

ИНФЕКЦИОННЫЕ БОЛЕЗНИ И ИММУНОЛОГИЯ ЖИВОТНЫХ / INFECTIOUS DISEASES AND ANIMAL IMMUNOLOGY

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2022.123.17>

ЭПИЗООТОЛОГИЧЕСКИЙ И ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ ПО ТОКСОПЛАЗМОЗУ В РЯЗАНСКОЙ ОБЛАСТИ

Научная статья

Назарова С.А.¹, Новак М.Д.²*

¹ORCID : 0000-0003-0044-0084;

²ORCID : 0000-0002-1421-0039;

¹ Россельхознадзор, Рязань, Российская Федерация

² Рязанский государственный медицинский университет, Рязань, Российская Федерация

* Корреспондирующий автор (peace100[at]mail.ru)

Аннотация

Выполнены комплексные серологические, микробиологические и патоморфологические исследования на токсоплазмоз в Рязанской области. С помощью РНГА (реакции непрямой гемагглютинации) и ИХМ (иммунохроматографического метода) исследованы сыворотки крови крупного рогатого скота и свиней. Первый метод использовали для тестирования на антитела, а второй – на антигены *Toxoplasma gondii*. ИХМ применяли также в рамках сероэпидемиологического мониторинга на токсоплазмоз.

Для выяснения циркуляции возбудителя токсоплазмоза в природном очаге (территория Окского государственного биосферного заповедника) проводили микроскопические и иммунопатоморфологические исследования мазков-отпечатков из головного мозга, паренхиматозных органов и лимфатических узлов мышевидных грызунов.

Иммунные токсоплазменные сыворотки для разных вариантов ИХМ и РНГА получали путем гипериммунизации кроликов по разработанной схеме с использованием неполного адьюванта Фрейнда.

Основные задачи работы: получение сывороток крови от животных из потенциально неблагополучных по токсоплазмозу хозяйств; разработка токсоплазменных иммунореагентов для ИХМ; сероэпизоотологический и сероэпидемиологический мониторинг на токсоплазмоз; определение значения мышевидных грызунов в циркуляции токсоплазм и природной очаговости токсоплазмоза в эпизоотическом и эпидемическом процессе на территории Окского государственного биосферного заповедника.

Полученные диагностические препараты, экспресс - тест ИХМ могут быть использованы при проведении ветеринарно-санитарной экспертизы туш и органов животных на мясоперерабатывающих предприятиях Российской Федерации в порядке выборочных исследований на токсоплазмоз, а также для тестирования на антигены *Toxoplasma gondii* людей.

Ключевые слова: токсоплазмоз, человек (люди), крупный рогатый скот, свиньи, мышевидные грызуны, антигены, иммунные сыворотки, экспресс-тест ИХМ, РНГА.

EPIZOOTOLOGICAL AND EPIDEMIOLOGICAL MONITORING OF TOXOPLASMOSIS IN THE RYAZAN OBLAST

Research article

Nazarova S.A.¹, Novak M.D.²*

¹ORCID : 0000-0003-0044-0084;

²ORCID : 0000-0002-1421-0039;

¹ Rosselkhoz nadzor, Ryazan, Russian Federation

² Ryazan State Medical University, Ryazan, Russian Federation

* Corresponding author (peace100[at]mail.ru)

Abstract

Complex serological, microbiological and pathomorphological studies for toxoplasmosis in the Ryazan Oblast were carried out. Blood serum of cattle and pigs were examined using HAI (indirect hemagglutination reaction) and LFT (immunochromatographic method). The first method was used to test for antibodies and the second for *Toxoplasma gondii* antigens. LFT was also used as part of seroepidemiological monitoring for toxoplasmosis.

Microscopic and immunopathomorphological studies of touch smear from the brain, parenchymatous organs and lymph nodes of mouse rodents were conducted to determine the circulation of the toxoplasmosis pathogen in the natural center (territory of the Oka State Biosphere Reserve).

Immune toxoplasmic serum for different variants of LFT and HAI were obtained by hyperimmunization of rabbits according to the developed scheme using incomplete Freund's adjuvant.

Main work objectives: obtaining blood serum from animals from potentially toxoplasmosis-prone farms; developing toxoplasmic immunoreagents for LFT; seroepizootological and seroepidemiological monitoring for toxoplasmosis; determining the significance of rodents in the circulation of toxoplasmosis and the natural occurrence of toxoplasmosis in the epizootic and epidemic process in the territory of the Oka State Biosphere Reserve.

The obtained diagnostic drugs, LFT rapid test can be used in veterinary and sanitary examination of carcasses and organs of animals at meat processing plants of the Russian Federation in the order of selective research for toxoplasmosis, as well as for testing for human *Toxoplasma gondii* antigens.

Keywords: toxoplasmosis, human (humans), cattle, pigs, rodents, antigens, immune serum, LFT rapid test, HAI.

Введение

Токсоплазмоз распространен среди животных и людей на всех континентах [14]. Токсоплазмы обнаружены более чем у 250 видов млекопитающих и у многих видов птиц.

Коэффициент заболеваемости токсоплазмозом составляет 1,2 на 100 тыс. населения [4]. В разных странах мира инвазированы токсоплазмами или серопозитивны на токсоплазмоз от 1,5–3% до 40–70% населения, а в различных регионах Российской Федерации - 15–30% [6], [8], [11]. При клиническом, инструментальном исследовании устанавливают преимущественно латентную и субклиническую формы заболевания. В редких случаях токсоплазмоз проявляется пневмонией, лимфаденитами, хориоретинитом и другой патологией органов зрения. Потенциально у 1/5 женщин с положительными результатами серологических исследований отмечаются аборт, мертворождения в разные сроки беременности. По данным неонатальных центров среди новорожденных частыми симптомами токсоплазмоза являются менингоэнцефалит и гидроцефалия [11].

Несмотря на широко известные данные о кошке, как преобладающем источнике возбудителя токсоплазмоза, в большинстве случаев заражение диких и домашних плотоядных, кабанов, свиней и мышевидных грызунов, хищных птиц происходит при хищничестве и каннибализме. Кроме того, почти все виды диких и сельскохозяйственных животных могут инвазироваться токсоплазмами внутриутробно (через плаценту) [1], [3], [5], [12]. Человек заражается при наличии в рационе мясных продуктов без их предварительного надежного обезвреживания. Особую опасность представляет мясо овец (70-80%), свиней (25-42%) и крупного рогатого скота (25%) [6]. В Центральном районе России зараженность крупного рогатого скота токсоплазмами составляет от 1,2 до 18-25% [12], [13]. Диагностика токсоплазмоза животных в условиях хозяйств, крупных МПП, мясокомбинатов и боен на постоянной основе не проводится, что способствует возрастанию уровня эпизоотического и эпидемического процесса [7], [9]. Большое значение в потенциальном неблагополучии по токсоплазмозу животноводческих предприятий имеют многочисленные природные очаги болезни со свойственной для них циркуляцией *Toxoplasma gondii* в популяциях мышевидных грызунов [3], [10]. При анализе эпизоотической и эпидемической ситуации следует учитывать уровень ветеринарно-санитарных, санитарно-гигиенических и карантинно-ограничительных мероприятий.

Важным этапом в комплексе профилактических и оздоровительных мероприятий при токсоплазмозе является диагностика. Наиболее перспективны для выявления острой формы заболевания такие высокоспецифичные, чувствительные тесты, как иммунохромато-графический метод (ИХМ), его экспресс вариант. Для ретроспективной диагностики и выявления токсоплазменных антител при латентной, субклинической и хронической формах токсоплазмоза, следует применять РСК, РНГА, НРИФ и ИФА [2], [6], [9, С. 482], [10, С. 447].

Методы и принципы исследования

Научно-производственная работа выполнена на кафедрах эпизоотологии ФГБОУ ВО РГАУ и микробиологии ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России.

В исследованиях использованы следующие методы: серологические (реакция непрямой гемагглютинации - РНГА, иммунохроматографический - ИХМ), микробиологические и патоморфологические. Методики поведения общепринятые.

В реакции непрямой гемагглютинации (РНГА) применяли диагностические препараты собственного изготовления (эритроциты барана, сенсibilизированные комплексным антигеном токсоплазм по Вайнбаху). Специфичность и чувствительность разработанных антигенных иммунореагентов устанавливали в РНГА путем скрининга с пулом сывороток крови крупного рогатого скота, зараженного саркоцистами – близкородственными к токсоплазмам, и от кроликов, иммунизированных антигенами пролиферативных стадий *Toxoplasma gondii*.

Крупный рогатый скот и свиней из разных районов, хозяйств Рязанской области тестировали на токсоплазмоз в РНГА (на антитела) и в ИХМ (на антигены), используя в качестве позитивного контроля иммунные сыворотки кроликов и комплексный токсоплазменный антиген. На территории Окского государственного биосферного заповедника при исследовании мышевидных грызунов с помощью ИХМ антигены токсоплазм обнаруживали в суспензиях из гомогенатов головного мозга, селезенки, печени и лимфатических узлов с предварительной фильтрацией. Мазки-отпечатки из вышеперечисленных органов и тканей приготавливали на обработанных спирт-эфиром предметных стеклах, фиксировали 96% этиловым спиртом, окрашивали азур-эозином по Романовскому и микроскопировали с использованием иммерсионной системы (ок. 10 х об. 90).

Имунохроматографический метод в экспресс-варианте осуществляли с использованием сывороток крови кроликов, иммунизированных комплексным (мембрано-цитоплазменным) антигеном *Toxoplasma gondii*.

Основные компоненты ИХМ:

блоттинг - мембрана Bio-Rad с высоким показателем плотности нитроцеллюлозы;

раствор метиленового синего на ФСБ (рН=7,2-7,4) 1:5;

гипериммунная токсоплазменная кроличья сыворотка с титром антител в РНГА 1: 1600;

негативные кроличьи сыворотки;

исследуемые сыворотки крови крупного рогатого скота и свиней;

образцы органов и тканей мышевидных грызунов.

Оценку (визуализацию) ИХМ осуществляли через 2-3 минуты с момента точечного нанесения последнего компонента. В положительных случаях наблюдали появление двух параллельно расположенных темно-синих полос, соответствующих белковому спектру *Toxoplasma gondii*, а в контрольной зоне и при исследовании отрицательных на

токсоплазмоз сывороток крови животных, человека, а также образцов органов и тканей грызунов – равномерный светло-голубой фон. Для определения чувствительности ИХМ экспресс-теста положительные сыворотки крови тестировали в РНГА с токсоплазменными диагностикумами.

Основные результаты

Проведены серологические исследования крупного рогатого скота и свиней на спонтанную зараженность *Toxoplasma gondii* и *Sarcocystis* при помощи реакции непрямой гемагглютинации. Специфичность РНГА определяли, используя эритроцитарные диагностикумы, полученные на основе токсоплазменных и саркоцистных антигенов.

Результаты исследований на токсоплазмоз с помощью РНГА показали, что титр антител 1:20 - 1:40 не может рассматриваться как диагностический, достоверны показатели 1:80 - 1:160 и выше. В выполненных опытах перекрестные иммунологические реакции между *Toxoplasma gondii* (S – иммунная сыворотка, титр 1:2560) и *Sarcocystis* (Ag - антиген) выявлены в титрах 1:40 – 1:80. Исходя из полученных результатов, при проведении сероэпизоотологических исследований в хозяйствах Рязанской области антитела к *Toxoplasma gondii* установлены в РНГА у 19 % крупного рогатого скота и 37,5 % свиней. Максимальные показатели серопозитивности отмечены у свиноматок 3-4 лет и подсвинков на откорме. Хряки 2-4 лет, поросята в группах дорастивания и ремонтные свинки 6-12 мес. положительны в РНГА соответственно на 18, 34 и 37,5 %.

В 12 случаях отсутствие специфической агглютинации в разведениях сывороток крови животных от 1:40 до 1:320 объясняется торможением вследствие блокирования активных антигенных рецепторов на эритроцитах токсоплазменными циркулирующими иммунными комплексами (ЦИК) с последующим прекращением этого эффекта в больших разведениях – 1:640 – 1:1280, 1:2560. Полученные данные подтверждают реактивацию латентной формы токсоплазмоза у свиней и крупного рогатого скота, что обусловлено иммунодефицитным состоянием и наличием в крови трофозоитов *Toxoplasma gondii*, антител к ним и специфических ЦИК. Рецидивы заболевания возникают при разрушении псевдоцист токсоплазм и циркуляции в крови тахизоитов, для которых свойственна высокая антигенная активность и вирулентность. Латентные формы и хроническое течение токсоплазмоза характеризуется невысоким уровнем антител (1:80-1:160).

Применение иммунохроматографического метода (ИХМ) в варианте экспресс-теста с целью обнаружения циркулирующих антигенов токсоплазм в сыворотках крови животных показали следующие результаты: свиньи – от 9,5 до 43%, крупный рогатый скот – от 13 до 26%. У свиноматок из условно неблагополучных по токсоплазмозу хозяйств часто регистрируются аборт, бесплодие, а у поросят в приплоде от серопозитивных животных отмечены случаи гермафродитизма.

Исследования с помощью ИХМ на антигены токсоплазм образцов органов и тканей мышевидных грызунов (желтогорлая мышь, малая лесная мышь, рыжая полевка), позволили установить положительные результаты в 31,5% случаев. У 23% микромаммалий обнаружены признаки гермафродитизма, что свойственно патологии токсоплазмозной этиологии.

Латентные формы токсоплазмоза в г. Рязани выявлены среди детей и юношей до 17 лет, а также у беременных женщин при скрининге в первом триместре беременности. При исследовании с помощью ИХМ экспресс-теста сывороток крови домохозяек в Рязанской области и студентов из стран северо-западной Африки, циркулирующие антигены токсоплазм обнаружены соответственно в 1,2 и 9 % случаев.

Заключение

Проведенный в Рязанской области мониторинг по токсоплазмозу позволил установить его широкое распространение. При снижении популяционного иммунитета заболевание протекает преимущественно в латентной форме, но редко наблюдаются случаи острого заболевания у людей и животных.

Имунохроматографический метод в виде экспресс-теста следует использовать для выявления антигенов токсоплазм в сыворотках крови людей, в тканях и органах убойных животных на мясоперерабатывающих предприятиях, в лабораториях ветеринарно-санитарной экспертизы, а также при проведении мониторинга в автохтонных природных очагах по результатам исследований мышевидных грызунов - резервуаров возбудителя токсоплазмоза. ИХМ экспресс-тест является информативным, эффективным методом диагностики токсоплазмоза.

Благодарности

Выражаем благодарность сотрудникам Окского государственного биосферного заповедника за предоставленные материалы для исследований.

Конфликт интересов

Не указан.

Рецензия

Все статьи проходят рецензирование. Но рецензент или автор статьи предпочли не публиковать рецензию к этой статье в открытом доступе. Рецензия может быть предоставлена компетентным органам по запросу.

Acknowledgement

The authors express their gratitude to the staff of the Oka State Biosphere Reserve for the materials provided for the research.

Conflict of Interest

None declared.

Review

All articles are peer-reviewed. But the reviewer or the author of the article chose not to publish a review of this article in the public domain. The review can be provided to the competent authorities upon request.

Список литературы / References

1. Беспалова Н.С. Значение домашних плотоядных в поддержании токсоплазмоза на территории Воронежской области / Н.С. Беспалова, Ю.И. Степкин, С.С. Катков // Ветеринарная патология. – 2016. – №3. – С. 17-23.

2. Беспалова Н.С. Сопоставимость разных методов диагностики токсоплазмоза плотоядных / Н.С. Беспалова, С.С. Катков // Молодой ученый. – 2016. – № 6. – С. 58-60.
3. Вершинин И.И. Токсоплазмоз кошек и собак / И.И. Вершинин, Н.В. Телятникова, В.И. Петренко // Ветеринарная клиника. – 2003. – № 1. – С.12.
4. Доронин-Доргелинский Е.А. Распространение токсоплазмоза и саркоцистоза у человека и животных, правовое регулирование организации и борьбы с ними / Е.А. Доронин-Доргелинский, Т.Н. Сивкова // Российский паразитологический журнал. – 2017. – Т. 39 – Вып. 1. – С. 35-41.
5. Заводнова О.С. Врожденный токсоплазмоз / О.С. Заводнова, С.М. Безроднова, В.С. Боташева и др. // Российский педиатрический журнал. – 2005. – №1. – С.13-16.
6. Новак М.Д. Токсоплазмоз / М.Д. Новак, А.И. Новак, С.Н. Королева // Научно-практическое издание. Кострома: Изд-во Костромской ГСХА. – 2005. – 99 с.
7. Новак М.Д. Паразитарные болезни животных / М.Д. Новак, С.В. Енгашев // Учебное пособие. – М.: ИНФРА-М, 2013. – 191 с.
8. Покровский В.В. ВИЧ-инфекция: клиника, диагностика и лечение / В.В. Покровский, Т.Н. Ермак, В.В. Беляева и др. // ГЭОТАР – МЕД. – М., 2003. – 488 с.
9. Сивкова Т.И. Сероэпизоотологические исследования при токсоплазмозе собак в г. Перми / Т.И. Сивкова, Н.Н. Катаева // Российский паразитологический журнал. – М., 2008. – №3. – С. 60-62.
10. Соломатина М.А. Особенности эпизоотологии токсоплазмоза кошек в Липецке / М.А. Соломатина, Н.С. Беспалова // Международный студенческий научный вестник. – 2018. – №4 (4). – С. 575-578.
11. Степанова Н.И. Токсоплазмоз животных и человека / Н.И. Степанова, М.Г. Смайкина. – М.: Россельхозиздат, 1970. – С. 6-11.
12. Тимофеев Б.А. Токсоплазмоз крупного рогатого скота: автореф. дисс. ... док. вет. наук: 03.00.19 / Б.А. Тимофеев. – Ставрополь, 1975. – 44 с.
13. Шевкунова Е.А. Некоторые данные по обследованию сельскохозяйственных животных на токсоплазмоз / Е.А. Шевкунова, Н.К. Мищенко, Д.Н. Засухин // Журнал микробиол., эпидемиол. и иммунол. – М., 1961. – № 6. – С. 125-128.

Список литературы на английском языке / References in English

1. Bepalova N.S. Znachenie domashnih plotojadnyh v podderzhanii toksoplazmoza na territorii Voronezhskoj oblasti [Significance of Domestic Carnivores in the Maintenance of Toxoplasmosis in the Voronezh Region] / N.S. Bepalova, Ju.I. Stepkin, S.S. Katkov // Veterinarnaja patologija [Veterinary Pathology]. – 2016. – №3. – P. 17-23. [in Russian]
2. Bepalova N.S. Sopostavimost' raznyh metodov diagnostiki toksoplazmoza plotojadnyh [Comparability of Different Diagnostic Methods for Carnivore Toxoplasmosis] / N.S. Bepalova, S.S. Katkov // Molodoy uchenyj [Young Scientist]. – 2016. – № 6. – P. 58-60. [in Russian]
3. Vershinin I.I. Toksoplazmoz koshek i sobak [Toxoplasmosis in Cats and Dogs] / I.I. Vershinin, N.V. Teljatnikova, V.I. Petrenko // Veterinarnaja klinika [Veterinary Clinic]. – 2003. – № 1. – P.12. [in Russian]
4. Doronin-Dorgelinskij E.A. Rasprostranenie toksoplazmoza i sarkocistoza u cheloveka i zhivotnyh, pravovoe regulirovanie organizacii i bor'by s nimi [The Spread of Toxoplasmosis and Sarcocystosis in Humans and Animals, the Legal Regulation of Organization and Control of Toxoplasmosis and Sarcocystosis] / E.A. Doronin-Dorgelinskij, T.N. Sivkova // Rossijskij parazitologicheskij zhurnal [Russian Journal of Parasitology]. – 2017. – Vol. 39 – Iss. 1. – P. 35-41. [in Russian]
5. Zavodnova O.S. Vrozhdenyj toksoplazmoz [Congenital Toxoplasmosis] / O.S. Zavodnova, S.M. Bezrodnova, V.S. Botasheva [et al.] // Rossijskij pediatricheskij zhurnal [Russian Journal of Pediatrics]. – 2005. – №1. – P.13-16. [in Russian]
6. Novak M.D. Toksoplazmoz [Toxoplasmosis] / M.D. Novak, A.I. Novak, S.N. Koroleva // Nauchno-prakticheskoe izdanie [Scientific and Practical Publication]. Kostroma: Kostroma SAA. – 2005. – 99 p. [in Russian]
7. Novak M.D. Parazitarnye bolezni zhivotnyh [Parasitic Diseases of Animals] / M.D. Novak, S.V. Engashev // Uchebnoe posobie [Study guide]. – М.: INFRA-M, 2013. – 191 p. [in Russian]
8. Pokrovskij V.V. VICH-infekcija: klinika, diagnostika i lechenie [HIV Infection: Clinic, Diagnosis and Treatment] / V.V. Pokrovskij, T.N. Ermak, V.V. Beljaeva et al. // GJEOTAR – MED. – М., 2003. – 488 p. [in Russian]
9. Sivkova T.I. Seropizootologicheskie issledovaniya pri toksoplazmoze sobak v g. Permi [Seroepizootological Studies of Dogs with Toxoplasmosis in Perm] / T.I. Sivkova, N.N. Kataeva // Rossijskij parazitologicheskij zhurnal [Russian Journal of Parasitology]. – М., 2008. – №3. – P. 60-62. [in Russian]
10. Solomatina M.A. Osobennosti jepizootologii toksoplazmoza koshek v Lipecke [Peculiarities of Feline Toxoplasmosis Epizootology in Lipetsk] / M.A. Solomatina, N.S. Bepalova // Mezhdunarodnyj studencheskij nauchnyj vestnik [International Student Scientific Bulletin]. – 2018. – №4 (4). – P. 575-578. [in Russian]
11. Stepanova N.I. Toksoplazmoz zhivotnyh i cheloveka [Animal and Human Toxoplasmosis] / N.I. Stepanova, M.G. Smajkina. – М.: Rossel'hozizdat, 1970. – P. 6-11. [in Russian]
12. Timofeev B.A. Toksoplazmoz krupnogo rogatogo skota [Toxoplasmosis in Cattle]: autoabstract for thesis ... PhD in Vet. Sciences: 03.00.19 / B.A. Timofeev. – Stavropol, 1975. – 44 p. [in Russian]
13. Shevkunova E.A. Nekotorye dannye po obsledovaniju sel'skohozjajstvennyh zhivotnyh na toksoplazmoz [Some Data on the Examination of Farm Animals for Toxoplasmosis] / E.A. Shevkunova, N.K. Mishhenko, D.N. Zasukhin // Zhurnal mikirobiol., jepidemiol. i immunol [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunology]. – М., 1961. – № 6. – P. 125-128. [in Russian]