

DOI 10.7251/VETJSR2401201G

UDK 636.7.09:[616.98:578.825

Оригинални научни рад

АУЈЕСКИЈЕВА БОЛЕСТ КОД ЛОВАЧКОГ ПСА НА ТЕРИТОРИЈИ РЕПУБЛИКЕ СРПСКЕ

Срђан Глигорић^{1*}, Драган Кнежевић¹, Драган Касагић¹, Димитрије Глишић², Дарко Маринковић³

¹Јавна установа Ветеринарски институт Републике Српске „Др Васо Бутозан“, Бања Лука, Босна и Херцеговина

²Научни институт за ветеринарство Србије, Београд, Србија

³Универзитет у Београду, Факултет ветеринарске медицине, Београд, Србија

*Коресподентни аутор: Срђан Глигорић, srdjan.gligoric@virs-vb.com

Сажетак

Аујескијева болест (лажно бјеснило) је акутно, контагиозно, вирусно обољење, прије свега свиња, а затим и других врста домаћих и дивљих животиња, које изазива херпесвирус свиња тип 1. Код свиња зараза је ензоотског карактера, са високом стопом леталитета при првом уласку вируса у запате и карактерише се енцефалитисом и високом стопом морталитета код прасади, пнеумонијом код старијих и абортусима код супрасних крмача. Обољење се код секундарних домаћина јавља спорадично и праћено је кратким инкубационим периодом и фаталним исходом. Карнивори се заразе у директном или индиректном контакту са свињама и ингестијом сировог или термички недовољног обрађеног меса и унутрашњих органа, а код њих се карактерише неуролошким поремећајима у виду пруритуса до аутомутилације.

У раду је описан случај Аујескијеве болести на територији града Теслић у 2024. години, код ловачког пса расе Плот, који је током лова дошао у директан физички контакт са дивљом свињом, као и лешом одстрељене животиње. Иницијални знаци болести су се појавили након 24 часа у виду инапетенце, фебре и повраћања. Након иницијалних знакова, уследили су неуролошки поремећаји испољени у виду нагињања главе на страну, хиперсаливације и пруритуса, који је прогредирао до аутомутилације у предјелу главе. Угинуће је уследило након 36 часова од појаве неуролошких поремећаја. Макроскопским прегледом су уочене лезије на кожи главе и врата, хиперемија конјунктива, генерализована лимфаденопатија, хиперемија плућа, можданица и мозга. Установљена је и дилатација желуца са торзијом слезине на десно, највјероватније као посљедица акутног шока и бола. Хистопатолошком анализом утврђен је негнојни менингоенцефалитис који се карактерисао дискретним периваскуларним моноклеарним инфилтратом и периваскуларним крвављењима у великом мозгу, те глиозом, сателитозом и неуронофагијом у продуженој мождини, као и

налазом интрануклеарних еозинофилних инклузија у неуронима продужене мождине. Резултати молекуларне анализе можданог ткива и ткива из лезија коже, применом qPCR методе доказали су присуство нуклеинске киселине херпесвируса свиња тип 1 у испитиваним узорцима.

Спорадично инфицирање ловачких паса може да указује на циркулацију вируса у популацији дивљих свиња у Републици Српској.

Кључне ријечи: Аујескијева болест, херпес вирус свиња тип 1, ловачки пас, негнојни менингоенцефалитис.

УВОД

Аујескијева болест (лажно бјеснило) је акутно, контагиозно, вирусно обољење прије свега свиња, а затим и других врста домаћих и дивљих животиња. Узрочник је херпесвирус свиња тип 1 (*Suid herpesvirus 1*), ДНК вирус из рода *Varicellovirus*, из подфамилије *Alphaherpesvirinae*, а које обухвата фамилија *Herpesviridae* (WOAH, 2018). Аујескијева болест нема зоонозни потенцијал (CFSPH, 2017). Због изразитог потенцијала да изазове инфекцију нервног ткива, а с друге стране због његових септикемично-висцеротропних патолошких ефеката на другим органским системима, дефинише се као пантропан вирус са израженим неуротропизмом (Софреновић и Кнежевић, 1994). Код свиња зараза је ензоотског карактера, са високом стопом леталитета при првом уласку вируса у запате. Испољавање клиничких знакова болести код свиња зависи прије свега од старости животиње, а затим од имунолошког статуса, менаџмента на фарми и вируленције узрочника. Обољење се код свиња карактерише енцефалитисом и високом стопом морталитета код прасади, пнеумонијом код старијих и абортусима код супрасних крмача (Pejsak и Truszczyński, 2006; Koshemetov и сар., 2021). Међутим, код домаћих и дивљих свиња неријетко може да се развије латентна инфекција са локализацијом вируса у нервним ганглијама. На тај начин стварају се услови за активно или пасивно клицоноштво, те домаће и дивље свиње представљају резервоар вируса за секундарне домаћине (најчешће овце, говеда, карниворе) (Milicevic и сар., 2016; Sehl и Teifke, 2020). Код секундарних домаћина обољење се јавља спорадично, карактерише се кратким инкубационим периодом и фаталним исходом. Овце и говеда се заразе у кохабитацији са свињама (Deblanc и сар., 2019; Ciarello и сар., 2022). Карнивори се заразе у директном или индиректном контакту са свињама, или ингестијом сировог или термички недовољно обрађеног меса и унутрашњих органа. Након иницијалних, неспецифичних знакова болести, јављају се знаци неуролошких поремећаја у виду пруритуса који може да прогредира до аутомутилације. Пруритус је код секундарних домаћина манифестација тригеминалног ганглионеуритиса, инфекције ганглија дорзалног коријена и паравертебралних ганглија. Свиње не испољавају знаке пруритуса (Laval и Enquist, 2020).

МАТЕРИЈАЛИ И МЕТОДЕ

Обдукција пса извршена је 2024. године, са сумњом да је до угинућа дошло услед Аујескијеве болести. Материјал за обдукцију је леш угинулог ловачког пса расе Плот са територије града Теслић, старости 19 мјесеци, интактна куја, у добром кондиционом стању. Након извршене обдукције, за хистопатолошку анализу узоркована су ткива мозга и продужене мождине, лимфних чворова, јетре и плућа. Након фиксације у 10% неутралном пуферизованом формалину, ткива су дехидрирана у серији алкохола, просвијетљена у ксилолу и након импрегнирања у течном парафину укалупљена у парафинске калупе. Исејци ткива дебљине 3-5 μm су обојени хематоксилином и еозином.

Дио узорка ткива мозга је одвојен за испитивање присуства нуклеинске киселине вируса Аујескијеве болести, примјеном методе квантитативне реакције ланчане полимеразе у реалном времену (qPCR). Узорак мозга је хомогенизован коришћењем авана и тучка, након чега је помијешан у односу 1:10 са фосфатним пуфером и центрифугиран на 4500 обртаја током 10 минута. Добијени супернатант је сакупљен и замрзнут на -80°C до даље анализе. Вирусна ДНК је екстрахована коришћењем *Indical IndiSpin* кита за екстракцију, у складу са упутствима произвођача. Амплификација вирусне нуклеинске киселине изведена је помоћу претходно објављених прајмера од стране Ма и сар. (2008). За qPCR је коришћен комеријални *Luna[®] Universal Probe qPCR Master Mix* (New England Biolabs, Ipswich, MA, US), а температурни профил реакције обухватао је следеће кораке: денатурација ДНК вируса на 95°C током 1 минута (1 циклус), везивање прајмера на 95°C током 15 секунди (50 циклуса) и синтеза ДНК ланца на 60°C током 30 секунди. Реакциона смјеша укупне запремине 12,5 μl припремана је додавањем 2,75 μl *Luna[®] Universal Probe qPCR Master Mix*, 0,50 μl *F* прајмера (10 μM), 0,50 μl *R* прајмера (10 μM), 0,25 μl пробе (10 μM) и 2,5 μl нуклеинске киселине.

РЕЗУЛТАТИ

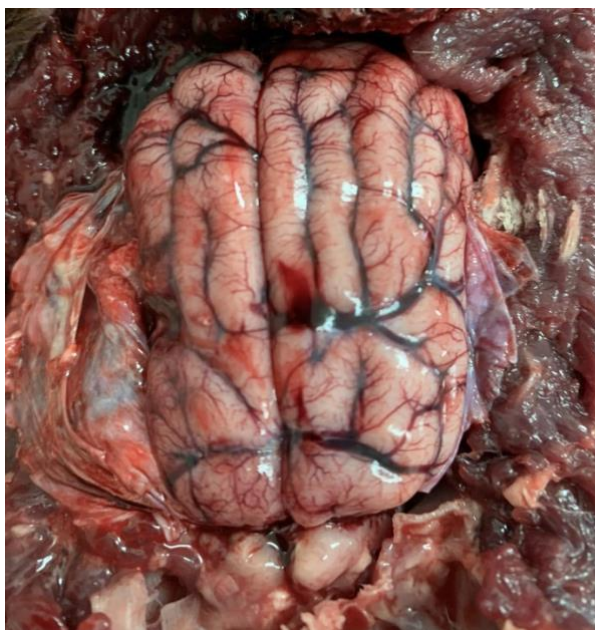
Према анамнестичким и епизоотиолошким подацима узетих од власника, куја је у току лова дошла у директан контакт са дивљом свињом, а непосредно након лова лизала је крв са леша одстрелене дивље свиње и трагове крви који су остајали у околини након уклањања леша. Након 24 часа, пас је испољавао неспецифичне знаке обољења у виду повраћања, инапетенце, летаргије и фебре. Након 30-36 часова од појаве првих знакова болести, јавили су се знаци неуролошких поремећаја: нагињање главе на страну, хиперсаливација и пруритус до аутомутилације у предјелу главе. Неуролошки поремећаји су се у току неколико часова интензивирали. До угинућа је дошло након 36 часова од појаве неуролошких знакова обољења.

Макроскопске промјене установљене спољашњим прегледом леша су се карактерисале налазом лезија на кожи главе у виду бездлачних, хиперемичних подручја на ушним шкољкама, доњој страни врата, око очију и на њушци, те

хиперимијом конјунктива (Слика 1). Након уклањања коже уочена је лимфаденопатија подвиличних лимфних чворова. Унутрашњим прегледом установљена су хиперимија и крвављења на плућа, те хиперимија можданих опни и иницираност крвних судова мозга (Слика 2). На јетри је установљена блажа хиперимија. Такође, установљена је и дискретна дилатација желуца и торзија слезине на десну страну, највјероватније настала као посљедица акутног шока и бола (Слика 3).



Слика 1 А, Б: Лезије на кожи главе као посљедица аутомутилације; Ц: Хиперимија конјунктиве



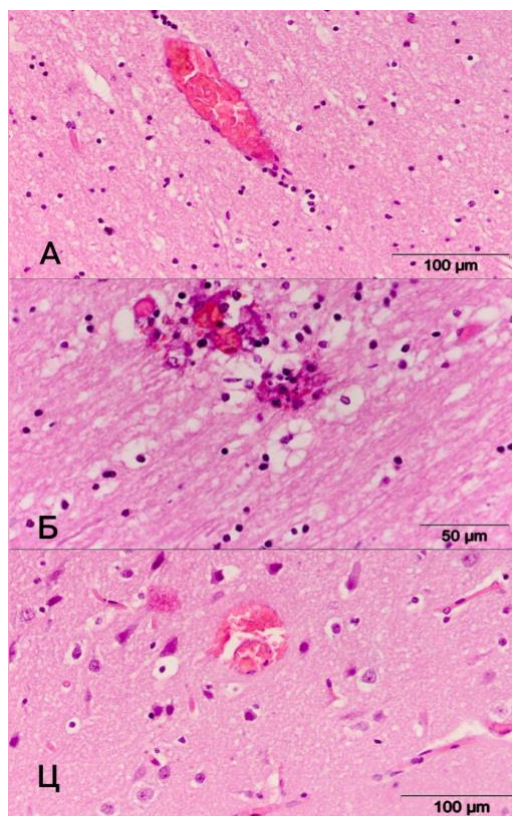
Слика 2 Мозак након одвајања тврде можданице, хиперимија и иницираност крвних судова



Слика 3 Дискретна дилатација желуца и торзија слезине на десну страну

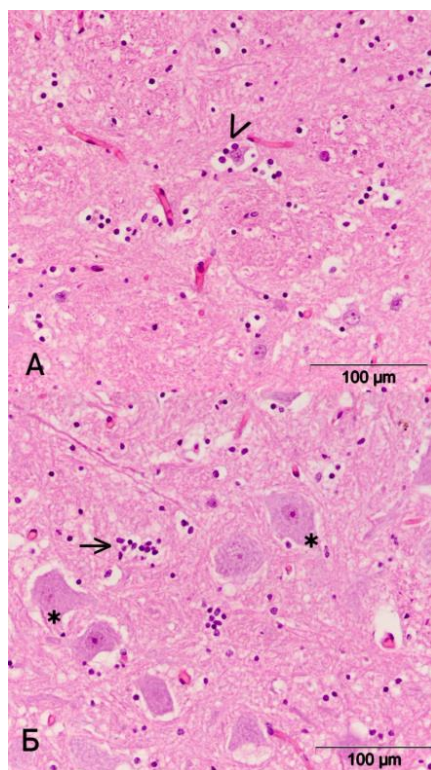
Хистопатолошким прегледом утврђен је негнојни менингоенцефалитис са пратећим феноменима у мозгу и продуженој мождини. Промјене у мозгу је

карактерисао налаз дискретног периваскуларног мононуклеарног инфилтрата с лимфоцитима и хистиоцитима, те периваскуларним крвављењима (Слика 4). Промјене у продуженој мождини су се карактерисале налазом сателитозе и неуронофагије, фокалне акумулације глија ћелија, дегенерације и некрозе неурона (Слика 5). У неуронима продужене мождине установљено је присуство интрануклеарних еозинofilних инклузија (Слика 6). Промјене установљене у другим органима чиниле су деплеција лимфоцита у герминативним центрима лимфних чворова, хиперемија, едем и емфизем плућа, те умјерена хиперемија јетре и дискретно изражено мутно бубрење хепатоцита.

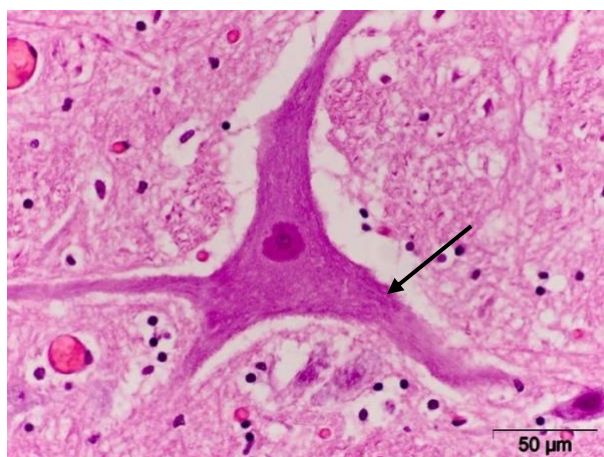


Слика 4 Мозак

А, Б: Дискретан периваскуларни мононуклеарни инфилтрат, ХЕ $\times$ 400, ХЕ $\times$ 600; Ц: Периваскуларно крвављење, ХЕ $\times$ 400



Слика 5 Продужена моздина
А: неуронофагија (глава стрелице), ХЕ $\times$ 400; Б: фокална акумулација глија
ћелија (стрелица), дегенерација и некроза неурона (звјездица), ХЕ $\times$ 400



Слика 6 Продужена моздина – интранукларне еозинофилне инклузије
(стрелица), ХЕ $\times$ 600

Методом qPCR детектована је ДНК вируса Аујескијевог болести (херпесвирус свиња типа 1) у узорцима ткива мозга и лезија коже.

ДИСКУСИЈА

Дивље свиње представљају бројчано значајну дивљач на простору Балканског полуострва, а захваљујући репродуктивном потенцијалу могу се сврстати у једну од инвазивнијих дивљих врста. Богате шуме, као и доступност извора воде овој дивљачи пружају како уточиште, тако и неисцрпан извор хране, што објашњава њихову бројност. Лов је традиционална активност на просторима Републике Српске, а дивље свиње представљају често ловљену дивљач. У лову на дивље свиње традиционално се користе ловачки пси, углавном гоничи, тако да је током ове активности контакт паса и дивљих свиња (гоњење и облајавање) неминован. Након одстрела пси често долазе у контакт са трупом одстрелене животиње, али и са њиховим месом и унутрашњим органима. Аујескијева болест је спорадично присутна у популацији домаћих и дивљих свиња на територији Републике Српске. У периоду 2019. до фебруара 2024. године, забиљежена су 44 жаришта, односно обољење је потврђено код 209 домаћих свиња и 3 пса. Болест је присутна у свим државама из окружења (Ћерне и сар., 2023; Milicevic и сар., 2016; Lazić и сар., 2017), као и на територији Европе (Cay и Letellier, 2009; Ciarello и сар., 2022). Ciarello и сар. (2022) наводе да постоји висока преваленца болести на фармама свиња на Сицилији, као и да су забиљежени случајеви заражавања код говеда. На Сицилији се Аујескијева болест ријетко појављује код паса, а описана је код два ловачка пса. У тим случајевима пси су конзумирали термички необрађено месо суспектне дивље свиње након лова. У периоду 1995-2022. година, Freuling и сар. (2023) су детектовали Аујескијеву болест код 35 паса и 3 лисице у Њемачкој. Код већине паса испољавање знакова болести епидемиолошки је било повезано с конзумацијом термички необрађеног меса дивљих свиња или контактом с дивљим свињама. Пси као и други карнивори се заражавају вирусом у директном или индиректном контакту са свињама и ингестијом сировог или термички недовољно обрађеног меса и унутрашњих органа. Спорадично појављивање болести, као и кратак клинички ток, условљавају да Аујескијева болест код карнивора често буде недијагностикована.

Сапо-Terriza и сар. (2019) наводе да директан контакт представља потенцијални ризик заражавања код ловачких паса. Они описују експозицију ловачких паса вирусу Аујескијевог болести у високо ендемичном подручју за овај вирус код дивљих свиња у Шпанији. Ciarello и сар. (2022) у свом раду наводе пруритус до аутомутилације као доминантан неуролошки симптом. Sehl и Teifke (2020) у свом раду наводе негнојни енцефалитис као доминантан хистопатолошки налаз у нервном ткиву. Такође, описују хистопатолошки налаз у јетри и плућима, који се карактерише некрозама, крвављењима и инфламацијом.

У периоду 2006-2020. године у Словенији су описани случајеви појаве Аујескијевог болести код ловачких паса и доминантан хистопатолошки налаз у

тим случајевима било је присуство негнојног менингоенцефалитиса (Ћерне и сар., 2003). Бројни аутори, такође, као досљедан хистопатолошки налаз код Аујескијевој болести детектују негнојни енцефалитис с васкулитисом (Freuling и сар., 2023). Cay и Letellier (2009) потврдивши Аујескијевој болест код два ловачка пса у Белгији изолацијом вируса и примјеном Real Time PCR (RT-PCR) методе, наводе да је код паса након лова дошло до појаве карактеристичних неуролошких знакова болести. У Италији је Аујескијева болест детектована код ловачког пса старог седам година, који је био у контакту са крвљу дивље свиње (Pizzurro и сар., 2016). Употребом RT-PCR и изолацијом на култури ћелија бубрега кунића (RK13) доказан је херпес вирус свиња тип 1.

ЗАКЉУЧАК

На основу епизоотиолошке анамнезе, клиничке слике и хистопатолошког налаза, постављена је сумња на Аујескијевој болест, а на основу резултата молекуларних испитивања потврђено присуство вируса Аујескијевој болести код ловачког пса. Спорадично заражавање ловачких паса указује на циркулацију вируса у популацији дивљих свиња у Републици Српској. У складу с наведеним, термичка обрада меса и унутрашњих органа дивљих свиња је обавезна.

Захвалница

Рад је подржан средствима Министарства пољопривреде, шумарства и водопривреде Републике Српске, Ресор за ветеринарство.

Изјава о сукобу интереса: Аутори изјављују да не постоји сукоб интереса.

ЛИТЕРАТУРА

- Cano-Terriza D., Martínez R., Moreno A., Pérez-Marín J. E., Jiménez-Ruiz S., Paniagua J., Borge C., García-Bocanegra I. (2019): Survey of Aujeszky's Disease Virus in Hunting Dogs from Spain. *Ecohealth*, 16(2):351-355.
- Cay A. B., Letellier C. (2009): Isolation of Aujeszky's disease virus from two hunting dogs in Belgium after hunting wild boar. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift*, 78(3):194-195.
- CFSPH (2017). Pseudorabies. Aujeszky's Disease. Mad Itch. Infectious Bulbar Paralysis. The Center for Food Security of Public Health, 1-9.
- Ciarello F. P., Moreno A., Mirgaliotta N., Antonino A., Michele E., Purpari G., Amato B., Ippolito D., Lo Presti V. D. M. (2022): Aujeszky's disease in hunting dogs after the ingestion of wild boar raw meat in Sicily (Italy): clinical, diagnostic and phylogenetics features. *BMC Vet Res*, 18(1):27.
- Ћерне D., Hostnik P., Toplak I., Juntos P., Paller T., Kuhar U. (2023): Detection of Pseudorabies in Dogs in Slovenia between 2006 and 2020: From Clinical and Diagnostic Features to Molecular Epidemiology. *Transboundary and Emerging Diseases*, ID 4497806, 1-11.

- Deblanc C., Oger A., Simon G., Le Potier M. F. (2019): Genetic Diversity among Pseudorabies Viruses Isolated from Dogs In France from 2006 to 2018. *Pathogens*, 8(4):266.
- Freuling C. M., Hlinak A., Schulze C., Sehl-Ewert J., Wysocki P., Szentiks C. A., Schmitt K., Wohlsein P., Kluth G., Reinhardt I., Mettealeiter T. C., Müller T. (2023): Suid alphaherpesvirus 1 of wild boar origin as a recent source of Aujeszky's disease in carnivores in Germany. *Virol J.*, 20(1):110.
- Koshemetov Z. K., Kondibayeva Z. B., Mussojev A. M., Abishov A. A., Omarbekova U. Zh. (2021): Epizootic situation of Aujeszky's disease within the territory of the Republic of Kazakhstan. *Open Veterinary Journal*, 11(1):135-143.
- Laval K., Enquist L. W. (2020): The Nerupathic Itch Caused by Pseudorabies Virus. *Pathogens*, 9(4):254.
- Lazić G., Petrović T., Lupulović D., Topalski B., Božić B., Lazić S. (2017): Aujeszky's disease in a dog - case report. *Arhiv veterinarske medicine*, 10(1):61-69.
- Ma W., Lager K. M., Richt J. A., Stoffregen W. C., Zhou F., Yoon K. J. (2008): Development of real-time polymerase chain reaction assays for rapid detection and differentiation of wild-type pseudorabies and gene-deleted vaccine viruses. *J Vet Diagn Invest.*, 20(4):440-7.
- Milicevic V., Radojicic S., Valcic M., Iovic V., Radosavljevic V. (2016): Evidence of Aujeszky's disease in wild boar in Serbia. *BMC Vet Res*, 12(1):134.
- Pejsak Z. K., Truszczyński M. (2006): Aujeszky's disease (Pseudorabies) In Diseases of Swine, Ninth Edition. Eds. B. E. Straw, J. J. Zimmerman, S. D'Allaire, D. J. Taylor, Blackwell Science, 419-433.
- Pizzurro F., Mangone I., Zaccaria G., De Luca E., Malatesta D., Innocent M., Carmine I., Cito F., Maracacci M., Di Sabatino D., Lorusso A. (2016): Whole-genome sequence of a suid herpesvirus – 1 strain isolated from the brain of a hunting dog in Italy. *Genome Announc*, 4(6):e01333-16.
- Sehl J., Teifke J. P. (2020): Comparative Pathology of Pseudorabies in Different Naturally and Experimentally Infected Species – A Review. *Pathogens*, 9(8):633.
- Софреновић Ђ., Кнежевић Н. (1994): Основне патолошке карактеристике важнијих инфективних болести домаћих животиња. Универзитет у Београду, Факултет ветеринарске медицине, 19-20.
- WOAH (2018). Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals, Chapter 3.1.2. Aujeszky's disease (Infection with Aujeszky's disease virus). World Organisation for Animal Health, 1-19.
-