний аналіз і тест полімеразної ланцюгової реакції, які можна використовувати для виявлення FeLV.

Існує кілька можливих результатів, таких як регресивні коти, транзиторна вірусемія, латентна інфекція та стійка вірусемія для котів, інфікованих FeLV. FeLV викликає широкий спектр захворювань. Лімфома зазвичай викликається FeLV, але не всі коти, у яких розвивається лімфома, мають інфекції FeLV. Котів, інфікованих FeLV, слід тримати вдома та окремо від неінфікованих котів. Вакцинація FeLV вважається непрофільною вакциною Американської асоціації лікарів-кінологів (AAFP). Вакцинація проти FeLV не є 100% ефективною; невеликий відсоток вакцинованих кішок заражається [23, 42].

Ретровіруси - це РНК-віруси, які після проникнення в клітину створюють копію ДНК, яка згодом інтегрується в геном зараженої клітини. Вірус котячого лейкозу (FeLV) є поширеним ретровірусом, який інфікує котів, і його ретельно вивчають протягом багатьох десятиліть. Він має три гени — gag, pol і env, — на яких записана генетична інформація за структури віріонних протеїнів та відповідних ферментів. У котів, інфікованих FeLV, можуть розвинути

різноманітні клінічні синдроми, включаючи супутні інфекції, пригнічення імунітету, анемію та утворення пухлин. Оскільки діагностика FeLV базується на індикації вірусного антигенних детермінант специфічності, вакцинація проти FeLV не ускладнює інтерпретацію результатів імуноферментного аналізу FeLV [15, 27, 45].

Вірус лейкемії кішок (FeLV) є вірусом з оболонкою РНК. Він несе фермент, який транскрибує геном вірусної РНК у ДНК, яка потім інтегрується в геном клітини господаря. Після контакту з FeLV у деяких, переважно молодих котів, розвивається прогресуюча інфекція FeLV з формуванням феномену перманентної віремії. Коти з прогресуючою інфекцією виділяють велику кількість копій FeLV і становлять ризик інфікування інших котів.

Наслідки інфекції FeLV можна охарактеризувати за допомогою результатів ізоляції вірусу, імунофлуоресцентних аналізів, виявлення капсидного антигену FeLV p27 у сироватці чи плазмі та виявлення провірусу FeLV або вірусної РНК у крові або деяких тканинах за допомогою молекулярних аналізів. Антигенемія (наявність капсидного антигену p27) є маркером інфекції та у більшості, але не у всіх кішок, параметром віремії (наявності вірусу, здатного до реплікації). Вакцинація є найефективнішим способом запобігання захворюванням, пов'язаним з FeLV [8, 28, 36].

Feline leukemia virus(FeLV) належить до роду Гаммаретровірус Retroviridaесім'ї. FeLV залишається значним збудником домашнього кота, хоча його поширеність зменшилася в деяких популяціях завдяки видаленню інфікованих тварин і розробці ефективних вакцин.

Стійкість до FeLV пов'язана з віком, причому пізніший контакт з більшою ймовірністю призведе до контролю інфекції через клітини та гуморальний імунітет. Ця закономірність контрастує з feline immunodeficiency virus, де рівень інфікування зростає безпосередньо з віком і інфекція не виліковується. Тварини, у яких спостерігається постійна віремія FeLV, мають високий ризик загинути або перейти у неопластичні захворювання, зокрема гемопоетичного походження. Ізоляти FeLV можна класифікувати in vitro

відповідно до типу оболонки та специфічності рецептора хазяїна, з альтернативними варіантами ряду хазяїв (B, C, D і T), що виникають із батьківської підгрупи A FeLV шляхом мутації рецептор-зв'язуючих доменів або шляхом рекомбінації з ендегенним FeLV і є кореляція з ERV-DC послідовності в зародковій лінії котів. Еволюція цих варіантів є важливою в патогенезі FeLV, оскільки вони можуть призвести до гострого початку захворювання. Онкогенез FeLV включає мутагенна рекомбінація між FeLV і протоонкогенами господаря, що призводить до утворення *feline sarcoma viruses* або варіанти, що викликають лімфому [26, 54].

Хронічний лімфоцитарний (дрібноклітинний) лейкоз (ХЛЛ) зустрічається рідко, але про нього повідомляють у котях. Дані свідчать про те, що Т-клітинна похідна ХЛЛ є найпоширенішим проявом із клінічними ознаками, які варіюють за ступенем тяжкості від легкої млявості та шлунково-кишкових ознак до більш важких захворювань, оскільки в них залучаються пульпа кісток скелету і внутрішні органи.

Незважаючи на відсутність інформації у ветеринарній літературі, ХЛЛ у кішок, здається, є повільно прогресуючим захворюванням, при якому пацієнти можуть виживати до 2 років або довше при лікуванні хлорамбуцилом та/або преднізоном. Причина розвитку ХЛЛ у людей, собак або котів невідома [25, 49].

Доведено, що FeLV-позитивні коти більш схильні до негативного розвитку подій у вигляді виникнення гострого монобластного лейкозу, еритролейкемії та гострої лімфобластної лімфоми (як алейкемічної, так і лейкемічної). Крім того, ці коти стають більш сприйнятливими до різноманітних вторинних захворювань, пов'язаних із загальною імуносупресією. Ці вторинні захворювання часто є летальними [46, 53].

Сучасні дослідження патофізіологічних механізмів, за допомогою яких ретровірус FeLV викликає неоплазію, зосереджені на ідентифікації специфічних генів-супресорів пухлини, які порушуються, та/або протоонкогенів, які можуть активуватися, коли ДНК провірусу з вірусу FeLV

вставляється у власний суб'єкт. ДНК. Це дослідження ще не виявило причинного зв'язку між пошкодженням ДНК, викликаним ретровірусом FeLV, і розвитком специфічних неопластичних захворювань. Кореляційні взаємодії наразі обмежується порушенням того, що можна вважати узагальненим генетичним контролем нерегульованої клітинної реплікації, яка може виникнути в ряді різних клітинних популяцій, причому лейкемії є єдиною категоріальною підгрупою [31, 37, 40].

Якщо FeLV активує загальні протоонкогени та/або робить неефективними гени пригнічення пухлини, або те й інше, може бути розумним припустити, що є опосередкована кореляція з FeLV-позитивним статусом тварини та розвитком ХЛЛ [23, 37].

Метою дослідження [50] було визначити поширеність котячого коронавірусу (FCoV) із одночасним зараженням вірусом лейкемії кішок (FeLV) у тих, хто не мав клінічних ознак, які проживають у різних містах Туреччини. Антитіла FCoV і антигени/антитіла FeLV досліджували у котів за допомогою ELISA.

Результати показали, що 37 (69,8%) котів мали антитіла FCoV і 2 (3,8%) котів мали антигени FeLV, 4 (7,5%) котів мали антитіла FeLV. Крім того, антитіла FCoV були виявлені в усіх котів, які мали антиген FeLV (n=2), і 75% котів, які мали антитіла до FeLV (n=4). Результати дослідження показали наявність як FCoV, так і FeLV котів у зв'язку з різними віковими, статевими умовами життя та навколишнім середовищем [11, 24].

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Експериментальна частина роботи виконувалась на базі навчально-дослідної лабораторії, інфекційного віварію кафедри інфекційних хвороб тварин, клінічно-діагностичного центру факультету ветеринарної медицини Дніпровського державного аграрно-економічного університету (додаток А).

Для лабораторного дослідження і встановлення комплексного діагнозу в клініку поступили дві кішки. При встановленні діагнозу треба було провести індикацію та ідентифікацію етіофактору інфектопатології, що ми робили використовуючи серологічні (РЗК, РНГА, РДП, ІФА, імунохроматографії), вірусологічні (індикація тілець-включень), молекулярно-генетичні методи (ПЛР) і біологічні методи дослідження (зараження лабораторних тварин).

2.1. Реакція зв'язування комплементу

Реакція фіксації або зв'язування комплементу (РЗК) вперше була запропонована і розроблена Борде і Жангу у 1901 р. на підставі двох біологічних феноменів, які вони описали – це бактеріоліз і гемоліз. РЗК складається з двох систем – діагностичної та індикаторної. В першій фазі реакції відбуваються специфічні діагностичні події на молекулярному рівні, тобто реагують або ні антитіла (Ат) з антигеном (Аг) з утворенням або ні імунного комплексу (ІК), який є рецептором для фіксації комплементу (С). Все що відбувається в першій фазі авізуально, зовнішній вигляд реагентів не змінюється. Для з'ясування і візуалізації результатів тесту використовують другу фазу реакції – індикаторну або гемолітичну систему, яка теж виконує функцію фіксації С з ініціацією процесу макроскопічно видимого гемолізу еритроцитів. Друга стадія реакції відбувається тільки за умови наявності

вільного С, який не був фіксований у першій системі і тому потрапив у другу, де фіксується на ІК з Ат (гемолізінів) і Аг (еритроцити), активує ІК з наступним гемолізом еритроцитів.

В позитивному випадку, тобто тварина хвора і її крові циркулюють інфекційні Ат, вони будуть реагувати з біофабричними Аг і формувати ІК, який буде фіксувати на собі увесь С. Тоді в другу систему реакції С не поступить і не активує Ат проти еритроцитів, які і осядуть на дно лунки у вигляді гудзика.

В негативному випадку, тобто коли тварина не інфікована даним збудником і в її крові немає специфічних Ат, в першій фазі реакції не відбудеться реагування Ат з Аг і не сформується ІК, фіксатор С. Тоді при додаванні гемсистеми увесь С перейде в другу систему реакції на ІК з гемолізінів і еритроцитів, активує ІК і Ат викличуть гемоліз еритроцитів у вигляді прозорої багряної рідини «лакова кров».

Превентивна обробка інгредієнтів перед постановкою РЗК.

1) Досліджувану сироватку крові прогрівали за 56°C впродовж 30 хв для інактивації власного С. Перед постановкою РЗК сироватку розводили 1:5 фізрозчином.

2) Антигеном слугували біофабричні діагностикуми, які розводили відповідно до інструкції. Перед постановкою реакції Аг титрують, тобто визначають ту найменшу дозу Аг за якої припиняється затримка гемолізу.

3) Комплекментом слугувала суміш сироватки крові від 2-3 мурчаків. Кров отримували за допомогою пункції серця. Кров витримували 30 хв за 37°C , потім ніч в холодильнику для ретракції. Безпосередньо перед постановкою реакції сироватку крові мурчаків розводили 1:10 і титрували в гемсистемі, тобто находили то мінімальну кількість С, яке в суміші з $0,5\text{ см}^3$ гемолітичної сироватки (у потрібному титрі) гемолізує $0,5\text{ см}^3$ 3 % зависі еритроцитів впродовж 30 хв.

4). Готували 3 % завис еритроцитів на фізрозчині, яку виробляють з крові донора (барана) після вилучення фібрину.

Основний дослід.

Аг, С і гемолітичну сироватку розводили фізросчином так, щоб в 0,5 см³ знаходилась їх робоча доза. Реакцію ставлять в об'ємі 0,5 см³. Спочатку змішують дослідну сироватку, С і Аг. Одночасно ставлять контроль Ат і Аг. Суміш витримують за 37° С впродовж год. Далі вносять гемсистему і ще витримують год в термостаті.

Реакцію враховували за її інтенсивністю.

++++ - відсутній лізис еритроцитів, реакційна суміш прозора, осад

+++ - неповний лізис еритроцитів, реакційна суміш розова, осад

++ - неповний лізис еритроцитів, реакційна суміш більш розова, компактний осад

+ - дуже незначний лізис еритроцитів, реакційна суміш значно більш розова і осад невеликий

– - повний гемоліз, прозора лакова рідина, осаду немає.

2.2. Реакція непрямой (пасивної) аглютинації (РНГА)

Сутність процесу заключається в здатності еритроцитів володіти потенційною можливістю адсорбувати на своїй ЦПМ Аг і становляться сенсibiliзованими (тобто чутливими) до гомологічних Ат, що можна виявити додаванням до сенсibiliзованих еритроцитів, сироватки з гомологічними Ат, які будуть склеювати сенсibiliзовані еритроцити і вони випадатимуть в осад.

Для постановки реакції потрібно:

- дослідна сироватка
- розчинний Аг для сенсibiliзації еритроцитарних маркерів
- еритроцити
- фізрозчин.

Схема постановки реакції

- отримання еритроцитів з дефібринованої крові тварини-донора які консервують рідиною Олсівера

- танізація еритроцитів (для підвищення сорбційної здатності по відношенню до великомолекулярних білкових Аг)

- сенсibilізація відмитих еритроцитів в 1 % суспензії

- отримання дослідної сироватки і її десенсibilізація додаванням нормальних еритроцитів барана та інактивація неспецифічних гемаглютининів прогріванням впродовж 30 хв за 56° С

Алгоритм постановки реакції

Готували послідовне розведення дослідної сироватки. Додавали рівний об'єм 1 % суспензії сенсibilізованих еритроцитів і ставили контроль спонтанної аглютинації еритроцитів. Результат реакції враховували по інтенсивності гемаглютинації за чотирьохбальною системою.

2.3. Реакції дифузійної преципітації

Реакції дифузійної преципітації (РДП) запропонували Дженсем і Френсіс у 1953 на підставі феномену преципітації (осадження), тобто переходу розчинних роздільних компонентів реакції після їх взаємодії і формування ІК в нерозчинний інгредієнт, який макроскопічно можна побачити у вигляді серо-білої смужки преципітату в агаровому гелі. Аг в РП називаються преципітіногенами і вони знаходяться в стані колоїдного тонкодисперсного розчину, Аг – преципітінами, це грубодисперсні гамаглобуліни, теж розчинні і за їх взаємодії утворюється нерозчинний ІК – преципітат.

Для постановки реакції готували 2-3 % агаровий гель рутинним методом, який охолоджували до 50 °С, вносили діагностичну сироватку, перемішували і розливали в чашки Петрі шаром 2 мм. Після застигання агару вставляли металеві або скляні полі циліндри і знову заливали агаровий гель. Після загустіння агару видаляли циліндри і в лунки вносили діагностичну суміш.

Чашки поміщали в термостат і кожен добу фіксували результати реакції по кільцям преципітації навкруги лунок.

2.4. Імуноферментний аналіз

ELISA – метод – найбільш поширений інструментальний метод масового діагностування етіофактору інфектопатології. Суть взаємодії заключається в процесі того, що один з компонентів серологічної реакції – Аг або Ат мітяться ферментом, тобто стають кон'югованими. В якості ферментативної мітки найчастіше використовують фермент пероксидазу. Наявність ІК після взаємодії компонентів серореакції встановлюють по функціональній дії ферменту, тобто додається субстрат ферменту і за його деструкції вивільнюється фарба або інший реагент, який сигналізує про позитивний результат реакції, тобто були зафіксовані Ат або Аг, в залежності від алгоритму реакції.

Для постановки реакції імунохроматографії використовували комерційні набори реагентів, відповідно до інструкції виробника. Методика імунохроматографічного дослідження крові, сироватки або плазми крові сводиться до слідуючого алгоритму. Тест треба проводити за кімнатної температури. Касету з імунохроматографічною смужкою розмістити на стерильну горизонтальну поверхню. Одноразовою піпеткою додати 30-40 мкл досліджуваного зразка біоматеріалу на S-касети, при цьому не торкаючись мембрани. Через 5-10 с одноразовою піпеткою додаємо 30-40 мкл буферного розчину в реактивну зону реакції, також не торкаючись поверхні мембран. Через 10 хв можна проводити макроскопічну оцінку результатів реакції. Позитивний результат – це поява смужки в зоні С і Т; негативний – смужка тільки в зоні С; некоректний результат – відсутність смужки взагалі і тоді треба повторити процедуру реакції.

2.5. Полімеразна ланцюгова реакція

Полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР). Принципи методу і основний алгоритм ПЛР були розроблені англійським вченим К. Мюллісом, і в подальшому були вдосконалені в працях багатьох дослідників. В нас час це найбільш достовірний і інформативний інструментальний метод індикації та ідентифікації етіофактору інфектопатогенів. Основний принцип ПЛР зводиться до тристадійного реагування, в процесі якого проходить денатурація дволанцюгової макромолекули ДНК на два окремих ланцюга, тобто на першому етапі проводиться розплетіння гвинтвної структури ДНК під дією термічного фактору; на другому етапі відбувається приєднання праймерів до цих фрагментів розплетеної макромолекули ДНК, цей етап ще називається відпал праймерів; на третьому етапі приєднуються нуклеотиди за принципом комплементарності до обмежених праймерами фрагментів ДНК і це називається елонгація або полімерізація. Елонгація проходить в присутності ферментів-катализаторів Таq-полімерази. Далі відбувається багаточисельне повторення циклу до накопичення в геометричній прогресії ампліконів, які реєструються за допомогою електрофорезу або іншими методами.

2.6. Індикація тілець-включень

Для індикації тілець-включень або фіксації їх відсутності, що є діагностичним прийомом, використовували мазки-відбитки з рогівки ураженого ока з подальшим фарбування за методом Гімза. Фарбу готували за методом Майєра наступним чином – 1 г гематоксиліну розчиняли в 1000 мл дистильованої води, додавали 0,2 г йодноватистого натрію і 50 г калійних квасців. Після розчинення основних компонентів додавали 5-г хлоралгідрату і 1 г кристалічної лимонної кислоти. Після фіксації препарату в метанолі

впродовж 10 хв наносили фарбу і витримували 10 хв, потім ретельно промивали водою і мікроскопували в імерсії.

Кров у тварини взяли методом пункції ліктвової вени. Сироватку отримали методом відстоювання. Зразок сироватки за кімнатної температури нанесли на імунохроматографічну смужку в кількості 40 мкл на S-зону касети. Через 10 с додали 40 мкл буферного розчину для розведення в S-зону касети. Через 10 хв провели облік реакції. Дві кольорові смужки з'явилась в С і Т зоні, що є свідком за позитивний тест, тобто кішка інфікована вірусом лейкозу і в її крові циркулюють Ат проти лейкозного Аг.

2.7. Біопроба

Біологічне дослідження герпесвірусної інфекції проводили на кроликах живою масою тіла два і трошки більше кг білого кольору. Для відтворення патогенезу герпесвірусної інфекції втирали в рогівку ока кролика біоматеріал отриманий з очей хворої кішки. Внаслідок репродукції герпесвірусів в клітинах рогівки ока кролика розвивається запально-дегенеративний процес з формуванням більма.

Також інфікували мурчаків, живою масою тіла 200-250 г, безпорідних, рандомізованих, обох гендерів. Мурчаків заражали в ділянці паху інтрамускулярно суспензією біоматеріалу, в якій знаходився збудник захворювання хворої тварини і вивчали біохімічні зміни в морфо-біохімічному складі крові інфікованих мурчаків за допомогою автоматичного біоаналізатора.

РОЗДІЛ 3

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ОБГОВОРЕННЯ

3.1. Діагностика етіофактору інфектопатології кішки «Лера»

Кішка «Лера» в віці 2 роки поступила в клініку в дуже важкому стані. Вона хворіла вже більше шести тижнів, патологічний процес мав прогресуючий характер. На момент огляду у кішки діагностували підгостру бронхопневмонію, ентерит, атонію і запор, кератокон'юнктивіт з формуванням виразки, схуднення, депресивний стан, атаксію, ремітуючу лихоманку. Прогноз по відношенню до життя був обережний в сторону несприятливого (рис. 3.1).



Рис. 3.1. Габітус кішки «Лера»

В анамнезі, зі слів господарів відмічалось, що симптоми захворювання з'явилися приблизно біля півтора місяця тому у вигляді сльозотечи, риніту, чихання, зниження апетиту і млявості. Тварині були створені умови комфорту і добробуту, але палеативні міри не допомагали і стан здоров'я поступово погіршувався. Така ситуація тягнулась впродовж тижня. Серозний тип запалення перейшов в катаральний, стало чути хрипи і відмічали кашель,

спершу рідкий і сухий, потім більш частий. Запалення очей не проходило і прогресувало. Господарі почали самі лікувати свою тварину. Для цього вони купили очні краплі – сульфат натрію і почали капати в очі тричі на добу. Впродовж тижня це не принесло одужання, патологія очей продовжувала прогресувати. З очей виділялись серозно-катаральні і гнійні виділення, постійно були засохлі струпи в кутах очей, слезотеча і світлофобія посились. Торкання до очей викликало сильну болісну реакцію. Господарі вирішили самостійно продовжити лікування і продовжили використовувати очні краплі – сульфат натрію і ще стали додавати в корм розтерті пігулки сульфадимезину. Така терапія не принесла бажаних результатів і кішка не видужала, а навпаки, її загальний стан погіршився і з'явилися симптоми посилення в ураженні ВДШ. Кашель став болісним, сильним, гучним, частим. Хрипи і булькотіння в трахеї посилювалось. Збільшилось ексудативні витікання з носових ходів. Дихання було хриплим, частим, поверхневим. Тварина практично не приймала їжі і води, була адинамічною, знесиленою, пригніченою, температура тіла - субфебрильна, худю.

Впродовж третього і четвертого тижнів хвороба прогресувала і загальний стан тільки погіршувався. Господарі звертались за ветдопомогою, але позитивного результату не отримали. Важкість респіраторного синдрому тільки наростала і в кішки розвилась спочатку гостра стадія бронхопневмонії, яка далі перейшла в підгостру стадію з тенденцією до хронізації пульмонального процесу. Був проведений тижневий курс антибіотикотерапії, який не купірував процес, а тільки сповільнив інфекціогенез бронхопневмонії. Ознаки токсичного схуднення наростали, тварина була весь час пригнічена і погано приймала корм. Клінічні симптоми ураження ВДШ і пульмонального епітелію не зменьшувались, а знаходились на докритичному рівні по відношенню до життя тварини.

Патологічний процес кон'юнктиві очей теж повільно прогресував на третьому і четвертому тижнях інфектопатології, і серозно-катаральне запалення очей усугубилось переходом в гнійну стадію з вираженим

альтеративним компонентом запалення з гнійними кірочками навкруги очей і початковим процесом формування виразки на роги́вки очей. Господарі продовжували використовувати очні краплі, але позитивного ефекту це не приносило.

На кінець четвертого тижня прибавився ще і ентеральний синдром у вигляді чергування закрепи і діареї. Кішка продовжувала худнути, її загальний стан не поліпшувався, терапевтичні заходи не приносили позитивного результату і господарі вирішили звернутися до фахівців через шість тижнів важкої інфектопатології з респіраторним і ентеральним синдромами, тобто підгострого пневмоентериту і важкого ураження очей у вигляді кератокон'юнктивіту з перспективою втрати зору.

На момент прибуття в клініку тварина хворіла з вираженими клінічними ознаками вже шість тижнів, тобто враховуючи інкубаційний період інфекціогенезу інфектопатології і перші клінічні ознаки, які не були зафіксовані як проява хвороби, можна констатувати, що зараження тварини відбулось приблизно від 6 до 8 тижнів потому, з наростанням симптомокомплексу захворювання, який був зафіксований як хворобливі ознаки у кішки.

При зовнішньому огляді встановили, що тварина була в стані пригнічення, знесилена, дуже худа, шерстний покрив скуйовджений, тусклий, ділянка анусу заплямована фекальними масами. Відмічали порушення в діяльності ЦНС у вигляді тремору кінцівок, атаксії і слабо координованих маневрних рухів.

При аускультатії легень встановили жорстке хрипле дихання, ділянки приглушених звуків при простукуванні плесіметром, болісність за пальпації уражених частин грудної порожнини. Температура тіла була незначно підвищена – 39,7 °С. Відмічали задишку і кашель. З носових отворів виділявся гнійно-катаральний ексудат у вигляді густого жовто-зеленуватого слизу, що приводило до важкого дихання тварини. В ротовій порожнині знайшли ділянки з ерозіями слизової оболонки і невеликими виразками, що вкрай

ускладнювало годування кішки, навіть дієтичними кормами у невеликій кількості.

Дуже важкі і фатальні патологічні процеси відбувались з очами хворої тварин. Були уражені обидва ока в процесі розвитку запально-дегенетивних змін. На момент огляду фіксували гнійно-катаральний керато-кон'юнктивіт рогівки обох очей з дегенерацією епітелію рогівки і формуванням окремих невеликих ділянок виразки.

При світлопольній мікроскопії в імерсії пофарбованих за методом Гімза препаратів-відбитків з уражених ділянок рогівки очей знайшли еозино-фільні тільця включення Каудрі типу А в ядрі клітин епітелію рогівки, які морфологічно були представлені крупними неоформленими глібками і відтісняли хроматин ядер до периферії. Подібні діагностичні знахідки за РТК є достатньо доказовими за комплексної діагностики для постановки орієнтовного діагнозу на герпесвірусну інфекцію при важкому ураженні очей і наявності синдрому пневмоентериту.

Для скринінгу стану біохімічної картини крові тварини і морфологічних характеристик формених елементів циркулюючих в периферичній крові провели процедуру взяття крові на морфо-біохімічний аналіз за допомогою автоматичного біоаналізатору. Кількісні дані отримані на автоматичному біоаналізаторі приведені в табл. 3.1.

Таблиця 3.1

Кількісні дані щодо біохімічних показників крові та морфологічних характеристик її клітинних елементів

Показники	Фізіологічна норма	Дослідні показники
1	2	3
Загальний білок, г/л	52,2	46,4
Альбуміни, г/л	31,6	26,0
Глобуліни, г/л	23,3	21,4

Продовження таблиці 3.1

Білковий коефіцієнт	1,4	1,2
Сечовина, ммоль/л	9,2	6,3
Азот сечовини, мг%	17,9	12,4
Креатинін, мкмоль/л	46,2	23,1
АСТ, Ед/л	184,1	234,4
АЛТ, Ед/л	82,1	53,1
АСТ/АЛТ	2,2	1,1
Лужна фосфатаза, Од/л	396,6	367,4
Амілаза, Од/л	427,8	409,7
Загальний білірубін, мкмоль/л	4,8	3,6
Глюкоза, ммоль/л	3,9	2,2
Са, ммоль/л	0,2	0,2
Р, ммоль/л	3,8	3,2
Са/Р	0,1	0,1
Холестерин, ммоль/л	2,2	2,1
ГГТ, Ед/л	4,2	5,5
Гемоглобін, г/л	92,8	86,3
Гематокрит, %	26,2	28,2
Еритроцити, Т/л	5,6	4,4
MCV (середній об'єм еритроцита), фл (10-15/л)	60,2	46,2
MCH (середня маса гемоглобіну в еритроциті) пг (10-12 г)	21,2	14,4
MCHC (середня концентрація гемоглобіну в еритроциті), %	36,8	31,2

Продовження таблиці 3.1

Кольоровий показник, од.	1,0	0,9
ШОЕ, мм/г	1,0	1,0
Тромбоцити, Г/л	312	302
Лейкоцити, Г/л	2,0	1,2
Базофіли	0	0
Еозинофіли	1,0	1,0
Нейтрофіли, %	-	-
Міелоцити	0	0
Юні	0	0
Паличкоядерні	1,0	1,0
Сегментоядерні	12,4	11,1
Лімфоцити, %	62,4	60,1
Моноцити, %	0	0

Аналізуючи дані табл. 3.1 прийшли до заключення про різке пригнічення функціональної потенції імунно-біологічних систем життєзабезпечення макроорганізму. Показники білково-ліпідного обміну свідчать про зниження метаболічної активності в галузі білкового обміну, спостерігається падіння концентрації загального білка, альбумінів і глобулінів. Це негативний показник, вказує на астенію і недостатність структурних компонентів для процесів асиміляції.

Ферменти АСТ і АЛТ свідчать про роботу печінки, переносячи аміногрупи від аспарагінової кислоти та аланіну до α -кетоглутарової кислоти. Вони локалізуються в гіалоплазмі клітин і мітохондрії. Трансферази є досить чутливими та інформативними індикаторами ураження печінки. У крові дослідного препарату спостерігається зменшення рівня АЛТ на 35,3%.

Концентрація сечовини, азоту сечовини та креатиніну в плазмі є важливим показником функції нирок. У нирках накопичується кінцевий продукт креатин метаболізму - креатинін, який синтезується в цих органах з таких амінокислот, як аргінін, гліцин, метіонін. Належний до значного руйнування ниркових клітин, секреція креатиніну порушується клубочковою фільтрацією та накопиченням його в сироватці. Виявлено зменшення сечовини, азоту сечовини та креатиніну на 31,5; 30,7 і 50,0% відповідно.

Загальний білірубін є продуктом метаболізму гему, компонента крові, що знаходиться в еритроцитах і відповідальний за перенесення кисню до тканин. Після розпаду гемоглобіну білірубін виходить з еритроцитів і переходить до печінки, де він метаболізується і виводиться з організму через жовч. Зафіксовано зменшення рівню даного показника, що пов'язано з інтоксикацією макроорганізму.

Гама-глутамілтрансфераза (ГГТ) – це є той фермент, головна функціональна активність якого припадає на нирки, печінку і підшлункову залозу. Цей чутливий показник реагує на уповільнення процесів просування жовчі в печінці та жовчовивідних шляхах, тому в діагностиці його використовують, як маркер захворювань печінки. Підтверджено зниження рівня ГГТ.

Гемоглобін (Hb) — це червоний пігмент, хромопротеїн, що знаходиться в еритроцитах і переносить кисень. Відзначаємо зниження рівня Hb.

Показники лейкопоезу свідчить про наявність запально-дегенеративного патологічного процесу в організмі тварин в цей період, профіль лейкограми лімфоцитарний. Нейтрофіли містять лізосомальні ферменти, які інактивують бактерії та ферменти, що виробляють активні протимікробні речовини в крові. Рівень паличкоядерних нейтрофілів незначно зменшився. Потрібна фізіологічна активація кровотворної системи в напрямку інтенсифікації кровотворення і резистентності, що є адаптивними реакціями макроорганізму, також це забезпечить виконання протективної функції крові та сприятиме формуванню ефективного імунного статусу кішки.

3.2. Біотестування імунологічної реактивності

Для ізоляції та ідентифікації ГВК-1 використовували біологічний метод, тобто інфікування лабораторних тварин, в даному випадку кролика.

Герпесвіруси проявляють тропізм до клітин рогівки очей і викликають при цьому патогномонічні ураження, які мають діагностичне значення.

У хворої кішки бавовно-марлевым тампоном зняли з очей гнійно-катаральні виділення і втерли в рогівку лівого ока кролика. За кроликом спостерігали впродовж місяця. Патологічний процес в інфікованому оці кролика почався вже на другу добу у вигляді легкого серозного запалення кон'юнктиви (рис. 3.2). Праве око було контролем (рис. 3.3). Загальний стан тварини в першу добу після інфікування не змінювався. Апетит був добрий. Процес наростання патофізіологічних змін перебігав повільно і впродовж першого тижня розвивався серозний кон'юнктивіт.

Вираженість патологічних змін к кінцю першого тижня проявилась у збільшенні серозного ексудату і посиленні судинної реакції рогівки ока. Загальний стан все ще не змінювався. Але вже на другому тижні почалися більш важкі процеси в інфікованому оці. Ексудативні виділення значно збільшились і стали катаральними, з'явилися ознаки гнійного процесу, значно припухли віка, тобто посилювався набряк, при пальпації була реакція болю, ярке світло визивало світлофобію.

Третій і четвертий тиждень захворювання очей у кролика характеризувались явним прогресуванням патологічного процесу. Стан інфікованого ока постійно погіршувався, віка були набряклими і заліпненими підсохлими струпами гнійно-катарального ексудату, рогівка ураженого ока набрякла, помутніла, вкрилась гнійно-катаральним ексудатом і клітинним детритом, з'явилися локуси ерозії, які переростали у виразку. Далі в запально-дегенеративному процесі стали превалювати продуктивні зміни патогенезу, на підставі яких почалось формування майбутнього більма.

Ексудативні витікання з ураженого ока кролика збирали тампонами в стерильну флакончики і використовували як нативний антиген герпесвірусу для постановки серологічних реакцій з офіціальними видовими антисироватками для видової ідентифікації збудника захворювання інфектопатології хворої кішки.

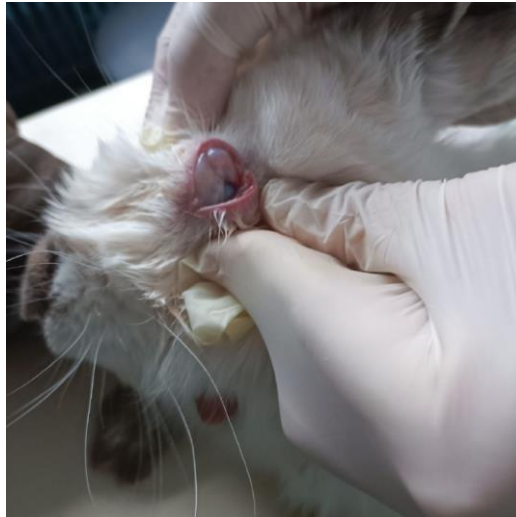


Рис. 3.2. Запально-дегенеративний патологічний процес на рогівці ока кролика, інфікованого герпесвірусом (ГБК-1)



Рис.3.3. Клінічно здорове око кролика

РЗК ставили за офіційними методиками. В якості сироватки використовували сироватку мурчаків, яких інфікували біоматеріалом, зібраним тампоном з хворого ока кролика. Сенсibilізацію мурчаків проводили впродовж тижня. Через 14 діб після першого введення Аг інтракардиально взяли кров у мурчаків і методом відстоювання відокремили сироватку від клітин крові. В якості Аг для постановки реакції використовували вірусний матеріал з інактивованої вакцини проти РТК. Результат реакції: на другу добу в лунках з реагентами відмічали позитивну реакцію на +++++, тобто всі еритроцити осіли на дно у вигляді компактного «гудзика», що свідчить про серологічну ідентифікацію герпесвірусу, збудника РТК у хворій кішки.

РНГА ставили з послідовно двократно розведеними дослідної сироватками сенсibilізованих інфекційним вірусом ГВК-1 мурчаків. В якості еритроцитарного кон'югату використовували еритроцити мурчаків сенсibilізовані інфекційним вірусом, отриманим з ураженого ока кролика. Підтвердження видової належності польового варіанту герпесвірусу отримали за результатами реакції. Затримка гемаглютинації відбулась за досить високим титром розведення сироватки 1:4048, що свідчить про приналежність польового збудника до ГВК-1.

РДП ставили в чашках Петрі заповнених агаровим гелем з лунками, в який превентивно внесли сироватку крові сенсibilізованих мурчаків. В якості Аг використовували витікання з уражених очей дослідного кролика. Результат реакції був позитивний, навкруги лунок з вірусним Аг сформувались макроскопічно видимі сіро-білі кільця преципітації.

3.3. Моніторингові дослідження розповсюдження герпесвірусної інфекції.

Додатково провели моніторингові дослідження розповсюдження герпесвірусної інфекції серед тварин району, де перебувала хвора кішка. Моніторингові дослідження проводили на підставі статистичних даних, які накопичились в районній ветклініці, відповідно епідеміології досліджуваної інфектопатології.

Таблиця 3.2

Моніторингові дослідження розповсюдження РТК в залежності від породної чутливості у Соборному районі м. Дніпра за 2022–2023 роки

Породне сприйняття	Кількість хворих тварин	Співвідношення, %
Американська жорсткошерста	27	17,3
Бурманська	21	13,5
Кімрійська	21	13,5
Турецька ангора	18	11,5
Корніш-рекс	9	6,6
Шартрез	6	3,8
Корат	6	3,8
Безпородні	48	30,8
Всього	156	100,0

Відповідно даних, викладених у табл. 3.2 видно, що за результатами моніторингових досліджень породної залежності тварин, хворих на інфекційний РТК, індукований герпесвірусом у Соборному районі м. Дніпра за 2022–2023 роки нами визначено, що хвороба частіше реєструвалась у безпородних тварин (30,8 %) випадків, що на нашу думку корелює з превалентністю чисельності таких котів в зоні нашого спостереження.

Викликає занепокоєння високий рівень захворюваності серед котів порід американська жорсткошерста, бурманська і кімрійська, яка складає 17,3; 13,5 та 13,5 % випадків від загальної кількості.

На підставі даних комплексного лабораторного дослідження і клініко-епідеміологічного аналізу інфекційної ситуації джерела гепесвірусної інфекції встановили діагноз інфектопатології у хворій кішки «Лера» – РТК індукований ГВК-1.

3.4. Діагностика вірусного лейкозу

Кішка «Луна» віком 6 років поступила в клініку в результаті погіршення загального стану організму і прогресуючого схуднення. В анамнезі господарі відмічали незадовільний стан здоров'я тварин впродовж останніх двох років, що проявлялось в астеничному типі габітусу, незадовільному апетиті, млявості, досить частих періодичних випадків ентеральних розладів і уражень ВДШ ЩО що супроводжувалось ринітом, чиханням, слезотечею.

При ретельному клінічному огляді кішки звернули увагу на збільшенні поверхневі лімфовузли, анемічні видимі слизові оболонки, загальний астеничний стан і виражене схуднення. У кішки зафіксували поганий апетит, постійну перманентну втрату маси тіла, екзематозні ураження шкіри і незадовільний стан шерстного покриву, його скуйовдженість. Кішка була пригнічена, млява, адинамічна, не проявляла живості й грайливості (рис. 3.4). Температура тіла була субферильною – 39,9 °С. Відмітили задишку, рясну слиновиділення.

Комплексний аналіз анамнестичних показників, клінічного огляду хворої тварин і епідемічної ситуації в місті мешкання кішки навели на підозру про лейкоз. Для підтвердження або спростування превентивного діагнозу провели комплекс лабораторних інструментальних досліджень.

Для встановлення експрес-діагнозу провели імунохроматографічну реакцію з «ХЕМА test Лейкемія», призначений для видового типування вірусного агенту лейкозної природи, тобто для індикації Аг вірусу лейкозу кішок в біорідині макроорганізму (кров, плазма, сироватка) імунохроматографічним методом.



Рис. 3.4. Загальний стан кішки «Луна»

Алгоритм реакції викладений в інструкції до набору реагентів реакції.

Одночасно з постановкою імунохроматографічного тесту провели дослідження сироватки крові ELISA-методом і теж отримали позитивний результат на наявність протилейкозних Ат, котрі циркулюють в периферійній крові хворої тварини.

Також при пункції вени зробили препарат-мазок периферійної крові, зафіксували мазок в метанолі впродовж 30 хв і пофарбували за методом Романовського-Гімза. Препарат вивчали під мікроскопом. На рис. 3.5 представлена мікроскопічна картина периферійної крові хворої кішки.

Звертаємо увагу на великі лейкоцити, їх розмір виглядає як і нейтрофіли в тому ж полі зору. Ці клітини нами ідентифіковані як лімфобласти. Наявність таких клітин у великій кількості узгоджується з діагнозом лімфолейкоз. За результатами діагностичного обстеження можна встановити попередній

діагноз: хронічний лімфолейкоз (ХЛЛ). Крім того, у тварини був FeLV-позитивний результат, підтверджений за допомогою ELISA (ІФА).

Основним лабораторним тестом для підтвердження діагнозу є ПЛР. Зразки крові були відправлені в спеціалізовану лабораторію молекулярно-генетичних методів дослідження в Біосефеті-центр ФВМ, відкіля поступила інформація яка достовірно підтвердила діагноз на лейкемію кішки.

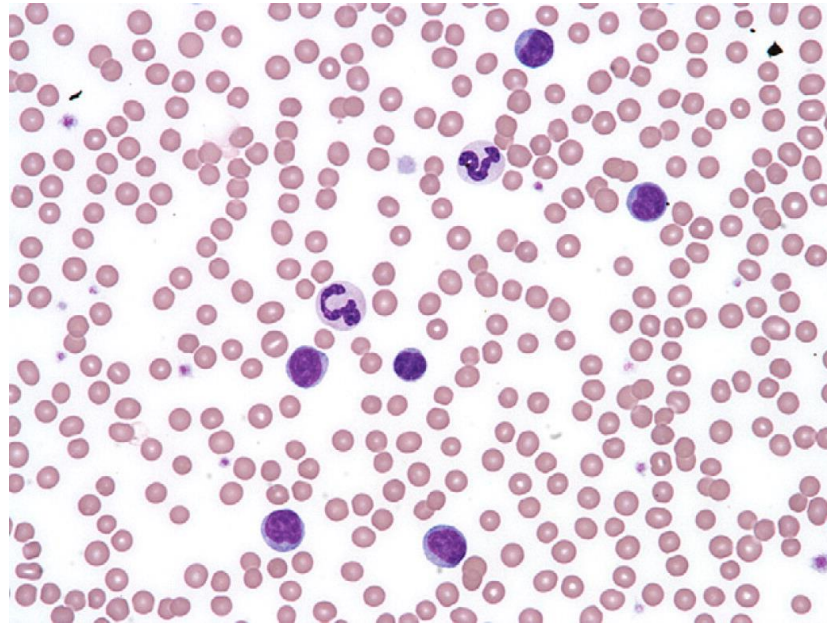


Рис. 3.5. Мазок периферійної крові кішки, хворої на вірусний лейкоз (великі лейкоцити – лімфобласти)

(забарвлення методом Романовського-Гімза; ; Об.×4, Ок.×10)

Для узагальнення патофізіологічної картини стану тварини в даній стадії захворювання провели біохімічний аналіз крові на гематологічному аналізаторі Mindrae BC-5000. При цьому було встановлено кореляційні зв'язки з температурними коливаннями, що ми виразили графічно на рис. 3.6.

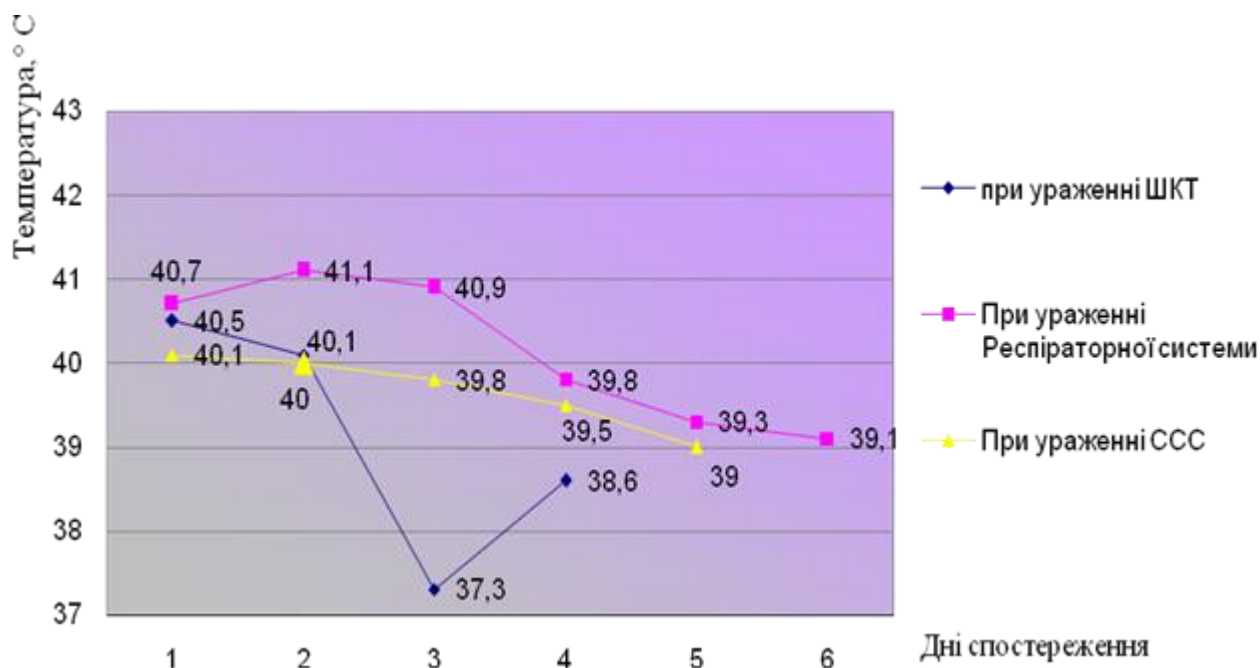


Рис. 3.6. Температурні зміни у кішки при вірусному лейкозі

Нами визначено, що коли виникають ускладнення у котів на рівні респіраторного тракту: виявляли виділення з слизових носових ходів, тоді як прослуховування легень відмічали хрипи. Тоді, як ознаки ураження шлунково-кишкової системи виявляли на початку, а далі на третій день ускладнення при підвищенні температури, відзначаємо респіраторним синдром (додаток Б).

Коли ми констатували порушення діяльності серцево-судинної системи, виявлені ознаки експіраторної задишки, ціаноз слизових, збільшення частоти пульсу, а при прослуховуванні серця – патологічні шуми. За такого симптомокомплексу зміни шлунково-кишкової системи були не значно виражені.

3.5. Моніторингові дослідження епідемічної ситуації вогнища лейкозної інфектопатології

Нами проведені моніторингові дослідження епідемічної ситуації вогнища лейкозної інфектопатології в районі існування хворої тварини і отримали

наступні графічні відображення інтенсивності і розповсюдження хвороби, які зображені на рис. 3.7 і 3.8.

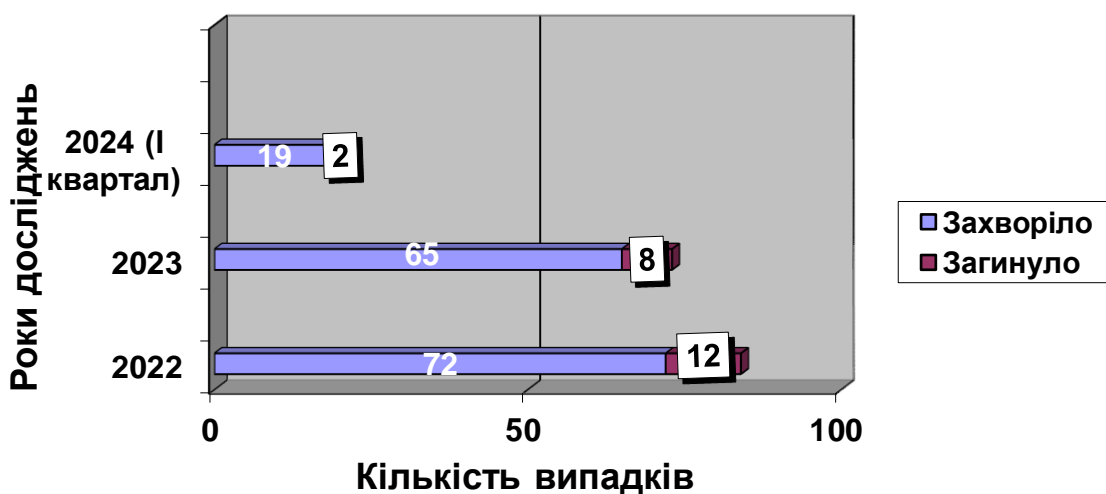


Рис. 3.7. Динаміка захворювання тварин на лімфолейкоз протягом 2022-2023-I квартал 2024 рр.

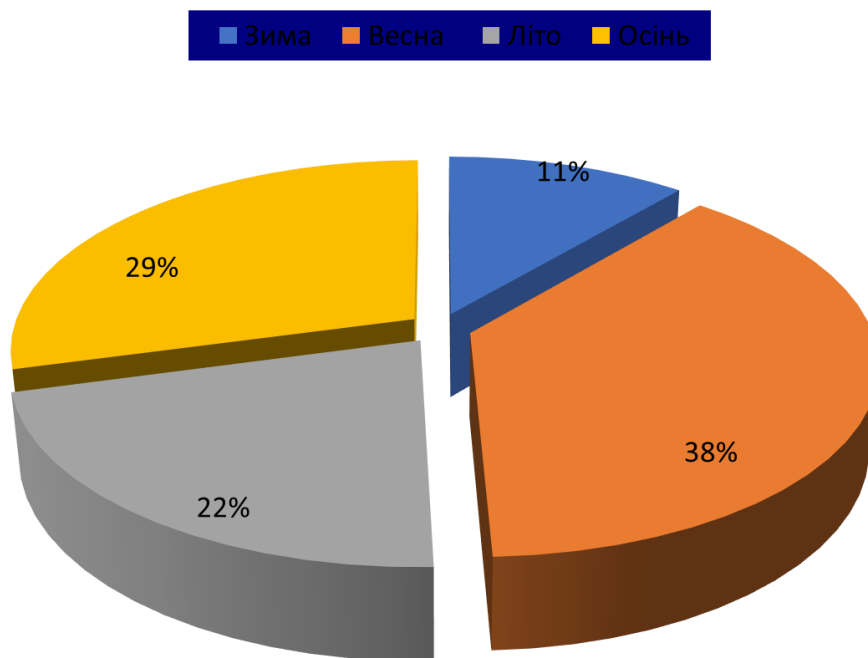


Рис. 3.8. Сезонність лімфолейкозу котів

Відзначаємо всесезонний характер захворювання з нахилом на весняно-осінній період (28,0 та 38,0 %) випадків.

На підставі даних комплексного лабораторного дослідження і клініко-епідеміологічного аналізу інфекційної ситуації джерела лейкозної інфекції встановили діагноз інфектопатології у хворій кішки «Луна» – лейкемія ретровірусної етіології.

ПРОПОЗИЦІЇ

1. При підозрі на наявність контагіозної інфектопатології у домашніх тварин треба терміново звертатись до фахових спеціалістів для експресивного встановлення етіофактору інфекційної патології і адекватного фізіологічного цілеспрямованого своєчасного лікування з застосування специфічних етіотропних імунобіологічних препаратів для боротьби і профілактики.

2. Для профілактики зараження польовим варіантом збудника РТК рекомендується проводити профілактичне щеплення атенуйованими або інактивованими вакцинами в вогнищі інфекції клінічно здорових тварин, а до формування напруженого специфічного імунітету проти РТК необхідно суворо дотримуватись карантинних заходів і не допускати контактів тварин з можливими джерелами і векторами герпесвірусної інфекції.

ВИСНОВКИ

1. На підставі комплексного клініко-епідеміологічного і лабораторного аналізу встановили клінічний діагноз етіофактору інфектопатології хворої кішки з синдромом пневмоентериту і важким ураженням обох очей у вигляді керато-кон'юнктивіту. Збудник інфекційного захворювання був ідентифікований як герпесвірус кішок 1 серотипу (ГВК-1), який індукував ринотрахеїт кішок (РТК) у дуже важкій клінічній формі.

2. У хворої на РТК тварини в підгострій стадії інфектопатології зафіксований респіраторний синдром у вигляді серозно-катаральної бронхопневмонії в стадії гепатизації пульмонарного епітелію, гнійно-катарального риніту, ерозії і виразки в ротовій порожнині; гнійно-катаральний керато-кон'юнктивіт в стадії альтерації і формування виразок рогівки; ентеральний синдром у вигляді атонії, запору і діареї; ураження ЦНС у вигляді тремору, атаксії, манежних рухів.

3. На підставі моніторингових досліджень епідеміологічної ситуації з розповсюдження РТК в залежності від породної чутливості тварин встановили, що хвороба частіше реєструвалась у безпородних тварин (30,8 %) випадків, що на нашу думку корелює з кількісною перевагою таких котів в зоні нашого спостереження. Викликає занепокоєння високий рівень захворюваності серед котів порід американська жорсткошерста, бурманська і кімрійська, яка складає 17,3; 13,5 та 13,5 % випадків від загальної кількості.

4. При встановленні діагнозу на лейкемію кішок важливе значення має ретельний анамнез і клінічний огляд, тому що патогномонічних клініко-епідеміологічних ознак не спостерігаються. При клінічному огляді визначено збільшення поверхневих лімфовузлів, анемічність видимих слизових оболонок, загальний астеничний стан, виражене схуднення, субфебрильна температура тіла, задишка. Епідемічна ситуація в місті дає підставу для превентивного діагнозу – лейкемія, який треба підтвердити лабораторно, інструментальними методами.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Северин, Р.В., Гонтарь, А.М., Рубан, В.О., Куц, М.М. і Штагер, Г.М. (2023). Особливості поширення інфекційного ринотрахеїту, спричиненого FHV-1, серед котів м. Харкова та вдосконалення методів їх лікування, *Бюлетень «Ветеринарна біотехнологія»*, 43, сс. 147-157. https://doi.org/10.31073/vet_biotech43-14
2. Anderson, M.M., Lauring, A.S., Robertson, S., Dirks, C. and Overbaugh, J. (2001) 'Feline Pit2 functions as a receptor for subgroup B feline leukemia viruses', *Journal of Virology*, 75(22), pp. 10563-10572. <https://doi.org/10.1128/jvi.75.22.10563-10572.2001>.
3. Arnold, H.K., Hanselmann, R., Duke, S.M., Sharpton, T.J. and Beechler, B.R. (2022) 'Chronic clinical signs of upper respiratory tract disease associate with gut and respiratory microbiomes in a cohort of domestic felines', *PLoS One*, 17(12). doi:10.1371/journal.pone.0268730.
4. Barros, V.R., Bezerra, J.A.B., Bochnakian, M.S., Paula, V.V. de and Filgueira, K.D. (2017) 'Epidemiology of feline immunodeficiency virus and feline leukemia virus in a veterinary teaching hospital', *Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal*, 11(2). <https://doi.org/10.5935/1981-2965.20170016>.
5. Behboudi, S. (2022) 'Turkey rhinotracheitis [dataset]', *CABI Compendium*. CABI Publishing. <https://doi.org/10.1079/cabicompendium.60956>.
6. Berger, A., Willi, B., Meli, M.L., Boretti, F.S., Hartnack, S., Dreyfus, A., Lutz, H. and Hofmann-Lehmann, R. (2015) 'Feline calicivirus and other respiratory pathogens in cats with feline calicivirus-related symptoms and in clinically healthy cats in Switzerland', *BMC Veterinary Research*, 11, p. 282.
7. Bergmann, M., Ballin, A., Schulz, B., Dörfelt, R. and Hartmann, K. (2019) 'Therapie des akuten viralen Katzenschnupfens [Treatment of acute viral feline upper respiratory tract infections]', *Tierärztliche Praxis. Ausgabe K. Kleintiere*, 47(2), pp. 98-109.

8. Bruyette, D.S. (2020) 'Feline leukemia virus', *Clinical Small Animal Internal Medicine*, pp. 877-881. Portico.
<https://doi.org/10.1002/9781119501237.ch87>.
9. Bupp, K., Sarangi, A. and Roth, M.J. (2006) 'Selection of feline leukemia virus envelope proteins from a library by functional association with a murine leukemia virus envelope', *Virology*, 351(2), pp. 340-348.
<https://doi.org/10.1016/j.virol.2006.03.040>.
10. Cattori, V., Tandon, R., Pepin, A., Lutz, H. and Hofmann-Lehmann, R. (2006) 'Rapid detection of feline leukemia virus provirus integration into feline genomic DNA', *Molecular and Cellular Probes*, 20(3-4), pp. 172-181.
<https://doi.org/10.1016/j.mcp.2005.11.007>.
11. DiGangi, B.A., Levy, J.K., Griffin, B., McGorray, S.P., Dubovi, E.J., Dingman, P.A. and Tucker, S.J. (2012) 'Prevalence of serum antibody titers against feline panleukopenia virus, feline herpesvirus 1, and feline calicivirus in cats entering a Florida animal shelter', *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 241(10), pp. 1320-1325.
12. Dinnage, J.D., Scarlett, J.M. and Richards, J.R. (2009) 'Descriptive epidemiology of feline upper respiratory tract disease in an animal shelter', *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 11, pp. 816-825. doi: 10.1016/j.jfms.2009.03.001.
13. Fernandez, M., Manzanilla, E.G., Lloret, A., León, M. and Thibault, J.C. (2017) 'Prevalence of feline herpesvirus-1, feline calicivirus, Chlamydomphila felis and Mycoplasma felis DNA and associated risk factors in cats in Spain with upper respiratory tract disease, conjunctivitis and/or gingivostomatitis', *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 19(4), pp. 461-469.
14. Gao, J., Li, Y., Xie, Q., Al-Zaban, M.I., Al-Saeed, F.A., Shati, A.A., Al-Doaiss, A.A., Ahmed, A.E., Nawaz, S., Ebrahim, H., Irshad, I., Kulyar, M.F. and Li, J. (2023) 'Epidemiological investigation of feline upper respiratory tract infection encourages a geographically specific fcv vaccine', *Veterinary Sciences*, 10(1), p. 46.

15. Gershwin, L.J. (2017) 'Case 8: Feline Leukemia Virus', *Case Studies in Veterinary Immunology*, pp. 31-34. <https://doi.org/10.4324/9781315165462-8>.
16. Grieco, V., Crepaldi, P., Giudice, C., Roccabianca, P., Sironi, G., Brambilla, E., Magistrelli, S., Ravasio, G., Granatiero, F., Invernizzi, A. and Caniatti, M. (2021) 'Causes of death in stray cat colonies of Milan: a five-year report', *Animals*, 11(11), pp. 3308.
17. Hartmann, K., Hofmann-Lehmann, R. and Sykes, J.E. (2021) 'Feline leukemia virus infection', *Greene's Infectious Diseases of the Dog and Cat*, pp. 382-413. <https://doi.org/10.1016/b978-0-323-50934-3.00032-x>.
18. Horta, R.S., Souza, L.M., Sena, B.V., Almeida, I.O., Jaretta, T.A., Pimenta, M.M. and Reche Júnior, A. (2020) 'LOPH: a novel chemotherapeutic protocol for feline high-grade multicentric or mediastinal lymphoma, developed in an area endemic for feline leukemia virus', *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 23(2), pp. 86-97. <https://doi.org/10.1177/1098612x20926893>.
19. Josephson, N.C., Sabo, K.M. and Abkowitz, J.L. (2000) 'Transduction of feline hematopoietic cells by oncoretroviral vectors pseudotyped with the subgroup A feline leukemia virus (FeLV-A)', *Molecular Therapy*, 2(1), pp. 56-62. <https://doi.org/10.1006/mthe.2000.0090>.
20. Kidney, B.A., Ellis, J.A., Haines, D.M. and Jackson, M.L. (2001) 'Comparison of endogenous feline leukemia virus RNA content in feline vaccine and nonvaccine site-associated sarcomas', *American Journal of Veterinary Research*, 62(12), pp. 1990-1994. <https://doi.org/10.2460/ajvr.2001.62.1990>.
21. Kipar, A., Kremendahl, J., Jackson, M.L. and Reinacher, M. (2001) 'Comparative examination of cats with feline leukemia virus-associated enteritis and other relevant forms of feline enteritis', *Veterinary Pathology*, 38(4), pp. 359-371. <https://doi.org/10.1354/vp.38-4-359>.

22. Kopecny, L., Maggs, D.J., Leutenegger, C.M. and Johnson, L.R. (2020) 'Effects of famciclovir in cats with spontaneous acute upper respiratory tract disease', *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 22(6), pp. 492-499.
23. Kyle, K.N. and Wright, Z. (2010) 'Apparent feline leukemia virus-induced chronic lymphocytic leukemia and response to treatment', *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 12(4), pp. 341-344.
<https://doi.org/10.1016/j.jfms.2009.10.009>.
24. Lacerda, L.C., Silva, A.N., Freitas, J.S., Cruz, R.D.S., Said, R.A. and Munhoz, A.D. (2017) 'Feline immunodeficiency virus and feline leukemia virus: frequency and associated factors in cats in northeastern Brazil', *Genetics and Molecular Research*, 16(2). <https://doi.org/10.4238/gmr16029633>.
25. Lappin, M.R., Jensen, W.A., Jensen, T.D., Basaraba, R.J., Brown, C.A., Radecki, S.V. and Hawley, J.R. (2005) 'Investigation of the induction of antibodies against Crandell-Rees feline kidney cell lysates and feline renal cell lysates after parenteral administration of vaccines against feline viral rhinotracheitis, calicivirus, and panleukopenia in cats', *American Journal of Veterinary Research*, 66(3), pp. 506-511.
<https://doi.org/10.2460/ajvr.2005.66.506>.
26. Legendre, A.M., Kuritz, T., Heidel, R.E. and Baylor, V.M. (2017) 'Polyprenyl immunostimulant in feline rhinotracheitis: randomized placebo-controlled experimental and field safety studies', *Frontiers in Veterinary Science*, 4, p. 24.
27. Levy, J.K., Scott, H.M., Lachtara, J.L. and Crawford, P.C. (2006) 'Seroprevalence of feline leukemia virus and feline immunodeficiency virus infections among cats in North America and risk factors for seropositivity', *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 228, pp. 371-376.
28. Levy, J.K., Crawford, P.C. and Tucker, S.J. (2017) 'Performance of 4 point-of-care screening tests for feline leukemia virus and feline immunodeficiency virus', *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 31(2), pp. 521-526. Portico.
<https://doi.org/10.1111/jvim.14648>.

29. López, G. (2009) 'Feline leukemia virus and the Iberian lynx', *Animal Conservation*, 12(3), pp. 190-191. Portico. <https://doi.org/10.1111/j.1469-1795.2009.00275.x>.
30. Ludwick, K. and Clymer, J.W. (2019) 'Comparative meta-analysis of feline leukemia virus and feline immunodeficiency virus seroprevalence correlated with GDP per capita around the globe', *Research in Veterinary Science*, 125, pp. 89-93. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2019.05.013>.
31. Luria, J.B., Levy, J.K., Lappin, R.M., Breitschwerdt, B.E., Legendre, M.A., Hernandez, A.J., Gorman, S.P. and Lee, T.I. (2004) 'Prevalence of infectious diseases in feral cats in Northern Florida', *J Feline Med Surg*, 6, pp. 287-296.
32. Macieira, D.B., de Menezes, R.C.A.A., Damico, C.B., Almosny, N.R.P., McLane, H.L., Daggy, J.K. and Messick, J.B. (2008) 'Prevalence and risk factors for hemoplasmas in domestic cats naturally infected with feline immunodeficiency virus and/or feline leukemia virus in Rio de Janeiro — Brazil', *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 10(2), pp. 120-129. <https://doi.org/10.1016/j.jfms.2007.08.002>.
33. Mironovich, M.A., Yoon, A., Marino, M.E., Ineck, N.E., Liu, C.C., Carter, R.T. and Lewin, A.C. (2023) 'Evaluation of compounded cidofovir, famciclovir, and ganciclovir for the treatment of feline herpesvirus ocular surface disease in shelter-housed cats', *Veterinary Ophthalmology*, 26(1), pp. 143-153.
34. Natasa, T., Nemec, S., Z., M., Z. and Darja, B.-M. (2008) 'High prevalence of feline immunodeficiency virus (FIV) and feline leukemia virus (FeLV) in Slovenia', *Acta Veterinaria*, 58(2-3), pp. 191-201. <https://doi.org/10.2298/avb0803191t>.
35. Nguyen, D., Barrs, V.R., Kelman, M. and Ward, M.P. (2019) 'Feline upper respiratory tract infection and disease in Australia', *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 21(10), pp. 973-978.

36. Prihirunkit, K., Kasorndokbua, C. and Apibal, S. (2005) 'Diagnosis of acute lymphoblastic leukemia in a dog by cytochemistry', *J Thai Vet Pract*, 17, pp. 53-61.
37. Raukar, J. (2021) 'Prevalence of feline coronavirus, feline leukemia virus, and feline immunodeficiency virus in client-owned cats in Croatia', *JOURNAL OF ADVANCES IN NATURAL SCIENCES*, 8, pp. 24-38. <https://doi.org/10.24297/jns.v8i.9091>.
38. Reinhard, C.L., McCobb, E., Stefanovski, D. and Sharp, C.R. (2020) 'A randomized, placebo-controlled clinical trial of famciclovir in shelter cats with naturally occurring upper respiratory tract disease', *Animals*, 10(9), p. 1448.
39. Rungsuriyawiboon, O., Jarudecha, T., Hannongbua, S., Choowongkomon, K., Boonkaewwan, C. and Rattanasrisomporn, J. (2022) 'Risk factors and clinical and laboratory findings associated with feline immunodeficiency virus and feline leukemia virus infections in Bangkok, Thailand', *Veterinary World*, pp. 1601-1609. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2022.1601-1609>.
40. Salakij, C., Salakij, J., Apibal, S., Narkkong, N.A., Chanhom, L. and Rochanapat, N. (2002) 'Hematology, morphology, cytochemical staining, and ultrastructural characteristics of blood cells in king cobras (*Ophiophagus hannah*)', *Vet Clin Pathol*, 31, pp. 116-126.
41. Sand, C., Englert, T., Egberink, H., Lutz, H. and Hartmann, K. (2010) 'Evaluation of a new in-clinic test system to detect feline immunodeficiency virus and feline leukemia virus infection', *Veterinary Clinical Pathology*, 39(2), pp. 210-214. Portico. <https://doi.org/10.1111/j.1939-165x.2009.00196.x>.
42. Schmeltzer, L.E. (2012) 'Feline Leukemia Virus Diseases', *Nursing the Feline Patient*, pp. 189-194. Portico. <https://doi.org/10.1002/9781119264910.ch26>.
43. Sierra, P., Guillot, J., Jacob, H., Bussi eras, S. and Chermette, R. (2000) 'Fungal flora on cutaneous and mucosal surfaces of cats infected with feline immunodeficiency virus or feline leukemia virus', *American Journal of*

44. Singh, S., Davenport, K.A., Schooley, E., Ruggiero, A., Nassar, S., Buch, J. and Chandrashekar, R. (2023) 'Diagnostic accuracy of a point-of-care immunoassay for feline immunodeficiency virus antibodies, feline leukemia virus antigen, and *Dirofilaria immitis* antigen', *Viruses*, 15(10), p. 2117.
<https://doi.org/10.3390/v15102117>.
45. Songaksorn, N., Petsophonsakul, W., Pringproa, K., Lampang, K.N., Sthitmatee, N., Srifawattana, N., Piyarungsri, K. and Thongkorn, K. (2021) 'Prevalence of autoantibodies that bind to kidney tissues in cats and association risk with antibodies to feline viral rhinotracheitis, calicivirus, and panleukopenia', *Journal of Veterinary Science*, 22(3).
<https://doi.org/10.4142/jvs.2021.22.e38>.
46. Spertus, C.B., Pennington, M.R., Van de Walle, G.R., Badanes, Z.I., Judd, B.E., Mohammed, H.O. and Ledbetter, E.C. (2019) 'Effects of orally administered raltegravir in cats with experimentally induced ocular and respiratory feline herpesvirus-1 infection', *American Journal of Veterinary Research*, 80(5), pp. 490-497.
47. Sprißler, F., Jongwattanapisan, P., Luengyosluechakul, S., Pusoonthornthum, R., Reese, S., Bergmann, M. and Hartmann, K. (2022) 'Prevalence and risk factors of feline immunodeficiency virus and feline leukemia virus infection in healthy cats in Thailand', *Frontiers in Veterinary Science*, 8.
<https://doi.org/10.3389/fvets.2021.764217>.
48. Sunpongsri, S., Kovitvadhi, A., Rattanasrisomporn, J., Trisaksri, V., Jensirisak, N. and Jaroensong, T. (2022) 'Effectiveness and adverse events of cyclophosphamide, vincristine, and prednisolone chemotherapy in feline mediastinal lymphoma naturally infected with feline leukemia virus', *Animals*, 12(7), p. 900. <https://doi.org/10.3390/ani12070900>.
49. Tejerizo, G., Doménech, A., Illera, J.-C., Silván, G. and Gómez-Lucía, E. (2012) 'Altered plasma concentrations of sex hormones in cats infected by

- feline immunodeficiency virus or feline leukemia virus', *Domestic Animal Endocrinology*, 42(2), pp. 113-120.
<https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2011.11.001>.
50. Tuba, Ç. and Sahna, O. (2010) 'Поширеність котячого коронавірусу (FCoV) і вірусу котячої лейкемії (FeLV) у турецьких котів', *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 57(4), pp. 271-274.
https://doi.org/10.1501/vetfak_0000002438.
51. Vekšins, A. (2022) 'Feline upper respiratory tract disease – Computed tomography and laboratory diagnostic', *Veterinary World*, 15(7), pp. 1880-1886.
52. Walter, J., Foley, P., Yason, C., Vanderstichel, R. and Muckle, A. (2020) 'Prevalence of feline herpesvirus-1, feline calicivirus, Chlamydia felis, and Bordetella bronchiseptica in a population of shelter cats on Prince Edward Island', *Canadian Journal of Veterinary Research*, 84(3), pp. 181-188.
53. Warner, M.S. and Genheimer, R.A. (2008) "Cats here, cats there, cats and kittens everywhere": An urban extermination of cats in nineteenth-century Cincinnati', *Historical Archaeology*, 42(1), pp. 11-25.
<https://doi.org/10.1007/bf03377061>.
54. Willett, B.J. and Hosie, M.J. (2021) 'Feline leukemia and sarcoma viruses (Retroviridae)', *Encyclopedia of Virology*, pp. 300-305.
<https://doi.org/10.1016/b978-0-12-814515-9.00043-6>.
55. Wu, Q., Wu, H., He, S., Liu, Y., Chen, Y., Qi, X., Gu, X., Wen, Y., Jin, X., Jin, Y. and Tian, K. (2022) 'Feline herpesvirus infection and pathology in captive snow leopard', *Scientific Reports*, 12(1), p. 4989.
56. Xiao, X., Hao, X., Chen, B., Zhou, P. and Li, S. (2022) 'Two multiplex PCR methods for detecting several pathogens associated with feline respiratory and intestinal tracts', *Veterinary Sciences*, 10(1), p. 14.
57. Ye, J., Li, Z., Sun, F.Y., Guo, L., Feng, E., Bai, X. and Cheng, Y. (2022) 'Development of a triple NanoPCR method for feline calicivirus, feline

panleukopenia syndrome virus, and feline herpesvirus type I virus', *BMC Veterinary Research*, 18(1), p. 379.

ДОДАТКИ

Додаток А



**Клінічно-діагностичний центр факультету ветеринарної медицини
Дніпровського державного аграрно-економічного університету**



Стационарне відділення навчально-дослідної лабораторії, клінічно-діагностичного центру факультету ветеринарної медицини Дніпровського державного аграрно-економічного університету