



На правах рукописи

**РУССКИХ ВЕРА ВАЛЕРЬЕВНА**

**РИНОТРАХЕИТ КОШЕК  
(КЛИНИКО-ЭПИЗООТОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ,  
ПРОТИВОВИРУСНАЯ АКТИВНОСТЬ ПРЕПАРАТОВ)**

16.00.03 – ветеринарная микробиология, вирусология,  
эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология

Автореферат  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата ветеринарных наук

14 МАЙ 2009

Новосибирск – 2009

Работа выполнена в Государственном научном учреждении Институт экспериментальной ветеринарии Сибири и Дальнего Востока Сибирского отделения Россельхозакадемии

Научный руководитель: доктор биологических наук,  
старший научный сотрудник  
**Глотова Татьяна Ивановна**

Официальные оппоненты: доктор биологических наук,  
старший научный сотрудник  
**Семенхин Владимир Иванович,**  
  
кандидат ветеринарных наук  
**Аксенов Василий Иванович**

Ведущая организация: **ФГОУ ВПО «Уральская государственная сельскохозяйственная академия»**

Защита состоится «16» мая 2009 г. в «11» часов на заседании диссертационного совета Д.006.045.01. при Государственном научном учреждении Институт экспериментальной ветеринарии Сибири и Дальнего Востока СО Россельхозакадемии по адресу: 630501, Новосибирская область, Новосибирский район, п. Краснообск, ГНУ ИЭВСиДВ, а/я 8.  
тел/факс (383) 348-44-62.

С диссертацией можно ознакомиться в ЦНСХБ СО Россельхозакадемии

Автореферат разослан «21» 04 2009 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета



Г.М. Стеблева

## 1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы.** Ринотрахеит кошек - широко распространенное инфекционное заболевание вирусной этиологии. Возбудитель болезни, FeHV-1, относится к подсемейству *Alphaherpesvirinae*, роду *Varicellovirus*, вызывает у взрослых животных преимущественно поражения органов респираторного тракта и глаз (J.F. Evermann et al., 1993; M.J. Daniels et al., 1999; L. Munson et al., 2003; A.J. Davison et al., 2005).

Важным биологическим свойством вируса является формирование состояния латенции, при котором переболевшие животные, остаются пожизненными вирусоносителями. В некоторых питомниках по выращиванию кошек до 97% животных могут иметь специфические антитела к FeHV-1, что свидетельствует об энзоотическом характере инфекции. При таком типе течения болезнь сопровождается периодическими рецидивами с выделением вируса во внешнюю среду. Однако у неимунных животных ринотрахеит протекает значительно тяжелее с вовлечением в инфекционный процесс до 100% животных (M.P. Nasisse et al., 1998).

При энзоотическом течении, а также при систематической профилактической вакцинации животных, болезнь проявляется в виде слабого респираторного синдрома, а также в виде субклинической или инаппарантной инфекции.

Впервые болезнь описана в США как «синдром поражения верхних дыхательных путей» у котят (R.A. Grandell, F.D. Maurer, 1958). В России выделение вируса с установлением его этиологической роли было осуществлено Э.И. Элизбарашвили и соавт. (1995), затем в Сибири во время вспышки заболевания в питомнике домашних кошек (Т.И. Глотова, 2000).

В последние годы возрос интерес к разведению высокопородных, племенных животных, сопровождающийся их постоянным экспортом и импортом, что значительно усугубляет эпизоотическую ситуацию по инфекционным болезням.

Распространению возбудителя инфекции среди популяции домашних кошек способствуют концентрация животных в питомниках по их разведению, перегруппировки, выставки, вязки и другие мероприятия, сопровождающиеся стрессами, при которых происходит реактивация вируса из латентного состояния, сопровождающаяся его репликацией и экскрецией во внешнюю среду с носовыми, глазными и вагинальными выделениями, а также слюной животных.

При данной патологии большую роль играет специфическая профилактика, поскольку иммунизированные животные легче переносят инфекцию, однако она не предотвращает латентного состояния вируса.

Количество экспериментальных работ, посвященных изучению клинико-эпизоотологических аспектов ринотрахеита кошек в различных климатогеографических регионах России, ограничено. Недостаточное внима-

ние уделяется изучению роли вируса в патологии органов воспроизводства, а также – противовирусной активности различных препаратов.

**Цель и задачи исследования.** Целью работы являлось изучение клинико-эпизоотологических аспектов ринотрахеита кошек в зависимости от способа содержания животных, определение роли возбудителя в патологии органов воспроизводства, а также изучение противовирусной активности различных препаратов.

Для достижения указанной цели были поставлены следующие задачи:

1. Изучить особенности эпизоотической ситуации и клинического проявления ринотрахеита кошек при групповом и индивидуальном содержании, а также – при острой и латентной (рецидивирующей) формах проявления инфекции.

2. Определить роль вируса в патологии органов воспроизводства кошек.

3. Изучить противовирусную активность препаратов ридостин, гама-препн, ацикловир и йодантипирин в отношении вируса ринотрахеита кошек *in vitro* и *in vivo*.

**Научная новизна работы.**

1. Доказано широкое распространение ринотрахеита среди популяции кошек г. Новосибирска при индивидуальном и групповом содержании. Подтверждено наличие как острой, так и латентной формы инфекции. Частота возникновения и тяжесть клинического проявления болезни коррелируют с концентрацией животных, а также с наличием сопутствующих инфекций (калицивироз, хламидиоз). Болезнь протекает чаще с поражением глаз и респираторных органов.

2. Выделение изолята «Сима» из содержимого матки кошки с преждевременными родами, подтвержденное высоким уровнем сероконверсии к нему, предполагает участие вируса в этиологии патологии воспроизводительной функции данного вида животных.

3. Показана противовирусная активность препаратов ридостин, гама-препн, ацикловир и йодантипирин в отношении вируса ринотрахеита кошек *in vitro* и *in vivo*.

**Теоретическая и практическая значимость работы.** Результаты исследований представляют теоретическую и практическую ценность, так как дают возможность расширить научные знания относительно роли вируса ринотрахеита кошек в возникновении массовых заболеваний у кошек, сопровождающихся поражениями органов респираторного тракта, глаз и органов воспроизводства. Они могут быть использованы при дальнейшем изучении эпизоотологии вирусных инфекций у кошек с целью совершенствования лечебно-профилактических мероприятий.

Результаты исследований открывают возможность повышения уровня эффективности лечебно-профилактических мероприятий при ринотрахеите кошек за счет использования препаратов, обладающих противовирусной активностью в отношении FeIV-1.

Разработаны рекомендации «Стратегия и принципы применения противовирусных препаратов при вирусных болезнях продуктивных и мелких домашних животных», рассмотренных и утвержденных подсекцией секции инфекционной патологии отделения ветеринарной медицины Россельхозакадемии «Проблемы инфекционной патологии животных в регионе Сибири и Дальнего Востока» (протокол № 3 от 30.10.07).

**Апробация полученных результатов.** Материалы исследований доложены на первом съезде ветеринарных фармакологов России (Воронеж, 2007), на III Международной научно-практической конференции (Павлодар, 2007), на III конференции молодых ученых СО Россельхозакадемии (Краснообск, 2008), на Международной конференции (Астана, 2008).

**Публикация результатов исследований.** По материалам диссертации опубликовано 7 научных работ в сборниках научных трудов, журнале «Сибирский вестник сельскохозяйственной науки» и других изданиях.

**Внедрение результатов исследования.** Результаты научных исследований использованы при составлении рекомендаций «Стратегия и принципы применения противовирусных препаратов при вирусных болезнях продуктивных и мелких домашних животных», рассмотренных и утвержденных Ученым советом ГНУ ИЭВСиДВ СО Россельхозакадемии (протокол № 3 от 30.10.07) и подсекцией секции инфекционной патологии отделения ветеринарной медицины Россельхозакадемии «Проблемы инфекционной патологии животных в регионе Сибири и Дальнего Востока» (протокол № 3 от 30.10.07).

Материалы по изучению противовирусной активности препаратов в отношении FeHV-1 применяются специалистами ветеринарных клиник г. Новосибирска и г. Омска при лечении различных клинических форм ринотрахеита кошек, а также в учебном процессе в ФГОУ ВПО «Новосибирский Государственный аграрный университет» и ФГОУ ВПО «Уральская государственная академия ветеринарной медицины».

**Структура и объем работы.** Диссертация изложена на 131 странице машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, собственных исследований, обсуждения полученных результатов, выводов, практических предложений, списка литературы, приложений, иллюстрирована 13 рисунками и 20 таблицами. Список литературы представлен 215 источниками, в том числе 161 зарубежным.

#### **Основные положения, выносимые на защиту:**

1. Особенности распространения и клинического проявления ринотрахеита кошек при индивидуальном и групповом содержании, острой и латентной формах инфекции.
2. Материалы, определяющие этиологическую роль вируса ринотрахеита кошек в патологии воспроизводительной функции.
3. Результаты изучения противовирусной активности препаратов ридостин, гамапрен, ацикловир и йодантипирин в отношении вируса ринотрахеита кошек *in vitro* и *in vivo*.

## 2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 2.1. Материалы и методы

Работа выполнена в 2005 – 2008 гг. в лаборатории биотехнологии-диагностический центр ГНУ ИЭВСиДВ СО Россельхозакадемии.

Особенности клинического проявления ринотрахеита кошек изучали путем осмотра животных, поступающих в ветеринарные клиники, а также находящихся в условиях частных питомников по разведению кошек.

Эпизоотологическое обследование частных питомников проводили по методике С.И. Джупины (1991).

Лабораторные диагностические исследования проводили в лаборатории биотехнологии – диагностический центр ГНУ ИЭВСиДВ СО Россельхозакадемии.

**Вирусы и культуры клеток.** В опытах использовали вирус ринотрахеита кошек (штамм Гранд). Титрование вируса проводили микрометодом в 96-луночных культуральных планшетах (Costar) с культурой клеток FS (селезенка кошки) с использованием не менее 4 параллельных рядов. Инфекционный титр вируса выражали в ТЦД<sub>50/мл</sub> (50%-ная тканевая цитопатическая доза).

Наличие вируснейтрализующих антител в пробах сыворотки крови кошек определяли в реакции нейтрализации с использованием той же культуры клеток. Постановку реакции нейтрализации проводили с постоянной дозой вируса (100 ТЦД<sub>50/мл</sub>) и двукратными разведениями сыворотки крови, микрометодом в культуральных 96-луночных планшетах по методу М. Mochizuki (1977). Учет реакции проводили на третьи сутки после заражения монослоя культур клеток.

В качестве ростовой среды использовали питательную среду Игла MEM с однократным и двойным набором аминокислот, витаминов, 5-10% сыворотки плодов коровы «HyClone» (серия 5037, кат. № SH30088.03), 0,06% L-глутамина, 100 мкг/мл канамицина. Клетки культивировали при 37°C и 5% CO<sub>2</sub>. В качестве поддерживающей среды использовали ту же среду без, или с 2% сыворотки.

Выделение вируса от больных и инфицированных животных проводили микрометодом в первично трипсинизированной культуре клеток почки эмбриона котенка, полученной по стандартной методике.

**Препараты.** Ридостин (ЗАО «Вектор-Медика», серии 61006), гамарен (серия № 006, ООО «ГамаВетФарм»), йодантипирин (серия 030307, ООО "Наука, Техника, Медицина"), ацикловир (серия 391108, ООО «Озон»).

Определение токсичности и противовирусной активности препаратов *in vitro* и *in vivo* проводили в соответствии с «Руководством по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ» (Р.У. Хабриев, 2005).

Результаты клинического обследования животных подтверждали данными анализа проб биоматериала, отобранных от животных, методом полимеразной цепной реакции (ПЦР). ПЦР проводили на амплификаторе марки «Бис-108» производства ГНЦ ВБ «Вектор».

Учитывали наличие болезней, протекающих у кошек со сходной симптоматикой, – калицивироз и хламидиоз. Для проведения дифференциальной диагностики использовали коммерческие тест-системы: «Калицивир», «Риновир» и «ХЛА-КОМ», разработанные ФГУ «ВГНКИ» совместно с Центральным научно-исследовательским институтом эпидемиологии.

В сыворотке крови определяли активность ферментов печеночного происхождения – трансаминаз и щелочной фосфатазы. Для этого использовали реактивы фирмы Bioson (Германия).

Статистическую обработку проводили общепринятыми методами (И.П. Ашмарин и соавт., 1962). Достоверность результатов подтверждали путем статистической обработки и определения различий средних значений с помощью критерия Стьюдента. Для обработки полученных данных использовали программу «Microsoft Excel».

Автор выражает благодарность за помощь в выполнении некоторых разделов диссертации гл. ветеринарному врачу клиники «ДокторВет» Т.Б. Тугуновой, зав. лабораторией биотехнологии-диагностический центр ГНУ ИЭВСиДВ СО Россельхозакадемии А.Г. Глозову, сотрудникам лаборатории А.В. Нефедченко и С.В. Котеневой, а так же ООО «ГамаВет-Фарм», предоставившему препарат гамапрен.

## **2.2. Результаты исследований**

### **2.2.1. Распространение и особенности клинического проявления ринотрахеита кошек в г. Новосибирске**

Для изучения распространения ринотрахеита кошек провели анализ и статистическую обработку материалов исследования животных, поступивших в ветеринарную клинику «ДокторВет» в период с 2005 по 2008 гг.

Всего обследовали 2780 животных, принадлежащих частным питомникам, заводчикам, в возрасте от нескольких недель (менее 1 месяца) до 14 лет. В результате проведенных исследований у 458 обследованных животных (16,47%) были выявлены клинические признаки, характерные для ринотрахеита кошек.

У животных отмечали преимущественно конъюнктивальную форму инфекции, риниты, трахеиты, в редких случаях – эндометриты, рождение мертворожденных котят, аборт на последних сроках беременности, уродства, рождение котят без шерсти, эрозии в ротовой полости.

От этих животных были отобраны пробы биоматериала для исследования вирусологическими методами, включая ПЦР.

Частота выявления вируса от животных, поступивших в ветеринарные клиники в период 2005 – 2008 гг. с клиническим проявлением инфек-

ции, при помощи ПЦР составила 38,4%, причем в 23,8% случаев – в моно-варианте (таблица 1).

Таблица 1 – Выявление различных возбудителей инфекционных заболеваний в пробах биоматериала от кошек

n=458

Инфекционное заболевание	Количество положительных проб	Процент положительных проб от числа исследованных
Ринотрахеит	109	23,8
Калицивироз	89	19,4
Хламидиоз	92	20,1
Ринотрахеит и калицивироз	20	4,4
Ринотрахеит и хламидиоз	13	2,8
Ринотрахеит, калицивироз, хламидиоз	34	7,4
Калицивироз и хламидиоз	20	4,4
Всего:	377	82,3
Не выявлено:	81	17,7

Результаты исследований показали, что в 7,4% случаев клинические проявления болезни у животных были вызваны ассоциацией трех возбудителей (вирус калицивироза и ринотрахеита кошек, хламидии), в 4,4% – ассоциацией вируса калицивироза и ринотрахеита кошек. В 2,8% случаев выявили вирус ринотрахеита кошек и хламидии. Вирус калицивироза и хламидии одновременно обнаружили в 2,8% исследованных проб.

Из 109 проб биоматериала, в которых вирус ринотрахеита выявлен в моноварианте: 53 (48,6%) были отобраны от животных с респираторной, 46 (42,2%) – конъюнктивальной, 7 (6,4%) – генитальной формами инфекции, а 3 (2,8%) – при поражениях слизистой ротовой полости и языка.

Случаи заболевания ринотрахеитом регистрировали у животных различных пород (персидская, британская, сфинкс, русская голубая, шотландская вислоухая, мейн-куны, а также – беспородных) в возрасте от 1-3 мес. до 5 лет и старше, содержащихся индивидуально и групповым методом в частных питомниках, специализирующихся на их разведении, равномерно на протяжении анализируемого периода времени.

Кошки при том и другом методах их содержания в равной степени были подвержены болезни. Случаи ринотрахеита чаще всего выявляли у котят 1-6-месячного возраста, преимущественно в виде острой формы.



Установлено, что породные, так и беспородные животные, а также коты и кошки были подвержены болезни, не зависимо от способа их содержания (индивидуального или группового).

Рассматривая данные о восприимчивости животных к ринотрахеиту в зависимости от породной принадлежности трудно сделать достоверные выводы, поскольку нет сведений об относительной распространенности тех или иных пород кошек на конкретной территории.

Однако полученные нами сведения позволяют сделать предположение о том, что восприимчивость животных к ринотрахеиту не зависит от породной принадлежности.

Для получения достоверной информации о распространении ринотрахеита кошек при групповом их содержании в период 2006-2008 гг. дополнительно обследовали животных в одном из питомников персидских кошек во время развития острой формы инфекции и в 5 питомниках, в которых ранее отмечались вспышки ринотрахеита.

Результаты показали, что в период острой вспышки болезни клинические симптомы регистрировались у 100% животных всех половозрастных групп, что было подтверждено положительными результатами ПЦР во всех случаях. Однако выделить вирус в чувствительной культуре клеток в 100% случаев удалось только от котят до 6-месячного возраста, что может свидетельствовать о том, что эта возрастная группа является наиболее восприимчивой к заражению. Частота выделения вируса от животных в возрасте от 6 до 12-месяцев составляла 60%, от одного до пяти лет – 20%. В период активной циркуляции вируса среди восприимчивых животных титры его достигали максимальных значений у животных до 6-месяцев (таблица 2).

Таблица 2 - Активность выделения вируса с носовыми секретами у животных с различными формами инфекции

№ п/п	Форма инфекции	Количество исследованных /положительных проб	Возрастная группа	Титр вируса в культуре клеток FS, (M±m), lg ТЦД 50/мл
1	Острая	15/15	до 6 месяцев	7,08±0,05
		5/3	от 6 до 12 месяцев	6,79±0,07
		5/1	от 1 до 5 лет	6,46±0,09
2	Латентная	20/8	от 1 до 2 лет	2,03±0,12
		5/1	от 2 до 5 лет	2,05±0,16

По мнению R. M. Gaskell (1982) животные с острой формой инфекции – основной источник вируса и выделяют его в более высоких титрах в течение длительного периода времени. Однако латентно инфицированные

животные также могут выделять вирус при рецидивах инфекции и инфицировать восприимчивых животных.

Результаты исследований свидетельствуют о том, что при латентной форме инфекции активность выделения вируса с носовыми секретами животных составляла по возрастным группам: от 1 до 2 лет –  $2,03 \pm 0,12$  лг ТЦД<sub>50/мл</sub>; от 1 до 5 лет –  $2,05 \pm 0,16$  лг ТЦД<sub>50/мл</sub>.

Результаты исследования парных проб сыворотки крови, отобранных от животных питомника в период начала острой вспышки болезни и через три недели после появления первых клинических признаков, выявили диагностический (четырёх и более кратный) прирост титров вируснейтрализующих антител, свидетельствующий об этиологическом значении вируса ринотрахеита кошек в ее возникновении. Результаты представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Выявление вируснейтрализующих антител к вирусу ринотрахеита кошек в реакции нейтрализации в культуре клеток FS

№ п/п	Количество животных	Возрастная группа	Титры вируснейтрализующих антител ( $M \pm m$ ), лг <sub>2</sub>	
			Первое взятие	Второе взятие
1	15	до 6 месяцев	$2,53 \pm 0,55$	$11,73 \pm 2,30$
2	5	от 6 до 12 месяцев	$1,20 \pm 0,43$	$16,00 \pm 3,92$
3	5	от 1 до 5 лет	$0,8 \pm 0,44$	$10,4 \pm 2,15$

Учитывая высокую аналитическую чувствительность метода ПЦР с целью выявления максимального числа животных, инфицированных вирусом, провели изучение его эффективности в сравнении с методом выделения вируса в культуре клеток. Для этого исследовали 61 пробу биоматериала от животных 5 питомников с численностью животных от 6 до 30 голов.

В результате в различных питомниках выявили от 25 до 80% инфицированных животных (таблица 4). Наименьшее количество инфицированных животных выявили в питомнике №4, где на протяжении 5 и более лет проводилась регулярная поголовная профилактическая вакцинация, максимальное – в двух питомниках (№3 и №5), где вакцины не применялись вообще. В питомниках №№ 1 и 2 в связи с неполным охватом вакцинацией количество инфицированных животных составило 44,4% от числа исследованных.

Таблица 4 – Сравнительная эффективность выделения вируса в культуре клеток и ПЦР

№ п/п	Количество животных в питомнике	Количество положительных проб, исследованных методами/% от числа исследованных	
		ВВ	ПЦР
1	9	4/44,4	4/44,4
2	6	2/33,3	2/33,3
3	30	19/63,3	24/80,0
4	8	2/25,0	2/25,0
5	10	5/50,0	6/60,0
Всего:	61	34/55,7	38/62,3

В среднем в 5 обследованных питомниках инфицированность животных вирусом ринотрахеита составила по результатам выделения вируса в культуре клеток – 55,7%, исследования методом полимеразной цепной реакции – 62,3%.

### 2.2.2. Выделение вируса ринотрахеита кошек в культуре клеток при патологии воспроизводительной функции

Роль вируса ринотрахеита кошек наиболее хорошо изучена при поражении респираторных органов и патологии глаз.

До сих пор не накоплено достаточного материала, подтверждающего значение вируса ринотрахеита в развитии различных патологий репродуктивных органов у кошек. По мнению М. А. Nickman (1994) для инфекции, вызванной данным вирусом, наличие абортос и других поражений репродуктивных органов у кошек не является характерным.

По нашим наблюдениям у кошек, больных респираторной формой болезни, регистрируются признаки поражений репродуктивных органов в виде эндометритов, абортос, бесплодия. Кроме того, вирус ринотрахеита в моноварианте выявлен методом ПЦР в 6,4% проб биоматериала, отобранных от животных с данной патологией.

Для подтверждения роли вируса в патологии органов размножения провели выделение вируса в первично трипсицизированной культуре клеток почки котенка. Для этого использовали 7 проб биоматериала от животных с преждевременными родами, давших положительные результаты на наличие вируса при исследовании методом ПЦР.

В результате исследований в первичнотрипсицизированной культуре клеток почки котенка выделили один изолят, обозначенный нами «Сима».

Первые признаки цитопатического действия вируса наблюдали через 24 часа после заражения. Через 48 часов отмечали поражение более 50% монослоя клеток (рисунки 1).

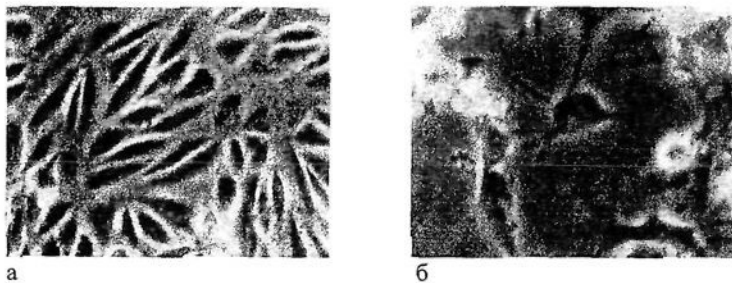


Рисунок 1 – Первичнотрипсинизированная культура клеток почки эмбриона котенка (а – неинфицированная; б – через 48 часов после инфицированная вирусом ринотрахеита кошек). Увеличение 250

Цитопатогенное действие вируса характеризовалось образованием «окоп» в монослое и синцития, округлением клеток. К 72 часам после заражения цитопатический эффект наблюдали у 90-100% клеток монослоя.

Выделенный изолят вызывал характерные изменения в монослое клеток на протяжении трех последовательных пассажей, развитие ЦПД в ранние сроки (на 1-ые сутки инкубирования) и накапливался в высоких титрах - до  $6,75 \lg \text{ТЦД}_{50/\text{мл}}$ .

Выделенный изолят был типирован при помощи ПЦР и моноспецифической гипериммунной кроличьей сыворотки.

Ретроспективный диагноз был поставлен при исследовании проб сыворотки крови от кошки и асцитной жидкости от рожденного котенка путем выявления вируснейтрализующих антител в высоких титрах: 1:64 и 1:16, соответственно.

### 2.2.3. Противовирусная активность препаратов в опытах *in vitro* и *in vivo* в отношении вируса ринотрахеита кошек

При выборе нетоксических концентраций всех изучаемых препаратов в культуре клеток FS было отмечено, что они оказались одинаковыми у препаратов ацикловир, йодантипирин и ридостин и были равны 50 мкг/мл. У препарата гамапрен нетоксическая концентрация составила 500 мкг/мл. Дальнейшие исследования проводили с использованием именно этих доз.

С целью изучения противовирусной активности препаратов монослой культуры клеток заражали вирусом ринотрахеита кошек в дозе не менее  $1 \text{ТЦД}_{\text{кл}}$ , через 1,5 часа после этого их отмывали питательной средой без сыворотки и вносили препараты в 50%-ных ингибирующих дозах (опыт) или разводящую среду (контроль). Через 72 часа культивирования вируса в таких биосистемах культуральную жидкость титровали. Противовирусный эффект препаратов рассчитывали по соотношениям инфекционных активностей вирусов в опытных и контрольных образцах.

В каждом опыте проводили дополнительный контроль на токсичность испытуемой дозы препаратов

В результате опытов нами подтверждена высокая противовирусная активность Ацикловира в отношении вируса ринотрахеита кошек, достоверно снижающего его концентрации по сравнению с контролем более чем на 4 lgТЦД<sub>50/мл</sub>.

Установлена также выраженная противовирусная активность препаратов гамапрен и йодантипирин. Они снижали его инфекционную активность более чем на 2 lgТЦД<sub>50/мл</sub>. Наименьшее противовирусное действие в опытах *in vitro* проявил препарат ридостин (таблица 5).

Таблица 5 – Накопление вируса ринотрахеита кошек в культуральной жидкости в присутствии препаратов.

Название препарата	Использованная доза препарата, мкг/мл	Концентрация вируса ринотрахеита кошек (M±m), lg ТЦД <sub>50/мл</sub>	
		Опыт	Контроль
Гамапрен	500	3,07±0,07	5,58±0,07
Ацикловир	50	1,33±0,18	
Йодантипирин	50	3,58±0,07	
Ридостин	50	4,00±0,12	

Примечание: различия между контролем и соответствующим показателем статистически достоверны с вероятностью 95%.

Противовирусную активность препаратов *in vivo* оценивали на животных при групповом содержании в питомниках во время острых вспышек болезни. Критерием эффективности препаратов служили сокращение сроков проявления клинических признаков заболевания и длительности выделения вируса от больных животных (рисунок 2). В каждой опытной и контрольной группе было по 6 животных в возрасте 5-6 месяцев, отобранных по принципу аналогов. Всего использовали 42 котенка с признаками острой респираторной инфекции.

Во всех пробах носовых выделений и истечений из глаз, отобранных от животных в разгар острой вспышки заболевания, методом ПЦР был выявлен вирус ринотрахеита кошек.

По данным А.А. Сулимова (1995) сроки проявления клинических признаков у инфицированных вирусом ринотрахеита в естественных условиях животных составляют 10 – 14 суток, а длительность выявления ДНК вируса в носовых секретах методом полимеразной цепной реакции – более трех недель (B. J. Weigler, 1997; A. Vogtlin, 2002).

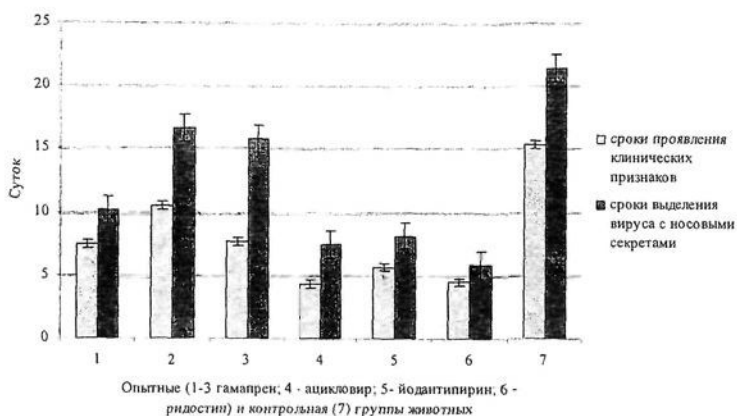


Рисунок 2 – Противовирусная активность препаратов в отношении вируса ринотрахеита в опытах *in vivo*

По нашим данным длительность проявления клинических признаков в контрольной группе животных, лечение которых не проводили, в среднем по группе составляла  $15,4 \pm 0,36$  суток, а длительность выделения вируса с носовыми секретами по результатам ПЦР –  $21,4 \pm 0,83$  суток.

В результате проведенных исследований установлена положительная корреляция противовирусной активности препаратов ацикловир и йодантипирин в опытах *in vitro* и *in vivo* в отношении вируса ринотрахеита кошек. Ридостин при наименьшей противовирусной активности в опытах *in vitro* был эффективным *in vivo*. Его применение привело к сокращению сроков проявления клинических признаков болезни в среднем по группе до  $4,5 \pm 0,20$  суток, выделения вируса – до  $5,83 \pm 0,15$  суток. Менее выраженную противовирусную активность в отношении вируса в опытах *in vivo* проявил препарат гаммапреп при всех использованных методах введения. Подкожное введение препарата сопровождалось ярко выраженной болевой реакцией со стороны животных и наименьшей противовирусной эффективностью.

Полученные результаты могут послужить основой для выбора эффективных противовирусных препаратов для этиотропной терапии ринотрахеита кошек.

## ВЫВОДЫ

1. Ринотрахеит кошек широко распространен среди животных питомников и частных владельцев г. Новосибирска. Заболевание регистрировали у животных различных пород в возрасте от 1-3 мес. до 5 лет и старше, особенностей сезонного проявления инфекции не установили. Инфицированность животных выше при групповом содержании и в среднем составляла по результатам выделения вируса в культуре клеток – 55,73%, а по результатам полимеразной цепной реакции – 62,3%.

2. Количество инфицированных животных в питомниках зависело от наличия профилактической вакцинации. Инфицированность животных в питомнике, где проводилась плановая иммунизация составила 25%, в питомниках с неполным охватом вакцинации – 44,4%, а в питомниках, где она не проводилась вообще – 80%.

3. Частота выявления вируса от клинически больных животных, поступивших в ветеринарные учреждения в 2005 – 2008 гг., при помощи ПЦР составила 38,4%. Вирус выявляли в 23,8% случаев в моноварианте, в 7,4 – в ассоциации с вирусом калицивируса и хламидиями, в 4,4 – с вирусом калицивируса, а в 2,8% случаев – с хламидиями. У 48,6% животных регистрировали респираторную, у 42,2 – конъюнктивальную, у 6,4 – генитальную формы инфекции, у 2,8% – поражения слизистой ротовой полости и языка.

4. В период острой вспышки болезни в питомниках по разведению кошек инфицировались все животные. Возрастная группа животных до 6-месячного возраста являлась наиболее восприимчивой к заболеванию (выделение вируса в 100% случаев заболевания), инфицированность животных в возрасте от 6 до 12-месяцев составляла 60%, от одного до пяти лет – 20%.

5. Выявление вируса ринотрахеита кошек методом ПЦР в пробах биоматериала от животных с поражениями органов воспроизводства, подтвержденное выделением вируса в культуре клеток и высоким уровнем сероконверсии к нему у переболевших животных, предполагает этиологическую роль вируса в данной патологии.

6. Подтверждена высокая противовирусная активность ацикловира в отношении вируса ринотрахеита кошек, достоверно снижающего его концентрации по сравнению с контролем более чем на  $4 \lg \text{ТЦД}_{50/\text{мл}}$ , установлена выраженная противовирусная активность у гамапрена и йодантипирина, снижающих инфекционную активность вируса более чем на  $2 \lg \text{ТЦД}_{50/\text{мл}}$ . Наименьшее противовирусное действие в опытах *in vitro* проявил ридостин.

7. Установлена положительная корреляция противовирусной активности ацикловира и йодантипирина в опытах *in vitro* и *in vivo* в отношении вируса ринотрахеита кошек. Применение ридостина приводило к сокращению сроков проявления клинических признаков болезни у животных до 4-5 суток, выделения вируса – до 7-9 суток. Менее выраженную активность в отношении вируса в опытах *in vivo* проявил препарат гамапрен.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

С целью повышения эффективности противовирусных мероприятий при ринотрахеите кошек наряду с клиническим обследованием необходимо проводить лабораторные диагностические исследования биоматериала от животных с признаками респираторных и гинекологических болезней. Для первичного диагноза на ринотрахеит кошек эффективно использовать метод ПЦР, а для окончательного - вирусологические и серологические исследования.

Результаты исследований, отраженные в рекомендациях «Стратегия и принципы применения противовирусных препаратов при вирусных болезнях продуктивных и мелких домашних животных», рассмотренных и утвержденных Ученым советом ГНУ ИЭВСиДВ СО Россельхозакадемии (протокол № 3 от 30.10.07) и подсекцией секции инфекционной патологии отделения ветеринарной медицины Россельхозакадемии «Проблемы инфекционной патологии животных в регионе Сибири и Дальнего Востока» (протокол № 3 от 30.10.07), целесообразно внедрить в ветеринарную практику и использовать в высших учебных заведениях.

Материалы по изучению особенностей распространения и проявления ринотрахеита кошек используются в учебном процессе в программе подготовки студентов по курсам «Вирусология», «Эпизоотология» по специальности «Ветеринария» в ФГОУ ВПО «Новосибирский Государственный аграрный университет» и ФГОУ ВПО «Уральская государственная академия ветеринарной медицины».

Материалы по изучению противовирусной активности препаратов *in vivo* в настоящее время используются в ветеринарных клиниках, входящих в состав Омской и Новосибирской областных общественных организаций «Ассоциация практикующих ветеринарных врачей», при лечении животных.



---

Подписано в печать 15.04.2009г.  
Объем 1.0 печ.л. Тираж 100 экз.

Формат бумаги 60x84 1\16  
Заказ № 63

---

Отпечатано в ООО «Омега Принт»  
630090, г. Новосибирск, пр. Ак. Лаврентьева, 6