

ванного внутрисосудистого свертывания крови.

3. Развитие клинических признаков оспы у коз, инфицированных вирулентным штаммом «Приморский 2003» вируса оспы

РЕЗЮМЕ

При заражении коз вирулентным штаммом «Приморский 2003» вируса оспы коз в крови обнаружены изменения неспецифического воспалительного характера. Заболевание сопровождается активным антителогенезом, что тем не менее не предотвращает прогрессирование клинической картины заболевания и гибель животных.

SUMMARY

Changes in blood system after the infection with "Primorsky 2003" strain, which is a virulent strain of goat pox virus, are of nonspecific inflammatory character in the presence of hyperpermeability of reticuloendothelial barrier of hemopoiesis organs. These changes increase with the development of hypoxia and tissue reaction to the virus cytopathogenic effect. The disease is accompanied by the active antibody response that, however, confers no protection from the clinical disease development and animal death.

Литература

1. И.Т. Сатторов, И.Ю. Хухоров, С.П. Болтаев и др. Оспа коз в Таджикистане // Ветеринария, 2003, № 6, С. 12–14.
2. J.A. House, A.E. Castro, W.P. Heuschele. Sheep and goats pox // Vet. Diagn. Virol.: Apract. Guide - St. Louis, USA, 1992. P.217–219.
3. R.P. Kitching. The control of sheep and goats pox // Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz., 1986. V. 5, № 2. P. 503–511.
4. T. Mathew. Clinical picture of pox like infection of goats in India // Indian Vet. J 1990. V. 67. P. 61–62.
5. B.C. Nayak, A.T. Rao, B.C. Das, R.R. Patnaik. Pathology of goat pox // Indian. J. Anim. Sci., 1984. V. 54, № 10. P. 1012–1015.

УДК 619:616.98: 578.834.1:636.22/28

В.В. Думова, А.В. Кононов, С.В. Левченко, А.В. Мищенко, В.А. Мищенко, А.П. Пономарев, Т.Б. Никешина, О.В. Кухаркина, В.А. Кудрявцев

ОСОБЕННОСТИ ЗИМНЕЙ ДИЗЕНТЕРИИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Введение

Коронавирусная инфекция у крупного рогатого скота проявляется в виде диареи новорожденных телят, респираторной патологии молодняка и так называемой «зимней дизентерии» взрослого скота.

Коронавирусная диарея новорожденных телят широко распространена в мире [4, 8], и, в частности, в России [2, 8]. Заболеваемость новорожденных телят коронавирусной диареей может достигать 100%, а общие потери телят при их гибели и выбраковке, из-за невозможности восстановления нормального развития и планируемых привесов, могут составлять до 50% [2, 3]. Возраст пораженных животных варьирует от 1 дня до 3 месяцев, но наиболее часто коронавирусный энтерит у телят наблюдается в возрасте от 1 до 2 недель. Перелечение диареей приводит к дегидратации, токсемии, энофтальмии, мембранопатологии и иммунодефицитам [5].

По данным литературы, респираторные клинические признаки, вызванные коронавирусом, наблюдают, преимущественно,

у телят в возрасте 2–6 месяцев [1, 4]. Установлена этиологическая роль коронавируса в развитии респираторной патологии у 2–6-месячного молодняка КРС [1]. Инфекция обычно протекает в субклинической форме, тем не менее, наряду с этим описано множество тяжелых случаев поражения нижних дыхательных путей. Экспериментальные исследования подтвердили, что инфекция имеет два пути проникновения – назальный и оральный [4]. Таким образом, коронавирус крупного рогатого скота может поражать как кишечный, так и респираторный тракты, либо одновременно оба [1, 4, 8].

Зимняя дизентерия проявляется в основном только у взрослых животных в стойловый период и характеризуется кровавыми диареями, сопровождаемыми снижением молочной продуктивности. У пораженных животных могут также наблюдаться выделения из носа и кашель, они становятся вялыми и могут страдать аноксией. Высокая скорость распространения инфекции в стаде приводит к заболе-

ванию 50–100% животных, но смертность при этом составляет не более 2%. Экономические потери, обусловленные уменьшением количества молочной продукции, могут быть очень значительными, так как продуктивность обычно не возвращается к норме в течение нескольких месяцев. Этиологическим агентом заболевания считается коронавирус [4, 6].

В последнее время увеличилась частота вспышек зимней дизентерии и наблюдается постепенное увеличение ареала ее выявления. В настоящем сообщении представлены результаты исследований случаев заболевания зимней дизентерией на территории РФ и подтверждения роли коронавируса КРС, как наиболее вероятного этиологического агента данного заболевания.

Материалы и методы

Диагностика зимней дизентерии взрослого крупного рогатого скота базируется на результатах эпизоотологического обследования стада, клинического осмотра больных животных и данных лабораторных исследований проб фекалий или сывороток крови.

Определение уровня антител к коронавирусу КРС в сыворотках крови коров проводили в реакции торможения гемагглютинации (РТГА). Антитела к ротавирусу выявляли иммуноферментным методом (ИФА). Уровень антител к вирусу инфекционного ринотрахеита (ИРТ) определяли в реакции непрямой гемагглютинации (РНГА).

При проведении электронной микро-

скопии (ЭМ) для идентификации вирусов и диагностики вирусных инфекций пробы фекалий ресуспендировали в фосфатном буферном растворе (0,06М, рН 7,4–7,6) в соотношении 1:10 и осветляли центрифугированием при 500g в течение 10 минут. Надосадок повторно центрифугировали при 2000g в течение 30 минут. Препараты готовили методом негативного контрастирования и исследовали под электронным микроскопом JEM–100В при инструментальном увеличении в 30000–50000 раз. Размеры вирусных частиц определяли с помощью измерительного микроскопа МИР–12Т непосредственно с негативных фотопластинок. Электронно-микроскопические исследования проводили по методике, разработанной Пономаревым А.П. [7].

Методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) проводили индикацию генома коронавируса КРС, с использованием методик, разработанных Кудрявцевым В.А. [4]. Секвенирование осуществляли по методу Сенгенра.

Реакцию гемагглютинации (РГА) с эритроцитами белой мыши или петуха использовали для выявления гемагглютини на коронавируса в пробах фекалий и идентифицировали его в реакции торможения гемагглютинации (РТГА).

Результаты и обсуждение

В последнее время отмечено расширение ареала регистрации зимней дизентерии взрослого КРС. Если раньше болезнь регистрировали в хозяйствах Центрального федерального округа, то в 2005–2006 гг.

Таблица 1
Результаты исследования парных проб сывороток крови коров, переболевших зимней дизентерией

№ п/п	Кол-во проб	Средний уровень антител к возбудителям, log ₂ :								
		коронавирусу (РТГА):			ротавирусу (ИФА):			вирусу ИРТ (РНГА):		
		1-я проба	2-я проба	прирост	1-я проба	2-я проба	прирост	1-я проба	2-я проба	прирост
1	6	5,0±0,16	7,9±0,33	2,9	5,0±0,16	5,3±0,16	0,3	4,0±0,16	4,0±0,16	0
2	8	5,0±0,12	9,0±0,25	4,0	4,0±0,12	5,0±0,25	1,0	5,0±0,18	4,6±0,25	0
3	4	6,0±0,25	10,5±0,25	4,5	5,0±0,50	6,0±0,5	1,0	н/и	н/и	-
4	9	5,0±0,22	8,2±0,22	3,2	6,0±0,11	6,5±0,11	0,5	5,6±0,11	6,4±0,26	0,8
5	10	5,0±0,20	8,5±0,10	3,5	5,0±0,10	5,0±0,13	0	4,9±0,15	6,7±0,17	1,8
6	11	4,0±0,09	7,3±0,09	3,3	5,0±0,18	4,8±0,20	0	5,8±0,09	7,2±0,18	1,4
7	7	6,0±0,14	9,0±0,28	3,0	4,6±0,14	5,4±0,25	0,8	5,2±0,14	6,2±0,28	1,0
8	8	7,0±0,25	10,0±0,25	3,0	4,0±0,12	4,0±0,17	0	4,8±0,12	5,6±0,18	0,8
9	12	6,5±0,50	9,7±0,47	3,2	5,4±0,75	6,2±0,38	0,8	5,7±0,44	5,9±0,55	0,2
10	15	5,6±0,44	9,8±0,53	4,2	4,5±0,23	4,7±0,36	0,2	4,5±0,32	4,9±0,15	0,4
Всего	90	5,51	9,0	3,48	4,85	5,29	0,46	5,06	5,72	0,71

Примечание: н/и — пробы не исследовали

патология была отмечена и в хозяйствах Северо-Западного, Южного и Приволжского федеральных округов.

Зимнюю дизентерию взрослого крупного рогатого скота чаще регистрировали на крупных животноводческих фермах (200 и более коров), чем на частных подворьях. Отмечали преимущественное поражение лактирующих коров по сравнению с нетелями и сухостойными животными. У высокопродуктивных коров с удоем более 25–30 кг молока в сутки зимняя дизентерия протекала в более тяжелой форме, чем у коров с удоем менее 15 кг. Вторичные вспышки болезни проявлялись интенсивнее, чем первичные. При этом болезнь тяжелее протекала в стадах, где зимнюю дизентерию не наблюдали в течение предыдущих 4-х лет. Нами не было отмечено случаев заболеваний зимней дизентерией коров, иммунизированных в сухостойный период для профилактики коронавирусной диареи новорожденных телят. В двух хозяйствах было установлено, что иммунный ответ на введение инактивированных вакцин против ИРТ и против ящура типов О₁–А₂₂–Азия-1 у коров, переболевших зимней дизентерией, на 1,5–2,5 log₂ ниже, чем у здоровых животных из этих же хозяйств.

Приведенные в табл. 1 результаты исследований парных проб сывороток крови коров, переболевших зимней дизентерией, показали увеличение титров антител к коронавирусу во вторых пробах в 7,5–22,7 раза, а к ротавирусу и вирусу ИРТ — только в 1,2–3–5 раза.

В табл. 2 приведены результаты исследований сывороток крови коров из хозяйств, где регистрировали зимнюю дизентерию.

Антитела к коронавирусу выявлены в 73,3–100% проб сывороток крови. В пробах фекалий от этих коров был обнаружен коронавирус (РГА/РТГА, ЭМ).

В табл. 3 представлены данные исследований 64 проб фекалий от коров, больных зимней дизентерией, из 10 животноводческих хозяйств на наличие коронавируса. Все пробы оказались положительными. В 33 из них коронавирус обнаружили методом электронной микроскопии в сочетании с РГА/РТГА, в других случаях исследования проводили либо методом РГА/РТГА, либо электронной микроскопии. В отдельных пробах фекалий наряду с коронавирусом обнаруживали антиген вируса диареи КРС.

Данные вакцинации против коронави

Таблица 2

Результаты исследований сывороток крови и проб фекалий коров из хозяйств, где регистрировали зимнюю дизентерию взрослого крупного рогатого скота

№ п/п	Количество проб сывороток крови:			Средний уровень антител к коронавирусу в РТГА (log ₂)	Методы выявления антигена коронавируса
	всего	в т. ч. положительных к коронавирусу	положительных проб (%)		
1	10	10	100	8,2±0,26	РГА/РТГА
2	7	7	100	7,3±0,37	н/и
3	30	22	73,3	9,4±0,48	РГА/РТГА
4	10	10	100	8,5±0,50	РГА/РТГА
5	12	11	91,7	8,0±0,36	РГА/РТГА
6	5	5	100	9,0±0,40	н/и
7	5	5	100	6,4±0,48	н/и
8	5	5	100	9,6±0,48	н/и
9	5	5	100	6,4±0,48	н/и
10	4	4	100	7,5±0,50	ПЦР
11	20	16	80	8,1±0,20	ЭМ/ИЭМ
12	6	6	100	10,0±0,17	ПЦР
13	13	10	77	7,2±0,32	РГА/РТГА
14	17	16	94,1	9,6±0,50	ЭМ/ИЭМ
15	20	20	100	8,5±0,50	РГА/РТГА
16	20	20	100	9,3±0,48	ЭМ/ИЭМ
17	14	14	100	9,8±0,40	РГА/РТГА
18	9	9	100	9,5±0,48	РГА/РТГА
19	16	16	100	9,3±0,50	ЭМ/ИЭМ
20	23	23	100	9,6±0,38	РГА/РТГА
Всего	251	233	92,8	8,6±0,40	

Примечание: н/и — пробы не исследовали

Результаты исследований проб фекалий коров, больных зимней дизентерией

№№ п/п	Исследовано проб фекалий:			Результаты исследований:	
	всего	в т. ч., содержащих коронавирус	положительных (%)	ЭМ (частиц/мл)	РГА/РТГА (log ₂)
1	3	3	100	10 ⁷⁰	н/и
2	5	5	100	10 ^{9,0}	7,1±0,54
3	4	4	100	н /и	8,4±0,26
4	3	3	100	н/и	6,7±0,10
5	7	7	100	н/и	5,6±0,17
6	5	5	100	н/и	6,0±0,30
7	5	5	100	10 ^{9,0}	7,0±0,50
8	10	10	100	10 ^{9,0-10,0}	9,5±0,50
9	10	10	100	н/и	10,5±0,50
10	12	12	100	10 ^{5,5-6,5}	6,6±0,75

Примечание: н/и — пробы не исследовали

риозов, а также результаты, полученные при выявлении антител и антигена у животных с признаками зимней дизентерии, подтверждают предположение о том, что этиологическим агентом заболевания является коронавирус.

Однако в данном случае возникает вопрос о тождественности штаммов вируса, вызывающих три различных клинических проявления. С этой целью были проведены морфологические и генетические исследования штаммов вирусов, вызывающих зимнюю дизентерию и диарею новорожденных телят.

На рис. 1 представлена электронная микрофотография вирионов коронавируса из проб фекалий коров, больных зимней дизентерией (1 а), и новорожденных телят, больных коронавирусной диареей (1 б).

Важнейшим дифференциальным признаком для коронавирусов являются форма вирионов, размер вирионов и высота пепломеров. Как можно видеть на рисунках, у вирионов наблюдается умеренно выраженный полиморфизм с преобладанием частиц сферической или близкой к сферической форме. Размеры вирионов по их среднему диаметру варьировали в пределах от 100 до 160 нм. Таким образом, коронавирус, обнаруженный в пробах фекалий новорожденных телят, больных диареей, морфологически не отличался от возбудителя зимней дизентерии взрослого КРС.

Различия между респираторными, а также штаммами и изолятами диареи новорожденных телят и зимней дизентерии, скорее всего, должны были найти свое от-

ражение в особенностях вирусных рецепторов, ответственных за проникновение вируса в клетку. Однако сравнительный анализ полноразмерных аминокислотных последовательностей НЕ и S гликопротеинов не выявил статистически значимых различий [4]. Проведенный нами сравнительный анализ аминокислотных последовательностей функционально важных областей НЕ и S гликопротеинов изолятов, выявленных на территории РФ и ранее выявленных штаммов и изолятов также не позволил выявить статистически значимых различий.

Результаты наших исследований подтверждают данные литературы. Так, экспериментально было доказано, что штаммы зимней дизентерии могут вызывать диарею не только у взрослых животных, но и у неонатальных телят со сходными клиническими проявлениями [4]. Кроме того, между этими группами изолятов не выявлено отличий по гемагглютинирующим, ацетил-эстеразным, антигенным свойствам и первичной структуре. Исходя из этого, можно предположить, что различные клинические проявления, вызванные коронавирусом КРС, обусловлены разницей в возрасте, иммунном статусе животных и вирулентностью полевых изолятов, поэтому разделение штаммов и изолятов коронавируса КРС на респираторные, диареи неонатальных телят и зимней дизентерии, вероятно, не целесообразно. Однако для подтверждения этого предположения необходимо провести серию заражений серонегативных в отношении коронавируса КРС телят и взрос-

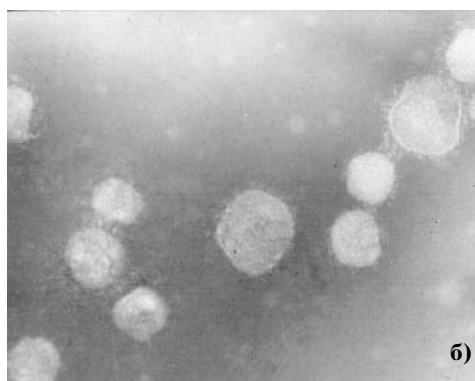
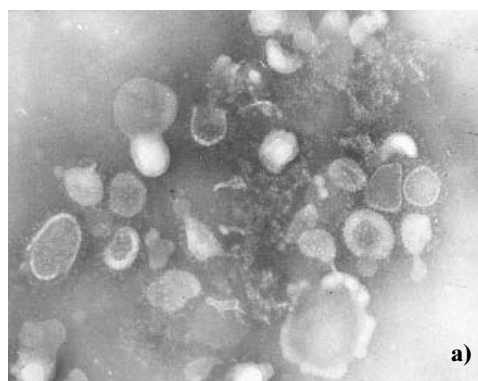


Рисунок 1. Вирионы коронавируса из проб фекалий коров, больных зимней дизентерией, х90000 (а). Вирионы коронавируса из фекалий новорожденных телят, больных коронавирусной диареей, х 90000 (б)

лых животных несколькими штаммами и изолятами вируса, вызывающими у пораженных животных различные клинические признаки.

Выводы

1. По данным эпизоотологического обследования, клинического осмотра животных, патологоанатомических изменений и результатов лабораторных исследований установлено, что коронавирус является

РЕЗЮМЕ

В статье представлены данные о роли коронавируса в этиологии диареи новорожденных телят, респираторной патологии молодняка и зимняя дизентерия взрослого КРС. Объяснено увеличение количества вспышек зимней дизентерии взрослого КРС и ареала распространения заболевания.

SUMMARY

The article specifies the role of coronavirus in the etiology of such diseases as neonatal calf diarrhea, respiratory pathology in young cattle and winter dysentery in adult cattle. The reasons for the increase in the number of bovine winter dysentery outbreaks and for the expansion of the disease propagation area are explained.

Литература

1. В.А. Мищенко, В.В. Думова, О.И. Гетманский и др. Изучение роли коронавируса респираторной патологии молодняка крупного рогатого скота // Научные основы производства вет. биол. препаратов: Матер. Междунар. науч.-практ. конф., посвященные 35-летию ВНИТИБП. Щелково, 2005. С. 143–148.
2. Е.В. Исаева. Биологические свойства штаммов коронавируса крупного рогатого скота и метод контроля иммуногенной активности коронавиральной вакцины: автореф. дис. ... канд. вет. наук. М., 1992. 21 с.
3. И.Ф. Вишняков, Н.А. Лагуткин, А.А. Стрижаков и др. Коронавирусные инфекции животных // Покров: ВНИИВВиМ, Россельхозакадемия, 1997. 69 с.
4. В.А. Кудрявцев. Использование ПЦР и секвенирования для выявления и анализа генома коронавируса КРС: дис... канд. биол. наук. Владимир, 2004. 103 с.
5. В.А. Мищенко, Н.А. Яременко, Д. К. Павлов и др. Меры борьбы с диареями новорожденных телят // Ветеринария, 2002. № 4. С. 16–19.
6. В.А. Мищенко, Н.А. Яременко, В.В. Думова. Зимняя дизентерия взрослого крупного рогатого скота // Ветеринария, 2005. № 5. С. 21–24.
7. А.П. Пономарев, В.А. Мищенко. Электронная микроскопия вирусов животных и некоторых условно-патогенных микроорганизмов. Владимир, 2005. С. 56–59.
8. Н.Л. Соколова. Коронавирусный энтерит новорожденных телят (обзор) // М.: ВАСХНИЛ, 1990. 60 с.