

ПЕРСПЕКТИВНОСТЬ ЭКСПРЕСС МЕТОДОВ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ БЕШЕНСТВА



Маматова Муборак Нурпулатовна, Кадыров Жонибек Файзуллаевич
Самаркандский государственный медицинский университет, Республика Узбекистан, г. Самарканд

ҚУТУРИШ КАСАЛЛИГИНИ ЭКСПРЕСС ЛАБОРАТОР ДИАГНОСТИКАСИНИНГ ИСТИҚБОЛЛИГИ

Маматова Муборак Нурпулатовна, Кадилов Жонибек Файзуллаевич
Самарканд давлат тиббиёт университети, Ўзбекистон Республикаси, Самарканд ш.

PERSPECTIVE OF EXPRESS METHODS FOR LABORATORY DIAGNOSIS OF RABIES

Mamatova Muborak Nurpulatovna, Kadirov Jonibek Faizullaevich
Samarkand State Medical University, Republic of Uzbekistan, Samarkand

e-mail: info@sammu.uz

Резюме. Тадқиқот мақсади: ҳайвонларда қутуриш касаллигини тириклик даврида турли экспресс лаборатор диагностика усулларининг жихатларини таққослаб ўрганиши ва оддий, шончли ҳамда қисқа вақтда қутуриш касаллиги тезда аниқлаш усулларини амалиётга тавсия этишидан иборатдир. Хулоса: қутуриш касаллигини экспресс лаборатор диагностика усулларининг аналитик тахлили ҳамда ўтказилган тадқиқотлар натижаси бу усулларнинг инсонлар ва ҳайвонларнинг касалланиш хавфини пасайтиришида истиқболли эканини тасдиқлайди.

Калит сўзлар: қутуриш, вирус, РНК, флуоресцент, экспресс усул, лаборатория диагностикаси.

Abstract. The purpose of the study: to study in a comparative aspect various intravital express methods for the laboratory diagnosis of rabies in animals and to recommend to practice simple, reliable and high-speed methods for diagnosing rabies. Conclusion: An analytical review of express methods for laboratory diagnosis of rabies, as well as the results of our own research, indicate their promise in reducing the risk of disease in humans and animals.

Key words: of rabies, virus, RNK, fluorescent, express methods, laboratory diagnosis.

Введение. Бешенство, наносящее во всем мире наибольший экономический ущерб, занимает исключительно важное место в инфекционной патологии человека и животных [1, 3]. Заболевание регистрируют на всех континентах Земного шара, кроме Австралии, оно является объектом постоянного повышенного внимания международных организаций медицинского и ветеринарного профиля [9, 10, 12].

Эффективность выполнения противоэпидемиических, противоэпизоотических мероприятий и успешность проведения экстренной вакцинопрофилактики во многом зависит от своевременной и точной идентификации возбудителя болезни поэтому в ряде случаев критически важно иметь возможность выявить вирус бешенства в исследуемом материале в кратчайшие сроки [4, 6, 7].

Диагностику бешенства проводят на основании комплекса эпидемиологических, эпизоотологических, клинических данных и лабораторных методов исследования. Окончательный диагноз может быть поставлен только лабораторным методом [5, 8].

Исследования по изучению бешенства животных в различных ландшафтных зонах республики проведенные за последние годы, показывают, что в распространение этого заболевания среди сельскохозяйственных животных существенное значение играют дикие плотоядные - лисицы, шакалы и волки, а также некоторые другие виды диких животных. Ввиду этого бешенство домашних животных стало чаще регистрироваться в сельской местности, особенно в пастбищный период [2].

Скорость распространения вируса бешенства в ЦНС от места укуса предопределяет патогене-

нез болезни и эффективность проведения лечебных и профилактических мероприятий. В последнее время в литературе дискутируются эти вопросы и имеются разноречивые сообщения.

Нами изучено время проникновения вируса бешенства в ЦНС в зависимости от локализации травм на теле разных видов животных.

Материалы и методы. Для экспресс диагностики бешенства использовали реакцию диффузионной преципитации (РДП) в агаровом геле, световую микроскопию, методы флуоресцирующих антител (МФА), полимеразной цепной реакции (ПЦР), Иммуноферментный анализ ИФА, иммунохроматографический экспресс-тест (ИХГ), а также биопробу [5], [11].

В некоторых случаях использовали метод подавления флуоресценции. При этом к рабическому антигену добавляются немеченные антитела, которыми антиген нейтрализуется, и при добавлении меченой сыворотки окраски либо не появляется, либо становится менее выраженной, чем в препаратах не подвергавшихся подобной обработке. МФА при соблюдении указанных методических условий, обеспечивает постановку лабораторного диагноза в 100% случаев.

Было проведено шесть серий опытов на 36 лисицах, 36 собаках, 36 шакалов, 60 белых мышцах, 36 кроликах, 48 домашних мышцах и 48 серых крысах.

Для заражения всех подопытных животных был использован пассированный на кроликах эпизоотический штамм (Ш-33) уличного вируса бешенства, выделенный от больного бешенством шакала с титром 6,0-6,6 ЛД_{50/0,03}мл. Согласно схеме опыта для ИФА готовили препараты из тканей лисиц, куда вводили вирусную суспензию из головного мозга убитых подопытных животных.

Кроме того, ставили биопробу на 6 белых мышцах, заражая их в мозг по 0,03 мл 10%-ной вирусосодержащей суспензией, приготовленной из мышечной ткани головного мозга. При этом установлено, что вирус в месте введения - в мышце бедра у собак обнаруживается спустя 24 ч, у лисиц - через 24-48 ч, у шакалов - 48 ч, тогда как в головном мозге вирус обнаруживали у животных соответственно на седьмые, восьмые, десятые сутки.

Во второй серии опытов использовали по 16 лисиц, собак и шакалов, которым вводили 10%-ную вирусосодержащую суспензию головного мозга кролика на физиологическом растворе в объеме по 3 мл, вводили в жевательную мышцу одновременно в две разные точки.

Опыт далее проводили по описанной методике на странице № 2 в результате проведенных исследований установлено, что у собак вирус в месте введения выявляется спустя 12 с после заражения, в головном мозге - на 6 сутки. Через 24

ч и позже обнаружить его в инфицированных мышцах не удалось. У лисиц вирус на месте введения обнаруживался до 24 ч, в головном мозге - до семи суток. После заражения шакалов вирус бешенства выявляли в месте введения до 24 ч, в головном мозге - до 8 суток.

В третьей серии опытов использовали 30 белых мышечей и 18 кроликов. Животных заражали 10%-ной вирусосодержащей суспензией головного мозга кролика на физиологическом растворе, под кожу в кончик носа в объемах: белым мышам по 0,03 мл, кроликам по 0,2 мл, далее проводили исследование на наличие вируса бешенства по описанным методикам.

В результате проведенных исследований установлено, что у белых мышечей заражающий вирус на месте введения сохранялся до 12 ч, в головном мозге - до двух суток. У кроликов вирус бешенства на месте введения обнаруживали через 12 ч, в головном мозге - до трех суток. Спустя 24 ч и в более поздние сроки выявить вирус в инфицированных мышцах не удается.

На полученных данных видно, что у домашних мышечей вирус на месте введения сохраняется в активном состоянии до 12 ч после заражения, в головном мозге выявляется на 3 сутки. Через 24 ч и в более поздние сроки вирус в инфицированных мышцах не выявляется. У серых крыс на месте введения обнаруживается спустя 12 ч, в головном мозге удается выявить на 5 сутки.

В шестой серии опытов 30 домашних мышечей и 30 серых крыс заражали 10%-ной вирусосодержащей суспензией головного мозга кролика на физиологическом растворе в мышцы бедра в объеме соответственно по 0,1 мл и по 0,5 мл. по 3 животных каждого вида умерщвляли после заражения через 12, 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 192 и 216 ч и исследовали на наличие вируса бешенства общепринятыми методами.

При этом установлено, что у домашних мышечей вирус на месте введения обнаруживали через 24 ч после заражения, в головном мозге - на 5 сутки. В более поздние сроки вирус в инфицированных мышцах не выявлялся.

В пробах от серых крыс вирус бешенства на месте введения обнаруживается через 12 и 24 ч после заражения, в головном мозге - на 5-6 сутки. В другие сроки исследований вирус в инфицированных мышцах не обнаруживается.

Таким образом, в опытах на белых и домашних мышцах, серых крысах, кроликах, лисицах, шакалах и собаках показаны разные сроки выявления вируса бешенства в головном мозге от заражения животных, в зависимости от места его инокуляции.

В любом случае, спустя 12-48 ч вирус не удавалось выделить из места заражения разными методами. В головном мозге вирус бешенства при

этом выявлялся в разные сроки от трех до 10 суток. Полученные результаты исследованной вносят определенную ясность в патогенез заболевания у разных животных в зависимости от метода инфицирования.

Свойства трех штаммов вируса бешенства изучались на 15 овцах каракульской породы обоего пола, возрастом 1,5-2 лет, разделенных на три группы, по 5 овец в каждой. Овцы были завезены из благополучного по бешенству хозяйства, в сыворотке крови которых не было антител к вирусу бешенства.

После 30 дн карантинирования овец заражали 10 %-ной взвесью ткани мозга, содержащей вирус бешенства разных изолятов С-185, Л-125 и С-191, на уровне 2-3 пассажа.

Трем группам овец вирусосодержащую суспензию вводили в жевательную мышцу в объеме 2,0 мл, по 1,0 мл с каждой стороны.

Инфекционный титр испытуемых изолятов равнялся от 6,5 до 7,5 Ig ЛД_{50/0,03} мл при интрацеребральном заражении белых мышей массой по 6-7 г. За зараженными животными вели наблюдение в течение 3-х месяцев. Результаты исследований представлены в табл.1.

Из таблицы видно, что продолжительность инкубационного периода в группе овец, зараженных штаммом С-185 был в пределах от 9 до 14 дн (в среднем 11,8), во второй группе овец, зараженных изолятом Л-125 - в пределах 8-13 дн (в среднем - 10,4 дня) и в третьей группе овец, зараженных изолятом С-191 - 27-40 дн (в среднем 35,3 дня). При этом десять овец, зараженных изолятом С-185 и Л-125 пали все, а из пяти голов овец, зараженных изолятом С-191 пало 3 овцы, которые заболели после длительного инкубационного пе-

риода, продолжавшегося 10-39 дн, две овцы из этой группы были устойчивы к заражению.

У экспериментально зараженных вирусом бешенства овец заболевание протекало в паралитической форме, клинически проявлялось в течение 2-4 дн. Основные симптомы выражались в апатии, треморе, саливации и параличах.

Результаты заражения овец вирусом бешенства позволяют отметить, что два изолята (С-185, Л-125), выделенные в стационарно-неблагополучных зонах, являются высокопатогенными для овец, а изолят С-191, выделенный в условно-благополучной зоне - менее патогенный. Эти данные позволяют заключить, что на территории Узбекистана циркулируют штаммы уличного вируса бешенства, обладающие не одинаковой степенью патогенности при заражении разных видов животных.

При изучении накопления вируса в головном мозге зараженных овец изолятом С-85, установлен титр в пределах 5,5-6,1 Ig ЛД_{50/0,03} мл и изолятом Л-125, титр был в пределах 5,3-6,0 Ig ЛД_{50/0,03} мл и штаммом вируса бешенства С-191 титр колебался в пределах 2,5-3,9 ЛД_{50/0,03} мл.

На 90-й день после заражения 2 не заболевшие овцы умерщвлены и подвергнуты вирусологическому исследованию. Вирус бешенства в мозге этих овец методами биопробы и МФА не обнаружен.

Для изучения патогенности штаммов уличного вируса бешенства для ослов проведены исследования на 24 ослах в возрасте 1,5-2 лет. Ослы были завезены из благополучных по бешенству хозяйств, перед заражением они находились на продолжительном карантине в течение 45 дней.

Таблица 1. Патогенность штаммов уличного вируса бешенства для каракульских овец

Изоляты вируса бешенства	Титр вируса	Заражено ж-х	Пало ж-х	№ ж-х	Продолжительность в (дн)		Форма течения болезни	Гибель после заражения
					Инкубац период	Клинич. проявление		
С-185	7,2	5	5	1	9	2	Паралит.	11
				2	12	2	Паралит.	14
				3	14	3	Паралит.	17
				4	12	2	Паралит.	14
				5	12	2	Паралит.	14
Л-125	7,5	5	5	6	8	3	Паралит.	11
				7	12	2	Паралит.	14
				8	13	2	Паралит.	15
				9	10	3	Паралит.	13
				10	9	2	Паралит.	11
С-191	6,5	5	5	11	0	0	-	0
				12	27	3	Паралит.	30
				13	39	2	Паралит.	31
				14	0	0	-	0
				15	10	4	Паралит.	44

В сыворотке крови рабические антитела отсутствовали. Для заражения ослов использовали 10%-ную тканевую взвесь мозга белых мышей, инфицированных изолятами вируса бешенства - С-185, Л-122, С-191, Л-125. Подопытным ослам вирусосодержащую суспензию, одной группе вводили в жевательную мышцу и другой (12 ослам) - подкожно в области шеи в объеме по 5,0 мл и по 2,5 мл с каждой стороны. За зараженными ослами наблюдали в течение трех месяцев. Результаты заражения представлены в табл. 2.

Из данных табл.2 видно, что ослы, зараженные внутримышечно изолятами вируса бешенства С-185 и Л-125 заболели и пали. Инкубационный период болезни был равен 12-19 дн (в среднем - 15,5 дня). Ослы после заражения подкожно этими

же штаммами заболели и также пали. При этом инкубационный период в обоих случаях равнялся 18-25 дн (в среднем - 21,2). У зараженных ослов клинические признаки наблюдались в течение 2-3 дней. Трех ослов заражали внутримышечно изолятом С-191, из которых два пали. Инкубационный период равнялся 29-39 дн. (в среднем 34 дн). При заражении подкожно этим же штаммом заболел один из трех, инкубационный период длился 41 день. Болезнь продолжалась 2-4 дня.

Из трех ослов зараженных внутримышечно штаммом Л-122, пал один. Инкубационный период был 45 дней. Болезнь продолжалась 5 дней. К штамму Л-122 при подкожном заражении ослы оказались устойчивыми и в течении 90 дн наблюдения животные не заболели.

Таблица 2. Патогенность штаммов уличного вируса бешенства для ослов при разных способах заражения

Изоляты вируса бешенства	Титр вируса lg ЛД _{50/0,03} мл	Внутримышечное заражение		Подкожное заражение	
		Заражено и пало ж-х	Инкубационный период(в дн)	Заражено и пало ж-х	Инкубационный период(в дн)
С-185	7,0	3/3	12-17	3/3	18-23
Л-125	7,3	3/3	14-19	3/3	19-35
С-191	6,5	3/2	29-39	3/1	41
Л-122	5,5	3/1	45	3/0	0

Таблица 3. Сравнительное изучение чувствительности и специфичности разных методов лабораторной диагностики бешенства

Виды обследованных животных	Всего исслед. материалов	В том числе положительный									
		МФА		Биопроба		МФА+биопроба		РДП		Световая микроскопия	
		Выявлено	%	Выявлено	%	Выявлено	%	Выявлено	%	Выявлено	%
1.Подозрительные: К РС	31	23	74,0	23	74,0	23	74,0	14	47,5	11	36,0
МРС	20	8	40,0	8	40,0	8	40,0	5	25,0	4	20,0
Собаки	67	51	76,1	51	76,1	51	76,1	33	49,2	27	40,0
Кошки	13	5	38,4	5	38,4	5	38,4	2	15,3	2	15,3
Лошади	9	6	68,6	6	66,6	6	66,6	4	44,4	3	33,3
Ослы	16	4	25,0	4	25,0	4	25,0	3	18,7	1	6,2
Волки	21	7	33,3	7	33,3	7	33,3	4	19,0	4	19,0
Лисицы	20	9	46,0	10	50,0	10	50,0	5	24,8	3	15,0
Шакалы	13	5	38,4	5	38,4	5	38,4	2	15,3	2	15,3
Барсуки	5	2	40,0	2	40,0	2	40,0	1	20,0	1	20,0
Итого животных:	215	120	56,0	121	57,0	121	57,0	73	34,7	58	27,4
2.Экспериментально зараженные собаки	19	19	100,0	19	100,0	19	100,0	12	68,4	11	57,9
Лисицы	18	17	94,4	18	100,0	18	100,0	10	55,5	6	33,3
Шакалы	5	5	100,0	5	100,0	5	100,0	2	40,0	2	40,0
Серые крысы	12	12	100,0	11	91,6	12	100,0	7	58,3	5	41,6
Итого животных:	54	53	98,1	53	98,1	54	100,0	31	57,4	23	44,4

Накопление вируса в головном мозге у ослов, зараженных внутримышечно изолятами С-185 и Л-125 было высоким и его титр колебался в пределах 5,0-5,5 Ig ЛД_{50/0,03} мл, а в головном мозге у ослов, зараженных этим же изолятом подкожно, титр вируса колебался в пределах 3,0-4,1 Ig ЛД_{50/0,03} мл.

Титр вируса в головном мозге у ослов, зараженных внутримышечно изолятом С-91, был в пределах 2,1-3,0 Ig ЛД_{50/0,03} мл, при заражении этим же изолятом титр вируса был 0,03 мл, 1,5 Ig ЛД_{50/0,03} мл и после внутримышечного заражения изолятом Л-122 титр вируса равнялся 2,0 Ig ЛД_{50/0,03} мл.

На 90-й день после заражения 8 незаболевших ослов убили и подвергли вирусологическому исследованию головной мозг методами постановки биопробы на молодых мышцах и МФА. выделить вирус из мозга этих животных не удалось.

Выводы. Таким образом изученные 12 изолятов вируса бешенства, выделенных на территории Узбекистана от лисиц, шакала, волка, желтого суслика, домашней, полевой мыши и летучей мыши оказались патогенными для белых мышей и белых крыс, при заражении в мозг, интраплантарно и подкожно.

Изученные 23 изолята вируса бешенства, также выделенные от лисиц, шакала, волка, домашней и полевой мыши, серой крысы, собаки и крупного рогатого скота оказались патогенными для кроликов при их введении под кожу, в мышцу и в брюшную полость. Четыре изолята уличного вируса изучены при экспериментальном заражении внутримышечно собак, овец и ослов. Два изолята вируса бешенства, выделенные от собаки и лисицы оказались высоковирулентными.

По одному изоляту, выделенному от лисицы были вирулентным и слабовирулентным, а при подкожном заражении ослов он оказался авирулентным. Перечисленные выше дикие и домашние животные, исходя из результатов исследований, являются потенциальными источниками вируса бешенства на территории Узбекистана.

Литература:

1. Макаров В.В., Джупина С.И., Ведерников В.А., Заводских А.В. и др. Эпизоотологическая характеристика современного бешенства // Журн.микробиол., -М., 2002.- №5, -С. 21-25.
2. Ризаев Ж. А. и др. Значение коморбидных состояний в развитии хронической сердечной недостаточности у больных пожилого и старческого возраста // Достижения науки и образования. – 2022. – №. 1 (81). – С. 75-79.
3. Ризаев Ж. А., Кубаев А. С., Абдукадиров А. А. Состояние риномаксиллярного комплекса и его анатомо-функциональных изменений у взрослых

больных с верхней микрогнатией // Журнал теоретической и клинической медицины. – 2020. – №. 3. – С. 162-165.

4. Ризаев Ж. А. и др. Анализ активных механизмов модуляции кровотока микроциркуляторного русла у больных с пародонтитами на фоне ишемической болезни сердца, осложненной хронической сердечной недостаточностью // Вісник проблем біології і медицини. – 2019. – №. 4 (1). – С. 338-342.

5. Ризаев Ж. А. и др. Персонафицированная терапия генерализованного пародонтита на основе интегральной оценки клинико-лабораторных показателей // Журнал «Проблемы биологии и медицины. – 2021. – №. 3. – С. 120.

6. Rizaev J. A., Rizaev E. A., Akhmadaliev N. N. Current view of the problem: A new approach to COVID-19 treatment // Indian Journal of Forensic Medicine & Toxicology. – 2020. – Т. 14. – №. 4. – С. 7341-7347.

7. Rizaev J. A., Maeda H., Khranova N. V. Plastic surgery for the defects in maxillofacial region after surgical resection of benign tumors // Annals of Cancer Research and Therapy. – 2019. – Т. 27. – №. 1. – С. 22-23.

8. Rizaev J. A., Kuliev O. A. Risk factors of anemia in children and prognosing of it // Электронный инновационный вестник. – 2018. – №. 4. – С. 62-65.

9. Rizaev J. A., Shodmonov A. A. Optimization of the surgical stage of dental implantation based on computer modeling // World Bulletin of Public Health. – 2022. – Т. 15. – С. 11-13.

10. Rabies - World Health Organization (WHO). 2020. https://www.who.int/health-topics/rabies#tab=tab_1.

11. Webster W.A. A tissue culture infection test in routine rabies diagnosis. Can. J. Vet. Res. 1987, - №51, -P. 367-9.

12. World Survey of Rabies. Geneva WHO. 2021. -N 32.

ПЕРСПЕКТИВНОСТЬ ЭКСПРЕСС МЕТОДОВ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ БЕШЕНСТВА

Маматова М.Н., Кадыров Ж.Ф.

Резюме. Цель исследования: изучить в сравнительном аспекте различные прижизненные экспресс методы лабораторной диагностики бешенства животных и рекомендовать практике простых, надежных и скоростных методов диагностики бешенства. Заключение: аналитический обзор экспресс методов лабораторной диагностики бешенства, а также результаты собственных исследований свидетельствуют об их перспективности в снижении риска заболевания людей и животных.

Ключевые слова: бешенства, вирус, РНК, флуоресцент, экспресс метод, лабораторная диагностика.