

На правах рукописи

Парошин Антон Валерьевич

**Эпизоотологический мониторинг и комплекс мер по борьбе
с бешенством на территории Московской области**

4.2.3 - «Инфекционные болезни и иммунология животных»

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата ветеринарных наук

Владимир – 2021

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном учреждении «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»).

Научный руководитель	доктор ветеринарных наук Метлин Артем Евгеньевич
Официальные оппоненты:	Пашкина Юлия Викторовна доктор ветеринарных наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Нижегородская государственная сельскохозяйственная академия», заведующий кафедрой «Эпизоотология, паразитология и ветеринарно-санитарная экспертиза»; Ефимова Марина Анатольевна доктор биологических наук, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана», профессор кафедры эпизоотологии и паразитологии
Ведущая организация	ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности» (ФГБНУ ВНИТИБП), г. Щелково, Московской обл.

Защита состоится _____ 2021г. в ____ часов на заседании диссертационного совета 36.1.002.01 при ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»), г. Владимир, мкр. Юрьевец.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке ФГБУ «ВНИИЗЖ» (г. Владимир). Полные тексты диссертации, автореферата и отзыв научного руководителя размещены на официальном сайте ФГБУ «ВНИИЗЖ» www.arriah.ru

Автореферат разослан _____ 2021 г.

Ученый секретарь диссертационного совета, кандидат биологических наук

Жбанова
Татьяна Валентиновна

1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Бешенство – вирусная болезнь животных и человека, характеризующаяся признаками полиэнцефалита, заканчивающаяся практически всегда летально. Бешенство является особо опасным зоонозом. По решению Всемирной организации здравоохранения животных (МЭБ) это заболевание подлежит обязательной нотификации.

Источником возбудителя инфекции являются больные животные и вирусоносители. Характерной особенностью бешенства в Европе со второй половины XX века является то, что основным резервуаром инфекции стала красная лисица (Макаров В.В., 2004).

На территории Российской Федерации с конца 90-х годов отмечается сложная эпизоотическая ситуация по бешенству, связанная с увеличением числа случаев заболевания среди диких животных. К наиболее неблагоприятным по бешенству регионам в европейской части России относится Центральный федеральный округ, куда входит Московская область.

Реализация противоэпизоотических мероприятий по бешенству – комплексная задача многих министерств и ведомств. Для повышения эффективности противоэпизоотических мероприятий по бешенству необходим мониторинг эпизоотической ситуации по данному заболеванию на территории Московской области, включая сопредельные территории. Кроме этого, требуется научное обоснование подходов к оральной вакцинации диких плотоядных с учетом местных особенностей, изучению привлекательности новых видов приманок, а также изучению перспективных методов диагностики бешенства и оценки поедаемости оральных антирабических вакцин. Проблема безнадзорных животных имеет большое социально-экономическое значение, способствует распространению бешенства. Эффективность мероприятий по вопросам регулирования численности безнадзорных животных постоянно находится на контроле у ветеринарных специалистов, и является предметом внимания государственных органов.

Степень разработанности проблемы. Эпизоотологический мониторинг по бешенству, проводимый на территории различных субъектов РФ, изучался многими учеными: Макаровым В.В. (2002), Ивановым В.С. (2010), Черновым А.Н. (2013) и многими другими. Применительно к московскому региону характеристика расположения неблагоприятных пунктов и очагов, пространственно-временные особенности развития эпизоотий бешенства свидетельствуют о том, что данная болезнь не соблюдает административных границ. В связи с этим целью исследований в данной работе было углубленное изучение эпизоотического процесса бешенства в Московской области, с учетом неблагоприятия в сопредельных областях.

Выявление антигена вируса бешенства в лабораториях проводится различными методами и представлено в работах Груздева К.Н. (2005), Хисматуллиной Н.А. (2014).

Оральная вакцинация безальтернативна и является основным способом профилактики и борьбы с бешенством среди диких плотоядных животных (Метлин А.Е., Макаров В.В., 2009).

Одной из важных инициатив МЭБ, ФАО и ВОЗ (<https://www.oie.int/en/what-we-do/global-initiatives/antimicrobial-resistance/>), а также актуальной задачей науки

является в настоящее время снижение масштабов применения антибиотиков в ветеринарии, в связи с чем актуальна разработка альтернативных методов оценки поедаемости оральных антирабических вакцин.

В настоящее время в эпизоотический процесс интенсивно вовлекаются домашние животные, создавая угрозу населению (Гулюкин А.М., 2017). Проблема безнадзорных животных имеет большое социально-экономическое значение, так как способствует распространению бешенства (Березина Е.С., 2004). Однако причины появления безнадзорных животных, факторы, влияющие на их появление, и численность популяции мало изучены, а применяемые мероприятия нуждаются в совершенствовании и оценке.

Цель и задачи исследований. Целью данной работы являлась разработка, научное обоснование и внедрение противоэпизоотических мероприятий по стабилизации ситуации и снижению числа случаев возникновения рабической инфекции на территории Московской области.

Для достижения поставленной цели были сформулированы следующие задачи:

- провести анализ эпизоотической ситуации по бешенству среди животных на территории Московской области и в сопредельных регионах за 2010-2020 гг.;
- испытать в условиях лаборатории новый современный метод (иммуохромографический тест) для экспресс-диагностики и эпизоотологического мониторинга бешенства животных;
- изучить поедаемость оральной антирабической вакцины, в том числе по наличию тетрациклинового биомаркера в костной ткани диких плотоядных животных на территории Московской области за период 2014-2019 гг.;
- оценить поедаемость оральной антирабической вакцины в полевых условиях с помощью средств объективного контроля;
- разработать мероприятия по регулированию численности безнадзорных животных в населенных пунктах Московской области.

Научная новизна. В результате проведенных исследований изучены особенности эпизоотического процесса бешенства на территории Московской области и прилегающих к ней областей за 2010-2020 гг.

Установлена видовая структура животных, занимающих ведущую роль в поддержании бешенства в сопредельных с Московской областью территориях.

Впервые для дистанционного контроля поедаемости оральной антирабической вакцины предложены фотоловушки. Разработан метод оценки поедаемости оральной антирабической вакцины с помощью фотоловушек и схема его применения.

Проведен мониторинг поедаемости оральной антирабической вакцины по наличию тетрациклинового биомаркера в зубной ткани диких плотоядных животных на территории Московской области за 2014-2019 гг.

Испытан в условиях районной ветеринарной лаборатории новый иммунохроматографический тест для экспресс-диагностики и эпизоотологического мониторинга бешенства животных.

Установлены факторы, способствующие появлению популяции безнадзорных животных, изучена ее структура. Внедрена система оценки и регулирования численности популяции безнадзорных животных.

Теоретическая и практическая значимость. Результаты проведенных исследований позволили сделать углубленный анализ эпизоотического процесса бешенства в Московской области.

Испытание нового иммунохроматографического теста для диагностики бешенства показало перспективность использования тест-системы для экспресс-диагностики и эпизоотологического мониторинга бешенства.

Внедрение разработанного метода оценки поедаемости оральной антирабической вакцины с помощью фотоловушек и схемы его применения для объективного контроля при оценке поедаемости оральной антирабической вакцины позволили провести оценку и скорректировать работу по проведению кампании по оральной вакцинации от бешенства диких плотоядных животных на территории Московской области.

Разработаны и утверждены Главным управлением ветеринарии Московской области:

- «Методические рекомендации по оценке поедаемости оральной антирабической вакцины от бешенства диких плотоядных животных с помощью фотоловушек» (утверждены 21 декабря 2017 года);
- «Методические рекомендации по проведению оральной вакцинации на территории Московской области» (утверждены 31 августа 2018 года);
- «Методические рекомендации реализации мероприятий по регулированию численности безнадзорных животных в населенных пунктах Московской области» (утверждены 31 августа 2019 года).

Научные разработки диссертационных исследований внедрены в практику и используются Министерством сельского хозяйства и продовольствия Московской области.

Методология и методы исследований. Методология проведенных исследований включает стандартные процедуры с использованием различных материалов, методов и естественно восприимчивых животных. В работе использовали: статистические данные по бешенству в Московской области, а также прилегающих к ней областей, вирусологические (вирусовыделение, биопроба) и иммунохроматографические тесты, метод флуоресцентного определения скоплений тетрациклина в тканях костей и зубов, применялись средства объективного контроля (фотоловушки).

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Анализ эпизоотической ситуации по бешенству на территории Московской и приграничных с ней областей за 2010-2020 гг. Разработка интерактивной эпизоотической карты по бешенству на территории Московской области.
2. Данные испытаний современных методов диагностики бешенства (иммунохроматографических тест-полосок) животных на территории Московской области.
3. Результаты оценки поедаемости оральной антирабической вакцины по наличию тетрациклинового биомаркера в зубной ткани диких плотоядных животных на территории Московской области за 2014-2019 гг.
4. Оценка поедаемости оральной вакцины против бешенства диких плотоядных животных с помощью средств объективного контроля (фотоловушек).

5. Сведения о работе по регулированию численности безнадзорных животных на территории Московской области.

Степень достоверности и апробация результатов. Степень достоверности подтверждена статистической обработкой результатов проведенных исследований. Основные положения диссертации рассмотрены методической комиссией ФГБУ «ВНИИЗЖ», доложены и обсуждены на Региональной конференции «Противоэпизоотические и противоэпидемические мероприятия по профилактике заболевания бешенством людей и животных в Московской области», г. Видное, 29 февраля 2016 г.; Международной научно-практической конференции, посвященной 90-летию со дня рождения профессора В.А. Киршина «Актуальные проблемы ветеринарной медицины» 5-6 апреля 2018 г., г. Казань, ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ»; VIII Международном ветеринарном конгрессе, 23-15 апреля 2018 г., г. Москва. Разработанные методики отмечены золотыми медалями на 20-й и 21-ой Российских агропромышленных выставках «Золотая осень», организуемых Министерством сельского хозяйства Российской Федерации.

Личный вклад соискателя. Исследования по теме диссертационной работы (планирование и выполнение основных работ, обобщение полученных результатов) выполнены автором самостоятельно. Автор выражает глубокую благодарность коллективу референтной лаборатории по бешенству и BSE, отделу координации научных и образовательных программ, информационно-аналитическому центру ФГБУ «ВНИИЗЖ»; сотрудникам ветеринарных служб Комитета ветеринарии г. Москвы, Главного управления ветеринарии Смоленской области, Главного управления ветеринарии Тверской области, Главного управления ветеринарии Рязанской области, Комитета ветеринарии при Правительстве Калужской области, Комитета ветеринарии Тульской области; Департамента ветеринарии Ярославской области, Департамента ветеринарии Владимирской области за содействие и предоставление статистических данных при подготовке диссертационной работы.

Публикации. Результаты исследований представлены в 6 публикациях, три из которых опубликованы в рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК РФ.

Структура и объем работы. Диссертация изложена на 176 страницах, состоит из разделов: введение, обзор литературы, собственные исследования, результаты собственных исследований, заключение, список сокращений, список использованной литературы и приложения; включает 5 таблиц, 54 рисунка. Использовано 166 литературных источников, из них 83 иностранных авторов.

2. ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

2.1 Материалы. Для диагностики бешенства методом флуоресцирующих антител (МФА) применяли глобулин, флуоресцирующий антирабический производства ФГБНУ «ВНИТИБП».

Подготовка патологического материала. Отбор проб для исследования на бешенство проводился в соответствии с Межгосударственным стандартом ГОСТ 26075-2013 «Животные. Методы лабораторной диагностики бешенства» и Ветеринарными правилами ВП.13.3.1103-96 (утв. Госкомсанэпиднадзором РФ 31.05.1996 N11, Минсельхозпродом РФ 18.06.1996 N 23) (с изм. от 22.07.2010). Патологический материал (трупы животных) для диагностики бешенства доставлялся с различных муниципальных районов Московской области.

Вакцины. Вакцина для оральной иммунизации диких плотоядных животных РАБИВАК О/333 поступала в Московскую область из ОАО «Покровский завод биопрепаратов» (Владимирская обл.), также использовались вакцины против бешенства диких плотоядных животных Рабистав (ФКП «Ставропольская биофабрика»). Для сравнительного анализа привлекательности новых видов модифицированных приманок для оральной иммунизации против бешенства диких плотоядных животных использовали вакцины-приманки, предоставленные ФКП «Щелковский биокомбинат» (Московская обл.).

Лабораторные и экспериментальные животные. При сравнительном анализе иммунохроматографического теста использовали белых беспородных мышей массой 6-8 грамм. Животных получали из вивария ГБУВ МО «Территориальное ветеринарное управление № 4» (Ленинская ветеринарная станция, Московская область).

2.2 Методы исследований

Анализ течения эпизоотического процесса на территории Московской области и распространение бешенства среди животных в соседних областях за 2010 -2020 гг. С целью ретроспективного анализа по бешенству на территории Московской и приграничных с ней областей за 2010-2020 гг., использовались данные, которые были предоставлены Комитетом ветеринарии Москвы, Управлениями ветеринарии Ярославской, Тверской, Тульской, Калужской, Смоленской, Владимирской, Рязанской областей.

Метод флуоресцирующих антител и выделение вируса бешенства на белых мышах (биологическая проба). Диагностику бешенства проводили методами флуоресцирующих антител и биологической пробы на мышах в соответствии с ГОСТ 26075. Результаты учитывали визуально при флуоресцентной микроскопии на основе интенсивности свечения комплекса антиген-антитело, который выявлялся в виде ярких желто-зеленых или зеленых гранул различной формы и величины в клетках.

Испытание иммунохроматографического теста для диагностики бешенства животных. Иммунохроматографические тест-полоски для диагностики бешенства животных были предоставлены разработчиками: ФГБУ «ВНИИЗЖ» и Институтом биоорганической химии РАН. Испытания проводили в соответствии с прилагаемой инструкцией. Готовили суспензию из разных отделов головного мозга. Проводили однократный цикл замораживания при отрицательной температуре ($18\pm 2^\circ\text{C}$ в течение 0,5 - 1 часа) и оттаивания. После размораживания выдерживали образцы при температуре 20°C - 25°C в течение 30 минут. Затем центрифугировали в течение 25 минут при 1342 g. Для исследования использовали супернатант в объеме $0,25\text{ см}^3$. Результаты учитывали через 30 минут. Положительным результатом считали выявление двух линий фиолетового цвета в тестовой зоне, отрицательным - только одной линии. Результаты подтверждали постановкой методом флуоресцирующих антител и биопробой на мышах.

Оценка поедаемости оральных антирабических вакцин. Оценку поедаемости оральной вакцины проводили двумя способами: по тетрациклиновому маркеру и визуально. Наличие тетрациклинового биомаркера в зубной ткани определяли, руководствуясь «Методическими рекомендациями по обнаружению

флуоресцентным методом определения антибиотиков тетрациклинового ряда в ткани зубов и костей животных для контроля поедаемости оральных антирабических вакцин ФГБУ «ВНИИЗЖ» (утв. 31 мая 2016 г.).

Для оценки и контроля поедаемости оральной антирабической вакцины против бешенства диких плотоядных животных использовались фотоловушки «Филин-120» (Россия).

Анализ ситуации по регулированию численности безнадзорных животных. При проведении анализа количества отловленных, стерилизованных, вакцинированных и отпущенных в естественную среду обитания безнадзорных животных в результате осуществления мероприятий по регулированию численности в 2017-2019 гг. использовали статистические данные о количестве приютов для содержания безнадзорных животных и их заполненности, а также о количестве отловленных животных на территории Московской области, предоставленные Министерством сельского хозяйства и продовольствия Московской области.

Количество обращений граждан по вопросам безнадзорных животных регистрировалось через официальный портал правительства Московской области. Данные о количестве стерилизованных безнадзорных животных поступали также из государственных бюджетных учреждений Московской области, территориальных ветеринарных управлений 1-5. Данные о покусах граждан предоставлены Управлением Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Московской области (Управление Роспотребнадзора по Московской области).

3 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1 Анализ эпизоотического процесса на территории Московской области и распространение бешенства среди животных в соседних областях за 2010 - 2020 гг. При анализе эпизоотической ситуации по бешенству на территории Московской области и примыкающих к ней областей установлено, что за период с 2010 по 2020 гг. зарегистрировано 6692 случая бешенства животных (рис.1).

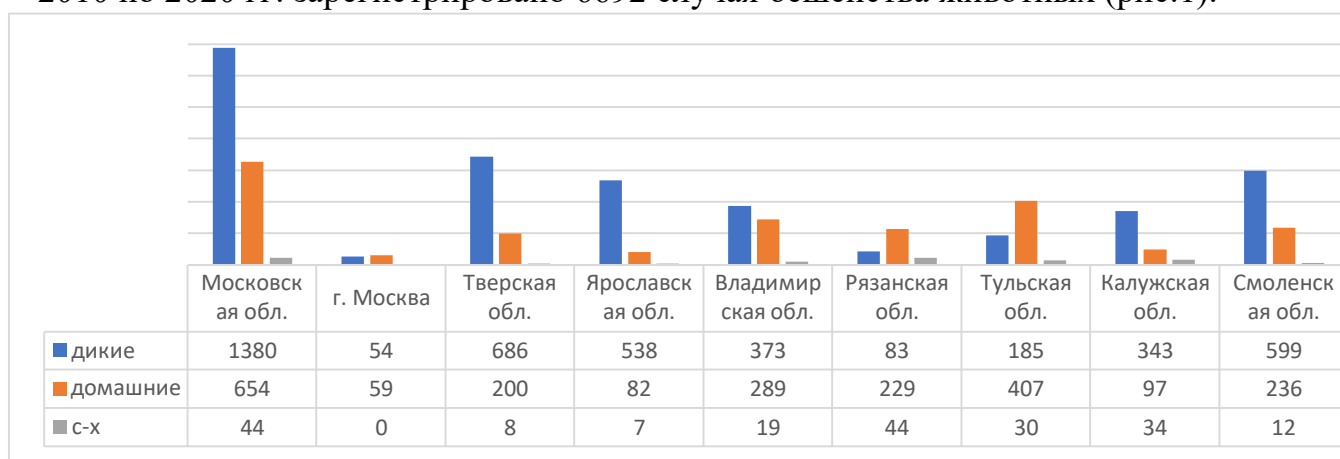


Рисунок 1 - Данные о эпизоотической ситуации по бешенству на территории Московской обл. и примыкающих к ней сопредельных областей за период 2010-2020 гг.

Основным источником бешенства являются дикие плотоядные животные, на которых приходится 4241 случай (63,3%), на долю собак и кошек приходится 2253

случая - 33,6%. Подтверждено 198 случаев бешенства сельскохозяйственных животных – 2,9%.

Так, при преваляровании основного источника бешенства диких плотоядных животных на сопредельных с Московской областью территориях установлены исключения: на территории Рязанской и Тульской областей наибольшее количество случаев бешенства приходится на домашних животных – 229 случаев: 74,5% (134 случая у собак – 58,5%, 95 случаев у кошек – 41,4%, 44 случая у с/х животных – 19,2%) в Рязанской области и 66,1% (214 случаев у собак – 34,4%, 193 случаев у кошек – 31%, 30 случаев у с/х животных – 4,8%) в Тульской области.

В прилегающих регионах, сопредельных с Московской областью, эпизоотическая ситуация схожа (рис.2).

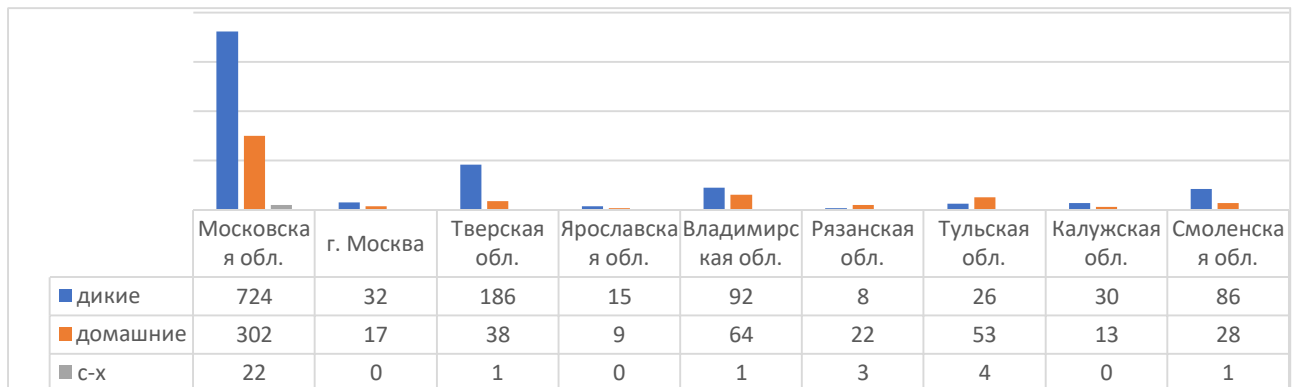


Рисунок 2 - Территории Московской области и примыкающих к ней сопредельных областей за период 2010-2016 гг.

Из 1777 случаев бешенства большая доля приходится на диких плотоядных животных - 1199 случаев (67,4%), на долю собак и кошек приходится 30,6% (собак - 323 случая – 18,1%, кошек - 223 случая – 12,5%). У сельскохозяйственных животных зарегистрировано 32 случая – 1,5%.

Цикличность заболевания характеризуется 3-х летней периодичностью (рис.3) со сдвигом пиков по годам, что связано с возможной миграцией, а также динамикой численности диких плотоядных животных.

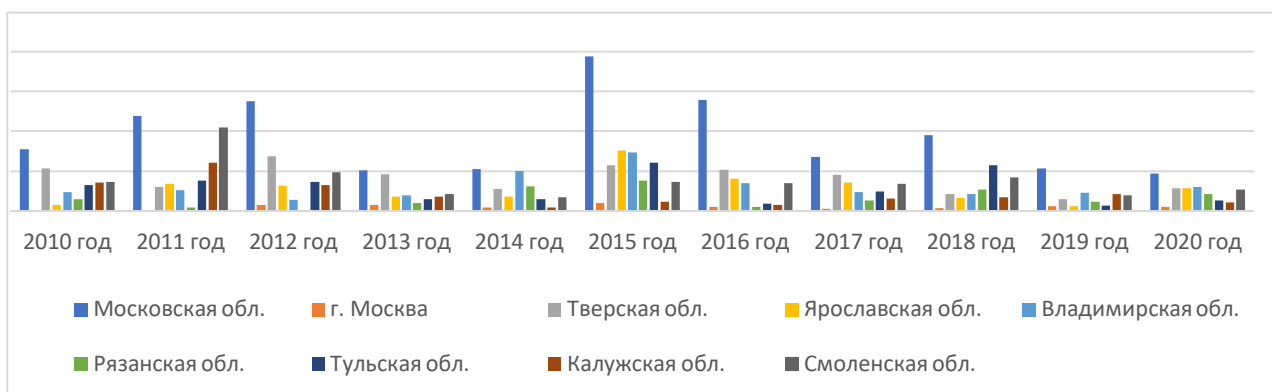


Рисунок 3 - Данные о динамике распространения бешенства на территории Московской обл. и примыкающих к ней сопредельных областей за период 2010-2020 гг.

Комплексный анализ эпизоотической ситуации по бешенству на сопредельных с Московской областью территориях (в т.ч. видового состава животных, больных бешенством, количества вирусологических исследований, периодичность случаев заболевания) позволяет сделать выводы о наличии схожей ситуации по видовому составу участников эпизоотического процесса, превалентности диких плотоядных животных на сопредельных территориях.

По результатам эпизоотического анализа разработана интерактивная эпизоотическая карта (https://web.vetupr50.ru/epidemiology/rabies_map), которая позволила отражать наиболее неблагоприятные по бешенству районы (округа) Московской области.

3.2 Оценка пригодности иммунохроматографического теста для экспресс - диагностики бешенства животных в условиях районной ветеринарной лаборатории

Основными методами современной лабораторной диагностики бешенства являются реакция иммунофлуоресценции и выделение вируса на мышах либо в культуре клеток, иммуноферментный анализ и исследования на основе полимеразой цепной реакции (Manual of Diagnostic Tests, 2018). Данные методы взаимно дополняют друг друга и позволяют в комплексе получать наиболее точные результаты. Однако большинство из этих методов требуют много времени при постановке, высокой квалификации персонала, постоянного диагностического опыта и дорогостоящего оборудования. В связи с этим в настоящее время в диагностике бешенства получило развитие направление, связанное с повышением экспрессности. К таким экспресс-методам относится иммунохроматографический анализ, который отличается невысокой стоимостью, простотой и доступностью процедуры пробоподготовки, скоростью получения результата (в течение 30 минут), тогда как время постановки реакции в МФА составляет не менее 2 часов. Кроме этого, данные методики перспективны для проведения диагностики бешенства в полевых условиях, в т.ч. прижизненной.

С целью оценки иммунохроматографического метода для диагностики бешенства животных проводили испытания опытной партии иммунохроматографических тестов, произведенной ИБХ РАН, с использованием образцов ткани головного мозга разных видов животных (лисица, кошка, собака), инфицированных и неинфицированных вирусом бешенства.

Эффективность нового метода диагностики проверяли путем сравнительных исследований 20 проб головного мозга разных видов животных. Выявление в тестовой зоне полоски одной линии фиолетового цвета свидетельствовало об отрицательном результате анализа, т.е. указывало на то, что в анализируемом образце рибонуклеопротеина вируса бешенства нет или его количество ниже порога чувствительности теста. Выявление в тестовой зоне полоски второй линии фиолетового цвета свидетельствовало о положительном результате анализа, т.е. указывало на то, что в анализируемом образце присутствует рибонуклеопротеин вируса бешенства (рис. 4 и 5).



Рисунок 4-Положительный результат

Рисунок 5-Отрицательный результат

Нами были приготовлены суспензии 20 проб головного мозга, 12 из которых содержали вирус бешенства, в 8-ми вирус бешенства отсутствовал. Результаты тестирования подтверждались в МФА и постановкой биологической пробы на белых мышах.

Испытуемый иммунохроматографический тест показал хорошие результаты по скорости проведения исследований, чувствительности и специфичности. Подтверждение результатов применения нового метода диагностики бешенства животных проводилось с помощью метода флуоресцирующих антител и биологической пробы на мышах, получено 100%-ное совпадение результатов. Достоинством метода является простота его постановки и экспрессность (получение результатов в течение 0,5 ч, без учета пробоподготовки), отсутствие необходимости приобретения дорогостоящего оборудования. Метод позволяет реализовать визуальную оценку полученных результатов (четкое образование одной или двух полос). Результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1 - Результаты испытания опытной партии иммунохроматографических тестов для диагностики бешенства

Статус проб на бешенство	МФА	Биопроба на мышах	Иммунохроматографический тест	% совпадения результатов
Положительные	12	--	12	100
Отрицательные	8	8	8	100

Положительные результаты, полученные при проведении испытаний, позволяют рекомендовать данную тест-систему к внедрению в практику. Метод иммунохроматографического теста с целью диагностики бешенства животных можно рекомендовать для использования при проведении экспресс-диагностики бешенства животных, однако для применения его в повседневной практике необходимо подтверждение отрицательных результатов основными стандартными методами диагностики путём выделения вируса на мышах либо в культуре клеток.

3.3 Оценка поедаемости оральной антирабической вакцины против бешенства диких плотоядных животных, определение содержания тетрациклина (метод-тетрациклиновая проба)

Проведенный анализ эпизоотической ситуации показал, что основным источником распространения бешенства являются дикие плотоядные животные. Оральная вакцинация является основным и общепризнанным способом для профилактики бешенства у диких плотоядных животных. Основными критериями оценки поедаемости оральной антирабической вакцины дикими плотоядными животными, необходимыми в конечном итоге для оценки эффективности всего комплекса профилактических антирабических мероприятий в дикой природе, являются: количество съеденных доз оральной вакцины (прокушенных блистеров целевыми видами животных), определение уровней сероконверсии и наличия тетрациклинового биомаркера в костной ткани.

Нами была поставлена задача - изучить поедаемость оральной антирабической вакцины. С этой целью с 2014 года в рамках выполнения данной работы проводились исследования проб костной ткани и зубов диких животных на

предмет содержания антибиотиков тетрациклинового ряда для оценки поедаемости оральной антирабической вакцины, общее количество проведенных исследований представлено на рис. 6.

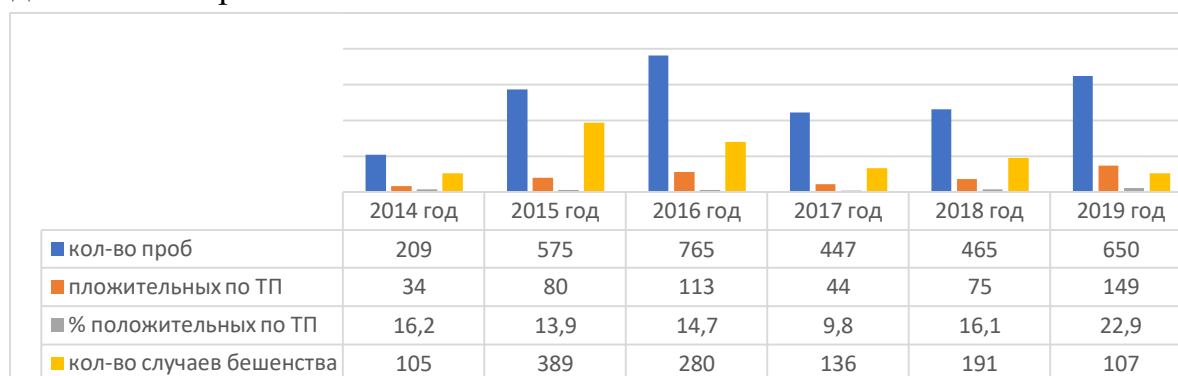


Рисунок 6 - Данные мониторинга образцов, положительных по тетрациклиновой пробе с 2014 по 2019 гг.

По результатам учета тетрациклинового биомаркера поедаемость оральной антирабической вакцины за период 2014-2019 гг. составила 15,9%. При постепенном увеличении количества исследований можно наблюдать снижение числа позитивных по тетрациклиновому маркеру проб. Начиная с 2018 года, при применении средств малой авиации для раскладки оральной антирабической вакцины, наблюдается постепенный рост числа проб с наличием антибиотиков тетрациклинового ряда и снижением количества случаев бешенства на территории Московской области с пиковых значений 2016 года, когда было зарегистрировано максимальное количество случаев бешенства (280 случаев), и показателя по тетрациклиновой пробе в 14,7% до показателей 2019 года, в котором зарегистрировано 107 случаев бешенства животных, при поедаемости оральной антирабической вакцины в 19,9%. Результаты мониторинга поедаемости оральной антирабической вакцины показали на территории Московской области недостаточный уровень поедаемости, содержания тетрациклинового биомаркера (15,9%) в доставленном патологическом материале, успешным результатом считается показатель 75% и выше. Низкий показатель лабораторного контроля поедаемости можно объяснить таким неучтенным фактором, как качество используемого тетрациклина как биомаркера. Кроме того, в связи с крайней актуальностью вопроса резистентности к антимикробным препаратам масштабное применение антибиотиков тетрациклинового ряда в качестве биомаркера представляется крайне нежелательным. В связи с этим предстояло разработать и оценить возможность применения в полевых условиях средств объективного дистанционного контроля поедаемости оральных антирабических вакцин.

3.4 Применение средств объективного контроля (фотоловушек) для оценки привлекательности вакцины

В настоящее время для слежения за животными в дикой фауне широко применяются специальные устройства- видеорегистраторы, получившие название «фотоловушки». Привлекательность оральной антирабической вакцины, а также приманок с новой рецептурой (1- говяжий жир, рыбная мука и парафин, 2 - говяжий жир, рыбная мука, парафин и порошок аниса, 3 - говяжий жир, рыбная мука, мясокостная мука и парафин, 4 - говяжий жир, рыбная мука, мясокостная мука,

пшеничная мука, парафин и порошок аниса) оценивалась на территории Ленинского района Московской области.

Проведение испытаний осуществлялось в весенний период. Раскладка вакцины на контрольных участках осуществлялась двумя способами (рис.7). В количестве 3 шт. - на расстоянии между ними от 1,5 до 2 метров в зоне охвата камеры фотоловушки; и в количестве 1 шт. - на расстоянии 300-500 метров в зоне, контролируемой датчиком движения.



Рисунок 7 - Пример раскладки исследуемых приманок на контрольном участке

Поедаемость вакцины «Рабивак – 0/333», а также вакцины – приманки с новой рецептурой была оценена с помощью фотоловушек «Филин-120». По данным, полученным с использованием фотоловушек, установлено, что все разложенные приманки активно поедались в течение первых двух суток основным целевым видом животных - лисицей (рис.8).

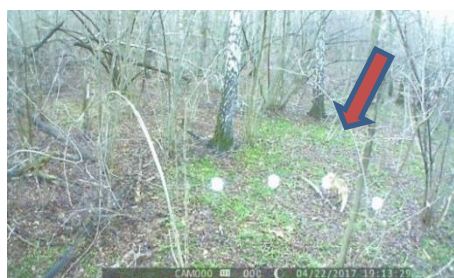


Рисунок 8 - Момент подхода и поедания вакцины лисицами на контрольных участках

По поедаемости каждого вида исследуемых приманок процентное соотношение составило:

- 1- говяжий жир, рыбная мука и парафин - 88%,
- 2- говяжий жир, рыбная мука, парафин и порошок аниса - 94%,
- 3- говяжий жир, рыбная мука, мясокостная мука и парафин - 92%,
- 4- говяжий жир, рыбная мука, мясокостная мука, пшеничная мука, парафин и порошок аниса - 88%.

Использование фотоловушек для контроля поедаемости оральной вакцины против бешенства в естественных условиях с образцами приманок, приготовленных на основе новой рецептуры, позволило зафиксировать 90,5% поедаемости. Животные не всегда съедают приманку на месте раскладки, а переносят ее в другие места для последующего ее поедания, что является важным фактором при визуальной оценке поедаемости. После анализа результатов с фотоловушек проводился осмотр участков, в которые лисицы переносили вакцину, где были обнаружены прокушенные блистеры (рис. 9).



Рисунок 9 - Прокушенные блистеры оральной антирабической вакцины

Использование контрольных участков, а также фотоловушек позволяет установить влияние погодных условий на состояние образцов оральной вакцины (температура, осадки). Так, при обильных осадках форма используемых брикетов с приманкой не нарушилась, при этом во время выпадения осадков ни один из брикетов не был съеден. При температуре окружающей среды выше 20°C приманки теряли свою форму и привлекательность. Большее количество поедаемых лисицами брикетов приходится на вечернее и ночное время. На одной из контрольных точек, расположенной вблизи деревни, в объектив фотоловушки, помимо лисицы, попала кошка, что свидетельствует о том, что брикеты с антирабической вакциной могут уносить нецелевые животные.

Фотоловушки, являясь приборами дистанционной регистрации, позволяют объективно оценить поедаемость оральной антирабической вакцины, объективно установить время и видовой состав животных, поедающих вакцину, их количество, а также поведенческие реакции в момент поедания оральной вакцины. Из двухсот разложенных вакцинных приманок 18 (9%) не были съедены из-за неблагоприятных погодных условий. Фактор отдаленности приманки от норы или ареала обитания и направление ветра также играют роль в привлекательности и последующем поедании приманок дикими плотоядными. Поедаемость приманок с новой рецептурой показала хорошие результаты (поедаемость составила 88-94%). Фотоловушка «Филин» оказалась надежной в работе, она хорошо защищена от ударов при падении, крайне редко выходит из строя. Негативным моментом являются «ложные тревоги» - даже раскачивающиеся от ветра ветви деревьев могут стать причиной срабатывания устройства, поэтому для экономии энергии аккумулятора устройства следует отключать функцию записи звука. Большим достоинством фотоловушек является возможность их использования в ночное время, ночные кадры получаются вполне отчетливыми, по ним можно судить об активности животного, о его перемещениях. Фотоловушки позволяют выявить нецелевых животных, которые поедают вакцину (кошки, собаки). Данный метод позволяет провести оценку поедаемости оральной антирабической вакцины в местах, где запрещен отстрел животных, а также в перспективе отказаться от применения антибиотиков тетрациклинового ряда в качестве биомаркера. Использование дистанционного мониторинга перспективно и при изучении проблем с безнадзорными животными.

3.5 Реализация мероприятий по регулированию численности безнадзорных животных в населенных пунктах Московской области

Кроме диких плотоядных животных, дикие безнадзорные животные участвуют в распространении бешенства и представляют основную угрозу в плане заражения людей. С целью минимизации рисков для здоровья человека необходима всесторонняя

оценка и оптимизация проводимых мероприятий. Для этого необходимо установить причины появления бродячих животных, а также изучить факторы, способствующие их появлению.

Схема пополнения популяции бродячих животных. В результате проведенного анализа установлено, что пополнение количества бродячих животных на территории муниципальных районов Московской области происходит за счет выбрасываемых владельцами животных (нежелательных щенков и котят, животных, приобретенных на дачный период), неконтролируемое размножение животных на закрытых территориях (стройки, промзоны, ведомственные учреждения), миграция и завоз животных с соседних территорий) (рис.10).



Рисунок 10 - Схема пополнения популяции бродячих животных

Факторы, способствующие появлению бродячих животных. Для понимания путей решения проблемы бродячих животных необходимо установить доминирующие факторы, способствующие появлению бродячих животных на территории Московской области:

- кормовая база - наличие стабильного источника кормления;
- отсутствие культуры стерилизации домашних животных;
- отсутствие единой базы данных регистрации, идентификации с указанием необходимых данных о вакцинации и т.д.;
- отсутствие ответственности за выброс животных;
- нарушение правил выгула и контроля за продажей или передачей прав владения и др.

Регулирование численности бродячих животных. Для успешной реализации концепции регулирования численности бродячих животных путем отлова и стерилизации необходимо активное участие населения. В связи с этим информационно-разъяснительная работа с населением сконцентрирована в Московской области на возможности использования онлайн-систем. О появлении на территории различных муниципальных образований бродячих животных граждане могут оперативно в системе ON-line оставить жалобу на официальном портале правительства Московской области «Добродел», с помощью которого можно отслеживать количество обращений по этой социальной проблеме.

Мониторинг численности бродячих животных является неотъемлемой частью при реализации всех этапов мероприятий по регулированию численности бродячих животных на территории Московской области. Ключевыми показателями мониторинга являются: определение численности бродячих

животных на территории Московской области, количество обращений граждан в связи с покусами безнадзорными животными, количество отловленных и возвращенных в прежнее место обитания животных, оценка здоровья безнадзорных животных после процедуры отлова в момент нахождения животного в приюте, количество асоциальных животных; животных, подозрительных по особо опасным болезням, количество проведенной медикаментозной эвтаназии, количество животных, которым удалось найти нового владельца, обеспечение и содержание приютов для животных.

Результаты реализации мероприятий по регулированию численности безнадзорных животных. По данным муниципалитетов и Министерства сельского хозяйства и продовольствия Московской области, ориентировочная численность безнадзорных животных составляет 20 000 особей. На территории Московской области функционируют 26 приютов для содержания безнадзорных животных с максимальной загруженностью 7000 тыс. голов. Фактическая заполняемость по данным на 2019 г. составила 6794 особи (97%) от общей их вместимости. Лишь у 36,4% приютов в штате есть собственный ветеринарный специалист, который своевременно может оказать необходимую помощь безнадзорному животному. У 30,7% владельцев приютов для содержания безнадзорных животных заключены договоры с государственной ветеринарной службой Московской области. Наличие пункта стерилизации безнадзорных животных на территории приютов имеется в 23% случаев. Помещение для приготовления и хранения кормов (кормокухни) имеется у 69,2% приютов. Ветеринарная аптека имеется в 11,5% случаев. Общее количество персонала всех приютов для содержания безнадзорных животных составило 116 человек. Проблема безнадзорных животных имеет социально-экономический характер. Количество укусов граждан на территории подмосковного региона по данным Роспотребнадзора представлено на рисунке 11.



Рисунок 11 - Количество укусов граждан и случаев бешенства животных на территории Московской области за период 2018-2019 гг.

Из представленных выше данных по количеству обратившихся в медицинские учреждения граждан по поводу травм, нанесенных укусами животных, наблюдается схожая ситуация в 2018 и 2019 гг. На долю домашних животных приходится на 13,6% обращений граждан больше, чем на безнадзорных животных. По количеству зарегистрированных случаев бешенства ситуация различна. Если в 2018 г. выявлен 191

случай бешенства животных, то в 2019 г. было зарегистрировано 107 случаев, что на 56,0% меньше, чем в 2018 г.

Проблема безнадзорных животных затрагивает большое количество граждан и требует планомерной работы служб, ответственных за реализацию мероприятий по регулированию их численности.

Анализируя данные численности популяции безнадзорных животных за 2017, 2018 и 2019 гг. наблюдается значительный рост числа обращений граждан по вопросам появления безнадзорных животных на территории муниципальных образований Московской области: 4 331, 10 202 и 20 655 (по годам, соответственно).

Если до реализации мероприятий по регулированию численности безнадзорных животных их ориентировочная численность составляла 20 тысяч особей, то после трехлетней работы подвергнутая отлову, вакцинации, кастрации (стерилизации), идентификации численность популяции увеличилась до 35 188 голов. Максимальная загруженность приютов для содержания безнадзорных животных оценена в 6 800 мест. Если в 2017 году в прежнюю среду обитания было выпущено 4 300 голов, а 31 подвергнута медикаментозной эвтаназии, то в 2018 году выпущено уже 9 242 (90,5%) голов, а 960 (9,4%) особей переданы в приют для пожизненного содержания. В 2019 году проведены процедуры отлова 20 655 особей, вакцинировано 20 654 особи, идентифицировано 20 632 головы, кастрировано (стерилизовано) 20 450 (99%) голов. Выпущено в прежнюю среду обитания 19 385 (93,8%) голов и 1 269 (6,2%) голов оставлены в приютах для дальнейшего содержания и возможного поиска новых владельцев.

4. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

4.1 Итоги выполненного исследования

1. Изучение эпизоотологических особенностей проявления бешенства показало, что основным источником и распространителем бешенства в Московской области и на территориях сопредельных регионов являются дикие плотоядные животные – лисицы и енотовидные собаки, на долю которых, среди заболевших диких животных за 2010-2020 гг., приходится 63,3%.

2. Разработана интерактивная эпизоотическая карта, позволившая выявить наиболее неблагополучные по бешенству районы (г.о. Луховицы, г.о. Лотошино) и изучить эпизоотическую ситуацию в Московской области и сопредельных регионах, а также использовать её при реализации разработки комплексной научно-обоснованной областной программы по оральной вакцинации диких плотоядных животных.

3. Использование иммунохроматографического теста для экспресс-диагностики перспективно при проведении эпизоотологического мониторинга бешенства животных в качестве дополнительного метода, позволяющего минимизировать человеческий фактор при оценке результатов метода флуоресцирующих антител и сократить в 2 раза время получения результата.

4. Методом тетрациклиновой пробы изучена поедаемость оральной антирабической вакцины на территории Московской области. Данные мониторинга образцов, положительных по тетрациклиновой пробе за период с 2014 по 2019 гг., показали, что уровень поедаемости составил 15,9%.

5. Разработанный дистанционный метод контроля поедаемости оральной антирабической вакцины с помощью фотоловушек, а также схема его применения

позволяют проводить объективный контроль поедаемости оральной антирабической вакцины и в перспективе исключить масштабное применение антибиотиков тетрациклинового ряда в природных условиях.

6. Внедрение разработанного метода объективного контроля при оценке поедаемости оральной антирабической вакцины позволило провести оценку и скорректировать работу по проведению компании по оральной вакцинации против бешенства диких плотоядных животных на территории Московской области.

7. Разработанная методика позволила установить факторы, способствующие появлению популяции безнадзорных животных, изучить ее структуру, а также проводить оценку и регулирование численности популяции безнадзорных животных.

4.2 Практические предложения

Полученные результаты были использованы при разработке комплексной программы ликвидации бешенства в Московской области.

Проведена коррекция работы по проведению компании по оральной вакцинации от бешенства диких плотоядных животных и ее оценки на территории Московской области.

Создана интерактивная карта раскладки оральной антирабической вакцины на территории муниципальных районов Московской области.

Разработаны и утверждены Главным управлением ветеринарии Московской области «Методические рекомендации по оценке поедаемости оральной антирабической вакцины от бешенства диких плотоядных животных с помощью фотоловушек» от 21 декабря 2017 года; «Методические рекомендации по проведению оральной вакцинации на территории Московской области» от 31 августа 2018 года, которые были отмечены золотой медалью на российской агропромышленной выставке «Золотая осень 2018».

Разработаны «Методические рекомендации реализации мероприятий по регулированию численности безнадзорных животных в населенных пунктах Московской области» (утверждены Первым заместителем министра сельского хозяйства и продовольствия Московской области – Главным ветеринарным инспектором Московской области), которые были отмечены золотой медалью на российской агропромышленной выставке «Золотая осень - 2019».

Организована ежегодная просветительная работа среди населения посредством мероприятий при проведении «Месячника по профилактике бешенства Московской области», а также занятий по профилактике бешенства в детских садах и общеобразовательных учреждениях. Подготовлены и распространены листовки и памятки на тему «Осторожно бешенство», «Бешенство. Правила безопасности для детей».

4.3 Перспективы дальнейшей разработки темы

Целесообразно продолжить оценку эпизоотической ситуации, изучение новых методов диагностики, оценку поедаемости и новой рецептуры приманок для оральной вакцинации диких плотоядных животных, а также внедрение системы оценки и регулирования численности популяции безнадзорных животных, что, безусловно, будет способствовать стабилизации и снижению числа случаев бешенства и проведению более эффективного эпизоотического мониторинга по бешенству.

5. СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Эпизоотологические особенности проявления бешенства животных на территории Московской области / **А.В. Парошин**, В.А. Астраханцев, С.Б. Воскресенский, А.Е. Метлин, А.Н. Чернов, К.Н. Груздев // Ветеринарный врач. - 2017. - № 4. - С. 11-14.

2. Ретроспективный анализ эпизоотической ситуации по бешенству животных в Московском регионе за 2010 - 2016гг. / **А.В. Парошин**, С.Б. Воскресенский, А.А. Муковнин, А.В. Еньшин, А.Е. Метлин, К.Н. Груздев // Ветеринария сегодня. - 2017. - № 4. - С. 33-37.

3. Метлин, А.Е. Эпизоотическая ситуация и меры борьбы с бешенством в России / А.Е. Метлин, **А.В. Парошин**, К.Н. Груздев // VIII Международный ветеринарный конгресс "Единый мир - единое здоровье". - М., 2018. - С. 264-267.

4. Поедаемость приманок для оральной вакцины против бешенства диких плотоядных животных / **А.В. Парошин**, С.Б. Воскресенский, А.Е. Метлин, К.Н. Груздев // Ветеринария и кормление. - 2018. - № 1. - С. 18-21.

5. **Парошин, А.В.** Фотоловушки - новый подход при контроле результатов оральной вакцинации животных против бешенства / **А.В. Парошин**, А.Е. Метлин, К.Н. Груздев // Материалы научно-практической конференции, посвященной 90-летию профессора В.А. Киршина «Актуальные проблемы ветеринарной медицины». – Казань, 2018. - С. 243-246.

6. Ситуация по бешенству в различных регионах мира и разработка мероприятий по борьбе с бешенством / А.Е. Метлин, **А.В. Парошин**, А.В. Шишков, Е.О. Турбасова, А.Н. Балашов, А.Ю. Иовлева, В.В. Михалишин, К.Н. Груздев // Труды Федерального центра охраны здоровья животных. - М., 2018. - Т. 16: 60 лет ФГБУ «ВНИИЗЖ». - С. 72-94.

Подписано в печать _____ 2021 г.

Формат 60x90 1/16. Усл. печ. л. 1

Тираж 80 экз.

Отпечатано на полиграфической базе ФГБУ
«Федеральный центр охраны здоровья животных»