

Левицкая В.А.

Сумской национальный аграрный университет, г. Сумы, Украина

Энцефалозооноз кролей является зооантропонозной болезнью распространенной в большинстве стран Европы. Диагностика его сложная и должна проводиться комплексно с учетом эпизоотологических данных, клинических признаков, лабораторных исследований, включающих микроскопию препаратов мочи, гистологических препаратов головного мозга и почек, а также реакции ИФА.

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 specimens microscopy and histological specimens of the brain cord and kidneys.

Введение. Энцефалозооноз кролей – зооантропоноз, вызаемый микроспоридией *Encephalitozoon cuniculi*, облигатным внутриклеточным паразитом. Доказано, что возбудитель этого вида может поражать широкий спектр млекопитающих, в том числе кролей, грызунов, лошадей, плотоядных животных и людей с ослабленным иммунитетом [1, 2]. Другие представители рода *Encephalitozoon* (*E. hellem* и *E. intestinalis*) также способны инфицировать животных и людей [3].

Результаты исследований, проведенных в Европе, показали высокие темпы распространения этой инвазии, экстенсивность которой составляет от 37% до 68% [4]. Установлено, что инвазирование обычно происходит при употреблении кормов или воды загрязненной спорами возбудителя, выделяющимися с мочой инфицированных животных. Споры относительно устойчивые к климатическим факторам и могут до месяца выживать в окружающей среде [5].

Большинство авторов отмечают, что инвазия у кролей протекает преимущественно хронически или бессимптомно, поэтому субклинические носители являются активным источником распространения заболевания в крупных кролеводческих комплексах, мелких фермерских хозяйствах, среди лабораторных животных, а также в популяциях диких и декоративных кролей [1, 4]. Иные исследователи, также отмечая то, что у инвазированных *E. cuniculi* кролей болезнь может протекать бессимптомно, но так же возможно проявление и случаев болезни с яркими клиническими признаками [3, 6, 7]. Клинические признаки у кролей преимущественно неврологические. У больших животных развивается вялость, нефриты и наклон головы, нарушение координации. В дальнейшем развивается атаксия, парезы, и паралич задних конечностей [8]. Однако такие симптомы специалисты часто связывают с вестибулярными заболеваниями, а также отдельными болезнями бактериальной этиологии [9]. Исходя из этого, ряд авторов считают, что окончательный диагноз на энцефалозооноз у живых животных установить очень трудно. Поэтому для выявления этого вида паразита в организме больного животного, кроме лабораторного исследования мочи на наличие спор, требуется гистологическое исследование мозговой или почечной тканей [6, 9].

В странах ЕС в настоящее время осуществляется серологическая диагностика инвазии с помощью прямого иммунофлюоресцентного анализа выявления антител или иммуноферментного анализа. Исследованиями доказано, что наличие повышенного уровня антител предшествует выявлению внутриклеточных организмов в почечной ткани на две недели; гистологическим изменениям в почечной ткани – на четыре недели; а гистологическим изменениям в ткани мозга – на восемь недель [10, 11]. Однако цены на оборудование и вспомогательные компоненты являются достаточно высокими, что сдерживает практическое решение по раскрытию микроспоридиозов в медицинских и ветеринарных лабораториях.

Учитывая, что наличие энцефалозооноза кролей в Украине установлено лишь недавно [12 - 14], а показ хода диагностических исследований этой болезни отсутствует, нами была поставлена задача описать ход постановки диагноза энцефалозооноза кролей в производственных условиях, с целью дальнейшего внедрения диагностических исследований в ветеринарных лабораториях страны.

Материал и методы исследований. Исследования проводились в течение 2011 - 2013 годов в лаборатории паразитологии и в условиях вивария ветеринарной медицины Подольского государственного агротехнического университета г. Каменец-Подольский, а также в Научно-исследовательском отделе иммунологических исследований Государственного научно-исследовательского института по лабораторной диагностике и ветеринарно-санитарной экспертизы (ГНИИЛДВСЭ) г. Киева. Исследованию подлежало поголовье кролей различных половозрастных групп, фермерских кролехозяйств юго-западных районов Хмельницкой области. Всего подвергнуто клиническому осмотру 1363 кроля. Лабораторные исследования проводились на 112 кролях спонтанно зараженных энцефалитозоонозом. Больные кроли были разных возрастных групп – от 6-ти недельного возраста до 3-х лет.

Для исследований методом иммуноферментного анализа использовали тест-систему *Encephalitozoon cuniculi* (EC) ELISA производства фирмы Medicago AB, Швеция. Эта тест-система позволяет выявить антитела к возбудителю энцефалитозооноза (*Encephalitozoon cuniculi*) в сыворотке крови кролей.

Результаты исследований. С целью постановки диагноза на энцефалитозооноз проводилось комплексное исследование, которое включало: анализ эпизоотических данных, анализ клинических признаков, лабораторное исследование мочи на наличие спор микроспоридий, гистологическое исследование почек, печени и головного мозга, проведение биопробы, а также постановка реакции ИФА.

При выяснении эпизоотологии энцефалитозооноза кролей в Хмельницкой области было установлено, что за два года наблюдений случаи инвазии отмечали постоянно. Анализ показателей инвазии свидетельствует, что болезнь проявлялась ежемесячно, с незначительным увеличением экстенсивности в осенне-зимний период. Возможно, последнее объяснимо колебаниями сезонной резистентности животных.

Следует отметить, что заболевание клинически проявлялось в виде единичных случаев среди определенных половозрастных групп. Так заболевание, клинически проявлялось чаще среди крольчат в возрасте от 1,5 до 3-х месяцев и существенно реже - среди репродуктивного поголовья. При этом процент пораженных самок был выше, чем самцов. В ходе детализации эпизоотологического процесса энцефалозооза было установлено, что данная болезнь протекает в отдельных случаях, в виде паразитоценозов. При этом среди кролей больных энцефалозоозом, наблюдались четыре сочлена паразитозов в разных сочетаниях. А именно: *Eimeria* sp., *Passalurus ambiguus*, *Cysticercus pisiformis*, *Trichuris lepori*. Распространение их зависело от условий выращивания, возраста, сезона года и иных факторов.

Систематизируя результаты проявления клинических признаков энцефалозооза, стоит отметить, что у больных кролей, они были в основном неврологическими – наклон головы, кривошея, перекачки вокруг продольной оси тела, парез задних конечностей, атаксия. У большинства больных наблюдался конъюнктивит, который в последующем переходил в тяжелую гнойную форму, что можно объяснить наслоением условно-патогенной и патогенной микрофлоры. В отдельных тяжелых случаях у больных животных наблюдали недержание мочи, а в некоторых – ринит. Большинство больных кролей, несмотря на значительные неврологические проявления болезни, продолжали принимать пищу и выделять помет. В отдельных случаях среди взрослых кролей наступало значительное улучшение клинического состояния животного, однако чаще болезнь заканчивалась летально.

Лабораторная диагностика включала в себя исследование осадка мочи кролей на наличие спор микроспоридий. В период проявления клинических признаков мочу отбиралась трижды по 3 дня подряд с недельным интервалом. С учетом того, что споры выделяются не постоянно, такой подход позволял выделить споры. Осадок мочи получали путем трехкратного центрифугирования при 2000 оборотов/мин.

Во время болезни рН мочи переходила к резко щелочному показателю. Поэтому для нейтрализации кристаллов фосфата кальция в препарате мочи, на предметное стекло добавляли каплю 5% раствора борнокислого натрия. Подготовленные препараты из осадка мочи красили по Цилю-Нильсону. А для проведения дифференциальной диагностики микрофлоры мочи, еще из каждой партии отдельные препараты окрашивали по Грамму.

По мнению специалистов из стран Евросоюза, самым точным и надежным методом диагностики энцефалозооза при жизни животных является иммуноферментный анализ. Исходя из этого, для проведения исследований, нами было отобрано 88 проб сыворотки крови от клинически здоровых животных и с клиническими признаками энцефалозооза. В результате проведенных исследований методом ИФА впервые в Украине было диагностировано энцефалозооз. Экстенсивность инвазии исследуемых кролей составила 44,32%. Среди положительно реагирующих животных выделяли три группы кролей: с низким ($4,36 \pm 0,33$), средним ($16,65 \pm 2,05$) и высоким ($174,98 \pm 21,61$) титрами антител. У клинически больных кролей уровень антител был наиболее высок и составлял $393,50 \pm 4,29$ оптической плотности антител.

С целью выявления микроспоридий в организме кролей параллельно проводили гистологические исследования. От погибших кроликов с признаками энцефалозооза отбирались пораженные органы и изготавливались гистологические срезы, которые красились гематоксилин-эозином. При исследовании головного мозга наблюдали воспаление мозговых оболочек с кровоизлияниями и застойными явлениями, а также периваскулярную инфильтрацию с тяжелым поражением коры головного мозга. При микроскопии препаратов обнаруживали изменения характерные для гранулематозного менингоэнцефалита. В гистологических препаратах из почек больных животных наблюдали гранулематозный нефрит и хронический интерстициальный нефрит с образованиями соединительной ткани.

Учитывая то, что большое количество спор микроспоридий может попасть в окружающую среду с выделениями от больных, а споры могут сохранять свои инвазионные свойства несколько недель, уместно было предположить возможность спонтанного инвазирования белых мышей. Для выяснения такой картины нами был поставлен специальный эксперимент [15], в ходе которого методом биопробы было проведено экспериментальное заражение мышей энцефалозоозом путем введения им орально мочи от кролей клинически больных энцефалозоозом. При этом на 4-5-е сутки опыта 50% экспериментальных животных погибли. Таким образом, установлено, что моча от больных кролей может являться источником инвазирования энцефалозоозом, а аналогичная биопроба может использоваться в качестве дополнительного метода при постановке диагноза на данную инвазию.

Заключение.

1. В условиях хозяйств Западного региона Украины энцефалозооз кролей клинически проявляется в виде единичных случаев с экстенсивностью инвазии от 0,63% до 1,08%.

2. Клинически энцефалозооз кролей выражается тяжелыми нервными расстройствами, парезами и параличами задних конечностей, которые могут дополняться ринитом, конъюнктивитом и нефритами. Клиническое проявление наблюдается преимущественно в группах молодняка 1,5 - 3 месячного возраста, реже – крольчих, и крайне редко – среди самцов.

3. С целью установления предварительного диагноза, прижизненная диагностика энцефалозооза кролей формируется на учете эпизоотических данных, клинических признаков, лабораторного выделения спор возбудителя в препаратах из осадка мочи, постановке биопробы и реакции ИФА.

4. Посмертный диагноз на энцефалозооз подтверждается характерными изменениями в: головном мозге - гранулематозным менингоэнцефалитом и почках – выраженным гранулематозным нефритом.

5. На основании полученных впервые в Украине объективных результатов иммуноферментной диагностики энцефалозооза, мы утверждаем, что данная инвазия кролей регистрируется в ряде регионов страны. Результатами проведенных исследований методом ИФА установлено, что экстенсивность энцефалозооза среди кролей в неблагополучных хозяйствах составляет 44,32%.

Литература.

1. Mathis A. Mikrosporidie: schtrazellulare Eukaryoten und opportunistische Krankheitserrger / A. Mathis, P. Deplazes, R. Weber // In: Aspöck H (Hrsg): Amöben, Bandwurm, 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. Kunzel // 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-München, Tierarztl. – 1986. – N 99. – S. 20-24.
7. Kunzel F. Clinical symptoms and diagnosis of encephalitozoonosis in pet rabbits / F. Kunzel, 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. – N162(19) – P. 618-622.
9. Deeb B.J. Neurologic and musculo skeletal 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. Kunzel et. al. // Parasitol. Res. – 2009 – N3 (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. Левицкая В.А. Выявление энцефалітозооза при исследовании смешанных эймериозов кролей в зоне Подолья / В.А. Левицкая // Матер. XI Междун. конф. молодых ученых «Инновации в ветеринарной медицине, биологии, зоотехнии» (г. Витебск, 24-25 мая 2012 г.). – Витебск: ВГАВМ, 2012. – С. 70-71.
15. 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.