

МІКРОБІОЛОГІЯ

© Носенко О. В., Ніконова М. М., Крисенко О. В., Склар Т. В., Вінніков А. І.

УДК 578. 824. 11: 619. 619. 98:615. 372

Носенко О. В., *Ніконова М. М., Крисенко О. В., Склар Т. В., Вінніков А. І.

ПОШИРЕННЯ ВІРУСНОГО СКАЗУ СЕРЕД ТВАРИН

У ДНІПРОПЕТРОВСЬКІЙ ОБЛАСТИ

Дніпропетровський національний університет ім. Олеся Гончара

(м. Дніпропетровськ)

*Дніпропетровська державна регіональна лабораторія ветеринарної медицини

(м. Дніпропетровськ)

microviro@rambler.ru

Роботу було виконано у межах держбюджетної теми № 1-262-12, що виконується на кафедрі мікробіології, вірусології та біотехнології Дніпропетровського національного університету ім. Олеся Гончара, № державної реєстрації 0112U00192.

Вступ. Сказ – особливо небезпечна, гостро протікаюча, вірусна, інфекційна хвороба теплокровних тварин усіх видів, а також людини, що передається переважно через укус хворої тварини, характеризується ознаками ураження ЦНС і закінчується смертю [4].

В Європі в 2008 році померли від сказу 14 людей: 12 – з Російської Федерації, 2 – з України. В 2009 році – 12 людей: 10 – з Російської Федерації, 1 – з України, 1 – з Великої Британії. У 2010 році – 8 людей: 6 – з Російської Федерації, 2 – з України. Останнім часом в Україні випадки захворювання людей на сказ реєструються майже щороку. В Україні антирабічні щеплення отримують близько 20 тис. людей, а кількість померлих від сказу в 2001–2009 роках становила 25 осіб, тоді як в 1994 – 2000 роках загинуло 6 осіб [5]. Складна епідеміологічна та епізоотологічна ситуація спостерігається більш ніж в 110 країнах світу. В значній мірі таке становище пов’язують з якістю вакцин та ефективністю антирабічної імунізації. В країнах Європи спостерігається зменшення нозоареалу сказу, спад епізоотії майже у всіх країнах та переміщення її епіцентрів в східному напрямку [7]. На сьогодні ситуацію зі сказу у всій Європі визначає епізотичний стан в країнах Східної Європи – Російській Федерації, Білорусі, Україні, Хорватії. За останнє десятиріччя на території України в значній мірі ускладнилася епізоотична ситуація щодо сказу, як серед диких, так і серед домашніх тварин [3].

Метою роботи було на підставі даних лабораторних досліджень та епізоотичних обстежень провести аналіз поширення вірусного сказу по містах Дніпропетровської області.

Об’єкт і методи дослідження. Об’єктом дослідження був мозок тварин з підозрою на вірусний сказ. Дослідження проводили методом біопроби на білих миших, суть якого полягає у виділенні вірусу з біоматеріалу від хворих або загиблих тварин та

інокуляції патологічного матеріалу білим мишим з подальшою його ідентифікацією методом флуоресцентних антитіл [1]. Матеріал для інокуляції мишей готовили з різних частин амонового рогу, мозочку, кори великих півкуль, довгастого мозку. Тканини підрібнювали ножицями і розтирали у ступці, добавляючи фізіологічний розчин, також можна використовувати середовище Хенкса, до утворення 10–20% суспензії. Цю суспензію центрифугували у режимі 2000 об/хв протягом 5–10 хв, відстоювали до осідання великих часток і утворення прозорого надосаду. Надосадову рідину переносили у стерильну пробірку та додавали по 500 мг. пеніциліну і стрептоміцину на 1 см³ суспензії, потім інкубували 30 хв за температури 20°C. Далі брали 6–10 білих мишей віком 3–4 тижні та вагою від 12–14 г, або віком двох днів від народження і вводили підготовлену суспензію інтрацеребрально дозою 0,03 см³ для мишей віком 3–4 тижні або 0,02 см³ для мишей віком двох днів. Інфікованих мишей поміщали у клітки та оформляли облікову картку, в якій щоденно робили відповідні записи [8]. Негативний діагноз на сказ може бути встановлений лише по закінченні 30-денного строку спостерігання, якщо немає специфічної загибелі мишей. Головний мозок від мишей, що загинули починаючи з четвертої доби після інфікування досліджують методом флуоресцентних антитіл, суть якого полягає у сполученні мічених флуоресцеїн ізотіоціанатом (ФІТЦ) поліклональних, або суміші моноклональних антитіл зі специфічним антигеном і спостеріганні комплексів “антиген-антитіло”, що світяться в полях зору люмінісцентного мікроскопу. Спочатку готовили відбитки або мазки із свіжозамороженого головного мозку тварин (амонового рогу, мозочку, кори великих півкуль, довгастого мозку) на ретельно знежирених предметних скельцях [6]. Після приготування, мазки або відбитки висушували на повітрі, фіксували в ацетоні при температурі –20°C протягом 30–60 хв, після чого виймали із ацетону і висушували на повітрі. Ліофілізований ФІТЦ-кон’югант відновлювали дистильованою водою до початкового об’єму, вказаного на етикетці. Далі готовили робоче розведення ФІТЦ-кон’югantu додаванням необхідної

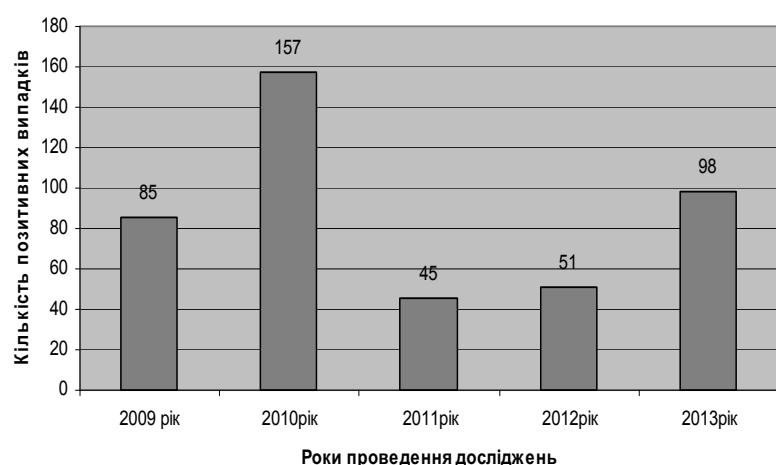


Рис. 1. Випадки вірусного сказу за 2009 – 2013 роки.

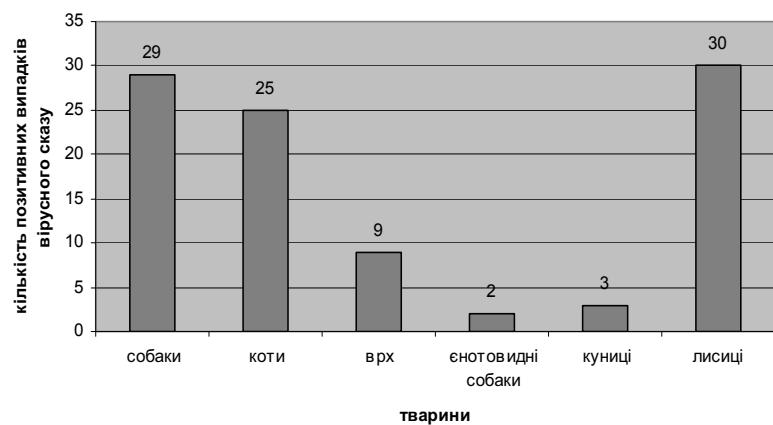


Рис. 2. Зареєстровані позитивні випадки вірусного сказу серед різних тварин Дніпропетровської області за 2013 рік.

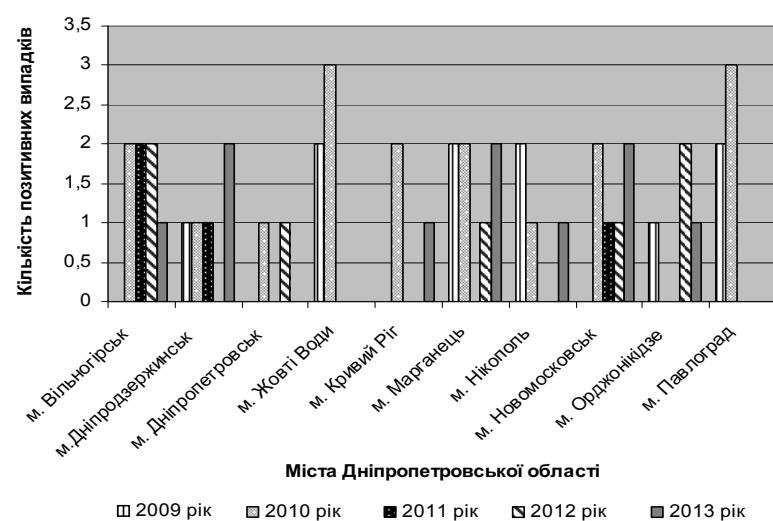


Рис. 3. Дослідження випадків вірусного сказу в містах Дніпропетровської області за 2009 – 2013 роки.

кількості 0,01 М фосфатного буферу, використовували його в день приготування. ФІТЦ-кон'югант рівномірно наносили на всю поверхню препарату, закривали чашку Петрі, поміщали її у термостат на 30 хв, за температури 37°C. Одночасно ми фарбували контрольні препарати [9]. Після закінчення строку інкубації скельця ополіскували і тричі промивали фосфатним буфером. Потім препарати висушували на повітрі. Люмінісцентну мікроскопію під імерсійною системою проводили саме в день фарбування. В пофарбованих препаратах тканина мозку світиться тъмяним, сіруватковитим, зеленуватим або зеленувато-коричневим кольором. Антиген вірусу сказу виявляли у нейронах і поза ними у вигляді яскраво-зелених гранул різного розміру і форми [2]. Діагноз на сказ вважається встановленим, якщо в декількох полях зору мікроскопу виявляється достатня кількість таких гранул (не менше 10) за умов відсутності специфічного світіння у контрольних негативних препаратах та наявності типових гранул у контрольних позитивних препаратах.

Були проаналізовано стан поширення сказу у таких містах Дніпропетровської області: м. Дніпропетровськ, м. Дніпродзержинськ, м. Жовті Води, м. Кривий Ріг, м. Нікополь, м. Новомосковськ, м. Павлоград, м. Вільногірськ, м. Марганець, м. Орджонікідзе.

Утримання тварин та експерименти проводилися відповідно до положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001).

Результати дослідження та їх обговорення. Епізоотична ситуація зі сказу в Дніпропетровській області залишається досить напруженою та характеризується суттєвим розвитком епізоотії, що розпочалася ще в 2000 році. В подальшому епізоотичний процес набув значного поширення і уже у 2009 році було виявлено 85 хворих тварин. Найбільше поширення епізоотії відбулося в 2010 році – 157 хворих тварин. Спад

епізоотії спостерігався у 2011 році – 45 випадків, та 51 – у 2012 році. З початку 2012 року показники захворюваності тварин на сказ у містах Дніпропетровської області знову збільшилися: захворіло 51 тварин. У 2013 році було виявлено 98 позитивних результатів на вірусний сказ (**рис. 1**).

У 2013 році в Дніпропетровській Державній регіональній лабораторії ветеринарної медицини дослідили на сказ 769 патологічних матеріалів від 12 видів тварин, з яких 98 виявилися позитивними. А саме по тваринам: лисиці – 30 позитивних результатів, 29 собак виявилися хворими, 9 видів тварин великої рогатої худоби, 25 котів, 2 єнотовидні собаки, 3 куниці. Серед диких тварин найчастіше інфекція виділяється від лисиць – у 30% випадків, захворюваність серед єнотовидних собак та куниць виявляється досить рідко відповідно – у 2% та 3% від загальної кількості хворих тварин.

Що стосується свійських тварин, то у цій категорії лідером за кількістю позитивних випадків вірусного сказу є коти та собаки – 26% і 30%, при чому приблизно 80% патологічного матеріалу прибуває саме від безпритульних котів і собак. Велика рогата худоба активно піддається сказу у весняно-літній період – період пасовиськ, де вони можуть контактувати з дикими інфікованими тваринами. Загалом, у 2013 році виявили 9 випадків вірусного сказу серед великої рогатої худоби, що становить 9% від інших захворілих тварин (**рис. 2**).

У містах Дніпропетровської області складається досить напружена ситуація щодо сказу, а саме:

Вільногірськ, Дніпродзержинськ, Кривий Ріг, Марганець, Нікополь, Новомосковськ, Орджонікідзе характеризуються виявленням вірусного сказу у кількості 1–3 випадки на рік. У Дніпропетровську, Жовтих Водах і Павлограді станом на 2013 рік вірусного сказу серед тварин виявлено не було (**рис. 3**).

Таким чином, дослідивши епізоотичний стан вірусного сказу у Дніпропетровській області за період 2009 – 2013 роки, дійшли висновку, що при епізоотії міського типу основними джерелами збудника і розповсюджувачами хвороби є бродячі і бездоглядні собаки та коти. Від їх чисельності залежать масштаби епізоотії. Максимум розповсюдження і кількості випадків вірусного сказу припав на 2010 рік, а через посилені заходи попередження сказу у 2011 році спостерігали мінімум розповсюдження хвороби серед диких та свійських тварин.

Висновки.

1. Встановлено, що найбільше поширення вірусного сказу у період 2009 – 2013 рр. реєстрували у 2010 р. – 157 хворих тварин. Спад епізоотії спостерігали у 2011 та 2012 роках, відповідно – 45 та 51 випадок.

2. Найвищий показник вірусного сказу у містах відмічено у 2010 р. у містах Жовті Води та Павлоград – по 3 випадки.

Перспективи подальших досліджень. Отримані результати є науковою основою для моніторингу вірусного сказу у ветеринарії, що може стати у народі при розробці заходів профілактики поширення віrusу сказу в Україні.

Література

1. Аксенова Т. А. Культтивирование вакцинного вируса бешенства в линиях перевиваремых клеток зеленої мартишки / Т. А. Аксенова, Ю. Х. Хапчаев, В. Т. Миронова // Вопросы вирусологии. – 1991. – № 5. – С. 43.
2. Белоусова Р. В. Ветеринарная вирусология / Р. В. Белоусова, Э. А. Преображенская, И. В. Третьякова. – М. : Колос, 2007. – 424 с.
3. Борисов Л. Б. Медицинская микробиология, вирусология, иммунология / Л. Б. Борисов, А. М. Смирнов, И. С. Фрейдлин. – М. : Мир, 1999. – 342 с.
4. Достоєвський П. П. Інструкція про заходи щодо боротьби зі сказом тварин. Затверджена наказом Головного державного інспектора ветеринарної медицини / П. П. Достоєвський, В. І Хоменко // Законодавство України про ветеринарну медицину. – 1999. – № 219. – С. 335–340.
5. Иванов А. В. Эпизоотологический и иммунологический надзор за бешенством / А. В. Иванов, М. А. Хисматуллина // Ветеринарный врач. – 2008. – № 4. – С. 3–6.
6. Романенко О. А. Сучані вимоги щодо лабораторної діагностики сказу тварин / О. А. Романенко, Ж. М. Дрожже // Ветеринарна медицина. – 2008. – № 91. – С. 391–395.
7. Сидоров Г. Н. Аспекты исторического развития природных очагов бешенства в Европе и Северной Азии / Г. Н. Сидоров // Ветеринарная патология. – 2002. – № 1. – С. 21–25.
8. Biochemical and biophysical studies on nucleocapsid and on the RNA rabies virus / P. Sokol, H. D. Schlumberger, T. J. Wiktor [et al.] // Virology. – 2008. – № 57. – P. 346–376.
9. The pathogenicity of the rabies virus / A. A. Albertini, G. Schoehn, W. Weissenhorn [et al.] // Cell. Mol. Life Sci. – 2008. – № 65. – P. 254 – 321.

УДК 619.619.98:578.824.11:615.372

ПОШИРЕННЯ ВІРУСНОГО СКАЗУ СЕРЕД ТВАРИН У ДНІПРОПЕТРОВСЬКІЙ ОБЛАСТІ

Носенко О. В., Ніконова М. М., Крисенко О. В., Скліяр Т. В., Вінніков А. І.

Резюме. Поширення сказу в світі та в Україні набуває загрозливих масштабів, що вимагає вживання заходів попереджувального характеру щодо його розповсюдження. Так, щороку тільки у Дніпропетровській області реєструється понад 50 випадків сказу, з яких до 10 у великих містах, що становить значну загрозу ураження для населення. Метою роботи було дослідити поширення сказу серед тварин у Дніпропетровській області. Для досягнення мети було проаналізовано результати досліджень частоти виявлення випадків зараження вірусом сказу диких та свійських тварин. Виявлення віруса сказу здійснювали методами біопроби

МІКРОБІОЛОГІЯ

на білих миших та з використанням специфічних флуоресцентних антитіл. Визначено, що сплеск захворюваності на сказ припадав на 2010 р., коли кількість підтверджених випадків становила 157. Спад епізоотії спостерігали у 2011 та 2012 роках, відповідно – 45 та 51 випадок. Містами з підвищеним ризиком захворювання на сказ у Дніпропетровській області є м. Жовті Води та Павлоград, де виявлено по 3 випадки зараження тварин.

Ключові слова: сказ, поширення, біопроба, імунофлюоресценція.

УДК 619. 619. 98: 578. 824. 11: 615. 372

РАСПРОСТРАНЕНИЕ ВИРУСНОГО БЕШЕНСТВА СРЕДИ ЖИВОТНЫХ ДНЕПРОПЕТРОВСКОЙ ОБЛАСТИ

Носенко А. В., Никонова М. Н., Крисенко А. В., Склар Т. В., Винников А. И.

Резюме. Распространение бешенства в мире и в Украине приобретает угрожающие масштабы, что требует принятия мер предупредительного характера по его распространению. Так, ежегодно только в Днепропетровской области регистрируется более 50 случаев бешенства, из которых до 10 в больших городах, что представляет значительную угрозу заражения для населения. Целью работы было исследовать распространение бешенства среди животных в Днепропетровской области. Для достижения цели были проанализированы результаты исследований частоты выявления случаев заражения вирусом бешенства диких и домашних животных. Обнаружение вируса бешенства проводили с использованием методов биопробы на белых мышах и специфических флуоресцентных антител. Показано, что пик заболеваемости бешенством приходился на 2010 г., когда число подтвержденных случаев составило 157. Спад эпизоотии наблюдали в 2011 и 2012 годах, соответственно – 45 и 51 случаев. Городами с повышенным риском заболевания бешенством в Днепропетровской области является г. Желтые Воды и Павлоград, где выявлено по 3 случая заражения животных.

Ключевые слова: бешенство, распространение, биопроба, иммунофлюоресценция.

UDC 619. 619. 98: 578. 824. 11: 615. 372

The Spreading of Rabies among Animals in Dnipropetrovsk Region

Nosenko O. V., Nikonova M. N., Krysenko O. V., Skliar T. V., Vinnikov A. I.

Abstract. The spread of rabies in the world and in Ukraine becomes rampant, that requires action of a preventive character for its spreading. Rabies – especially dangerous viral disease of humans and animals, characterized by lesions of the nervous system, almost 100 percent mortality, and is one of the most common zoonoses.

According to the World Health Organization (WHO) and the Office International des Epizooties (OIE), the disease is registered in more than 100 countries worldwide. Every year from rabies dead more than 55 thousand people and more than 1 million animals. Today safe from rabies are only Australia and several island and European countries (New Zealand, Japan, Norway, Sweden, Spain, Portugal). Despite the fact that it is now well aware of the basic mechanisms of the rabies spreading, there is a very reliable means of preventing the disease and develop strategies against infection, rabies problem is not solved, it has become very relevant in connection with the progressive spread of the disease among wild animals – the so-called natural rabies. Epizootic among wild animals has led to an increase in the incidence of farm animals, especially cattle. The situation that has arisen as a result of the spread of rabies in wild carnivores, helps to attract epizootic process and pets, especially dogs, and that is especially worried about the cats. Population growth of stray dogs and cats, clusters of these animals in large quantities in the vicinity of towns and dumps the one hand, and the process synanthropisation wild carnivores feed availability due to these places, on the other hand, makes it inevitable contact of these animals and the possibility of contamination. In this regard, there is still a lot of work in order to improve the protection of animals and humans from the deadly disease.

Over the last decade on the territory of Ukraine is largely complicated epizootic situation for rabies among wild and domestic animals. Thus, each year in the Dnipropetrovsk region fixed more than 50 cases of rabies, 10 of which in the big cities, which represents a significant threat of infection for the population. The aim was to investigate the spread of rabies among animals in the Dnipropetrovsk region. To achieve the goal we analyzed the results of studies to identify the frequency of cases of infection with rabies in wild and domestic animals. Rabies virus detection was performed using the bioassay method on white mice and specific fluorescent antibody. It is shown that the peak incidence of rabies accounted for 2010, when the number of confirmed cases was 157. The decline epizootic observed in 2011 and 2012, respectively – 45 and 51 cases. Cities with an increased risk of rabies in the Dnipropetrovsk region is the Zhelyt Vody and Pavlograd, which revealed 3 cases of infected animals. Because of this, it is necessary to direct all efforts to control and regulation of the epizootic situation, immunization of animals and humans, the development of methods more reliable and secure.

The results are a scientific basis for monitoring viral rabies in veterinary medicine that can be useful in the development of measures to prevent the spreading of rabies virus in Ukraine.

Keywords: rabies, spreading, biological test, immunofluorescence.

Рецензент – проф. Дубинська Г. М.

Стаття надійшла 26. 02. 2015 р.