



003446443

На правах рукописи

Басель Бадра

БАДРА БАСЕЛЬ МОХАМАД

**ЛЕПТОСПИРОЗ КАК ЗООАНТРОПОНОЗ В МЕГАПОЛИСЕ:
ЭТИОЛОГИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА, ЭПИЗООТОЛОГИЧЕСКИЕ И
ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ, ДИАГНОСТИКА,
ПРОФИЛАКТИКА**

16.00.03 - ветеринарная микробиология, вирусология,
эпизоотология, микология с микотоксикологией и
ИММУНОЛОГИЯ

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата ветеринарных наук

Санкт-Петербург 2008

22 СЕН 2008

Работа выполнена в ФГОУ ВПО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины»

Научный руководитель - доктор ветеринарных наук, профессор
Кузьмин Владимир Александрович

Научный консультант - доктор медицинских наук, профессор
Огарков Павел Иванович

Официальные оппоненты доктор ветеринарных наук, профессор,
Заслуженный деятель науки РФ
Бориссенкова Адель Наумовна

доктор ветеринарных наук, профессор,
Заслуженный деятель науки РФ
Шумилов Константин Васильевич

Ведущая организация ФГОУ ВПО «Курская государственная сельскохозяйственная академия»

Защита состоится «9» октября 2008г. в 13 часов на заседании диссертационного совета Д 220 059 03 при ФГОУ ВПО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины» (196084, Санкт-Петербург, Черниговская, 5, тел/факс (812)-388-36-31

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГОУ ВПО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины»

Автореферат разослан «7» августа 2008г и размещён на сайте
[http //spbgavm.ru](http://spbgavm.ru)

Ученый секретарь
диссертационного совета
доктор биологических наук



Л М Белова

1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Лептоспироз, как природно-очаговый зооантропоноз, широко распространен в мире и до настоящего времени продолжает оставаться актуальной эпизоотологической, эпидемиологической, экологической проблемой (Соболева Г Л, 2004) Инфицированность лептоспирами животных разных видов остается достаточно высокой во всем мире Так, в Европе инфицированность крупного рогатого скота, в среднем, составляет 10,56%, в Азии – 14,63%, в Северной Америке – 15,32%, в Южной Америке – 47,27%, в Австралии – 10,92%, в Африке – 14,46%, зараженность свиней, соответственно – 7,16%, 29,75%, 27,37%, 38,38%, 16,85%, 40,74% (Панин А Н, 2003), инфицированность лошадей в странах Европы - от 16,6% до 90,0%, в США – от 3 3% до 88,1% (Малахов Ю А и соавт., 2001), в Иране – 27,88% (Нажиколаети М R. е а, 2005)

В России лептоспироз регистрируется во всех регионах РФ у различных видов животных В целом в России заболеваемость, смертность и летальность КРС при лептоспирозе в 1990-1997 гг оставалась минимальной и составляла соответственно 2,82%, 0,15% и 5,25% (Малахов Ю А и др, 2000 №7 с 6-8) Однако инфицированность остается достаточно высокой и составляет, в среднем по стране (от числа исследованных животных), в последние 10 лет у крупного рогатого скота - 22-24%, овец и коз – 2,5-5%, свиней – 8-9%, лошадей – 20-22%, собак - 20-27% (Соболева Г Л, 2007, Концевая Н Н., 2007, Стеблева Г М и др., 2007 -С 61-62, Панин А Н, 2003, Белоусов В.И 2003)

В некоторых регионах у собак количество РМА с лептоспирами серогруппы *Canicola* достигает 93,4% (Куриленко А Н. и др, 2005) Прямым следствием увеличения заболеваемости собак лептоспирозом, вызываемым высокопатогенными штаммами лептоспир серогрупп *Icterohaemorrhagiae* и *Canicola* стал рост показателей заболеваемости и летальности населения в г Санкт-Петербурге в 1990-1999 гг (Стоянова Н А и др, 2006) Данная тенденция описана во многих странах мира, поэтому «каникулезный» лептоспироз относится к группе «возвращающихся» (re-emerging) инфекций (Ананьина Ю В, 2004, Moore G е а, 2006)

Диагноз на лептоспироз ставят комплексно на основании клинико-эпизоотологических, патологоанатомических данных и результатов лабораторного исследования (бактериологические и серологические исследования) К сожалению, в последние два десятилетия сложилась ситуация, когда лабораторными службами практически полностью прекращена бактериологическая диагностика лептоспироза людей и животных (Ананьина Ю В и соавт.,2007) и информация по этиологической структуре лептоспироза в регионах накапливается, в основном, на основании серологических исследований (Соболева Г Л.,2007, Калмыков М В и др ,2007)

Вопросы эпизоотологического и эпидемиологического надзора за лептоспирозами, в том числе защиты территорий различных стран от завоза новых серовариантов лептоспир, требуют не только возобновления бактериологических исследований, но и внедрения в практику ветеринарных и медицинских лабораторий новых методов обнаружения лептоспир, к числу которых относятся ПЦР и ИФА

Периодически происходящие изменения в характере эпизоотического и эпидемического процессов и спектре основных хозяев лептоспир обосновывают необходимость мониторинга за лептоспирозной инфекцией для разработки и совершенствования своевременных и адекватных профилактических мероприятий

Цель работы изучение эпизоотологических и эпидемиологических особенностей лептоспироза на примере г.Санкт-Петербурга и усовершенствование системы противолептоспирозных мероприятий в мегаполисе

Основные задачи исследования

- 1 На основании серологических исследований сыворотки крови животных в РМА определить уровень инфицированности и этиологическую структуру лептоспироза сельскохозяйственных животных, собак, кошек и диких животных из зоопарка и цирка на территории г Санкт-Петербурга, его пригородов и Ленинградской области
2. Определить степень распространения лептоспироза собак по районам города и сезонность в проявлении эпизоотического процесса

- 3 Сравнить этиологическую структуру лептоспироза у людей и животных и выявить взаимосвязь заболеваемости животных и людей.
- 4 Изучить возможность совершенствования лабораторной диагностики лептоспироза животных с применением ИФА и ПЦР
- 5 Усовершенствовать систему противолептоспирозных мероприятий в условиях мегаполиса

Научная новизна изучены степень распространения и этиологическая структура лептоспироза у с-х животных, собак и кошек в условиях г Санкт-Петербурга и Ленинградской области Снят учебный видеофильм по учету реакции микроагглютинации при серологической диагностике лептоспироза

В ретроспективном плане выявлены эпизоотологические и эпидемиологические особенности проявления лептоспирозной инфекции (цикличность проявления этиологической структуры лептоспироза животных и людей, относительный характер гостальной специфичности возбудителей лептоспироза, в частности *L Canicola* и *L Icterohaemorrhagiae*, высокий удельный вес иктерогеморрагического и каникулезного лептоспироза в общей структуре заболеваемости людей)

Установлено, что медицинские диагностические системы «Лептоспироз-ИФА-IgG» и «Лептоспироз-ИФА-IgA» (производство ООО «Омникс», г Санкт-Петербург) улавливают только IgG в гипериммунных сыворотках от животных с очень высокими титрами антител (1 64000 и 1 32000) к лептоспирам серогрупп *Canicola*, *Icterohaemorrhagiae*, *Tarassovi*, *Grippotyphosa*, *Sejroe* Установлена сходимость результатов экспресс-тест-системы ИФА «Canine Leptospira», входящей в диагностический тест «ИммуноКомб» (г Санкт-Петербург) и классического метода РМА для экспресс-диагностики лептоспироза собак Предложен способ подготовки проб окружающей среды (сточной воды, подстилки, почвы) к анализу тест-системой ПЦР-НАРВАК для обнаружения ДНК патогенных лептоспир Предложена система мер по профилактике лептоспироза собак, кошек, лошадей и профилактике заражения людей в мегаполисе

Практическая значимость работы: разработаны и апробированы методические рекомендации для ветеринарных врачей «Лабораторная диагностика

лептоспироза животных». - СПб, 2007 (одобрены и рекомендованы методическим советом ФГОУ ВПО «СПбГАВМ») и «Эпизоотология и эпидемиология лептоспироза» - СПб, 2008 (одобрены и рекомендованы методическим советом ФГОУ ВПО «СПбГАВМ»)

Внедрение результатов исследований

Результаты исследований внедрены в учебный процесс пяти кафедр ФГОУ ВПО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины», кафедры общей и военной эпизоотологии Военно-медицинской академии им С М Кирова (г Санкт-Петербург), и научную работу лаборатории зооантропонозных инфекций Санкт-Петербургского НИИ эпизоотологии и микробиологии имени Пастера

Основные положения, выносимые на защиту:

1 Уровень инфицированности и этиологическая структура лептоспироза у с.-х и домашних животных в Санкт-Петербурге и Ленинградской области, учебный видеофильм по постановке и учету РМА

2. Патологоанатомические и патологоморфологические изменения при лептоспирозе у собак

3 Результаты очистки биологическим методом контаминированной культуры лептоспир, индикация и идентификация чистой культуры

4. Апробация диагностических экспресс-тест-систем ИФА, постановка ПЦР для обнаружения лептоспир в био-, патматериале и пробах внешней среды

5 Эпизоотологические и эпидемиологические особенности проявления лептоспироза в мегаполисе Карта г Санкт-Петербурга с эпизоотической и эпидемической проекциями лептоспироза

6 Усовершенствование системы мер по профилактике лептоспироза у собак, кошек, лошадей и профилактике заражения людей в мегаполисе

Апробация работы. Материалы исследований представлены и обсуждены на 60-ой научной конференции молодых ученых и студентов СПбГАВМ (СПб, 2006г.), конференции Санкт-Петербургской АВВМ «БЕЛЫЕ НОЧИ-2006» (СПб, 2006г.), Московской международной научно-практической конференции по лептоспирозу «Диагностика, профилактика и лечение лептоспироза людей и

животных» (М,2007), Междунар научно-практич конгрессе «Актуальные проблемы ветеринарной медицины», 24-27 августа 2007 г (СПб), научной конференции профессорско-преподават состава, научных сотрудников и аспирантов ФГОУ ВПО «СПбГАВМ» (СПб, 2008), 4-ой Международной конференции «Идеи Пастера в борьбе с инфекциями», посвящ 85-летию Санкт-Петербургского НИИЭМ имени Пастера и 120-летию Парижского ин-та Пастера (СПб, 2-4 июня 2008)

Объем и структура диссертации работа состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов собственных исследований, выводов, практических предложений, списка литературы и приложений Работа изложена на 173 страницах, иллюстрирована 30 таблицами, 22 рисунками, 4 картами Список использованной литературы включает 280 наименований, из них 68 - иностранных авторов

2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Материалы и методы исследований

Работу проводили в 2005-2008гг на кафедре эпизоотологии им.В П Урбана ФГОУ ВПО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины» В работе использован комплексный эпизоотологический метод и карта эпизоотологического обследования, разработанная на кафедре эпизоотологии СПбГАВМ Картографирование особенностей эпизоотического процесса при лептоспирозе собак проводили по общепринятым методикам.

Для изучения эпизоотической ситуации (в г Санкт-Петербурге, его пригородах, Ленинградской области) и выявления эпизоотологических особенностей лептоспироза среди крупного и мелкого рогатого скота, свиней, лошадей, собак, кошек, диких животных из зоопарка и цирка были проанализированы собственные данные, полученные при эпизоотологическом обследовании эпизоотического очага лептоспироза, результаты исследования за 2005-2007гг сывороток крови животных в РМА, ИФА, проб крови, мочи, патологического материала и образцов почвы, воды, подстилки в ПЦР.

Отбор материала для исследований проводили в соответствии с “Методическими указаниями по лабораторной диагностике лептоспироза животных” (1975г), с ГОСТ 25386-91 и Инструкцией ГУВ МСХ РФ от 23.06.92 о мероприятиях по борьбе с лептоспирозом животных

Очистку контаминированных диагностических штаммов *L. Tarassovi* и *L. Canicola*, предназначенных для постановки РМА, проводили биологическим методом путём экспериментального заражения крольчат в возрасте 10 дней. Кровь из паренхиматозных органов после убоя животных засеивали в пробирки с модифицированной (без добавления солей) жидкой питательной средой ВГНКИ с сывороткой и витаминами - пропись по ГОСТ 25386-91. Суспензию из паренхиматозных органов исследовали в ПЦР в режиме real-time для индикации патогенных лептоспир. Типирование очищенных культур проводили в РМА

Для прижизненной диагностики лептоспироза у животных использовали клиническое обследование и методы лабораторной диагностики

- **микроскопирование мочи** в темном поле микроскопа проводили при увеличении 40x7-10 или 20x1,5-7

- **реакцию микроагглютинации** проводили по ГОСТ 25386-91 с диагностическими штаммами лептоспир 7 серогрупп (*Pomona*, *Grippityphosa*, *Hebdomadis*, *Icterohaemorrhagiae*, *Canicola*, *Tarassovi*, *Sejroe*) Агглютинацию лептоспир выявляли в темном поле микроскопа (увеличение 20x10 или 40x7)

- **иммуноферментный анализ**. Испытаны две диагностические тест-системы на основе ИФА для экспресс-диагностики лептоспироза у собак 1)набор «Canine Leptospira»- «ImmunoComb» (производство NTM-Новые Медицинские Технологии, г.Санкт-Петербург), который представляет собой вариант ELISE для выявления антител IgG к *L. Icterohaemorrhagiae*, *L. Canicola*, *L. Sejroe* качественным методом. Учет результата проводили по сравнению результатов теста по цветовой шкале с контролями; оценку результатов - по интенсивности окрашивания образца с положительным контролем. Чувствительность метода составляет 99,5%, специфичность – 100%

2) медицинские диагностические системы «KS-030 Лептоспироз-ИФА-IgA и

IgG» (производство ООО «Омникс», г Санкт-Петербург) для обнаружения иммуноглобулинов класса G и A к возбудителям лептоспироза в сыворотке крови человека с использованием рекомбинантных антигенов. Учет результатов производили путем измерения оптической плотности (ОП) на спектрофотометре при длине волны 450 нм в течение 10 мин.

ОП_{крит} рассчитывают по формуле

$$\text{ОП}_{\text{крит}} = \text{ОП К-ср} + 0,2$$

Коэффициент серопозитивности (КС) сыворотки рассчитывают по формуле

$$\text{КС} = \frac{\text{ОП исследуемой сыворотки}}{\text{ОП}_{\text{крит}}}$$

Полуколичественная оценка результатов для интерпретации динамики иммунного ответа проводится путем сравнения парных значений КС сывороток пациента, собранных с интервалом 1-2 нед

- полимеразно-цепную реакцию. Испытание тест-систем ПЦР (фирмы «НПО НАРВАК», «Биоком» и «Лагис» и ГУ НИИЭМ им Н.Ф.Гамалея РАМН, г Москва) проводили в образцах крови и мочи животных, а также в патматериале и объектах окружающей среды. Результаты амплификации с набором «НПО НАРВАК» учитывали методом электрофореза ДНК в агарозном геле в ультрафиолетовом свете с длиной волны 254 нм на приборе «Трансиллюминатор» (Нечаев А Ю и др, 2006; Сухинин А А и др, 2006), с медицинской тест-системой ПЦР ГУ НИИЭМ им.Н.Ф.Гамалея - в режиме real-time

При посмертной диагностике производили патологоанатомическое вскрытие собаки и отбор патматериала (печень и почки). Для приготовления гистологических срезов готовили пробы печени и почек (2×2 см), фиксировали в течение одних суток в 10%-ном растворе формалина, приготовленном на фосфатном буфере рН 7,2-7,4, затем вырезали кусочки (1,5×1×0,5см) и помещали в свежий раствор такого же фиксатора еще на 1-2 суток. Проводили обезвоживание, заливку в парафин и готовили срезы толщиной 3-5 мкм по общепринятой методике.

При выполнении экспериментов в период 2005 - 2007гг. обследован

эпизоотический очаг лептоспироза в черте г Санкт-Петербурга (ФГУ ИЗ 47/ 6) В серологических исследованиях в РМА использованы пробы сывороток крови от 7210 животных, в том числе от 1863 – сельскохозяйственных, 69 - от диких животных из зоопарка и цирка, 4913 – от собак, 342 – от кошек, 23 – от лабораторных крыс В ИФА исследовано 16 сывороток животных, в ПЦР – 31 проба био- и патологического материала от животных и 10 проб объектов внешней среды В исследованиях по очистке загрязненных культур лептоспир биологическим методом использованы 5 крольчат в возрасте 10 дней

Статистическую обработку результатов исследований проводили по методике И П Ашмарина и А А Воробьева (1962) и с помощью электронных таблиц Microsoft Excel for Windows

3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1. Этиологическая структура лептоспироза с.-х. животных

Выявлена эпизоотологическая особенность лептоспироза животных - цикличность доминирующей серогруппы возбудителя В Ленинградской области в период с 1968г по 1985г преобладающими в этиологической структуре были *L Hebdomadis*, в 1984-86гг. – *L Grippotyphosa*, в 1987-1988гг – *L Icterohaemorrhagiae*, в 1988-1995гг. – *L Canicola*, в 1995-2002гг. – *L Sejroe*, в 2002-2006гг. по-прежнему преобладали лептоспиры серогруппы *Sejroe* (33,22%), но значение их довольно резко (в 2,07 раза) снижается и наблюдается постепенное увеличение в 1,66 раза числа РМА с лептоспирами серогруппы *Hebdomadis*

Установлена другая эпизоотологическая особенность лептоспироза – относительность гостальной специфичности возбудителей При лептоспирозе имеют место факты, когда кроме основных хозяев возбудителя (например, лептоспир серогруппы *Canicola* – собаки, лептоспир серогруппы *Icterohaemorrhagiae* – крысы) возможно вовлечение в эпизоотический процесс с.-х животных, которые играют роль дополнительных источников возбудителя инфекции Например, у крупного рогатого скота в Ленинградской области в 2002-2006гг наблюдали тенденцию к увеличению роли *L Canicola* 13,3 раза, у лошадей в

Ленинградской области и в пригородах г Санкт-Петербурга в 2005-2007гг отмечено возрастание роли *L Canicola* в 5,50 раз

3.2. Этиологическая структура лептоспироза диких животных

Инфицированность лептоспирами диких травоядных животных из зоопарка и цирка (тибетских яков, лам, пони, ослов) составляла, в среднем 11,59% от числа 69 исследованных животных. Лани, северные олени, маралы, обезьяны и хорьки были серонегативными в РМА. Видовой состав лептоспир у диких животных был представлен *L Icterohaemorrhagiae* и *L Pomona* с невысокими значениями титров антител (1:50-1:100). Инфицированность лабораторных белых крыс из вивария Института физиологии им И П Павлова составила 26,08%. Положительную монореакцию (РМА) у 6 лабораторных крыс (из числа 23 исследованных) обнаружили с лептоспирами только одной серогруппы - *Icterohaemorrhagiae* в титрах 1:80-1:320

3.3. Этиологическая структура лептоспироза собак и кошек

Средний уровень инфицированности собак в г.Санкт-Петербурге за период 1984г по 1995г составил 14,08%, в 2005-2007гг - 23,36%. У собак в мегаполисе также установлена цикличность этиологической структуры лептоспироза: в 1984 - 86гг. доминировали *L Grippotyphosa* (30,16%), в 1987-1988гг - *L Icterohaemorrhagiae* (60,41%), в 1990-1995гг - *L Canicola* (64,03%), в 2005-2007гг - *L Icterohaemorrhagiae* (60,94%). У собак в Ленинградской области в 2002-2006гг в этиологической структуре лептоспироза наблюдалась тенденция к снижению роли *L Icterohaemorrhagiae* в 8,92 раза и повышение роли *L Grippotyphosa* и *L Canicola*, соответственно в 3,14 и 1,36 раза. Инфицированность кошек в мегаполисе в 2005-2007гг. достигла, в среднем, 7,60% от числа исследованных животных; в РМА обнаружены антитела к *L Icterohaemorrhagiae* и *L Grippotyphosa*-по 37,29%, *L Tarassovi* (18,25%) и *L Pomona* (7,14%). Настороженность эпидемиологов НИИЭМ им Пастера вызывает высокий процент реакций у кошек с *L Icterohaemorrhagiae* и *L Grippotyphosa*, патогенными для человека (1:100 - 1:400).

3.4. Данные по распространению лептоспироза собак по административным районам г.Санкт-Петербурга

Результаты изучения распространенности лептоспироза собак по районам

г Санкт-Петербурга в 2005-2006гг. на основе эпизоотологического районирования и картографирования территории мегаполиса показали ее неравномерность по 17 административным районам. Высокий уровень инфицированности собак лептоспирозом (от $2,13\% \pm 0,40$ до $2,92\% \pm 0,39$) отмечался в основном в «спальных» районах мегаполиса, т е в районах с массовым выгулом животных и большим количеством водоемов) Низкие значения серопозитивности в РМА зарегистрированы у собак в пригородной зоне: от $0,71\% \pm 0,19$ до $0,79\% \pm 0,22$ и в Центральном районе города ($0,67\% \pm 0,20$).

3.5. Сезонность в проявлении эпизоотического процесса при лептоспирозе собак

Установлено, что за анализируемый период времени 1992-1995гг. и 2005-2006гг. инфицированные лептоспирами животные выявлялись в г Санкт-Петербурге круглогодично. За исследуемый 6-летний период максимальное количество серопозитивных в РМА собак на территории мегаполиса выявлено в осенний период года (10,93%), минимальное – летом (6,73%), промежуточное положение занимал зимне-весенний период (7,78-7,89%)

3.6. Патологоанатомическая и патологоморфологическая картина при лептоспирозе собак

При патологоанатомическом вскрытии трупа собаки породы курцхаар, проведенном на каф патологической анатомии ФГОУ ВПО «СПбГАВМ», установлено при внешнем осмотре – желтушность кожных покровов и слизистых оболочек, анемия, истощение. При внутреннем осмотре – отек легких, кровоизлияния под легочной плеврой, в слизистой оболочке желудка – множественные мелкие кровоизлияния, острый нефрозо-нефрит, отложение солей кальция под реберной плеврой и в эндокарде, увеличение печени, кровоизлияния под капсулой.

В результате гистологического исследования патологического материала от данного трупа, проведенного на каф гистологии ФГОУ ВПО «СПбГАВМ», выявили в почках - зернистую, вакуольную дистрофию и некроз эпителия канальцев (некротический нефроз), в клубочках – геморрагический гломерулонефрит; в печени - очаговую токсическую дистрофию; исчезновение балочного

строения и некроз гепатоцитов.

3.7. Биологический метод очистки культур лептоспир

При очистке биологическим методом контаминированных культур диагностических штаммов лептоспир чистые культуры были выделены на модифицированной жидкой питательной среде ВГНКИ. *L. Canicola* – на 10-11-ый, а *L. Tarassovi* – на 14-15-ый дни культивирования в виде единичных морфологически типичных клеток

3.8. Иммуноферментный метод

Испытание на собаках двух медицинских иммуноферментные диагностические системы «Лептоспироз-ИФА-IgG» и «Лептоспироз-ИФА-IgA» показало, что первая из них улавливает только IgG в гипериммунных сыворотках от животных только с очень высокими (1 64000 и 1 32000) титрами антител к лептоспирам серогрупп *Canicola*, *Icterohaemorrhagiae*, *Tarassovi*, *Grippotiphosa*, *Sejroe* Тест-система «Лептоспироз-ИФА-IgA» не улавливала IgA даже в гипериммунных сыворотках от животных с очень высокими (1.64000 и 1:32000) титрами антител к лептоспирам данных серогрупп Апробация обеих тест-систем выявила, что они не улавливают IgG и IgA в сыворотках крови собак, содержащих *L. Icterohaemorrhagiae* и *L. Canicola* с титрами антител 1 100-1 800

С набором «Canine Leptospira Ab Test Kit» в тест-системе «Immunocomb» были протестированы сыворотки крови собак, исследованных ранее в РМА (с титрами антител 1 100 – 1 400) к *L. Icterohaemorrhagiae* и *L. Canicola*, а также отрицательные сыворотки крови собак Установлена сходимость в 100% случаев положительных и отрицательных результатов классического метода РМА и испытуемой тест-системы

3.9. Полимеразно-цепная реакция

Всего в тест-системах «НПО НАРВАК», «Биоком» и «Лагис» с помощью метода электрофореза ДНК в агарозном геле в 2006г. в ПЦР была исследована 31 проба от собак, белок и серых крыс (сыворотка крови, моча, почки, печень, селезенка), из них 8 проб (25,81%) оказались положительными, что свидетельствует об инфицированности животных патогенными лептоспирами. Из

10 образцов окружающей среды (почва с площадки для выгула собак, сточная вода, подстилка из свинарников) позитивными в ПЦР оказались 3 пробы (30,00%), что свидетельствует о возможности лептоспир существовать в неживых объектах. Суспензию сердца, почек и печени крольчонка, экспериментально зараженного культурой *L Tarassovi*, исследовали с набором ГУ НИИЭМ им Н Ф Гамалея РАМН (г Москва) с положительным результатом в ПЦР в режиме real-time.

3.10. Эпидемиологические особенности лептоспироза в г. Санкт-Петербурге

Сельскохозяйственные животные в пригородах Санкт-Петербурга в настоящее время не имеют большого эпидемиологического значения и являются источником инфекции только для 6,2% заболевших людей. В 58,0% случаев источником лептоспир являются серые крысы, в 10,0% – собаки и в 6,0% – дикие мелкие млекопитающие. Инфицированность серых крыс достигает 16,0%. В этиологии лептоспироза у собак произошло увеличение доли *L Icterohaemorrhagiae* до 65,2%. Собаки, наряду с серыми крысами, стали дополнительным источником наиболее опасных для человека *L Icterohaemorrhagiae*, а также *L Canicola*. Выявлен высокий процент инфицированности у кошек (10,3%), антитела в РМА обнаружены к *L Icterohaemorrhagiae* и *L Grippotyphosa* в титрах 1.100 – 1.400 и у лошадей (48,19%) в титрах 1 100 – 1 400. Инфицированные лошади были выявлены в частных конюшнях и конно-спортивных комплексах мегаполиса, что делает эти объекты эпидемиологически значимыми.

Этиологическая структура лептоспироза у больных людей в г. Санкт-Петербурге представлена *L Icterohaemorrhagiae* (64,8%), *L Canicola* (23,2%) и *L Grippotyphosa* (5,0%). В заболеваемости людей (также как и животных), наблюдается периодическая смена этиологической структуры возбудителя (цикличность). Так, в Санкт-Петербурге в 1948-1953 г.г у больных людей преобладали лептоспиры серогрупп *Icterohaemorrhagiae*, в 1954-1966 г.г - *Pomona* и *Tarassovi*, в 1970-1980-е годы - *Sejroe*, в 1988-2005 г.г. – *Icterohaemorrhagiae*, *Canicola*, *Grippotyphosa*.

В мегаполисе увеличилось (до 35,8%), количество больных с профессиональным риском инфицирования, в т.ч. работников жилищно-

коммунального хозяйства, рынков, складов, и т д , а также лиц без определённого места жительства, доля которых среди заболевших составляет 18,0% . Основной источник инфекции для этих категорий заболевших – серые крысы

В Санкт-Петербурге в последние два десятилетия установлены значительные колебания уровня заболеваемости людей лептоспирозом - от 0,03 до 3,3 ‰, который постоянно превышает таковой по России (за последние 10 лет – 1,2 и 1,0 на 100 тыс. населения, соответственно) Подъем заболеваемости лептоспирозом в г.Санкт-Петербурге в последние 20 лет обусловлен наличием активных очагов инфекции, сформировавшихся среди серых крыс и невакцинированных собак, наличие которых подтвердило картографическое моделирование

3.11. Система профилактических мер при лептоспирозе животных

Предложена система мер по профилактике лептоспироза у собак, кошек, лошадей и профилактике заражения людей в мегаполисе Однако проблема лептоспирозной инфекции в условиях г Санкт-Петербурга остается до конца не решенной и требует изучения как со стороны ветеринарной, так и медицинской служб

4. В Ы ВО Д Ы

1. Инфицированность в пригородах Санкт-Петербурга в 2005-2007 гг составляла, в среднем у КРС - 13,22%, свиней -15,65%, МРС - 7,97%, лошадей - 48,19%, в Ленинградской области, соответственно 23,20%, 23,68%, 11,12%, 43,24% от числа исследованных животных, Инфицированность собак в г Санкт-Петербурге за этот период достигала, в среднем, 23,36%, кошек - 7,60%, диких животных из зоопарка и цирка – 11,60% от числа исследованных животных

В пригородах Санкт-Петербурга в 2005-2007гг в этиологической структуре доминировали у крупного рогатого скота - *L Potomona* (34,48%), *L Grippotyphosa* (29,50%) и *L Icterohaemorrhagiae* (21,45%), у свиней - *L Icterohaemorrhagiae* и *L Canicola* (по 38,89%), у лошадей - *L Icterohaemorrhagiae* (41,73%), *L Tarassovi* (16,89%), у мелкого рогатого скота - *L Icterohaemorrhagiae* (50,57%) и *L Grippotyphosa* (15,34%) У собак в г Санкт-Петербурге в 2005-2007гг

преобладали *L Icterohaemorrhagiae* (60,94%), *Canicola* (23,22%), у кошек - *Icterohaemorrhagiae* и *Grippytyphosa* (по 37,29%), *Tarassovi* (18,25%)

Установлена цикличность в смене доминирующих серогрупп лептоспир у КРС в Ленинградской области в 1968-2006гг. На примере КРС и лошадей подтвержден относительный характер гостальной специфичности лептоспир

2 Эпизоотологическое районирование и картографирование территории мегаполиса показали неравномерность частоты выявления серопозитивных в РМА собак по районам г Санкт-Петербурга в 2005-2006гг. Максимальный уровень инфицирования собак лептоспирозом в г Санкт-Петербурга зарегистрирован в Приморском (2,92%±0,39), минимальный - в Петроградском (0,38%±0,18) и Адмиралтейском (0,25%±0,12) районах

Течение эпизоотического процесса при лептоспирозе собак в г.Санкт-Петербурге отличается круглогодичным проявлением с увеличением числа серопозитивных животных в осенне-зимне-весенний периоды года

3 Медицинские диагностические системы «Лептоспироз-ИФА-IgG» и «Лептоспироз-ИФА-IgA» не улавливают IgG и IgA в сыворотках крови собак, содержащих *L Icterohaemorrhagiae* и *L Canicola* с титрами антител 1 100-1 800 Установлена сходимость в 100% случаев положительных и отрицательных результатов классического метода РМА и тест-системы «Canine Leptospira Ab Test Kit»-«Immuposomb» для экспресс-диагностики лептоспироза собак

В ПЦР выявлено наличие патогенных лептоспир в патологическом материале от собак и серых крыс (25,81%) и пробах окружающей среды (30,00%)

4. Показатели заболеваемости лептоспирозом в г Санкт-Петербурге постоянно превышают таковые по России (за последние 10 лет – 1,2 и 1,0 на 100 тыс населения, соответственно) Этиологическая структура лептоспироза у больных людей представлена *L Icterohaemorrhagiae* - 64,8%, *L Canicola* -23,2% и *L Grippytyphosa* - 5,0% Источником лептоспир для людей являются серые крысы - 58,0%, собаки - 10,0%, с-х. животные - 6,2%, дикие мелкие млекопитающие - 6,0% Собаки наряду с серыми крысами стали дополнительным источником *L Icterohaemorrhagiae*, а домашние кошки и лошади соответственно - *L Icterohaemorrhagiae* и

L. Grippotyphosa, наиболее опасных для человека

Заболееваемость лептоспирозом в городе носит спорадический характер. Наибольшее число случаев регистрируется с июля по октябрь. Болеют, в основном, люди активного трудоспособного возраста от 20 до 60 лет (83,4%), мужчины чаще женщин в 1,2 раза.

5. Предложены система мер по профилактике лептоспироза у собак, кошек, лошадей и профилактике заражения людей в мегаполисе.

5 ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

1. Запрещать поступление в питомники и конюшни и продажу без лабораторного обследования на лептоспироз собак, кошек, лошадей, карантинировать всех вновь поступающих животных на срок не менее 30 дней.

2. Тест-систему «Canine Leptospira Ab Test Kit»-«Immunocomb» рекомендовать практикующим ветеринарным врачам в частных клиниках для экспресс-диагностики лептоспироза у собак.

3. Фермерам и частным владельцам скота вакцинировать не только с-х животных, но и личных собак, контактирующих с животными, а также регулярно проводить дератизацию.

4. На объектах, эпидемиологически значимых по лептоспирозу лошадей (частных конюшнях, конно-спортивных комплексах, ипподромах), рекомендовать обязательную вакцинацию обслуживающего персонала.

5. Предприятиям биологической промышленности рекомендуется начать работу по созданию противолептоспирозной вакцины для кошек и в ее состав ввести антигены лептоспир серогрупп *Icterohaemorrhagiae*, *Grippotyphosa*, *Tarassovi* и *Pomona*, при производстве противолептоспирозной вакцины для людей рекомендуется ввести антигены лептоспир серогрупп *L. Canicola*.

6. Разработаны методические рекомендации: «Лабораторная диагностика лептоспироза животных», СПб, 2007, «Эпизоотология и эпидемиология лептоспироза», СПб, 2008.

7. Материалы, изложенные в диссертации, используются в учебном процессе ФГОУ ВПО «СПб ГВМ», ВМедА им.С.М Кирова (г Санкт-Петербург), в

научной работе лаборатории зооантропонозных инфекций Санкт-Петербургского НИИЭМ имени Пастера

Список основных работ, опубликованных по теме диссертации

Статьи в журналах ВАК

1 Басель Бадра Иммунологический скрининг лептоспироза собак в Санкт-Петербурге в реакции микроагглютинации за период 1988-2006 г г / Басель Бадра, А В Святковский, Т.Б Кузина //Ветеринарная Практика -СПб ,2006.-№2(33) - С 10-15.

2. Святковский А В. Выявление этиологической структуры лептоспироза животных в Санкт-Петербурге / А В Святковский, Басель Бадра, В А.Кузьмин // Ветеринарная Практика -СПб ,2007-№ 4(39) - С 15-22

Материалы конференций и тезисы

3 Басель Бадра Случай лептоспироза у собаки породы курцхаар // Матер 60-й науч конф молодых ученых и студентов СПбГАВМ -СПб,2006 -С.14-15

4 Кудряшов А А. Патогенез, патоморфологические изменения в органах и тканях при лептоспирозе собак/ А А Кудряшов, А.В Святковский, Басель Бадра // Вестн №2 СПБАВМ. Матер конф. «БЕЛЫЕ НОЧИ-2006» -2006.-С.66-73.

5 Кузьмина О Г Преимущества метода ПЦР при диагностике лептоспироза/ О Г Кузьмина, Басель Бадра // Междун науч -практ конгр.-СПб, 28-29 августа 2006 г - СПб,2006 - С 137-140

6 Басель Бадра Роль серых крыс *Ratus norvegicus* в заражении человека лептоспирозом / Басель Бадра, А В Святковский, Т Б Кузина // Сб науч трудов СПбГАВМ №138 -СПб,2006 -С 12-15

7 Святковский А.В. К вопросу о передаче возбудителя лептоспироза в эпизоотическом очаге / А В.Святковский, Басель Бадра, В А Кузьмин // Матер Всерос науч -практ конф -Чебоксары, 2006 - С 193-195.

8. Басель Бадра Некоторые эпизоотические и эпидемические аспекты лептоспироза / Басель Бадра, А В Святковский, В.А Кузьмин, П И Огарков и

др //Труды II съезда военных врачей ВС РФ ВМедА им.С.М. Кирова.-СПб, 2006 г -
С 157-158

9 Стоянова Н А Эпизоотическая ситуация по лептоспирозу и ее
эпидемические проявления в условиях Санкт-Петербурга / Н.А Стоянова, Басель
Бадра, Н.К.Токаревич и др // Матер Москов науч.-практ конф по лептоспирозу -
М,2007. – С 62-63

10 Кузьмин В А Эпизоотическая ситуация по лептоспирозу
сельскохозяйственных и домашних животных и её эпидемические проявления в
Санкт-Петербурге / В.А.Кузьмин, Басель Бадра, А В Святковский, Т Б Кузина
//Вест. №3 СПБАВВМ· Матер конф «БЕЛЫЕ НОЧИ-2006» -СПб,2007 -С 28-34.

11 Бадра Басель Распространение лептоспироза среди людей и крупного
рогатого скота в странах Азии и Африки // Тез. 4-й междуна конф /СПб НИИЭМ
имени Пастера - СПб,2008 - С 87

12 Бадра Басель Распространение лептоспироза среди мелкого рогатого
скота, свиней и лошадей в странах Азии и Африки //Там же - С 88

13 Бадра Басель Этиологическая структура лептоспироза у собак, кошек и
грызунов в странах Азии и Африки //Там же - С 87

14. Стоянова Н А. Источники лептоспирозной инфекции в Санкт-Петербур-
ге и их эпидемиологическое значение / Стоянова Н А., Бадра Басель, Токаревич
Н К , Кузьмин В А. и др //Там же – С.112.

Отпечатано средствами оперативной полиграфии
в ООО “Элексис Принт”

Санкт-Петербург, ул Моисеенко, 10

Формат 60x84 1/16 Тираж 100 экз