

Сельскохозяйственные науки

УДК619:616.981.3+576.858:615.37

Е.Б. Никитин, доктор ветеринарных наук, профессор
Инновационный Евразийский университет (г. Павлодар, Республика Казахстан)
E-mail: yevgeniyunikitin1964@gmail.com

Т.И. Урюмцева, кандидат ветеринарных наук, доцент
Инновационный Евразийский университет (г. Павлодар, Республика Казахстан)
E-mail: vbh2@mail.ru

Изучение возможности применения средств и методов диагностики аденовирусной инфекции КРС при инфекционном гепатите собак

***Аннотация.** Статья посвящена актуальной на сегодняшний день проблеме дифференциальной диагностики заболеваний вирусной этиологии у мелких домашних животных. Вирусные заболевания собак и кошек широко распространены среди как среды высокопородных, так и беспородных животных. Распространению заболеваний способствует увеличение численности мелких домашних животных, популяризация содержания питомцев, трансграничные операции, связанные с перемещением животных. Рассматривается возможность применения средств и методов диагностики аденовирусной инфекции крупного рогатого скота ориентировочной диагностики и дифференциации инфекционного гепатита собак от чумы плотоядных и парвовирусного энтерита. Сокращение сроков диагностики способствует повышению эффективности осуществляемых лечебных и противоэпизоотических мероприятий. Дан анализ места инфекционного гепатита плотоядных в структуре заболеваемости собак. В статье описываются изыскания в области применения установленного антигенного родства представителей семейства аденовирусов для осуществления прижизненной и посмертной диагностики инфекционных заболеваний мелких домашних животных. Авторами предложен метод осуществления постановки серологических реакций для диагностики инфекционного гепатита собак с использованием средств диагностики аденовирусной инфекции крупного рогатого скота.*

***Ключевые слова:** антигенное родство, диагностика, серологические реакции, инфекционный гепатит собак.*

В ветеринарной медицине с научно-практической точки зрения мало уделяется внимания острой проблеме инфекционных заболеваний домашних животных, не относящихся к группе особо опасных. Пристального внимания заслуживают вирусные инфекции собак, среди которых классически принято выделять наиболее заразные моноинфекции: парвовирусный энтерит, чума плотоядных, инфекционный гепатит, аденовирус, пара-грипп. Но в современном мире все реже наблюдается течение вирусных болезней собак в виде моноинфекций, и возрастает роль ассоциированных заболеваний, вызванных двумя или несколькими патогенами. Различные сочетания возбудителей вирусных инфекций собак приводят к тяжелому течению заболевания с большой вариабельностью клинических признаков, нередко с осложнениями, часто приводящими животное к смерти.

Большинство научных изысканий в области ветеринарии в основном направлены на повышение эффективности сельскохозяйственного производства. В связи с этим мало уделяется значения острой проблеме инфекционных заболеваний домашних животных, что также повсеместно проводимая вакцинация и ограниченность методов специфической диагностики способствуют формированию ошибочного мнения о благополучной эпизоотической ситуации по вирусным не антропозоонозным болезням собак. Действительно, широкая доступность разнообразных ассоциированных вакцин отечественного и импортного производства приводит к тому, что сами заводчики без контроля ветеринарного врача прививают своих питомцев. В этом случае нарушение схемы вакцинации нередко приводит к печальным последствиям для здоровья собак. Зачастую ветеринарные клиники ограничиваются лишь клиническим методом диагностики вирусных инфекций. Применение одного этого метода часто приводит к ошибочным результатам, так как не всегда учитываются сопутствующие заболевания [1].

Инфекционный гепатит плотоядных (*Hepatitisinfectiosacanine*) – это острая контагиозная вирусная болезнь собак и других представителей семейства псовых, проявляющаяся лихорадкой, фолликулярным конъюнктивитом, катаральным воспалением слизистых оболочек дыхательных путей и желудочно-кишечного тракта, а также выраженными поражениями печени и центральной нервной системы [2].

Инфекционный гепатит собак имеет широкое распространение с отягощенным влиянием на уровень здоровья животных. В городских условиях болезнь поражает собак различных пород и возрастов, наиболее подвержены заболеванию щенки в 2-6 месячном возрасте [3].

Возбудителем гепатита является ДНК-содержащий вирус. По вирулентности штаммы несколько отличаются, но в антигенном отношении все они однородны. В зависимости от степени тяжести тропизма к ткани печени или мозга вирусные штаммы подразделяются на нейро- и гепатотропные. Вирус относится к семейству *Adenoviridae*, род *Mastadenovirus*, тип аденовируса собак серотипа 1 (CAV-1). Вирионы CAV-1, как и все аденовирусы, представляют собой изометрические частицы типа кубической симметрии диаметром 70-90 нм, сферической формы. На верхушках икосаэдра имеются отростки (волокна). Капсид вириона включает 252 капсомера без оболочки суперкапсида. Капсид содержит 12 структурных белков. Существует также основной белок, связанный с ДНК вириона. Нуклеиновая кислота вириона представлена двухцепочечной линейной ДНК.

Вирус устойчив к различным физическим факторам. При замораживании, сушке и в 50 % растворе глицерина при комнатной температуре вирус остается вирулентным в течение нескольких лет, в природе он может сохраняться более 2 лет. При температуре 4 °С вирус остается активным более 9 месяцев, при 37 °С – до 39 дней, 50 °С-150 минут, 60 °С – 3-5 минут, 100 °С – 1 минуту. Возбудитель устойчив к эфиру, хлороформу и метанолу и нестабилен по отношению к формалину, лизолу, фенолу, свежеегашеной извести, которые инактивируют ее в течение 30 минут.

Возбудители ИГС (CAV-1) и собачьего аденовируса (CAV-2) проявляют частичную перекрестную нейтрализацию антисыворотками и различаются по тропизму у собак. Вирус ИГС содержит преципитирующие, гемагглютинирующие и комплемент-связывающие антигены и индуцирует образование соответствующих антител. Вирионы возбудителя гепатита плотоядных располагаются в ядрах клеток. Структура их включает преципитирующий, гемагглютинирующий и комплемент-связывающий антигены. У всех штаммов имеются одинаковый групповой и специфические комплементсвязывающие антигены [4].

В настоящее время как в Казахстане так и в России, из-за отсутствия статистической базы данных о заболеваемости собак, не представляется возможным иметь объективную оценку распространения вирусных заболеваний мелких домашних животных [5].

Заслуживает внимания реакция агглютинации латекса с использованием в качестве сорбентов искусственных или естественных латексов, нагруженных соответствующими антигенами или антителами. Этот высокоэффективный экспресс-метод анализа используется в медицинской и ветеринарной практике для диагностики чумы плотоядных и КРС, ящура, кори и многих других вирусных и бактериальных инфекций.

Имеются данные об антигенном родстве по преципитирующему антигену между аденовирусом человека и вирусом ИГС. Связь эта односторонняя – аденовирусная сыворотка человека – реконвалесцента реагирует с антигеном вируса ИГС, но не наоборот. Между аденовирусами человека и КРС также установлено антигенное родство. Известно также антигенное иммунологическое родство между другими представителями семейства *Adenoviridae*. Лабораторная диагностика аденовирусной инфекции КРС заключается в обнаружении антигена в патологическом материале (мазках, отпечатках, срезах), полученном от больных животных, в реакции иммунофлюоресценции и реакции связывания комплемента; выделение возбудителя в культуре клеток и его групповая идентификация в серологических реакциях: реакции связывания комплемента, реакции диффузионной преципитации и реакции иммунофлюоресценции; выявление антител в сыворотке крови больных и переболевших животных (ретроспективная диагностика) в серологических реакциях: реакции связывания комплемента и реакции диффузионной преципитации.

С учетом вышеизложенного одной из целей наших исследований была разработка метода серологической диагностики ИГС с использованием препаратов для диагностики аденовирусной инфекции КРС.

Известно также антигенное иммунологическое родство между другими представителями семейства *Adenoviridae*. В него входит и возбудитель аденовирусной инфекции крупного рогатого скота, наборы для диагностики которой выпускаются биологической промышленностью и поступают в вирусологические отделы ветеринарных лабораторий.

С учетом вышеизложенного одной из целей наших исследований была разработка метода серологической диагностики ИГС с использованием препаратов для диагностики аденовирусной инфекции КРС. Использование с диагностической целью антигенного родства положено в основу получения моноспецифических поликлональных антисывороток к антигенно родственными белкам, что позволило получить иммунный ответ ко всем и слабым, и сильным антигенным детерминантам. Для того чтобы родственные белки можно было различать между собой, антисыворотки к ним должны содержать антитела к наибольшему числу различающихся антигенных детерминант. Родственные белки могут различаться как слабыми, так и сильными антигенами, поэтому для решения задачи отдельного определения этих белков важно иметь антисыворотки с таким набором антител. Такие антисыворотки могут быть использованы для дифференциального определения родственных белков в сыворотке крови человека при диагностике ряда заболеваний и в биологических препаратах с помощью иммуноферментных тест-систем или радиальной иммунодиффузии [6].

В наших исследованиях применяли наборы диагностикумов для РСК и РДП при аденовирусной инфекции КРС производства ООО «Агровет» (Россия). В условиях ветеринарной клиники «Аида-

Зоофера» (г. Семей) отбирали испытуемый материал от собак, больных и павших от различных заболеваний. Для посмертной диагностики отбирали пробы органов и тканей печени, легких, селезенки, из которых готовили 20 % органотканевую суспензию на физиологическом растворе, которую исследовали в РДП в разведениях от цельного до 1:16. Для прижизненной диагностики от больных животных отбирали пробы сывороток крови в различных стадиях инфекционного процесса (начальный период, выраженные признаки заболевания, агональный период).

Для контроля специфичности метода использовали материал, полученный от здоровых невакцинированных и вакцинированных собак, а также собак, больных и переболевших чумой и парвовирусным энтеритом.

Испытуемый материал исследовали в РДП по методу Оухтерлони с использованием 1 % агара Дифко при выдерживании реакции при температуре $(37 \pm 1)^{\circ}\text{C}$ в течение 24 часов.

При исследовании проб органотканевого материала в центральные лунки вносили диагностические сыворотки к аденовирусу КРС I и II серотипа в цельном виде, а в периферические – разведения суспензии испытуемого органотканевого материала.

При исследовании сывороток крови в центральные лунки вносили диагностические антигены вируса аденовирусной инфекции КРС I и II серотипа в разведении 1:2, а в периферические – испытуемые сыворотки крови в цельном виде.

При постановке реакции для проверки специфичности и активности диагностических препаратов осуществляли постановку контролей.

Результаты исследований проб органотканевого материала представлены в таблице 1.

Как видно из данных, представленных в таблице 1, при использовании специфической сыворотки к аденовирусу КРС II серотипа были обнаружены антигены аденовируса в пробах печени и селезенки больных ИГС в титрах от цельного до 1:4. В пробах легких антиген обнаружен не был. Специфическая сыворотка к аденовирусу КРС I серотипа не дала положительной реакции с этими же пробами, из чего можно сделать вывод о близкородственности вируса ИГС и аденовируса КРС II серотипа. Исследование с целью контроля специфичности органов собак, павших от чумы и парвовирусного энтерита, а также от убитых здоровых бродячих собак, показало отрицательный результат реакции, что свидетельствовало о специфичности метода.

Таблица 1 – Результаты исследования в РДП проб органотканевого материала, полученного от собак

Материал	Количество проб	Сыворотка к аденовирусу КРС	
		I серотип	II серотип
Органы собак, больных гепатитом:			
Легкие	4	–	–
Селезенка	4	–	Ц – 1:2
Печень	4	–	1:2 – 1:4
Органы собак, больных чумой	2	–	–
Органы собак, больных энтеритом	2	–	–
Органы здоровых собак	3	–	–

Ц – цельная.

Более актуальным является вопрос прижизненной диагностики ИГС. С этой целью для обнаружения вирусспецифических антител в сыворотках крови больных животных была осуществлена постановка реакции с использованием диагностических антигенов аденовируса КРС I и II серотипа. Результаты исследований представлены в таблице 2.

Как видно из данных, представленных в таблице 2, вирус-специфические антитела, родственные антигену аденовируса II серотипа, были обнаружены в сыворотках крови больных собак в различные периоды заболевания (в начальный период, характеризующийся только повышением температуры тела и снижением аппетита, в период выраженных клинических признаков и в заключительный агональный период).

Сыворотки крови от животных с другими заболеваниями, и от здоровых собак показали отрицательную реакцию, что свидетельствовало о специфичности метода. Поствакцинальные антитела в РДП также не обнаруживали.

Таблица 2 – Результаты РДП при исследовании проб сыворотки крови больных собак

Испытуемые сыворотки	Количество проб	Антиген аденовируса КРС	
		I серотип	II серотип
Собаки, больные гепатитом:			
Начальный период	8	-	+
Выраженные признаки	12	-	+
Агональный период	4	-	+
Собаки, больные чумой	10	-	-

Продолжение таблицы 2

Собаки, больные энтеритом	6	–	–
Здоровые собаки:			
Невакцинированные	10	–	–
Вакцинированные	10	–	–

Таким образом, в результате проведенных исследований была установлена возможность постановки серологических реакций для диагностики инфекционного гепатита собак с использованием средств диагностики аденовирусной инфекции КРС.

Данный метод в настоящее время используется для ориентировочной и дифференциальной диагностики ИГС от чумы плотоядных и парвовирусного энтерита в частной ветеринарной клинике «Аида-Зоосфера» (г. Семей).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 Никоненко Т.Б., Мельцов И.В., Барышников П.И. Ассоциированные вирусные инфекции собак в городе Иркутске // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2017. – № 8 (154). – С.165-170.
- 2 Ниманд Х.Г., Сутер П.Б. Болезни собак: учебник. – М.: Аквариум, 2012. – 1360 с.
- 3 Китаев Н.С., Петрова О.Г. Эпизоотологические особенности инфекционного гепатита собак в условиях г. Екатеринбурга // Аграрный вестник Урала. – 2010. – № 11-2 (77). – С. 25-26.
- 4 Сюрин В.Н., Самуйленко А.Я., Соловьёв Б.В., Фомина Н.В. Вирусные болезни животных: Учебник. – М.: ВНИТИБП, 1998. – 928 с.
- 5 Камарли А.А., Акматова Э.К., Сааданов И.У. Эпидемиологический мониторинг инфекционных болезней плотоядных животных // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2016. – № 8 (142). – С.125-129.
- 6 Патент РФ № 02215294: МПКG01N 33/531. Способ получения моноспецифических поликлональных антисывороток к антигенно родственным белкам / Баталова Т.Н., Гузова В.А., Козлов Л.В., Маслова Ю.Ю., Алешкин В.А., Панурина Р.Л. – заявка № 2001128465/14; заявл. 23.10.2001; опубл. – 27.10.2003, Бюл. № 48. – 4 с: ил.

REFERENCES

- 1 Nikonenko T.B., Mel'tsov I.V., Baryshnikov P.I. Assotsirovannyye virusnyye infektsii sobak v gorode Irkutsk // Vestnik Altayskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta. – 2017. – № 8 (154). – S.165-170.
- 2 Nimand K.H.G., Suter P.B. Bolezni sobak: Uchebnik. - M.: Akvarium, 2012. – 1360 s.
- 3 Kitayev N.S., Petrova O.G. Epizootologicheskiye osobennosti infektsionnogo gepatita sobak v usloviyakh g. Yekaterinburga // Agrarnyy vestnik Urala. – 2010. – № 11-2 (77). – S. 25-26.
- 4 Syurin V.N., Samuylenko A.YA., Solov'yov B.V., Fomina N.V. Virusnyye bolezni zhivotnykh: Uchebnik.–M.:VNITIBP, 1998. – 928 s.
- 5 Kamarli A.A., Akmatova E.K., Saadanov I.U. Epidemiologicheskii monitoring infektsionnykh bolezney plotoyadnykh zhivotnykh // Vestnik Altayskogo gosud arstvennogo agrarnogo universiteta. – 2016. - № 8 (142). - S.125-129.
- 6 Patent RF №02215294: МПКG01N 33/531. Sposob polucheniya monospetsificheskikh poliklonal'nykh antisyyvorotok k antigennorodstvennym belkam / Batalova T.N., Guzova V.A., Kozlov L.V., Maslova YU.YU., Aleshkin V.A., Panurina R.L.- zayavka № 2001128465/14; zayavl. 23.10.2001; opubl. - 27.10.2003, Byul. № 48.- 4 s: il.

ТҮЙІН

Е.Б. Никитин, ветеринария ғылымдарының докторы, профессор
ИнновациялықЕуразияуниверситеті (Павлодар қ., ҚазақстанРеспубликасы)
Т.И. Урюмцева, ветеринария ғылымдарының кандидаты, доцент
ИнновациялықЕуразияуниверситеті (Павлодар қ., ҚазақстанРеспубликасы)

Иттердің жұқпалы гепатиті кезінде ІҚМ аденовирустық инфекциясын диагностикалаудың құралдары мен әдістерін қолдану мүмкіндігін зерделеу

Мақалада ұсақ үй жануарларындағы вирустық этиология ауруларының дифференциалды диагностикасының бүгінгі күнгі өзекті мәселесіне арналған. Иттер мен мысықтардың вирустық аурулары жоғары ұқымды, сондай-ақ тұқымсыз жануарлардың арасында кең таралған. Аурудың

таралуына ұсақ үйжануарлары санының артуы, питомниктерді ұстауды танымал ету, жануарларды тасымалдауға байланысты трансшекаралық операциялар ықпал етеді. Ірі қарамалдың аденовирустық инфекциясын диагностикалаудың құралдары мен әдістерін қолдану мүмкіндігі қарастырылады. Диагностика мерзімдерін қысқарту жүзеге асырылатын емдеу және эпизоотияға қарсы іс-шаралардың тиімділігін арттыруға ықпал етеді. Иттердің аурушаңдығы құрылымында етқоректілердің жұқпалы гепатитінің орнын аталдау жасалды. Мақалада ұсақүйжануарларының жұқпалы ауруларын тірікезінде және өлгеннен кейін диагностикалауды жүзеге асыру үшін аденовирустар отбасы өкілдерінің белгіленген антигендік туыстық қолдану мүмкіндігі саласындағы ізденістер сипатталады. Авторлар ірі қарамалдың аденовирустық инфекциясын диагностикалау құралдарын пайдалана отырып, иттердің жұқпалы гепатитін диагностикалау үшін серологиялық реакцияларды қоюды жүзеге асыру әдісін ұсынды.

Түйін сөздер: антигендік туыстық, диагностика, серологиялық реакциялар, иттердің жұқпалы гепатиті.

RESUME

E.B. Nikitin, Doctor of Veterinary Sciences, Professor
Innovative University of Eurasia (Pavlodar, Republic of Kazakhstan)

T.I. Uryumtseva, Candidate of Veterinary Sciences, Associate Professor
Innovative University of Eurasia (Pavlodar, Republic of Kazakhstan)

Studying the possibility of using tools and diagnostic methods for adenovirus infection of cattle in infectious hepatitis dogs

The article is devoted to the current problem of differential diagnosis of diseases of viral etiology in small domestic animals. Viral diseases of dogs and cats are widespread among both high-breed and outbred animals. The spread of diseases is facilitated by an increase in the number of small domestic animals, the popularization of pet keeping, and cross-border operations related to the movement of animals. The possibility of using means and methods of diagnosing adenovirus infection in cattle, tentative diagnosis and differentiation of infectious hepatitis in dogs from plague of carnivores and parvovirus enteritis is being considered. Reducing the timing of diagnosis helps to increase the effectiveness of ongoing therapeutic and antiepidemic measures. The analysis of the place of carnivorous infectious hepatitis in the structure of the incidence of dogs is given. The article describes the research in the field of the possibility of using the established antigenic relationship of representatives of the adenovirus family for the in vivo and posthumous diagnosis of infectious diseases of small pets. The authors proposed a method for performing the production of serological reactions for the diagnosis of infectious hepatitis in dogs using diagnostic tools for adenovirus infection in cattle.

Key words: antigenic relationship, diagnosis, serological reactions, infectious dog hepatitis.