**РЕФЕРАТ**

По дисциплине: **«Вирусология и биотехнология»**

На тему: **«Вирус коронавирусного энтерита собак»**

Москва 2016 г.

**Оглавление**

Введение

. Характеристика вируса

.1 Таксономия вируса

.2 Морфология вириона

.3 Этапы репродукции

.4 Гемагглютинирующие и гемадсорбирующие свойства

.5 Антигенная структура

.6 Особенности культивирования в различных живых системах

.7 Органный патогенез

. Диагностика коронавирусного энтерита собак

.1 Постановка предварительного диагноза

.2 Виды патологического материала

.3 Этапы лабораторной диагностики

. Специфическая профилактика

Заключение

Список литературы

# **Введение**

Коронавирусный энтерит собак (CCV) - высококонтагиозная вирусная болезнь собак, характеризующаяся геморрагическим воспалением желудочно-кишечного тракта, обезвоживанием и общим истощением организма. Возбудителем данного заболевания является РНК-содержащий вирус из семейства коронавирусов. Коронавирус собак имеет антигенное родство с коронавирусом кошек, свиней и может их инфицировать. Коронавирус собак не устойчив во внешней среде и сораняется в каловых массах при комнатной температуре не более 2 суток.

Коронавирусная инфекция собак распространена во всем мире. В основном болеют щенки, начиная с месячного возраста. У большинства взрослых собак болезнь протекает субклинически. Передача возбудителя осуществляется фекально-оральным путем. Коронавирус собак высококонтагиозен и в неблагополучных питомниках заболеваемость собак составляет 50-70%. Инкубационный период - 1-4 суток. Выделение вируса больными животными происходит в течение 3-16 суток.

CCV - Всесезонное заболевание; предрасполагающий фактор - групповое содержание, регистрируемые пики обычно связывают с увеличением количества прямых контактов больных животных со здоровыми в теплое время года. Источниками вируса являются больные и переболевшие животные (вирусоносители).

Во внешней среде при комнатной температуре погибает в течение 2 суток. Чувствителен к жиро-растворителям (эфир, хлороформ), при 560С погибает в течение 10 минут, в 10% растворе соды - в течение 10 минут. Вирус стабилен в кислой среде при рН 6,0 - 6,5, благодаря чему при проникновении в организм животного легко минует желудок и устраивается в эпителии кишечника. Как последствие - нарушение пищеварения, диспепсия, диарея, истощение, нарушение обмена веществ.

# **1. Характеристика вируса**

## **.1 Таксономия вируса**

Семейство Coronaviridae

род Alphacoronavirus

вид вирус энтерита собак

## **.2 Морфология вириона**

Форма вириона сферическая, около 120 нм в диаметре; тип симметрии - спиральный. РНК-геном связан с белком N с образованием нуклеокапсида. Нуклеокапсид окружён белковой мембраной и липосодержащей внешней оболочкой, от которой отходят шиповидные отростки, напоминающие корону.

Геном представлен односпиральной линейной положительной РНК.

## **.3 Этапы репродукции**

Клеточный патогенез включает в себя следующие этапы:

Адсорбция вируса на клетке - прикрепление вирусных частиц к клеточной поверхности. В основе лежат два механизма: неспецифический (определяется силами электростатического взаимодействия между разнозарядными группами) и специфический (комплиментарные вирусные и клеточные рецепторы).

Проникновение вируса внутрь клетки путем эндоцитоза или слиянием мембран - происходит в специализированных участках мембран, где находтс рецепторы, они обеспечивают вирусную инвагинацию и образование внутриклеточных вакуолей, которые сливаются с цитоплазматическими лизосомами; либо с помощью специальных белков слияния.

Депротеинизация и выход +РНК в цитоплазму клетки-хозяина - удаление защитных оболочек вирусов, которые препятствуют экспрессии вирусных геномов.

Этапа транскрипции нет, так как геном представлен +РНК

Трансляция белков и энзимов вируса - процесс перевода генетической информации, содержащейся в и-РНК на специфическую последовательность аминокислот.

Репликация вирусного генома - синтез молекул РНК, гомологичных геному.

Сборка вирусных белков (асамблирование) - сборка вирусных компонентов.

Выход новых вирионов экзоцитозом.

Репродукция вируса происходит в цитоплазме.

## **.4 Гемагглютинирующие и гемадсорбирующие свойства**

Гемагглютинирующими и гемадсорбирующими свойствами не обладает. Вирус не вызывает агглютинацию эритроцитов свиньи, барана, морской свинки и крысы. [Ольшанская,2006]

## **.5 Антигенная структура**

Коронавирусы содержат три или четыре основных структурных белка: нуклеокапсидный белок N; главный пепломерный гликопротеин S; трансмембранные гликопротеины М и Е. N - нуклеокапсидный фосфопротеин: Вместе с РНК вируса образует нуклеокапсид. Вызывает клеточный иммунитет; М - мембранный гликопротеин: Определяет место сборки и почкования вириона и взаимодействие с вирусным нуклеокапсидом.Формирует слой вокруг нуклеокапсида. Вызывает образование а-интерферона; Е - мелкий мебранный белок: Запускает механизм сборки вирионов, связан с вирусной оболочкой, может вызывать апоптоз; S - гликопротеин оболочки: Образует большие отростки на поверхности вириона, вступает в связь с рецепторами клетки, вызывает слияние вирусной оболочки с клеточной мембраной, может вызывать слияние клеток, связывается с Fc фагментом иммуноглобулина, вызывает образование ВНА и клеточный иммунитет.

Известно об антигенном родстве коронавируса человека, коронавируса собак, вируса трансмиссивного гастроэнтерита свиней и инфекционного перитонита кошек, вызываемым коронавирусом.

## **.6 Особенности культивирования в различных живых системах**

Культивирование вируса проводят на лабораторных животных, культурах клетках.

В культуре клеток коронавирусы имеют латентный период от 6 до 7 ч. При инфицировании культуры клеток вирулентными коронавирусами клетки могут сливаться, образуя синцитий, или лизироваться. Коронавирус собак размножается в чувствительных эпителиальных культурах клеток кошачьего и собачьего происхождения, с проявлением цитопатического эффекта (ЦПЭ). Используют такие культуры клеток как: монослойная культура клеток СИЕК (в течение 3 пассажей наблюдали ЦПД в виде округления элителиоподобных, и удлинения фибробластоподобных клеток), первичной культуре клеток ПЩ (почка щенка), перевиваемых линиях клеток МДСК и СИГК, А-72 и СС-8, ГОД, что сопровождалось характерным цитопатическим эффектом.

Что касается лабораторных животных, то белые мыши и кролики при различных способах введения вируса оказались нечувствительными к возбудителю CCV (Canine coronavirus). Введение вируса не вызывало у них образования антител в крови. Таким образом, введение коронавируса собак не вызвало клинического проявления заболевания у использованных в опытах кроликов и мышей. [Ольшанская,2006]

У морских свинок после внутрибрюшинной инъекции возбудителя отмечали угнетенное состояние и гибель части животных.

Экспериментальное воспроизведение болезни у щенков собак возможно при внутрибрюшинном и оральном способе заражения интактных щенков коронавирусом собак.

## **.7 Органный патогенез**

Этапы органного патогенеза:

. Проникновение алиментарным, контактным, аэрогенным путями.

Первичная репродукция и накопление в эпителиальных клетках тонкого отдела кишечника, ободочной кишки или слизистой носоглотки, вызывая их разрушение.

Первичная диссеминация по крови и лимфе (вирус размножается, вызывая изменения в стенках кровеносных сосудов)

Вторичная репродукция и накопление в эпителиальных клетках жкт

Вторичная диссеминация и выделение вируса с экскретами (фекалии; длительность экскреции 3-16 недель после инфицирования)

По тропности вирус относится к эпителиотропным (первичный очаг инфекции - эпителиальные клетки дыхательных путей или кишечного тракта). Также довольно часто инфицируются нервные ткани. [viralzone]

Восприимчивы: собаки и некоторые другие представители семейства псовых, возможно, некоторые грызуны и хищные; наиболее восприимчивы щенки в возрасте до 5 месяцев; предрасполагающий фактор - групповое содержание.

# **2. Диагностика коронавирусного энтерита собак**

вирус энтерит собака лабораторный

## **2.1 Постановка предварительного диагноза**

Предварительный диагноз ставится на основании:

Эпизоотических данных

Клинической картины

Основных патанатомических изменений

Коронавирусная инфекция собак распространена во всем мире. В основном болеют щенки, начиная с месячного возраста. У большинства взрослых собак болезнь протекает субклинически. Передача возбудителя в основном осуществляется фекально-оральным путем. Коронавирус собак высококонтагиозен, в неблагополучных питомниках заболеваемость собак составляет 50-70%. Инкубационный период - 1-4 суток. Выделение вируса больными животными происходит в течение 3-16 суток. Вирус относительно устойчив к условиям внешней среды. Коронавироз собак всесезонное высоконтагиозное заболевание; предрасполагающий фактор - групповое содержание, регистрируемые пики обычно связывают с увеличением количества прямых контактов больных животных со здоровыми в теплое время года.

В большинстве случаев патогенность моноинфекции низкая, изредка высокая до летальной; инфицированные коронавирусом клетки более восприимчивы к парвовирусной инфекции, сочетание коронавирусной и парвовирусной инфекции - наиболее тяжелая форма энтерита, есть сведения о 100% летальности.

Характерно, что кишечные коронавирусы вызывают слабые, незаметно протекающие инфекции у взрослых особей и тяжелые, сопровождающиеся поносом заболевания у новорожденных и молодых животных. Многие коронавирусы вызывают персистентную инфекцию in vivo.

В норме инфицирование бессимптомно завершается элиминацией вируса из организма. Интенсивность клинических признаков коронавирусной инфекции собак определяют такие факторы, как возраст животных, инфицирующая доза, бактериальная, вирусная, паразитарная флора организма, состояние иммунной системы. Коронавироз обычно проявляется в сочетании с другими вирусами, паразитами и патогенными бактериями. Для собак со смешанными инфекциями/инвазиями характерно более острое и продолжительное течение коронавирусного энтерита.

Клиническая картина неспецифична: рвота, диарея, кровоточивость слизистой оболочки кишечника, увеличение и гиперемия лимфоузлов, анорексия, резкое обезвоживание организма и сердечно-сосудистая недостаточность. Фекалии на начальном этапе патологии кашицеобразные слизистые, затем водянистые с примесью крови и резким зловонным запахом.

Инкубационный период коронавирусного энтерита - 1-5 дней. Выделяют сверхострую, острую и скрытую формы болезни.

Сверхострая форма протекает в основном у щенков в возрасте от 2 до 8 недель. При этом на животное воздействует несколько вирусов (парво-, корона-, ротавирусы и друге). Гибель собак происходит в течение 24-48 часов.

Острая форма наблюдается также у щенков в раннем возрасте. Для больной собаки характерны: рвота, длительный понос, отказ от корма (анорексия), резкое обезвоживание организма и сердечно-сосудистая недостаточность. Фекалии зловонные, имеют желтовато-оранжевый цвет, водянистой консистенции, могут содержать слизь и кровь.

При скрытой форме, характерной для взрослых собак, клинические признаки болезни не выражены. Могут наблюдаться отдельные клинические признаки вирусных кишечных инфекций: угнетенное состояние, потеря аппетита, хроническая диарея, снижение ритма сердечной деятельности, истощение и др. Скрытая форма может проявляться у животных с ослабленной иммунной системой.

Основные патологоанатомические изменения: поражения эпителия слизистой оболочки тонкого кишечника и ободочной кишки (при фекально-оральном заражении) или слизистой носоглотки собак (при орально назальном заражении), слизистые кишечника некротизируются, в следствие чего образуются мелкие эрозии и язвы, обширные катаральные и геморрагические воспаления тонкого и толстого отделов кишечника (особенно тощей, подвздошной и ободочной кишок), а также миокардиты и отеки легких. В связи с повреждением кровеносных сосудов происходит гиперемия и набухание слизистых оболочек, особенно пищеварительного тракта.

## **.2 Виды патологического материала**

Для диагностики коронавирусного энтерита собак проводят ректальные смывы или исследование свежих каловых масс.

Смывы со слизистых берут с помощью стерильных ватных зондов, перемешивают биоматериал с физ. раствором в пробирке Эппендорфа, после чего зонд выкидывают, пробирку плотно закрывают, оформляют и отправляют в лабораторию.

Каловые массы забирают в герметичную упаковку, оформляют и отправляют в лабораторию.

## **.3 Этапы лабораторной диагностики**

В последние годы все большей популярностью пользуется лабораторная диагностика. Она является основным инструментом постановки и подтверждения диагноза и мониторинга состояния животного. Одним из бурно развивающихся и востребованных методов лабораторной диагностики является иммунохроматографический анализ (ИХА).

Иммунологический метод анализа основан на реакции между антигеном и соответствующим ему антителом. Антиген - это вещество, которое чужеродно для живого организма и которое может запустить иммунную систему (защитную реакцию). Антитела - это белки, которые выделяются клетками живого организма при внедрении в него антигена. Метод иммунной хроматографии основан на особенном свойстве антител связываться с антигеном специфическим (то есть избирательным) образом. Это означает, что каждое антитело узнает и связывается с определенным антигеном. Анализ проводится с помощью специальных тест-полосок, например, VetExpert CСV Ag.

Индикация вируса в патологическом материале

Индикация - обнаружение вирусов в исследуемом материале. Проводится путем:

электронной микроскопии

обнаружения вирусных белков в серологических реакциях: РИФ, ИФА

обнаружения вирусных нуклеиновых кислот: ПЦР

биопробы в РН в культуре клеток и на лабораторных чувствительных животных

РИФ-пр ( реакция иммунофлюоресценции - прямой вариант)

Принцип: специфические At, которые предварительно и необратимо связаны с флуоресцирующим веществом (метка, маркер) сохраняют способность связываться с Ag гомологичного вируса с образованием комплекса Ag-At, в котором остается метка. Положительный результат РИФ заключается в наличии свечения, которое учитывают в люминисцентом микроскопе.

ИФА (иммуноферментный анализ) - сэндвич вариант

Принцип: специфические At, которые предварительно и необратимо связаны с ферментом, сохраняют способность связываться с гомологичным Ag вируса с образованием комплекса Ag-At. Индикатор (субстрат) - ферменточувствительное вещество, которое в присутствии фермента вступает в химическую реакцию с образованием цветного продукта. Признаком положительного результата будет являться окрашивание.

ПЦР (полимеразная цепная реакция)

ПЦР - это метод лабораторной диагностики, направленный на выявление генома возбудителей инфекционных заболеваний, состоит из трех этапов: выделение РНК, реакция обратной транскрипции и амплификация, детекция продуктов амплификации методами электрофореза или гибридизационно-флуоресцентным в режиме «реального времени».

Изоляция (выделение) вируса

Выделение вируса проводят на кк естественно восприимчивых животных, например, ПЩ, с признаками ЦПД, а также на животных: морских свинках или щенках (редко). Преимущественно используют кк.

Идентификация вируса

Определение вируса проводят в серологических реакциях: РИФ и ИФА, и ПЦР.

Ретроспективная диагностика

Заключается в исследовании парных сывороток крови в серологии для исследования динамики роста титра At. В качестве Ag - стандартные эталонные Ag, в качестве At - парные сыворотки. От одного животного в начале болезни и через 2 недели забирают кровь и исследуют одномомента. Положительным результатом будет являться рост титра антител во второй сыворотке в 4 и более раз.

Для данного исследования используют в основном РН и ИФА.

# **3. Специфическая профилактика**

Для специфической профилактики используют ассоциированные поливалентные вакцины (Мультикан 4, 6, 8, Дюрамун Макс 5-CvK/4L, Вангард Плюс 5/L4CV).

Иммунитет при коронавирусном энтерите собак непродолжительный, поэтому возможно повторное заражение.

Дюрамун Макс 5-CvK/4L

Вакцина состоит из сухого и жидкого компонентов. Сухой компонент вакцины содержит аттенуированные штаммы вирусов чумы собак, аденовируса тип 2, парагриппа и парвовируса. Жидкий компонент включает в себя инактивированные культуры L.canicola и L.icterohaemorragiae, L. grippotyphosa, L. pomona и короновирус собак. Применяется подкожно. Щенков в возрасте 6-9 недель вакцинируют трехкратно с интервалом 14-21 день, в дозе 1 мл. Щенков в возрасте 9 недель двукратно в дозе 1 мл, с интервалом 2-3 недели. Ранее не прививавшихся взрослых собак и щенков старше 12-недельного возраста рекомендуется прививать двукратно по 1 мл вакцины с интервалом 2-3 недели. Ревакцинацию всех ранее привитых собак проводят ежегодно 1 дозой вакцины. Можно применять сукам в первую половину щенности.

Вангард Плюс 5/L4CV

Вакцина состоит из двух отдельно расфасованных компонентов:

Сухой компонент изготовлен из аттенуированных возбудителей чумы плотоядных (штамм N-CDV), аденовирусной инфекции собак (серотип II штамм Manhattan), парагриппа плотоядных (штамм NL-CP1-5), парвовирусного энтерита собак (штамм NL-35-D), инактивированных тиомерсалом лептоспир серогрупп Canicola (штамм С51), Grippotyphosa (штамм MAL 1540), Icterohaemorragiae (штамм NADL 11403) и Pomona (штамм Т262) c добавлением в качестве консерванта гентамицина (до 30 мкг/мл), стабилизаторов (NZ Amine AS (160 г/мл), раствора желатина, раствора сахарозы), пеногасителя и среды Хенкса.

Жидкий компонент вакцины изготовлен из возбудителя коронавируса собак (штамм NL-18), инактивированного тиомерсалом с добавлением в качестве адъюванта алюминия гидроксида и среды Хенкса.

Вакцина вызывает формирование иммунного ответа у собак к возбудителям чумы, инфекционного гепатита, парагриппа плотоядных, аденовирусной и коронавирусной инфекции, парвовирусного энтерита и лептоспироза собак через 21 сутки после повторного введения, продолжительностью не менее 12 месяцев.

Вакцина предназначена для профилактики чумы, инфекционного гепатита, аденовирусной и коронавирусной инфекции, парагриппа плотоядных, парвовирусного энтерита и лептоспироза собак.

Запрещено вакцинировать клинически больных, ослабленных животных и щенных сук.

Вакцинации подлежат здоровые собаки, начиная с 6-недельного возраста.

Вакцину вводят подкожно трехкратно с интервалом 3 недели в объеме 1,0 см3 (одна иммунизирующая доза).

При первичной иммунизации животных в возрасте 9 недель допускается двукратная вакцинация с интервалом 3 недели.

Ревакцинируют собак 1 раз в год однократно одной дозой вакцины. Взрослых, ранее не иммунизированных, собак вакцинируют двукратно с интервалом 2-3 недели.

Перед применением содержимое флакона с жидким компонентом взбалтывают, вносят во флакон с лиофилизированным компонентом и перемешивают до образования гомогенной суспензии.

Вакцину вводят с соблюдением правил асептики и антисептики, для введения используют стерильные шприцы и иглы. Место инъекции обрабатывают 70% спиртом.

Мультикан 4

Изготовлена из аттенуированного штамма вируса чумы плотоядных, аденовируса собак типа 2, парвовируса и коронавируса собак. Иммунитет у привитых щенков наступает через 14 дней после второй иммунизации и сохраняется в течение одного года. Вакцинации подлежат клинически здоровые животные. Щенков первый раз прививают в 8-10-недельном возрасте, повторно через 21 день после первой иммунизации. Ревакцинацию проводят в возрасте 10-12 месяцев. Взрослых собак вакцинируют 1 раз в год. Вакцину вводят подкожно в области лопатки или внутримышечно с внутренней поверхности бедра в дозе 2 мл. Собак мелких и декоративных пород прививают в дозе 1 мл. Шприцы и иглы перед каждым использованием стерилизуют кипячением в течение 10 минут. Для каждого животного используют отдельную иглу.

Мультикан 6

Изготавливают из аттенуированных штаммов вируса чумы плотоядных, аденовируса собак типа 2, парвовируса и коронавируса собак, инактивированных штаммов лептоспир серогрупп Каникола и Иктерогеморрагия. Вакцина состоит из двух компонентов: лиофилизированного, против чумы плотоядных, аденовирусных инфекций, парвовирусного и коронавирусного энтеритов собак; жидкого, против лептоспироза собак. Иммунитет у привитых собак наступает через 2-3 недели после иммунизации и сохраняется у молодняка 6-8 месяцев, у взрослых - 12-15 месяцев. Лечебным действием препарат не обладает. Вакцинации подлежат клинически здоровые щенки и взрослые собаки. Перед применением лиофилизированную вакцину растворяют во флаконе (ампуле) с жидким компонентом, встряхивают до получения однородной взвеси. Щенкам вакцину вводят в 8-10-недельном возрасте и повторно через 21-28 дней.

Ревакцинацию щенков проводят в возрасте 10-12 месяцев. Взрослых собак вакцинируют один раз в год. Вакцину вводят внутримышечно в области бедра в объеме 2 мл сразу же после растворения. Собак мелких и декоративных пород вакцинируют в объеме 1 мл. Шприцы и иглы перед использованием стерилизуют кипячением в течение 10 минут. Для каждого животного используют отдельную иглу.

Мультикан 8

Вакцина изготовлена из аттенуированных штаммов вируса чумы плотоядных, аденовируса собак типа 2, парвовируса собак, коронавируса собак, инактивированных штаммов лептоспир серогрупп Каникола и Иктерогеморрагия и штамма вируса бешенства. Вакцина представлена двумя компонентами: лиофилизированным, содержащим аттенуированные штаммы вируса чумы плотоядных, аденовируса собак типа 2, парвовируса и коронавируса собак; жидким, содержащим инактивированные штаммы лептоспир серогрупп Каникола и Иктерогеморрагия и штамм вируса бешенства. Иммунитет у привитых собак наступает через 2-3 недели после иммунизации и сохраняется у молодняка 6-8 месяцев, у взрослых - 12-15 месяцев. Вакцинации подлежат клинически здоровые щенки и взрослые собаки. Лечебным действием препарат не обладает. Перед применением лиофилизированную вакцину растворяют во флаконе (ампуле) с жидким компонентом, встряхивают до получения однородной взвеси. Щенкам вакцину вводят в 8-10-недельном возрасте и повторно через 21-28 дней. Ревакцинацию щенков проводят в возрасте 10-12 месяцев. Взрослых собак вакцинируют один раз в год. Вакцину вводят внутримышечно в области бедра в дозе 2 мл сразу же после растворения. Собак мелких и декоративных пород прививают в дозе 1 мл. Шприцы и иглы перед использованием стерилизуют кипячением в течение 10 минут. Для каждого животного используют отдельную иглу.

# **Заключение**

Коронавирусный энтерит собак - заболевание высококонтагиозное, сопровождающееся тяжелыми клиническими признаками для взрослых собак и вплоть до детального исхода у щенков. Несмотря на то, что вирус довольно неустойчив, он несет особую опасность для животных при групповом содержании. Есть большая опасность потерять весь помет при инфицировании данным вирусом.

Лабораторная диагностика играет основную роль в постановке диагноза. В связи с эти ветеринарному врачу необходимо знать этапы диагностики коронавирусного энтерита и разбираться в самих этапах лабораторной диагностики.

Немалое значение оказывает специфическая профилактика против данного вида вируса. Необходимо оценивать эпизоотические данные и в связи с этим принимать решение о вакцинации против коронавирусного энтерита собак. Данный вирус входит не во все современные ассоциированные вакцины, что также необходимо учитывать и объяснять владельцам.

# **Список литературы**

Ольшанская A.A., Уласов В.И., Могильный Ю.И., Захарова Е.Д.- «Изучение коронавируса собак».

Ж. «Ветеринария», К» 6, 1995, С.57-59.

Ольшанская A.A., Уласов В.И., Могильный Ю.И., Захарова Е.Д:., Посабцева Я.А. «Культуральные свойства коронавируса собак». Сборник научных трудов ВГНКИ, т. 57, 1995, С.20-28. "

Ольшанская А,А.Уласов В.И., Захарова Е.Д. Изучение коронавирусного энтерита собак. Материалы конференции «Актуальные проблемы болезней мелких домашних животных» г.Санкт-Петербург 1995 г. С.32-36.

Ольшанская A.A., Уласов В.И., Захарова Е.Д. Коронавирусный энтерит собак. Материалы конференции «Состояние и перспективы развития научных исследований по профилактике и лечению'болезней с.х. животных и птиц» посвященная 50-летию Краснодарской

В.А. Сергеев, Е.А. Непоклонов, Т.И. Алипер, Вирусы и вирусные вакцины, 2007://viralzone.expasy.org/