

АННОТАЦИЯ

диссертационной работы Айткуловой Аяулы Мухаметкалиевны на тему «Иммунологическая эффективность конъюнктивного способа применения вакцины из шт. *B. abortus 19* против бруцеллеза крупного рогатого скота» представленной на соискание степени доктора философии (PhD) по специальности 6D120100 - «Ветеринарная медицина».

Актуальность темы исследования. Бруцеллез — хроническое инфекционное заболевание, характеризующееся абортами, задержанием последа, эндометритом, орхитом и половой дисфункцией животных. Преждевременный убой зараженных животных на мясо до окончания периода хозяйственного использования, аборт маток, проведение мероприятий по оздоровлению хозяйств, не благополучных по бруцеллезу, приносят хозяйствам большие экономические затраты. Кроме того, бруцеллез представляет собой серьезную социальную проблему, так как им страдают и люди. Основным и эффективным способом профилактики бруцеллеза является предварительная иммунизация животных. Исследования эффективности вакцин, применяемых против бруцеллеза, показали, что они разные. По мнению ученых, наиболее оптимальным для практического использования в настоящее время является введение вакцины *B. abortus 19* в конъюнктиву. Такой подход, помимо создания иммунитета к бруцеллезу, позволяет своевременно проводить плановые диагностические исследования.

Для того чтобы использовать этот метод на практике, одной из актуальнейших задач современной ветеринарии считается исследование и рекомендации по использованию оптимальных способов иммунизации.

Цель диссертационного исследования:

- целью является анализ эпидемической ситуации по бруцеллезу животных на территории Республики Казахстан за последние годы, изучение иммунологической эффективности вакцины *B. abortus 19* для конъюнктивного введения и рекомендовать его для использования в фермерских хозяйствах.

Задачи исследований:

1. Анализ эпизоотологической ситуации по бруцеллезу животных на территории Республики Казахстан за последние годы.

2. Определить эффективность метода мультилокусного анализа переменного числа тандемных повторов (MLVA-16) для идентификации штаммов бруцелл с целью контроля источников инфекции.

3. Оценка эффективности специфических мероприятий по борьбе с бруцеллезом животных в Республике Казахстан за последние годы.

4. Определение иммунного состояния у морских свинок, вакцинированных различными дозами и способами вакцины *B. abortus 19* против бруцеллеза.

5. Изучение поствакцинальной динамики антител у крупного рогатого скота, вакцинированного различными количествами и способами вакцины *B.abortus 19*.

6. Контроль эпизоотологической эффективности способа введения вакцины *B.abortus 19* в конъюнктиву в производственных условиях.

7. Разработка предложения по применению вакцины *B.abortus 19* против бруцеллеза крупного рогатого скота конъюнктивальным методом.

Материалы и методы исследований. В качестве материалов исследования используют патологический материал, полученный от животных (кровь, молоко, сыворотка крови, аборты, срезы паренхиматозных органов от павших или забитых животных, лимфатические узлы и др.), заключения ветеринарных органов, данные, собранные в ходе самостоятельных исследований.

В ходе диссертационной работы для опытов по определению иммуногенности бруцеллезных вакцин использовали 45 морских свинок и 513 КРС, для оценки эффективности вакцин в производстве использовали более 60 000 голов КРС, иммунизированных различными вакцинами против бруцеллеза в разных регионах Республики.

В проведенных опытах использован вакцинный штамм *B.abortus 19* и вакцина Брукон, приготовленные на ТОО «Антиген» НПП» для конъюнктивальной иммунизации животных против бруцеллеза».

Определение эпидемической ситуации по бруцеллезу животных проводят на основании отчетов и данных официальных ветеринарных органов и результатов самостоятельных исследований, собранных во время командировок в проверяемые хозяйства. Для этого углубленно изучается эпидемиологическая ситуация по бруцеллезу животных за последние 5-7 лет.

При проведении мониторинговых исследований использовались годовой ветеринарный отчет и статистические материалы и данные экспертизы республиканской ветеринарной лаборатории, противоэпизоотического отряда за 2014-2019 годы и научные отчеты КазНИВИ. Для анализа количества и динамики неблагополучных по бруцеллезу пунктов использовались эпидемиологические методы, такие как анализ многолетних показателей, создание графической таблицы, сравнение количества зарегистрированных неблагополучных пунктов от бруцеллеза разных животных по годам, логический анализ полученных результатов.

Эпизоотологические исследования проводились по методикам, предложенным Бакуловым И.А., Джупиной С.И., Авиловым В.М.

Для диагностики бруцеллеза проводили бактериологическое и серологическое исследования в соответствии с «Инструкцией по диагностике бруцеллеза животных», утвержденной МСХ РК. ПЦР-анализ проводили согласно ТУ 9388-187-00494189-99 с использованием тест-системы ВРУКОМ, а для подтверждения родства тестируемых штаммов полевых изолятов бруцелл с видами S-типа использовали классический вариант ПЦР использовался набор AMOS, разработанный Brickeretal.

ДНК выделяли с помощью PureLink GenomicDNA Kits (Invitrogen), мультиплексную ПЦР и капиллярный электрофорез (КЭ) проводили по алгоритму с небольшими изменениями. Полученные данные анализировали с помощью программного обеспечения BioNumerics 7.5 (Applied Maths, Бельгия). Статистическая обработка данных проводилась по методу Е.К. Меркуревой.

Основные положения, выносимые к защите:

- Эпидемическая ситуация по бруцеллезу животных на территории Республики Казахстан в последние годы и эффективность специфических мероприятий по борьбе с бруцеллезом;

- Результаты исследования генетического разнообразия бруцелл с использованием мультилокусного анализа переменного числа tandemных повторов (MLVA-16);

- Уровень иммунитета у морских свинок, привитых различными дозами и способами вакцины *B.abortus 19* против бруцеллеза.

- Поствакцинальная динамика антител у телят, вакцинированных различными дозами и способами вакцины *B.abortus 19*;

- Эпизоотологическая эффективность метода инокуляции вакцины *B.abortus 19* в конъюнктиву в производственных условиях.

- Рекомендации по проведению специальных ветеринарных мероприятий по профилактике бруцеллеза крупного рогатого скота на территории Республики Казахстан.

Описание основных результатов исследования. Определен уровень заболеваемости бруцеллезом животных в республике за 2017 - 2019 гг., и на основании этого показателя созданы карты районирования, которые позволяют визуализировать ареал распространения бруцеллеза животных и возможные риски его распространения, а также они могут быть использованы при осуществлении ветеринарного контроля за развитием инфекции.

В республике в 2017 - 2019 годах определен уровень заболеваемости животных бруцеллезом и на основании этого показателя составлены карты районирования, позволяющие визуализировать ареал распространения бруцеллеза животных и возможные риски его распространения, а также они могут быть использованы при осуществлении ветеринарного контроля за развитием инфекции.

Впервые изучены такие обширные показатели, как распространение эпизоотического процесса при бруцеллезе животных в территориальных единицах Республики Казахстан и их зараженность бруцеллезом. Он может быть использован ветеринарными специалистами при планировании и организации мероприятий по борьбе с бруцеллезом.

Изучение генетического разнообразия бруцелл необходимо для мониторинга вспышек бруцеллеза или для отслеживания источников заражения людей и животных в неэндемичных районах Казахстана с помощью мультилокусного анализа переменного числа tandemных повторов (MLVA-16), проведена идентификация штаммов бруцелл. 2 изолята *B.*

melitensis, выделенных из WK, были отнесены к генотипу 3, подобно генотипам, распространенным в южных регионах Казахстана, а 7 штаммов, выделенных от крупного рогатого скота, идентифицированы как *B. abortus* и сгруппированы в 2 генотипа. Генотипы штаммов 1 и 2 генетически отличались от штаммов, обнаруженных в Казахстане.

Определена эффективность вакцин, применявшихся против бруцеллеза крупного рогатого скота в 2015-2019 гг. в Республике Казахстан. Изучение поствакцинальных иммунологических реакций у морских свинок при конъюнктивной вакцинации показало, что она исчезает намного раньше чем при подкожной иммунизации. В эксперименте напряженность иммунитета против бруцеллеза у морских свинок через 6 мес после конъюнктивной вакцинации составила 90 %.

При прививке 80 миллиардов м.к. этой вакцины конъюнктивным методом антитела сохранялись у телок до 180 дней, а у телят до 150. При дозе вакцины 5 млрд. м. к. антитела у телок сохранялись в течение 150 дней, а у телят — в течение 90 дней. Поэтому телята, вакцинированные конъюнктивным методом в 4-6 месяцев, могут быть обследованы на бруцеллез через 4 месяца после иммунизации, а телочки, иммунизированные в 18-20 месяцев, через 6 месяцев. Это позволяет беспрепятственно проводить ежегодное плановое диагностическое обследование животных на бруцеллез.

В производственных опытах, проведенных в отдельных хозяйствах Актюбинской, Западно- и Карагандинской областей, крупный рогатый скот, иммунизированный конъюнктивным методом вакциной *B. abortus 19* против бруцеллеза, при ветеринарном наблюдении в течение 1,5-2 лет бруцеллез не выявлялся, клинических признаков бруцеллеза среди животных не наблюдалось. Эти данные свидетельствуют об эффективности конъюнктивного введения вакцины *B. abortus 19* против бруцеллеза крупного рогатого скота.

Обоснование новизны и важности полученных результатов: Определена эпидемическая ситуация по бруцеллезу животных в Республике Казахстан за последние годы, проанализирована эффективность специфических мероприятий по борьбе с бруцеллезом, доказана важность определения экстенсивных (качественных) показателей эпидемического процесса при проведении эпидемиологического мониторинга бруцеллеза животных на территории Казахстана.

Мультилокусный анализ переменного числа tandemных повторов (MLVA-16) был предложен для идентификации штаммов бруцелл для контроля источника в районах, свободных от бруцеллеза.

Определена иммунологическая эффективность (поствакцинальная динамика антител, иммуногенность и др.) вакцины *B. abortus 19* при введении ее в конъюнктиву животных, было предложен оптимальный способ применения вакцины *B. abortus 19* для профилактики вспышек бруцеллеза в хозяйствах.

Практическая ценность работы:

1. Эпизоотологические карты территории Республики Казахстан по уровню заболеваемости животных бруцеллезом позволяют визуализировать ареал распространения бруцеллеза и возможные риски его распространения.

2. Ветеринары могут использовать развернутые показатели эпизоотического процесса при бруцеллезе животных, которые определяются уровнем распространения в территориальных единицах Республики Казахстан, при планировании и организации мероприятий по борьбе с бруцеллезом.

3. Мультилокусный анализ переменного числа tandemных повторов (MLVA-16) можно использовать для идентификации штаммов бруцелл, изучения генетического разнообразия бруцелл и отслеживания источников вспышек среди людей и животных.

4. При ветеринарном наблюдении за крупным рогатым скотом иммунизированным вакциной *B.abortus 19* конъюнктивально в производственных опытах, проводимых в отдельных областных хозяйствах в течение 1,5-2 лет, животных с положительным результатом на бруцеллез и клинические проявления бруцеллеза среди животных не выявлено. Эти данные свидетельствуют об эффективности применения вакцины *B.abortus 19* против бруцеллеза крупного рогатого скота конъюнктивальным методом.

5. Установлено, что 4-6-месячные телята, иммунизированные *B. abortus 19* в дозе 5 миллиардов м.к. конъюнктивальным методом, могут быть обследованы на бруцеллез через 4 месяца после вакцинации, а 18-20-месячные телки - через 6 месяцев. Это условие позволяет беспрепятственно проводить ежегодное плановое диагностическое обследование животных на бруцеллез.

Соответствие основным направлениям и развития научными государственными программами. Диссертационная работа выполнена в рамках научно-технического обеспечения ветеринарного здоровья и безопасности пищевых продуктов в Республике Казахстан на 2018-2020 годы (шифр 0.0870, государственный регистрационный номер 0118РК01221) - в рамках задачи «Обеспечение ветеринарно-санитарной безопасности и эпизоотического благополучия».

Научно-исследовательские работы в 2018-2020 годах проводились на кафедре «Биологическая безопасность» Казахского национального аграрного исследовательского университета, в НПЦ «Антиген», в лаборатории бруцеллеза ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт» (КазНИВИ), на базе филиалов НИВИ и в отдельных эпизоотологических единицах в различных регионах Республики Казахстан.

Описание вклада докторанта в подготовку каждой публикаций. Выполненная лично автором диссертация на соискание степени доктора PhD является завершенным научно-исследовательским трудом и отвечает требованиям, предъявляемым комитетом по обеспечению качества в сфере науки и высшего образования Министерства науки и высшего образования Республики Казахстан. Достоверность результатов исследований

диссертационной работы и обоснованность экспериментальных работ подтверждены фотоматериалами; актами исследования.

Объем и структура диссертации. Материалы диссертации выполнены на 106 страницах и включает: нормативные ссылки, определения, обозначения и сокращения, введение, обзор литературы, самостоятельное исследование, обсуждение результатов исследования, заключение, практические рекомендации, список использованной литературы.

Работа снабжена 27 таблицами и 13 рисунками. Количество использованной отечественной и зарубежной литературы – 133.