

УДК 619:616.99:636.92

В. А. ЛЕВИЦЬКА, аспірантка**А. В. БЕРЕЗОВСЬКИЙ**, доктор ветеринарних наук, професор

Сумський національний аграрний університет

ЕТИОЛОГІЯ, ПЕРЕБІГ ТА ДІАГНОСТИКА ЕНЦЕФАЛОЗООНОЗУ КРОЛІВ

Енцефалозооноз кролів у країнах Європи є поширеною інвазією. Діагностика його являється складною і має проводитись комплексно із врахуванням епізоотичних даних, клінічного перебігу, лабораторних досліджень, які включають мікроскопію препаратів сечі та гістологічних препаратів головного мозку і нирок.

Ключові слова: кролі, енцефалозооноз, мікроспоридії, діагностика, гранулематозний менінгоенцефаліт, гранулематозний нефрит.

Енцефалозооноз – зооантропоноз, спричинений мікроспори дією *Encephalitozoon cuniculi*, облигатним внутрішньоклітинним паразитом. Інвазія перебігає переважно хронічно або безсимптомно [1]. Може вражати широкий спектр ссавців, у тому числі гризунів, кролів, коней, м'ясоїдних тварин й людей з ослабленим імунітетом, у яких цей збудник відомий як умовно-патогенний [2]. Однак його основним хазяїном є кролі. В них збудник *E. cuniculi* спричинює широкий спектр проявів хвороби. З роду *Encephalitozoon*, ще два інших види (*E. Hellem* й *E. intestinalis*), також здатні інфікувати ссавців [3].

Субклінічні носії є активним джерелом поширення захворювання в великих кролегосподарствах, дрібних господарств селян (фермерів), зоомагазинів та в популяціях лабораторних кролів [4]. В останніх він був виявлений відносно давно і являється проблемою, тому що збудник, впливаючи на здоров'я лабораторних тварин, може змінювати результати експериментів, які на них проводились [3].

Результати досліджень, проведених в Європі, показали високі темпи поширення цієї інвазії, яку виявляють від 37 % до 68 % популяції [5].

Встановлено, що інвазування зазвичай відбувається у випадку вживання кормів чи води забрудненої спорами збудника, котрі виділяються з сечею інфікованих тварин. Спори відносно стійкі і можуть до місяця виживати у навколишньому середовищі [6].

У більшості кролів інвазованих *E. cuniculi* хвороба перебігає безсимптомно, або з незначними клінічними ознаками [1, 7]. Клінічні ознаки у кролів переважно неврологічні, у деяких випадках вражаються очі. Як правило, першими ознаками являються млявість і нахил голови. В подальшому розвивається атаксія, парези, та параліч задніх кінцівок [8]. Однак такі наявні симптоми часто плутають з вестибулярними захворюваннями, що спричиняються бактеріальними чинниками [9]. Виходячи з цього, ряд авторів вважають, що остаточний діагноз на енцефалозооноз у живих тварин встановити дуже важко. Тому для виявлення паразита в

організмі, окрім лабораторного дослідження сечі на наявність спор, потребується гістопатологія мозкової або ниркової тканин.

У країнах ЄС нині здійснюється серологічна діагностика інвазії за допомогою непрямого імунофлуоресцентного аналізу виявлення антитіл або імуноферментного аналізу. Це чутливі та надійні методи, проте з наявними окремими недоліками. Так перехресна реактивність між трьома видами *Encephalitozoon* є закономірним явищем, тому додатково необхідне спеціалізоване обладнання для проведення диференціальних тестів. Також важко інтерпретувати результати серологічних досліджень, так як виявлення специфічних антитіл лише підтверджує попередній контакт зі збудником, проте багато клінічно здорових кролів демонструють від помірних до високих рівнів титри антитіл [10]. Водночас, доведено, що наявність підвищеного рівня антитіл передусім: виявленню внутрішньоклітинних організмів у нирковій тканині – на два тижні; гістологічним змінам у нирковій тканині – на чотири тижні; гістологічним змінам в тканині мозку – на вісім тижнів.

Метод полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) може бути використаний для позитивної ідентифікації видів мікроспоридій в фекаліях, осаді сечі або зразках тканин [11]. Проте ціни на устаткування і допоміжні компоненти є досить високими, що стримує практичне рішення по виявленню мікроспоридіозів в медичних та ветеринарних лабораторіях.

Мета дослідження. Враховуючи, що наявність енцефалозоонозу кролів в нашій країні встановлено лише нещодавно [12, 13], а викладення ходу діагностичних досліджень даної інвазії відсутнє, метою досліджень було описання процесу встановлення діагнозу на хворобу у виробничих умовах, з метою подальшого впровадження діагностичних досліджень в лабораторіях ветеринарної медицини країни.

Матеріал та методи дослідження. Дослідження проводили протягом 2011 – 2012 років в лабораторії паразитології, а також в умовах віварію ветеринарної медицини ПДАТУ м. Кам'янця-Подільського. Дослідженню підлягало поголів'я кролів різних статевовікових груп, приватних кролегосподарств з Кам'янець-Подільського, Городоцького та Чемеровецького районів Хмельницької області. Всього піддано клінічному огляду 1363 кролів. Лабораторні дослідження проводились на 23 кролях спонтанно заражених енцефалітозоонозом, отриманих з приватних кролегосподарств названих районів. Хворі кролі відносились різних вікових груп – від 6-ти тижневого віку до 3-х років.

Результати досліджень та обговорення. З метою встановлення діагнозу на енцефалітозоонозі проводилось комплексне дослідження, яке включало: аналіз епізоотичних даних, аналіз клінічних ознак, лабораторне дослідження сечі на наявність спор мікроспоридій, гістологічне дослідження нирок, печінки та головного мозку, проведення біопроб.

При з'ясуванні епізоотології енцефалітозоонозу кролів в Хмельницькій області було встановлено, що за два роки спостережень випадки інвазії спостерігали постійно. Аналіз показників інвазії свідчить, що хвороба проявлялась щомісячно, із незначним збільшенням екстенсивності в осінньо-зимовий період (рис. 1). Останнє, напевне, пояснимо коливанням сезонної резистентності тварин.

Екстенсивність інвазії, %

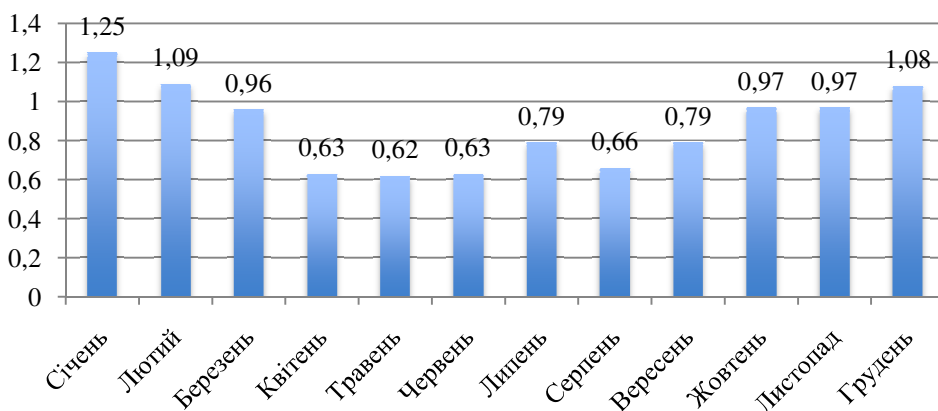


Рис. 1. Сезонна динаміка інвазії кролів.

Слід відмітити, що захворювання клінічно проявлялось у вигляді поодиноких випадків поміж певних статевовікових груп. Так захворювання, клінічно проявлялось частіше поміж кроленят віком від 1,5 до 3-х місяців та суттєво рідше – серед репродуктивного поголів'я. При цьому відсоток враження самок був вищим, ніж самців.

В ході деталізації епізоотологічного процесу енцефалітозоонозу було встановлено, що дана хвороба перебігає у вигляді паразитоценозів. При цьому поміж кролів хворих на енцефалітозооноз, спостерігались чотири співчленипаразитозів в різних поєднаннях. А саме: *Eimeria* sp., *Passalurus ambiguus*, *Cysticercus pisiformis*, *Trichuris lepori*. Поширення їх залежало від умов вирощування, віку, сезону року тощо.

Систематизуючи прояви клінічних ознак енцефалітозоонозу, належить відзначити, що у хворих кролів, вони були в основному неврологічними – нахил голови, кривошия, перекачування навколо повздожньої осі тіла, парез задніх кінцівок, атаксія.

У більшості хворих спостерігався кон'юнктивіт, який надалі переходив в важку гнійну форму, що можна пояснити нашаруванням умовно-патогенної та патогенної мікрофлори.

В окремих важких випадках у хворих тварин спостерігали нетримання сечі, а в деяких – риніт. Більшість хворих кролів продовжували приймати їжу і виділяти послід, незважаючи на значні неврологічні прояви хвороби. В окремих випадках серед дорослих кролів наставало значне покращення стану тварини, проте частіше – хвороба закінчувалась летально.

Лабораторна діагностика включала в себе дослідження осаду сечі кролів на наявність спор мікроспоридій. В період прояву клінічних ознак сечу відбиралась тричі по 3 дні поспіль з тижневим інтервалом. З врахуванням того, що спори виділяються не постійно, такий підхід дозволяв виділити спори мікроспоридій (рис. 2). Осад сечі отримували шляхом трикратного центрифугування при 2000 обертів/хвилину.

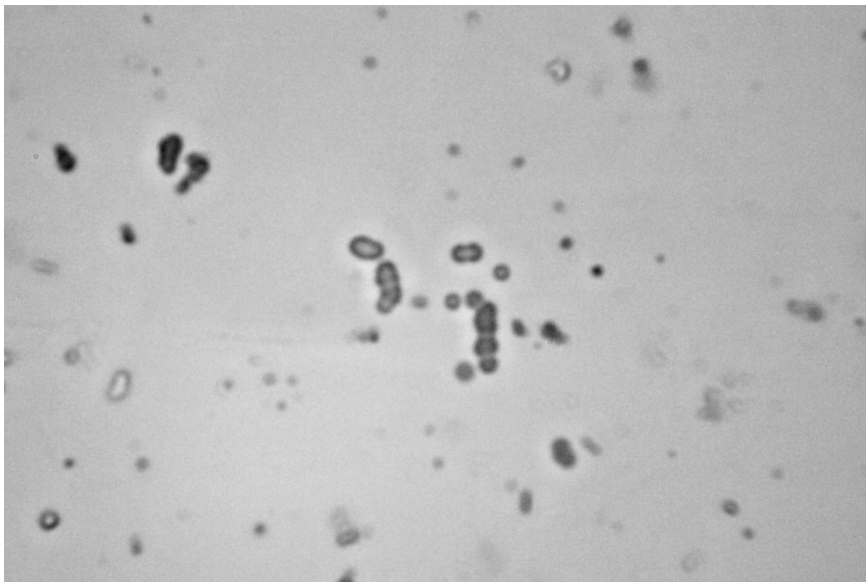


Рис. 2. Спори *E. cuniculi* в препараті з осаду сечі
(по Цилію-Нільсону x 400).

Під час хвороби рН сечі переходив до різко лужного показника. Тому для нейтралізації кристалів фосфату кальцію в препараті сечі, на предметне скельце додавали краплю 5% розчину борно-кислого натрію.

Підготовлені препарати з осаду сечі фарбували по Цилію-Нільсону. А для проведення диференційної діагностики мікрофлори сечі, ще з кожної партії окремі препарати фарбували за Грамом.

З метою виявлення мікроспоридій в організмі кролів паралельно проводили гістологічні дослідження. Від загиблих кролів з ознаками енцефалітозоонозу відбирались уражені органи та виготовлялись гістологічні зрізи, які фарбувались гематоксилін-еозином.

При дослідженні головного мозку спостерігались запалення мозкових оболонок із крововиливами та застійними явищами, а також периваскулярну інфільтрацію з важким ураженням кори головного мозку. Мікроскопією препаратів виявляли зміни характерні для гранулематозного менінгоенцефаліту (рис. 3).

У гістологічних препаратах з нирок хворих тварин спостерігали гранулематозний нефрит та хронічний інтерстиціальний нефрит із утвореннями сполучної тканини.

Враховуючи те, що велика кількість спор мікроспоридій може потрапити в навколишнє середовище з виділеннями від хворих, а спори можуть зберігати свої інвазійні властивості кілька тижнів, доречно було припустити можливість спонтанного інвазування білих мишей. Для з'ясування такої картини нами було поставлено спеціальний дослід [14]. В ході якого методом біопробу було проведене експериментальне зараження мишей енцефалітозоонозом шляхом введення їм орально сечі від кролів клінічно хворих на енцефалітозооноз. При цьому на 4–5-ту добу досліду 50% експериментальних тварин загинуло. Таким чином з'ясовано, що сеча від хворих кролів може являтися джерелом інвазування енцефалітозоонозом, а метод біопробу можна застосовувати як додатковий чинник при постановці діагнозу на дану інвазію.

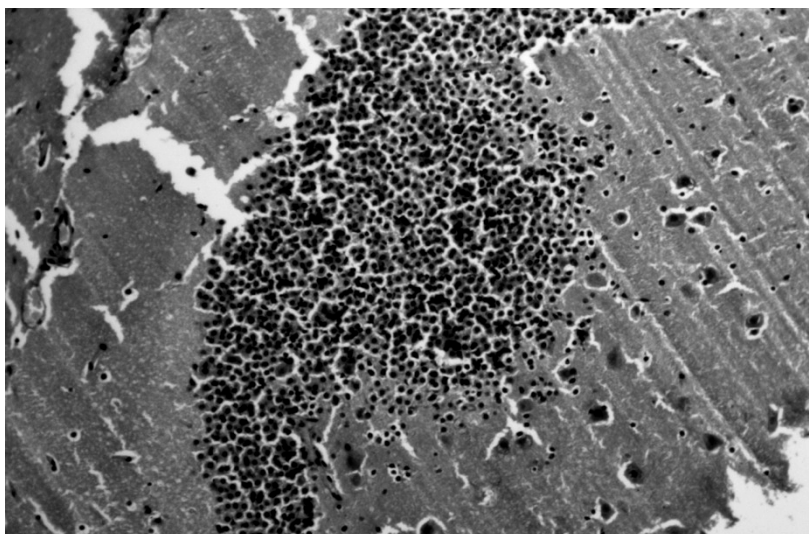


Рис. 3. Гранулематозний менінгоенцефаліт в мозковій тканині кроля (гематоксилін-еозин x 100).

Висновки:

1. Енцефалітозооноз кролів клінічне проявляється у вигляді поодиноких випадків з екстенсивністю інвазії від 0,63% до 1,08%.

2. Клінічно енцефалітозооноз кролів проявляється важкими нервовими розладами, парезами та паралічами задніх кінцівок, які можуть доповнюватись ринітом, кон'юнктивітом і нефритами. Клінічний прояв спостерігається переважно в групах молодняка 1,5–3 місячного віку, рідше – кролематок, та дуже рідко – поміж самців.

3. Прижиттєва діагностика енцефалітозооноз кролів, з метою встановлення попереднього діагнозу, ґрунтується на врахуванні епізоотичних даних, клінічних ознак, лабораторного виділенням спор збудника в препаратах з осаду сечі та постановці біопроби.

4. Діагноз на енцефалітозооноз підтверджується характерними змінами в: головному мозку – гранулематозним менінгоенцефалітом та нирках – вираженим гранулематозним нефритом із утвореннями сполучної тканини.

Перспективи подальших досліджень полягають у визначенні чутливості збудника даної інвазії до хіміотерапевтичних та дезінвазійних засобів.

Список використаної літератури

1. *Mathis A.* Mikrosporidie: schtrazellulare Eukaryoten und opportunistische Krankheitserreger / A. Mathis, P. Deplazes, R. Weber // In: Aspöck H (Hrsg): Amöben, Bandwürmer, Zecken. – 2002. – D.6. – S. 265–270.
2. *Mathis A.* Zoonotic potential of the Microsporidia / A. Mathis, R. Weber, P. Deplazes // Clin. Microbiol. Rev. – 2005. – N 18. – P. 423–445.
3. *Wasson K.* Mammalian microsporidiosis / K. Wasson, R.L. Peper. // Vet. Pathol. – 2000. – N 37. – P. 113–128.
4. *Harcourt-Brown F. M.* Encephalitozoon cuniculi in pet rabbits / F.M. Harcourt-Brown, H.K.R. Holloway // Vet. Rec. – 2003. – N 152. – P. 427–431.
5. *Csokai J.* Infection with Encephalitozoon cuniculi in the rabbit / J. Csokai, F. Künzel // Prakt. Tierarzt. – 2010. – N10 (91). – P. – 854–868.

6. *Scharmann W.* Untersuchungen über die Infektion von Kaninchen durch *Encephalitozoon cuniculi*/ W. Scharmann, L. Reblin, W. Griem // Berlin-Münchtn, Tierärztl. – 1986. – N 99. – S. 20–24.
7. *Künzel F.* Clinical symptoms and diagnosis of encephalitozoonosis in pet rabbits / F. Künzel, A. Gruber, A. Tichy, et al. // Vet. Parasitol. – 2008. – N 151. – S. 115–124.
8. *Jass A.* Analysis of cerebrospinal fluid in healthy rabbits and rabbits with clinically suspected encephalitozoonosis / A. Jass, K. Matiassek, J. Henke, et al. // Vet. Rec. – 2008. – N 162(19) – P. 618–622.
9. *Deeb B. J.* Neurologic and musculoskeletal disease / B. J. Deeb., J. W. Carpenter // In: Quesenberry K. E., Carpenter J. W.: Clinical Medicine and Surgery, 2nd edn. – Saunders, 2004. – P. 203–210.
10. *Csokai J.* Encephalitozoonosis in pet rabbits (*Oryctolagus cuniculus*): pathohistological findings in animals with latent infection versus clinical manifestation / J. Csokai, A. Gruber, F. Künzel, et al. // Parasitol. Res. – 2009 – N 3(104). – P. 629–635.
11. *Csokai J.* Diagnostic markers for encephalitozoonosis in pet rabbits. / J. Csokai, A. Joachim, A. Gruber, et al. // Vet. Parasitol. – 2009. – N 1–2 (163). – P. 18–26.
12. *Березовський А. В.* Деякі аспекти вивчення епізоотології енцефалітозоозу домашніх кролів в Подільському регіоні / А. В. Березовський, В. А. Левицька // Науковий вісник Сумського НАУ. – Суми, 2012. – Вип. 2 (31). – С. 14–17.
13. *Березовський А. В.* Енцефалітозооз домашніх кролів / А. В. Березовський, В. А. Левицька // Ветеринарна медицина України. – 2012. – № 4. – С. 26–28.
14. *Левицька В. А.* Експериментальне інвазування лабораторних тварин енцефалітозоозом / В. А. Левицька // Матер. Міжнар. Конгресу спеціалістів ветеринарної медицини 4–5 жовтня 2012 р. – Київ, 2012. – С. 82–83.

ЭТИОЛОГИЯ, ТЕЧЕНИЕ И ДИАГНОСТИКА ЭНЦЕФАЛО-ЗООНОЗА КРОЛЕЙ / В. А. Левицкая, А. В. Березовский

Энцефалитозооноз является распространенной инвазионной болезнью кроликов. Диагностика энцефалитозооноза является сложной и должна проводиться комплексно с учетом эпизоотологических данных, клинического течения, лабораторных исследований, включающих микроскопию препаратов мочи и гистологических препаратов головного мозга и почек.

*Ключевые слова : кроли, *Encephalitozoon cuniculi*, энцефалозооноз, микроспоридии, диагностика, гранулематозный менингоэнцефалит, гранулематозный нефрит.*

ETIOLOGY, COURSE OF THE DISEASE AND DIAGNOSTICS OF ENCEPHALITOOZONOSIS IN RABBITS / V. Levytska, A. Berezovskyi

Encephalitozoonosis is a widespread invasive disease of rabbits. Diagnosis of encephalitozoonosis is complicated and should be carried out mixed with taking into account epizootic findings, clinical course, laboratory evaluation that include urine preparations microscopy and histological slides of the brain and kidneys.

*Key words: rabbits, *encephalitozoon cuniculi*, encephalitozoonosis, microsporidia, diagnosis, granulomatous meningoencephalitis, granulomatous nephritis.*

Рецензент – доктор ветеринарных наук, профессор **В. В. Стибель.**