

На правах рукописи

РОДИОНОВ АЛЕКСАНДР ПАВЛОВИЧ

**АНАЛИЗ ЭПИЗООТИЧЕСКОЙ СИТУАЦИИ ПО СИБИРСКОЙ ЯЗВЕ В
РЕСПУБЛИКЕ ТАТАРСТАН И ИЗУЧЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ
ВАКЦИНОПРОФИЛАКТИКИ ДАННОЙ ИНФЕКЦИИ**

4.2.3 – инфекционные болезни и иммунология животных

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата ветеринарных наук

Москва – 2022

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности» (г. Казань)

- Научный руководитель:** кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник **Иванова Светлана Викторовна**
- Официальные оппоненты:** **Пашкин Александр Васильевич** – доктор ветеринарных наук, профессор, заведующий кафедрой микробиология, вирусология, биотехнология, радиобиология и безопасность жизнедеятельности ФГБОУ ВО Нижегородская ГСХА
Пашник Татьяна Ивановна – доктор биологических наук, профессор кафедры эпизоотологии и организации ветеринарного дела ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К.И. Скрябина
- Ведущая организация:** Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Омский государственный аграрный университет имени П.А. Столыпина»

Защита состоится «_____» _____ 2022 г. в «_____» часов на заседании диссертационного совета 24.1.249.01, созданного на базе ФГБНУ «Федеральный научный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко Российской академии наук» (ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН) по адресу: 109428, г. Москва, Рязанский проспект, д. 24, корп. 1, тел.: +7 (495) 970-03-67.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН и на сайте <http://www.viev.ru>.

Автореферат разослан «_____» _____ 2022 г.

Ученый секретарь
 диссертационного совета,
 доктор биологических наук

Ездакова Ирина Юрьевна

Список сокращений

КРС – крупный рогатый скот
м.к. – микробные клетки
ПФО – Приволжский федеральный округ
РТ – Республика Татарстан
РФ – Российская Федерация
СНП – стационарно неблагополучный пункт
СЯС – сибирезвенный скотомогильник

1 ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Республика Татарстан является эндемичным по сибирской язве субъектом Российской Федерации, в котором регистрируется высокая активность вспышек сибирской язвы (Ладный В.И. и др. 2020). Наличие большого количества стационарно неблагополучных пунктов, их высокая плотность и удельный вес, а также большое количество сибирезвенных скотомогильников с неустановленными местами захоронения на территории республики определяют необходимость комплексного анализа показателей, характеризующих эпизоотическую ситуацию по данной инфекции (Базарова Г.Х. и др. 2017; Симонова Е.Г. и др. 2018). Для стабилизации ситуации важным звеном представляются исследования, направленные на прогнозирование, основанное на знаниях о многолетней заболеваемости, и определение территорий риска, в которых необходим индивидуальный подход к схемам специфической профилактики данной инфекции.

Существующая система профилактики сибирской язвы не способна привести к ее полному устранению, так как в настоящее время отсутствуют эффективные и безвредные способы санации почвенных очагов инфекции, кроме того остается открытым вопрос о целесообразности их применения (Симонова Е.Г. и др. 2013; 2018). Поэтому главным методом сдерживания заболеваемости остается ежегодная вакцинация всего восприимчивого поголовья сельскохозяйственных животных.

Исследованиями последних лет отмечено, что иммунитет к сибирской язве, индуцируемый вакцинацией животных, заметно снижается к 6-8 месяцам после введения вакцины (Галиуллин А.К. и др. 2015; Галиуллин А.К. и др. 2005; Иванова С.В. и др. 2019; Шушаев Б.Х. 1993), что, учитывая высокие риски возможных вспышек заболевания в республике, актуализирует исследования, направленные на оценку эффективности вакцинопрофилактики и изучение динамики поствакцинального противосибирезвенного иммунитета в течение всего срока специфической защиты животных (Иванова С.В. и др. 2019). С этой целью специалистами ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» был разработан единственный в Российской Федерации коммерческий препарат «Набор определения титра антител в сыворотке крови животных, вакцинированных против сибирской язвы в реакции непрямой гемагглютинации (РНГА)», который позволяет проводить оценку напряженности противосибирезвенного иммунитета у животных. Исходя из вышеизложенного, исследование,

направленные на оценку эффективности вакцинопрофилактики и изучение динамики напряженности противосибиреязвенного иммунитета у животных с применением данного диагностического средства, являются актуальными.

Степень разработанности темы исследования. Мониторингом эпизоотической ситуации по сибирской язве в Республике Татарстан занимались такие исследователи, как Галиуллин А.К. и Александрова С.А. (2006). Однако, на сегодняшний день, в республике произошли новые вспышки данной инфекции, зарегистрированы новые СНП, изменилось число почвенных очагов инфекции (Дугаржапова З.Ф. и др. 2017; Симонова Е.Г. и др. 2018), что свидетельствует о необходимости актуализации комплексного эпизоотического анализа республики по сибирской язве с применением наиболее современных методов. В настоящее время относительное благополучие по сибирской язве обеспечивается ежегодно проводимой вакцинацией всего восприимчивого поголовья сельскохозяйственных животных живой вакциной из спор штамма *V. anthracis* 55-ВНИИВВиМ (Селянинов Ю.О. и др. 2011). Несмотря на это, в России ежегодно регистрируют вспышки данной инфекции. В связи с данным фактом у исследователей и ветеринарных специалистов возникает вопрос об эффективности проводимой вакцинации и продолжительности индуцированного ей иммунитета (Галиуллин А.К. и др. 2015; Васина Н.К. и др. 2012), что становится особенно актуальным в регионах стационарно неблагополучных по данной инфекции. Проблеме изучения поствакцинального противосибиреязвенного иммуногенеза посвящен ряд работ отечественных авторов (Попова П.Ю. и др. 2011; Щербинин Д.Н. и др. 2014; Севских Т.А. и др. 2017; Макаев Х.Н. и др. 2018; Галиуллин А.К. и др. 2020). Однако представленные работы не приводят данных о динамике развития иммунитета в течение всего срока специфической защиты животных. В связи с этим возникает необходимость изучения динамики поствакцинального иммунитета для дальнейшего совершенствования специфической профилактики сибирской язвы.

Цель и задачи исследований. Цель работы – провести анализ эпизоотической ситуации по сибирской язве в Республике Татарстан и оценить эффективность вакцинопрофилактики данной инфекции, используя «Набор определения титра антител в сыворотке крови животных, вакцинированных против сибирской язвы в реакции непрямой гемагглютинации (РНГА)».

Для выполнения указанной цели перед нами были поставлены следующие задачи:

1. Провести комплексную оценку эпизоотической ситуации по сибирской язве в Республике Татарстан, включающую анализ и оценку рисков возможного возникновения вспышек сибирской язвы в республике на современном этапе;

2. Испытать «Набор определения титра антител в сыворотке крови животных, вакцинированных против сибирской язвы в реакции непрямой гемагглютинации (РНГА)» в широких мониторинговых исследованиях оценки эффективности иммунопрофилактики сельскохозяйственных животных,

вакцинированных против сибирской язвы в Республике Татарстан;

3. Изучить динамику поствакцинального противосибиреязвенного иммуногенеза на лабораторных и сельскохозяйственных животных в течение 12 месяцев.

Научная новизна. Впервые дана характеристика эпизоотической ситуации по сибирской язве в Республике Татарстан на современном этапе. Выявлено, что в среднем на каждый район республики приходится 24,8 сибиреязвенных скотомогильника и 17,9 биотермических ям. При этом 28 районов (65,1%) имеют на своей территории скотомогильники с неустановленными местами захоронений. Тридцать один район республики (72,1%) находится в зоне крайне высокой и высокой плотности СНП, что свидетельствует о высокой степени фактического неблагополучия территории республики по сибирской язве. Тридцать районов республики (71,4%) имеют на своей территории от умеренного до высокого риска возможных вспышек инфекции. Кроме того, за последние 30 лет в республике регистрировались новые почвенные очаги данной инфекции, что свидетельствует о сохраняющемся распространении возбудителя в абиотической среде. Выявлена прямая тесная связь между числом сибиреязвенных скотомогильников в районах республики и количеством вспышек инфекции (r_{xy} Пирсона=0,847) при статистической значимости $p < 0,001$.

Впервые проведена оценка иммунопрофилактики крупного рогатого скота, вакцинированного против сибирской язвы с применением диагностического средства «Набор определения титра антител в сыворотке крови животных, вакцинированных против сибирской язвы в реакции непрямой гемагглютинации (РНГА)» во всех районах Республики Татарстан за 2016-2017 годы. Исследовано 7716 проб сывороток крови крупного рогатого скота в реакции непрямой гемагглютинации на наличие титра специфических противосибиреязвенных антител. В результате, регистрировали от 15,5 % до 16,3 % животных с отсутствием антител или с титром ниже защитного. При повторной ревакцинации данных животных и исследовании через 14-30 суток сывороток их крови регистрировали, что 1,5 % из них явились толерантными к введению вакцины, то есть не реагирующими антителообразованием на антигенное раздражение, а 14-15 %, после повторной ревакцинации показывали достаточный для защиты от заражения титр антител. Данный факт может свидетельствовать о нарушениях при введении вакцины. Кроме того, установлено, что к 6 месяцам после иммунизации, титр специфических антител снижался у всех исследованных животных более чем в 3 раза.

Впервые изучена динамика иммуногенеза, путем исследования титра специфических антител, Т- и В-лимфоцитов и фагоцитарной активности лейкоцитов у вакцинированных, против сибирской язвы, сельскохозяйственных и лабораторных животных в период от введения вакцины до следующего срока ревакцинации. Установлено, что первым звеном иммунной системы, реагирующим на вакцинацию против сибирской язвы, являются неспецифические факторы. Наибольшие значения фагоцитарной активности

регистрировали на 14 сутки после иммунизации с последующим снижением показателей. В дальнейшие сроки наблюдали нарастание количества Т- и В-лимфоцитов, наибольшее количество которых, регистрировали на 35 сутки. Титр специфических противосибирезвенных антител достигал минимального защитного уровня к 14 суткам после иммунизации, с достижением максимальных значений к 60 суткам. Значительное снижение исследуемых показателей напряженности иммунной системы регистрировали к 150-180 суткам после введения вакцины. Подтверждением снижения напряженности иммунитета послужило снижение к этому сроку превентивных свойств сывороток крови.

Установлена целесообразность ревакцинации взрослого поголовья крупного рогатого скота в Республике Татарстан против сибирской язвы непосредственно перед выгоном на пастбищный период, с оценкой эффективности вакцинации путем определения титра специфических антител в реакции непрямой гемагглютинации для выявления толерантных и ошибочно не иммунизированных животных. На основании проделанной работы рекомендуется в хозяйствах, где предусматривается выгон животных на пастбища, проводить две ревакцинации в год в зонах высокого риска возможного возникновения сибирской язвы.

Разработаны «Методические рекомендации по оценке эффективности иммунопрофилактики сибирской язвы у крупного рогатого скота реакцией непрямой гемагглютинации» утвержденные Главным управлением ветеринарии Кабинета Министров Республики Татарстан.

Теоретическая и практическая значимость. Результаты проведенных исследований характеризуют современное состояние РТ по проявлению заболеваемости сибирской язвой, наличию и состоянию на территории республики сибирезвенных скотомогильников, показывают степень неблагополучия и возможные риски возникновения заболевания в районах. Уточняют и дополняют сведения о поствакцинальном иммуногенезе у животных, иммунизированных против сибирской язвы, о развитии и дальнейшей динамике врожденной и адаптивной, клеточной и гуморальной звеньях иммунной системы в течение года. Предлагается проводить оценку иммунопрофилактики сибирской язвы в республике, используя «Набор определения титра антител в сыворотке крови животных, вакцинированных против сибирской язвы в реакции непрямой гемагглютинации (РНГА)» для выявления толерантных и, иммунизированных с нарушением введения вакцины животных. Возможность проведения серологического мониторинга существенно дополнит и повысит точность проведения эпизоотологического анализа ситуации по сибирской язве в республике. На основании проведенных исследований динамики противосибирезвенного иммуногенеза рекомендовано ревакцинировать животных в апреле, перед выгоном на пастбищное содержание. Кроме того, в хозяйствах, где предусматривается выгон животных на пастбища, рекомендуется проводить две ревакцинации в год в зонах высокого риска возможного возникновения сибирской язвы.

Полученные данные могут быть использованы при составлении специфических профилактических мероприятий и иммунологического контроля у животных против сибирской язвы в хозяйствах РТ, в учебном процессе для студентов по специальности «Ветеринария», написании учебных пособий и практических рекомендаций для практикующих ветеринарных врачей.

Методология и методы исследований. Работу выполняли в период с 2017 по 2020 гг. в отделе биологической безопасности ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности» и в хозяйствах Республики Татарстан. Использовали материалы протоколов ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» исследования сывороток крови КРС, поступивших из хозяйств РТ, материалы ветеринарной отчетности ГУВ КМ РТ, статистические данные Россельхознадзора, а также материалы публикаций по изучаемой проблеме.

В работе использовали методы ретроспективного эпизоотологического анализа, микробиологические, гематологические, иммунобиологические, серологические, иммунологические, статистические методы исследований.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Характеристика эпизоотической ситуации по сибирской язве в Республике Татарстан.

2. Применение препарата «Набор определения титра антител в сыворотке крови животных, вакцинированных против сибирской язвы в реакции непрямой гемагглютинации (РНГА)» при оценке эффективности иммунопрофилактики сибирской язвы крупного рогатого скота.

3. Изучение поствакцинального противосибиреязвенного иммуногенеза у лабораторных и сельскохозяйственных животных.

4. Проведение ревакцинации животных против сибирской язвы в апреле месяце с оценкой ее эффективности в реакции непрямой гемагглютинации.

5. Ревакцинация животных два раза в год, в хозяйствах, располагающихся в зонах высокого риска возможного возникновения сибирской язвы, где предусмотрено пастбищное содержание.

Степень достоверности и апробация результатов. Экспериментально полученный цифровой материал обработан методом вариационной статистики с применением пакета прикладных программ Microsoft Excel, а также корреляционно-регрессионного анализа с применением онлайн платформы Medstatistic.

Основные результаты диссертации представлены и изложены на ежегодных отчетах и научных сессиях за 2017-2020 гг. ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ»; Всероссийской научной конференции «Актуальные вопросы военной теории и практики, результаты исследований по важнейшим проблемам военной науки в области радиационной, химической и биологической безопасности» (Кострома, 2017); Уральском междисциплинарном научно-практическом Форуме «Уральская ветеринария и медицина» (Челябинск, 2017); Научно-практической конференции «Актуальные проблемы ветеринарной

медицины» (Казань, 2018); Молодежной научно-практической конференции «Инновационные решения проблемы развития АПК в РФ» (Казань, 2019); XXV Международной научно-практической конференции «Eurasiascience» (Москва, 2019).

Публикации результатов исследований. По материалам диссертационной работы опубликовано 15 научных работ, в том числе 6 статей, входящих в перечень журналов, рекомендованных ВАК РФ, 2 статьи, индексируемых в базе данных Scopus. По результатам исследований разработаны «Методические рекомендации по оценке эффективности иммунопрофилактики сибирской язвы у крупного рогатого скота реакцией непрямой гемагглютинации», утвержденные Главным управлением ветеринарии Кабинета Министров Республики Татарстан (протокол №5 от 10.09.2019 г.).

Личный вклад соискателя. Диссертационная работа выполнена автором самостоятельно. В ходе выполнения работы практическую и консультативную помощь оказывали к.б.н., в.н.с. Иванова С.В., к.в.н., в.н.с. Мельникова Л.А, за что выражаю им глубокую благодарность.

Структура и объем диссертации. Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов исследований, заключения, списка цитированной литературы и приложения. Работа изложена на 136 страницах компьютерного текста, содержит 6 таблиц и 36 рисунков. Список литературы включает 223 ссылки, в том числе 110 иностранных источников.

1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

В литературном обзоре дана общая характеристика возбудителя сибирской язвы – *Bacillus anthracis*. Представлены сведения о современном распространении инфекции в мире и Российской Федерации. Отдельные подразделы обзора посвящены иммунному ответу организма на внедрение возбудителя сибирской язвы и методам оценки напряженности иммунитета у вакцинированных животных.

2 СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Материалы и методы исследований

Работа выполнена в отделе биологической безопасности ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» в период с 2017 по 2020 гг.

Объектами исследований явились эпизоотическая ситуация по сибирской язве в Республике Татарстан на современном этапе и формирование поствакцинального противосибирезявенного иммунитета у лабораторных и сельскохозяйственных животных.

Необходимую базу данных, для решения задач, связанных с мониторингом активности СНП, определением территорий риска возникновения вспышек сибирской язвы, и оценки СЯС формировали за счет собственных наблюдений, материалов ветеринарной отчетности ГУВ КМ РТ, статистических данных

Россельхознадзора, материалов доступных публикаций по изучаемой проблеме, а также кадастра стационарно неблагополучных по сибирской язве пунктов Российской Федерации по Республике Татарстан.

Для ранжирования районов республики по степени риска возможных вспышек сибирской язвы нами проведена количественная оценка степени неблагополучия по методике Дугаржаповой З.Ф. (2017) в нашей модификации. В основу расчета положено ранжирование показателей (общего количества СЯС, количества неустановленных СЯС, индекса эпизоотичности и плотности СНП на 1000 км²) и их суммарное отражение. На основании примененной методики произведено территориальное районирование с дифференциацией на группы рисков по сумме рангов: 1 группа – низкий риск (сумма рангов 3-5), 2 группа – средний риск (сумма рангов 5-8), 3 группа – высокий риск (сумма рангов 9 и более). Для изучения эффективности иммунопрофилактики КРС в районах РТ базу исходных данных формировали за счет материалов протоколов ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» исследования 7716 проб сывороток крови КРС, поступивших из хозяйств РТ.

С целью определения титра специфических противосибиреязвенных антител пробы сывороток крови исследовали в реакции непрямой гемагглютинации, применяя «Набор определения антител в сыворотке крови животных, вакцинированных против сибирской язвы, в реакции непрямой гемагглютинации (РНГА)», выпускаемый ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ». Постановку реакции проводили согласно инструкции.

При изучении динамики поствакцинального иммуногенеза против сибирской язвы у лабораторных животных было сформировано 3 группы кроликов: 2 опытные и 1 контрольная по 5 голов в каждой. 1 группу кроликов вакцинировали против сибирской язвы 1 раз в год, 2 группу 2 раза. Контрольная группа вакцинации не подвергалась.

Для иммунизации животным вводили 22±2 млн живых спор вакцинного штамма *V. anthracis* 55-ВНИИВВиМ в 1 см³ подкожно в область внутренней поверхности бедра.

Для проведения опыта на сельскохозяйственных животных было отобрано 60 голов КРС одной половозрастной группы, принадлежащих хозяйствам РТ.

Динамику поствакцинального иммуногенеза исследовали путем изучения титра специфических антител, популяций Т- и В-лимфоцитов и показателей естественной резистентности через 7, 14, 21, 35, 60, 90, 120, 150, 180, 210, 240, 270, 300 и 360 суток после иммунизации.

Изучение динамики превентивных свойств сыворотки крови крупного рогатого скота проводили по методу Бургасова П.Н. и Рожкова Г.И. (1972).

Статистическую обработку результатов исследований проводили, используя программу Microsoft Excel и онлайн платформу Medstatistic.

2.2 Результаты исследований и их обсуждение

2.2.1 Характеристика эпизоотической ситуации по сибирской язве в Республике Татарстан

2.2.1.1 Распространенность сибиреязвенных скотомогильников в Республике Татарстан

Установлено, что Республика Татарстан, насчитывает на своей территории 1065 СЯС, из которых у 808 определены географические координаты. Общая площадь установленных СЯС на территории республики достигает 118 625,4 м², что, при учете санитарно-защитных зон, исключает возможность использования более 4% ее территории. Кроме того, в республике насчитывается 772 биотермические ямы общей площадью 402 711,7 м², которые также представляют опасность.

В среднем на каждый район республики приходится 24,8 СЯС и 17,9 биотермических ям. При этом 28 районов (65,1%) имеют на своей территории скотомогильники с неустановленными местами захоронения.

Наличие неучтенных сибиреязвенных захоронений представляет реальную угрозу заражения сельскохозяйственных и диких животных, являясь потенциальным источником риска возникновения заболевания в любом муниципальном районе республики.

2.2.1.2 Анализ активности стационарно неблагополучных пунктов по сибирской язве в Республике Татарстан на современном этапе

Установлено, что активность по сибирской язве в РТ в период с 2001 по 2020 гг. проявили 8 СНП, из них 5 «старых» СНП и 3 «новых». Количество СНП, проявивших активность в республике, составляет 30,8% от проявивших себя СНП в Приволжском федеральном округе, и 5,9% от всех активных СНП в РФ за исследованный период.

В структуре заболеваемости сельскохозяйственных животных превалирует КРС - 80%, что делает данный вид основным фактором, определяющим риск заражения людей. Общая плотность СНП в РТ на 1000 км² составила 17,8 СНП, что на 30,9% больше чем в среднем по ПФО (12,3 СНП), который является лидером РФ по числу СНП. Удельный вес СНП в РТ достигает на сегодняшний день 38,8%, при среднем показателе по РФ 24,1%, то есть более трети населенных пунктов РТ являются стационарно неблагополучными по сибирской язве.

С целью районирования территории РТ по степени неблагополучия сибирской язвы была рассчитана плотность СНП на 1000 км² для каждого района республики. С учетом данного показателя выявлено, что 31 район республики (72,1%) находится в зоне крайне высокой и высокой плотности СНП.

2.2.1.3 Дифференциация территории Республики Татарстан по степени риска возможного возникновения вспышек сибирской язвы

Для ранжирования районов республики по степени риска возможных вспышек сибирской язвы нами проведена количественная оценка степени неблагополучия по методике Дугаржаповой З.Ф. (2017) в нашей модификации. В основу расчета положено ранжирование показателей (общего количества СЯС, количества неустановленных СЯС, индекса эпизоотичности и плотности СНП на 1000 км²) и их суммарное отражение. На основании примененной методики произведено территориальное районирование с дифференциацией на группы рисков по сумме рангов: 1 группа – низкий риск (сумма рангов 3-5), 2 группа – средний риск (сумма рангов 5-8), 3 группа – высокий риск (сумма рангов 9 и более) (рисунок 1).

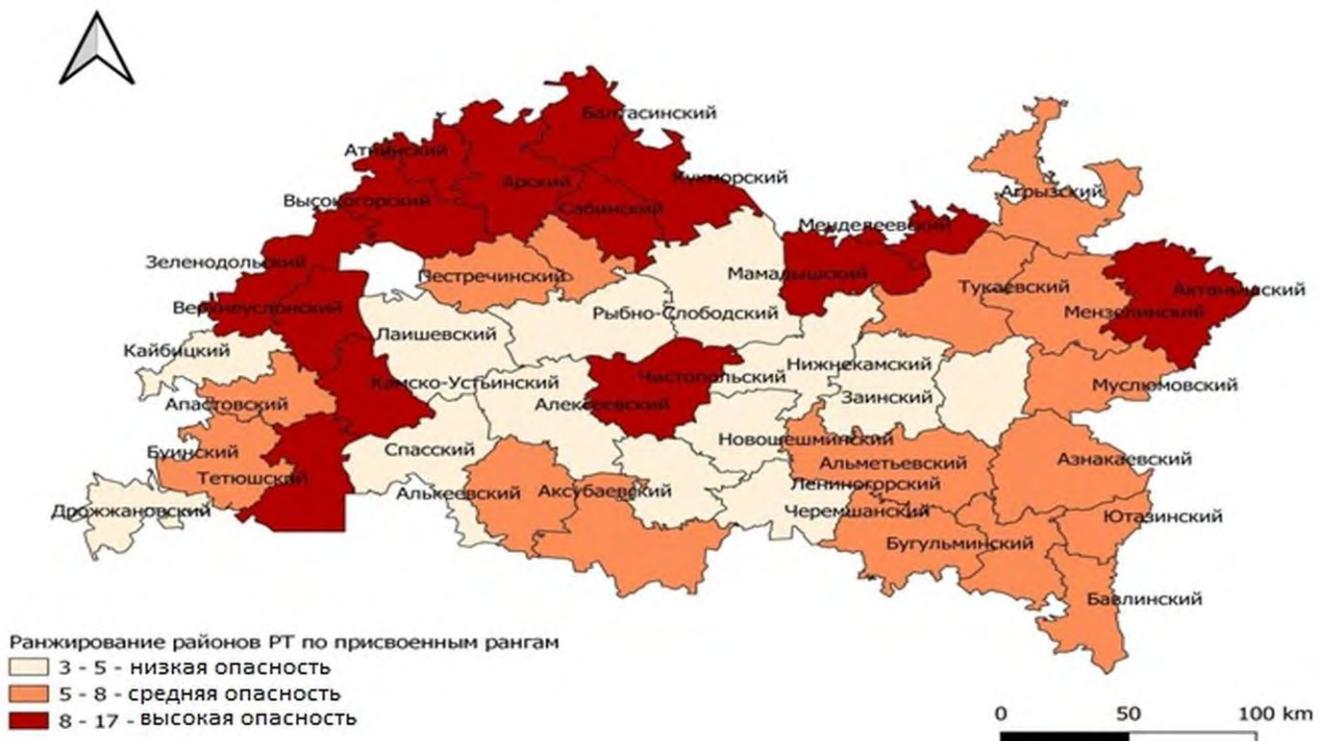


Рисунок 1 Ранжирование районов РТ по степени риска возможных вспышек сибирской язвы.

Из рисунка 1 видно, что 30 (69,8%) районов республики имеют на своей территории от среднего до высокого риска возможного возникновения вспышек сибирской язвы. Тринадцать районов республики (30,2%) относятся к группе с низким риском.

Таким образом, проведенная комплексная оценка эпизоотической ситуации по сибирской язве в РТ позволяет констатировать, что территория республики является эндемичной по данному заболеванию. На сегодняшний день, несмотря на проводимую специфическую профилактику, спорадические случаи заболевания животных сибирской язвой в РТ регистрируются чаще других регионов РФ и регулярно в различных районах. Кроме того, отмечено, что за

исследованный временной период в республике отмечалась активность ранее благополучных пунктов. Это показывает неустойчивую обстановку по сибирской язве и диктует необходимость проведения комплексных профилактических мероприятий, направленных на снижение рисков инфицирования животных и населения.

2.2.2 Оценка эффективности иммунопрофилактики крупного рогатого скота, вакцинированного против сибирской язвы в Республике Татарстан

Проведенная оценка эффективности иммунопрофилактики сибирской язвы у крупного рогатого скота показала, что в 2016 году 83,7% животных имели высокий титр антител, а, следовательно, и напряженный противосибиреязвенный иммунитет, тогда как в 2017 году этот показатель был равен 84,5%, при этом 1,5% животных дали отрицательный результат. Этот процент животных является потенциальной угрозой для возможного заражения и распространения возбудителя сибирской язвы, и, как следствие создания новых почвенных очагов данной инфекции.

В случаях, когда регистрировали отрицательные результаты серологического исследования в РНГА, проводили повторный отбор проб сывороток крови от отрицательно реагирующих, так как в числе этих животных могли быть толерантные (не восприимчивые) и ошибочно не привитые. Данных животных иммунизировали повторно и исследовали через 14-30 суток. Животных, в сыворотках крови которых, после повторной вакцинации регистрировали минимальный защитный титр антител, считали ошибочно не привитыми. В случае получения повторного отрицательного результата животных признавали толерантными. Данные животные подлежали выбраковке.

Кроме того, выявлено, что величина титров специфических антител зависела от сроков взятия крови после проведенной вакцинации. У животных, исследованных через 3-4 месяца после вакцинации, специфические титры антител были выше, чем у животных, исследованных через 5-6 месяцев, у которых напряженность иммунитета, по титру антител, снижалась к этому времени более чем в три раза.

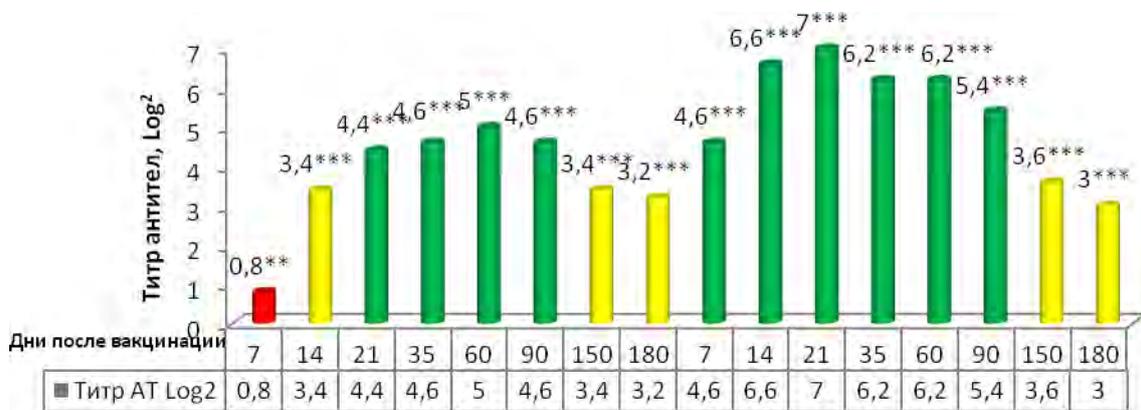
Полученные результаты диктуют необходимость более глубокого изучения поствакцинального противосибиреязвенного иммуногенеза в течение всего срока специфической защиты животных.

2.2.3 Изучение поствакцинального иммуногенеза против сибирской язвы у лабораторных животных

2.2.3.1 Изучение динамики титра специфических антител

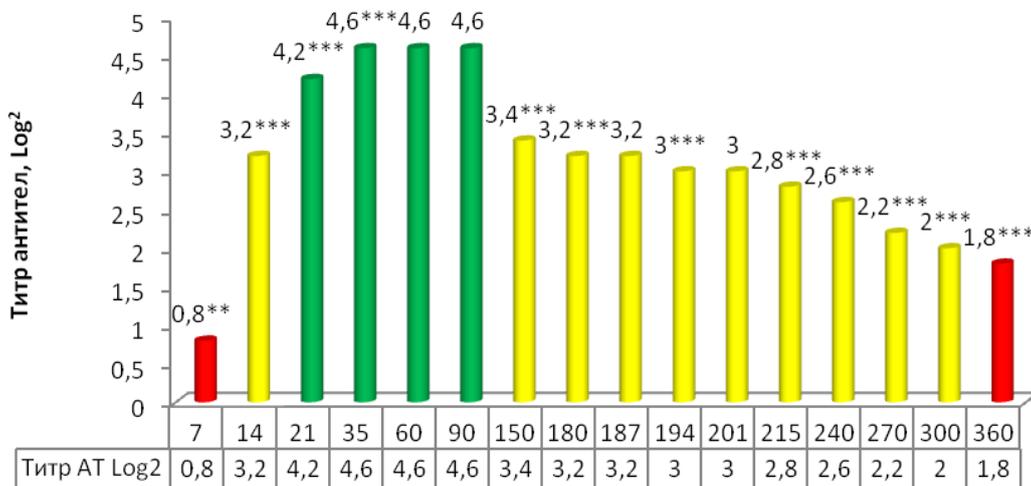
При изучении динамики титра специфических антител у лабораторных животных выявлено увеличение титра специфических антител после вакцинации до 60 суток, и последующем снижением через 200 суток до пограничного уровня. Ревакцинация животных через 6 месяцев обеспечила большую длительность и процент защиты в течение срока исследования

(рисунок 2). Однократная ревакцинация обеспечивала иммунизированных животных высоким титром специфических антител к возбудителю сибирской язвы в течение 6 месяцев с последующим снижением показателей. К 360 суткам регистрировали значительное понижение титров антител ниже уровня, защищающего от заражения возбудителем (рисунок 3).



* $p \leq 0,05$ ** $p \leq 0,01$ *** $p \leq 0,001$

Рисунок 2 Динамика титра специфических антител против сибирской язвы в 1 группе кроликов, ревакцинированных двукратно с интервалом 6 месяцев.



* $p \leq 0,05$ ** $p \leq 0,01$ *** $p \leq 0,001$

Рисунок 3 Динамика титра специфических антител у кроликов с момента введения вакцины с прослеживанием ее в течение 12 месяцев.

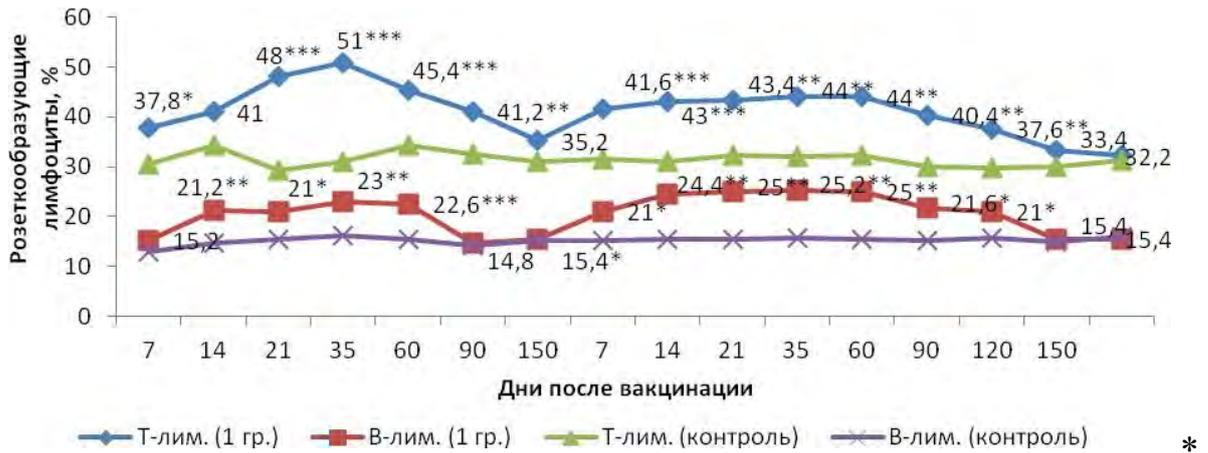
2.2.3.2 Исследование динамики Т- и В-лимфоцитов в крови

лабораторных животных, вакцинированных против сибирской язвы

Исследования динамики количественного содержания Т- и В-лимфоцитов в крови лабораторных животных после вакцинации против сибирской язвы показали, что вакцинация животных спорами вакцинного штамма 55-ВНИИВВиМ вызывает иммунологический ответ Т- и В-лимфоцитов, заключающийся в пролиферации данных популяций клеток в ответ на вызываемое антигенное

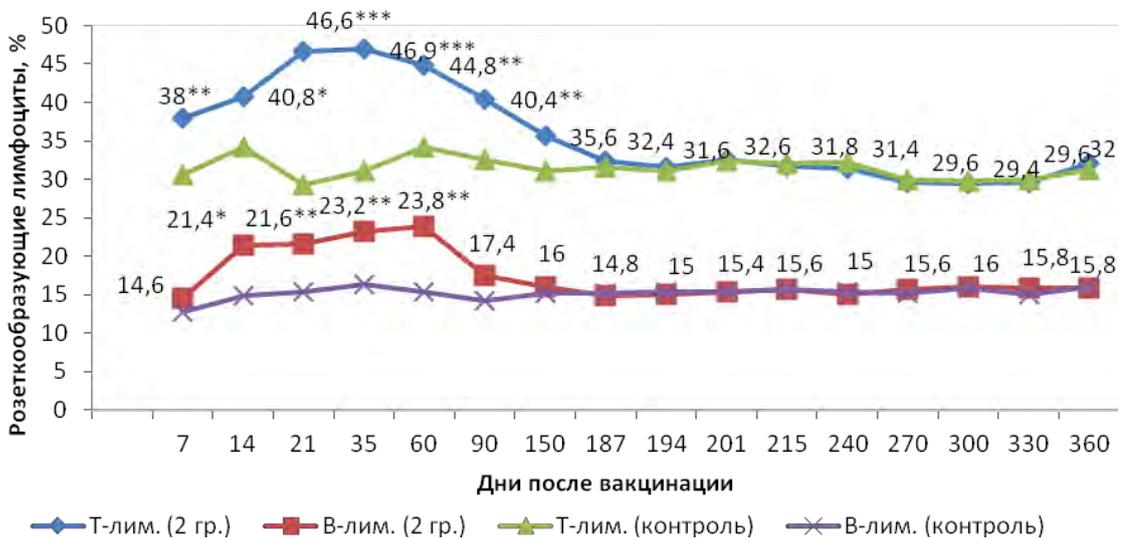
раздражение. Наибольшее количество исследуемых клеток регистрировали в период с 35 по 60 сутки, после чего происходило постепенное их снижение к 180 суткам до уровня, определяемого у контрольной группы животных. При этом, в 1 группе кроликов, повторно ревакцинированных через 6 месяцев, наблюдали аналогичное увеличение процента как Т-, так и В-клеток (рисунок 4).

Во 2 группе животных, ревакцинированных один раз в год, в период, начиная со 187 и по 360 сутки регистрировали результаты сопоставимые с контрольной группой (рисунок 5).



$p \leq 0,05$ ** $p \leq 0,01$ *** $p \leq 0,001$

Рисунок 4 Динамика популяций лимфоцитов у кроликов, ревакцинированных двукратно с интервалом шесть месяцев.



* $p \leq 0,05$ ** $p \leq 0,01$ *** $p \leq 0,001$

Рисунок 5 Динамика популяций лимфоцитов в крови кроликов с момента введения вакцины и прослеживанием ее в течение 12 месяцев.

2.2.3.3 Исследование динамики естественной резистентности лабораторных животных, вакцинированных против сибирской язвы

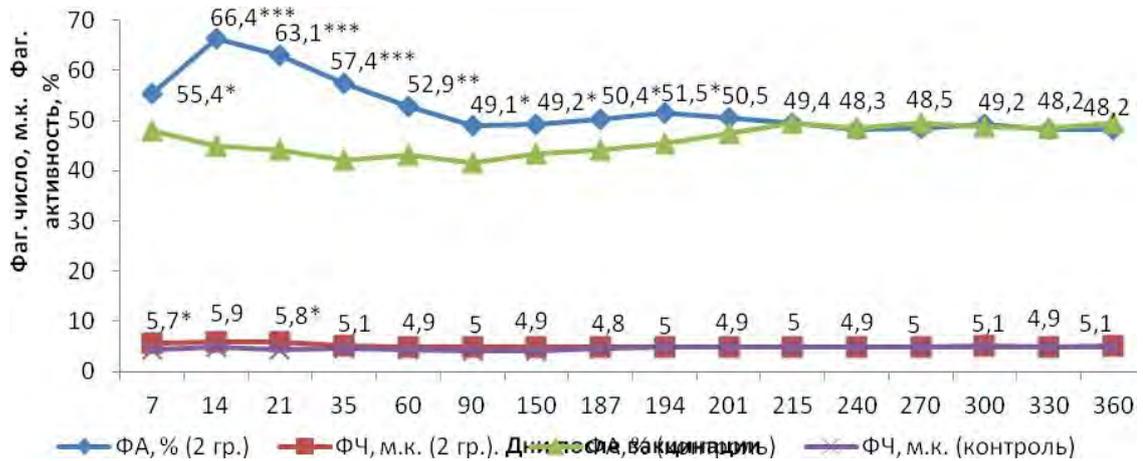
Исследуя динамику показателей естественной резистентности организма лабораторных животных, вакцинированных против сибирской язвы, наблюдали увеличение значений фагоцитарной активности и фагоцитарного числа лейкоцитов, которые достигали своих максимальных значений к 14 суткам после иммунизации, что свидетельствует об активации факторов естественной резистентности организма животных. Высокие значения исследуемых показателей, в сравнении с контрольной группой животных, отмечали до 150 суток после введения вакцины. В дальнейшие сроки исследования показатели опускались до значений, тождественных контрольной группе. Повторная вакцинация животных 1 группы через 180 суток показала аналогичную динамику активности лейкоцитов: максимальные значения регистрировали на 14-21 сутки после введения вакцины со снижением показателей к 150-180 суткам (рисунок 6).



* $p \leq 0,05$ ** $p \leq 0,01$ *** $p \leq 0,001$

Рисунок 6 Динамика показателей естественной резистентности организма лабораторных животных 1 группы, ревакцинированных против сибирской язвы двукратно с интервалом 6 месяцев.

Понижение исследуемых значений до уровня контрольной группы свидетельствует, по нашему мнению, об элиминации введенного антигена и, вследствие этого, прекращения его презентации клеткам адаптивного иммунитета (рисунок 7).



* $p \leq 0,05$ ** $p \leq 0,01$ *** $p \leq 0,001$

Рисунок 7 Динамика показателей естественной резистентности кроликов, вакцинированных против сибирской язвы с прослеживанием ее в течение 12 месяцев.

2.2.4 Изучение поствакцинального иммуногенеза против сибирской язвы у крупного рогатого скота

2.2.4.1 Исследование динамики титра противосибиреязвенных антител в сыворотке крови КРС при 1- и 2-кратной вакцинации

Данные, полученные при исследовании показали, что при одно- и двукратной ревакцинации прослеживается нарастание титра антител с момента введения вакцины до 21 суток и держится на высоком уровне с незначительным колебанием в течение 3 месяцев. Снижение титра антител регистрировали к 180 суткам. Следует отметить, что через 180 суток у 18%, а через 360 у 60% животных титр антител был в пределах защитного (рисунок 8).



Рисунок 8 Динамика титра антител сыворотки крови крупного рогатого скота, при однократной иммунизации.

При второй схеме, после повторного введения вакцины через 6 месяцев, наблюдали аналогичное увеличение титра антител (рисунок 9).



Рисунок 9 Динамика титра антител сыворотки крови крупного рогатого скота, при двукратной ревакцинации.

Полученные, в результате эксперимента данные, показывают, что вакцинация животных против сибирской язвы позволяет выработать напряженный иммунитет к данному заболеванию. Однако спустя 180 суток регистрируется значительное снижение показателей титров антител, у 18 % животных до пограничных значений.

2.2.4.2 Исследование динамики Т- и В-лимфоцитов в крови КРС, вакцинированного против сибирской язвы

Анализ полученных результатов показал, что после вакцинации наблюдали нарастание количества исследуемых клеток, а, следовательно, и напряженности клеточного звена адаптивного иммунитета. Наибольшее количество лимфоцитов определяли в период с 35 по 60 сутки, которое постепенно снижалось, и к 180 дню достигало своих минимальных значений, что свидетельствует о снижении уровня специфической невосприимчивости организма (рисунок 10).



Рисунок 10 Динамика популяционного состава лимфоцитов в крови КРС при однократной вакцинации против сибирской язвы.

После повторной иммунизации (рисунок 11), следующей за пастбищным периодом, у опытных животных наблюдали нарастание количества

исследуемых клеток, однако к 180 суткам, после ревакцинации, количество клеток значительно снижалось.

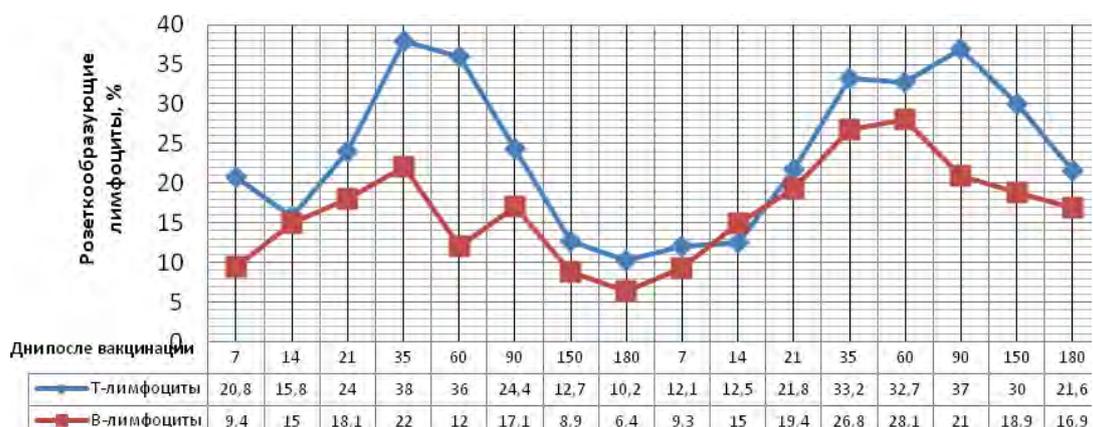


Рисунок 11 Динамика популяционного состава лимфоцитов в крови КРС при двукратной вакцинации против сибирской язвы.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что иммунизация приводит к увеличению количественного содержания лимфоидных клеток, тем самым, способствуя повышению резистентности организма. Увеличение количества лимфоцитов, участвующих в обезвреживании токсина, измененных возбудителем клеток организма, а также иммунологической памяти, дает основание говорить об усилении напряженности иммунитета животных против сибирской язвы. Наибольшее количество Т- и В-лимфоцитов в крови вакцинированных животных наблюдалось на 30 день после иммунизации и поддерживалось на одном уровне в течение двух месяцев. Спустя 3 месяца происходило постепенное снижение количества клеток и к 180 суткам они доходили до минимальных значений, что свидетельствует о снижении напряженности иммунитета.

2.2.4.3 Исследование показателей естественной резистентности КРС вакцинированного против сибирской язвы

Анализ полученных данных по изучению естественной резистентности животных, ревакцинированных против сибирской язвы однократно в течение года показал, что повышение исследуемых значений достигало максимума к 21 суткам и составляло - $57,3 \pm 0,9\%$ фагоцитарной активности и $7,0 \pm 0,5$ м.к. фагоцитарного числа, что характеризует усиление активности факторов клеточного звена врожденного иммунитета. В последующие сроки регистрировали постепенное снижение значений, которые достигали своего исходного уровня к 150-180 суткам после проведенной вакцинации (рисунок 12). При ревакцинации животных через 6 месяцев наблюдалось повторное повышение исследуемых показателей (рисунок 13).

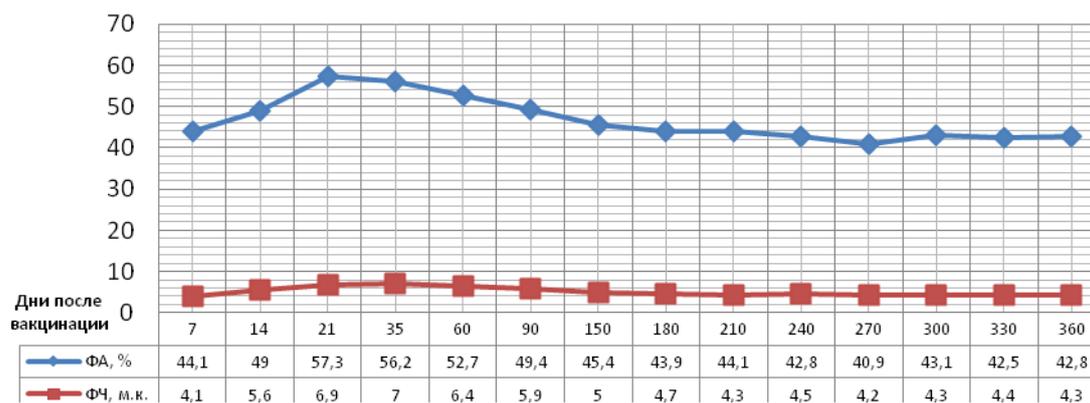


Рисунок 12 Динамика показателей естественной резистентности организма взрослого поголовья КРС ревакцинированного против сибирской язвы один раз в год.

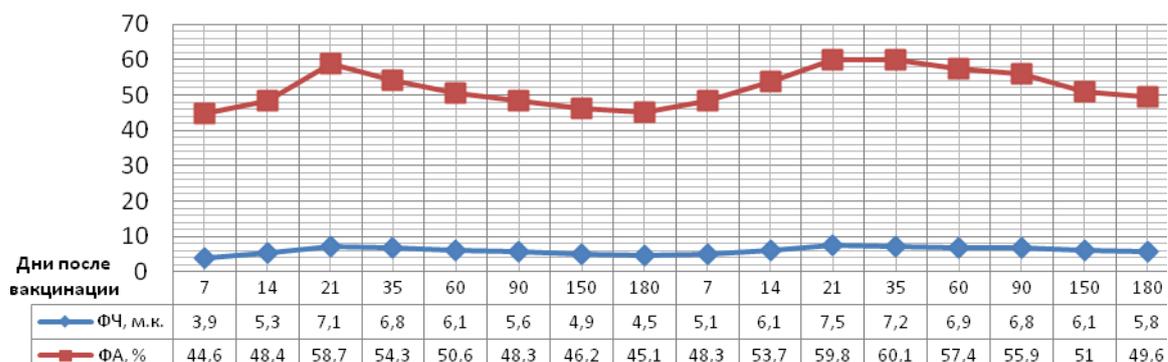


Рисунок 13 Динамика показателей естественной резистентности организма взрослого поголовья КРС ревакцинированного против сибирской язвы двукратно с интервалом шесть месяцев.

Полученные результаты исследований показывают, что в противосибирезвенном иммуногенезе, индуцированном вакцинацией, наибольшая фагоцитарная активность лейкоцитов наблюдается на ранних стадиях развития процесса. Повышение фагоцитарной активности и фагоцитарного числа свидетельствуют о вовлечении в процесс факторов естественной резистентности организма. Снижение количества активных фагоцитов к 120 суткам после вакцинации может быть связано с полной элиминацией введенного вакцинного штамма из организма к этому времени.

2.2.4.4 Исследование превентивных свойств сыворотки крови КРС вакцинированного против сибирской язвы

Исследованиями установлено - сыворотки крови вакцинированного против сибирской язвы взрослого поголовья КРС обладают защитными свойствами. Их

превентивная активность зависела от срока, прошедшего после ревакцинации животных, титра специфических антител и дозы вводимых сывороток. Результаты исследований представлены на рисунке 14:

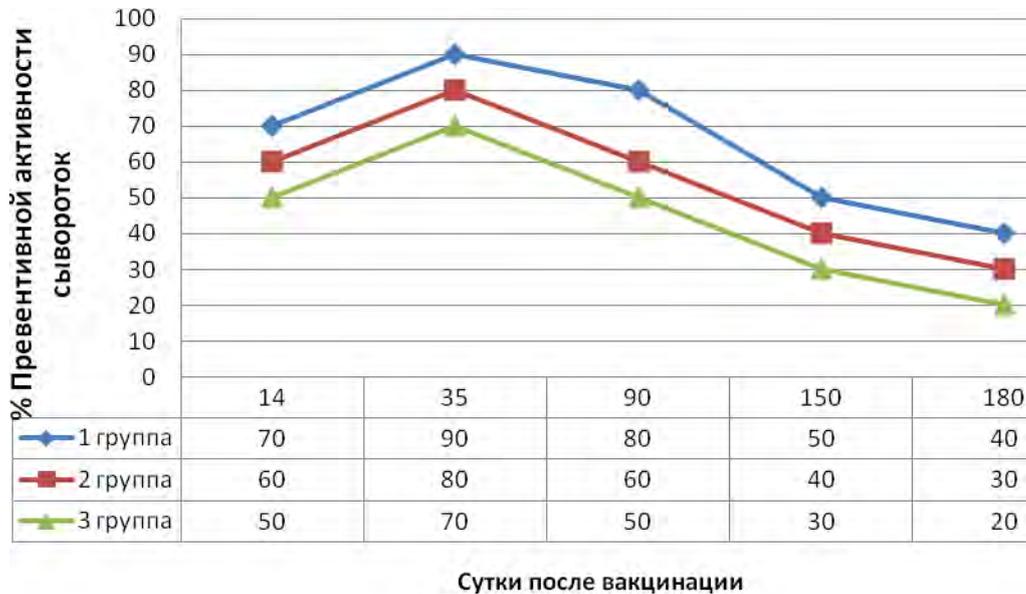


Рисунок 14 Динамика превентивных свойств сыворотки крови взрослого поголовья крупного рогатого скота, вакцинированного против сибирской язвы.

Приведенные выше данные свидетельствуют, что противосибирезвенные антитела в сыворотках крови, образовавшиеся после вакцинации, способствуют приобретению защиты восприимчивых животных от заражения летальными дозами возбудителя сибирской язвы. Наибольший процент защиты наблюдается на 35 сутки после иммунизации, который коррелирует с уровнем максимальных титров поствакцинальных антител в сыворотках крови КРС. Показатель превентивной активности сывороток, к 180 суткам, при введении 0,5 и 0,1 см³ составлял 40% и 30% соответственно, при введении 0,02 см³ – 20%.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных исследований дана оценка эпизоотической ситуации по сибирской язве в Республике Татарстан на современном этапе, выявлены территории риска возможных вспышек инфекции. Испытание диагностического средства «Набор определения титра антител в сыворотке крови животных, вакцинированных против сибирской язвы в реакции непрямой гемагглютинации (РНГА)» в широких мониторинговых исследованиях показало его эффективность и практическую значимость при выявлении толерантных и непривитых животных. В результате изучения динамики противосибирезвенного иммунитета установлено, что иммунизация вызывает в организме ответ со стороны как клеточного, так и гуморального звеньев иммунной системы. После введения вакцины минимальные защитные показатели регистрируются на 14 сутки, с последующим ростом значений до 60 – 90 суток. По истечении 3 месяцев после вакцинации наблюдается

постепенное снижение исследованных показателей, которые, к 180-200 суткам опускаются до пограничных значений и держатся на таком уровне до 300 суток.

Полученные результаты позволяют сформулировать следующие выводы:

1. Республика Татарстан является эндемичной по сибирской язве. На каждый район республики приходится по 24,8 сибиреязвенных скотомогильников, число которых напрямую связано с количеством вспышек инфекции (r_{xy} Пирсона=0,847). Тридцать один район республики (72,1%) имеют высокую степень фактического неблагополучия по сибирской язве. Тридцать районов (69,8%) подвержены серьезным рискам возможного возникновения вспышек инфекции.

2. Испытания «Набора определения титра антител в сыворотке крови животных, вакцинированных против сибирской язвы в реакции непрямой гемагглютинации (РНГА)» в широких мониторинговых исследованиях эффективности иммунопрофилактики показали его эффективность и позволили выявлять толерантных и пропущенных при вакцинации животных. В процессе работы было установлено, что, несмотря на проводимую иммунопрофилактику сельскохозяйственных животных против сибирской язвы у 15,5 – 16,3% из них наблюдается отсутствие необходимого титра специфических антител, что ведет к необходимости проведения регулярной оценки специфической профилактики.

3. Вакцинация животных против сибирской язвы вызывает иммунологический ответ их организмов, который представляет собой общую закономерность: первым звеном иммунной системы, реагирующим на вакцинацию против сибирской язвы, являются неспецифические факторы, значения которых начинают активно возрастать уже с 7 суток после введения вакцины и достигают пика на 14 сутки с последующим снижением показателей. Вслед за факторами неспецифической резистентности возрастают значения гуморального звена адаптивного иммунитета. Минимальный защитный титр антител регистрируется спустя 14 суток с момента введения вакцины и достигает максимума к 60 суткам. По истечении 90 суток наблюдается постепенное снижение показателей, которые к 200 суткам достигают пограничных значений и поддерживаются на данном уровне до 300 суток. Количество лимфоидных клеток достигает своего максимума к 35 суткам. К 150-190 суткам регистрируется их спад до значений равных контрольным группам животных.

ПРЕДЛОЖЕНИЯ ПРОИЗВОДСТВУ

Практические предложения вошли в «Методические рекомендации по оценке эффективности иммунопрофилактики сибирской язвы у крупного рогатого скота реакцией непрямой гемагглютинации», утвержденные Главным управлением ветеринарии Кабинета Министров Республики Татарстан (2019 г.).

1. С целью повышения эффективности противоэпизоотических противосибиреязвенных мероприятий внедрить в работу ветеринарной службы на региональном уровне рекомендации по системе эпизоотологического

мониторинга, основанного на комплексной оценке степени неблагополучия территории по сибирской язве, и ее районирования.

2. Проводить оценку эффективности иммунопрофилактики сибирской язвы у крупного рогатого скота реакцией непрямой гемагглютинации согласно разработанным методическим рекомендациям, утвержденным Главным управлением ветеринарии Кабинета Министров Республики Татарстан (Казань, 2019).

3. Результаты проводимой оценки эффективности иммунопрофилактики использовать при анализе эпизоотологической ситуации по сибирской язве в республике.

4. По результатам диссертационной работы рекомендовать проведение вакцинации крупного рогатого скота непосредственно перед выгоном на пастбищное содержание, когда вероятность заразиться сибирской язвой наиболее высока. Ревакцинация животных в апреле месяце позволит своевременно повысить напряженность иммунитета и сохранить его на высоких значениях до загона на стойловый период.

5. В связи с особой ситуацией по сибирской язве, заключающейся в большом количестве неустановленных СЯС, а также высокой плотности и активности СНП, в зонах высокого риска возможного возникновения вспышек сибирской язвы рекомендовано вакцинировать взрослое поголовье сельскохозяйственных животных, подверженных выпасному содержанию, дважды в год с интервалом 6 месяцев: весной и осенью.

Перспективы дальнейшей разработки темы

Дальнейшие исследования будут направлены на совершенствование методов эпизоотологического мониторинга сибирской язвы, заключающихся в создании геоинформационной системы, которая позволит статистически обрабатывать имеющийся объем информации и отображать его пространственно. В рамках серологического мониторинга напряженности противосибиреязвенного иммунитета будут разрабатываться диагностические препараты, на основе наиболее активных антигенах возбудителя, таких как протективный антиген и летальный фактор. Иммунологические исследования будут направлены на изучение вклада субпопуляций Т- и В-лимфоцитов и иммуноглобулинов различных классов в развитие противосибиреязвенного иммунитета.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

Публикации в научных изданиях, входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования

1. Analysis of the epizootic situation and improvement of the scheme for the specific prevention of anthrax / S.V. Ivanova, L.A. Melnikova, **A.P. Rodionov**, Kh.N. Makaev, G.M. Safina, G.Kh. Murtazina, D.P. Rodionov, S.Yu. Smolentsev //

International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences. 2020. № 11(1). P. 949-952.

2. The population dynamics of T- and B-lymphocytes in blood of the cattle vaccinated against anthrax / **A.P. Rodionov**, L.A. Melnicova, H.N. Makaev, E.V. Pankova, S.V. Ivanova, A.K. Galiullin, S.Y. Smolentsev // International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences. 2019. №10(4). P. 2628-2631.

*Публикации в изданиях, рекомендованных ВАК
Министерства науки и высшего образования РФ*

3 Родионов А.П. Изучение иммунологического статуса поголовья крупного рогатого скота вакцинированного против сибирской язвы // Ветеринарный врач. 2018. № 6. С. 30-35.

4. Получение эритроцитарного сибиреязвенного антигена / С.В. Иванова, Л.А. Мельникова, Х.Н. Макаев, **А.П. Родионов** // Ветеринарный врач. 2019. №2. С. 22-25.

5. Применение эритроцитарного диагностикума для оценки эффективности иммунопрофилактики сибирской язвы у крупного рогатого скота / С.В. Иванова, Л.А. Мельникова, **А.П. Родионов**, Х.Н. Макаев // Ветеринария. 2019. №11. С. 25-29.

6. Характеристика эпизоотической ситуации по сибирской язве в Республике Татарстан / **А.П. Родионов**, С.В. Иванова, Л.А. Мельникова, Х.Н. Макаев, А.Г. Хисамутдинов, А.С. Козлов // Ветеринария. 2020. №3. С. 8-11.

7. **Родионов А.П.**, Иванова С.В., Мельникова Л.А. Динамика функциональной активности фагоцитарных клеток животных, вакцинированных против сибирской язвы // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. 2020. №4. С. 53-56.

8. Иванова С.В., **Родионов А.П.**, Мельникова Л.А. Мониторинг факторов потенциальной опасности возникновения вспышек сибирской язвы // Иппология и ветеринария. 2021. №1. С. 93-100.

Публикации в других изданиях

9. Получение глобулинов из сибиреязвенной гипериммунной сыворотки / С.В. Иванова, Л.А. Мельникова, И.И. Задорина, **А.П. Родионов** // Актуальные вопросы ветеринарной медицины: Материалы международной научно-практической конференции. Казань, 2018. С. 226-228.

10. Оценка превентивных свойств сывороток крови крупного рогатого скота, отобранных в разные сроки после вакцинации против сибирской язвы / С.В. Иванова, Л.А. Мельникова, **А.П. Родионов**, Х.Н. Макаев // Ветеринарный врач. 2019. №6. С. 32-37.

11. Иванова С.В., Мельникова Л.А., **Родионов А.П.** Схема специфической профилактики сибирской язвы в Республике Татарстан с учетом эпизоотической ситуации // EurasiaScience: Материалы международной научно-практической конференции. Москва, 2019. С. 18-19.

12. Контроль иммунопрофилактики у животных, вакцинированных против сибирской язвы / Х.Н. Макаев, С.В. Иванова, Л.А. Мельникова, **А.П. Родионов** // Уральская ветеринария и медицина: Материалы форума. Челябинск, 2017. С. 39-40.
13. Тест-система для контроля эффективности вакцинопрофилактики сибирской язвы у сельскохозяйственных животных / Х.Н. Макаев, С.В. Иванова, Л.А. Мельникова, **А.П. Родионов** // Актуальные вопросы военной теории и практики, результаты исследований по важнейшим проблемам военной науки в области радиационной, химической и биологической безопасности: Материалы научной конференции. Кострома, 2017. С. 136-138.
14. Оценка риска возможного возникновения вспышек сибирской язвы в Республике Татарстан / Х.Н. Макаев, С.В. Иванова, Л.А. Мельникова, Г.Х. Муртазина, А.Р. Гараев, **А.П. Родионов** // Казанский медицинский журнал. 2020. №6. С. 883-889.

Учебно-методические пособия:

15. Методические рекомендации по оценке эффективности иммунопрофилактики сибирской язвы у крупного рогатого скота реакцией непрямой гемагглютинации / С.В. Иванова, А.Г. Хисамутдинов, Х.Н. Макаев, Л.А. Мельникова, **А.П. Родионов**, Г.Х. Муртазина, А.С. Козлов. Казань: Альянс, 2019. 17 с.