

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК
ФГБУН «СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР
АГРОБИОТЕХНОЛОГИЙ»

Институт экспериментальной ветеринарии
Сибири и Дальнего Востока

На правах рукописи

ДИМОВА АЛЕСЯ СЕРГЕЕВНА

**ТЕОРЕТИЧЕСКОЕ, ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ И ПРАКТИЧЕСКОЕ
ОБОСНОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИЧНОСТИ
ИСПОЛЬЗОВАНИЯ РАЗЛИЧНЫХ МЕТОДОВ И СРЕДСТВ
КОНТРОЛЯ ЭПИЗОТИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА БРУЦЕЛЛЕЗА**

06.02.02 – ветеринарная микробиология, вирусология,
эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология

ДИ С С Е Р Т А Ц И Я

на соискание ученой степени доктора ветеринарных наук

Научный консультант:

доктор ветеринарных наук,
профессор Аракелян П.К.

Новосибирск 2018

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	17
1.1. Теоретические основы контроля эпизоотических процессов.....	17
1.1.1. Современные представления об эпизоотическом процессе.....	17
1.1.2. Концепция управляемых инфекций – теоретическая основа контроля эпизоотических процессов.....	22
1.2. Эпизоотический процесс бруцеллеза и методы его контроля.....	25
1.2.1. Эпизоотология бруцеллеза.....	25
1.2.2. Ретроспективная оценка эффективности различных методов контроля эпизоотического процесса бруцеллеза.....	28
1.3. Ретроспективный анализ проблем технологичности использования различных средств и схем специфической профилактики и диагностики в системах контроля эпизоотического процесса бруцеллеза.....	33
1.3.1. Ретроспективный анализ проблем технологичности различных средств и схем специфической профилактики бруцеллеза животных.....	33
1.3.2. Ретроспективный анализ проблем технологичности различных средств и схем диагностики бруцеллеза животных.....	47
1.4. Заключение по обзору литературы.....	51
2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ	53
2.1. Материал и методы исследований.....	53
2.2. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ	66
2.2.1. Эффективность различных методов контроля эпизоотического процесса бруцеллеза с позиций их технологичности.....	66
2.2.2. Технологичность существующих схем специфической профилактики и диагностики бруцеллеза крупного рогатого скота.....	91
2.2.3. Эффективность новых методов и средств специфической профилактики и диагностики бруцеллеза животных с позиций их технологичности.....	102
2.2.3.1. Экспериментальная оценка адьювант-вакцин.....	103
2.2.3.2. Экспериментальное изучение технологичности конъюнктивной иммунизации животных против бруцеллеза живой вакциной из штамма 19 в уменьшенной дозе.....	116
2.2.3.3. Поиск технологичной схемы купирования бруцеллезной инфекции.....	119
2.2.3.4. Оценка эффективности использования О-ПС антигенов в диагностике бруцеллеза животных.....	124
2.2.3.5. Оценка эффективности использования РСК с R-антигеном, изготовленным из <i>V. ovis</i> , в дифференциальной поствакцинальной диагностике бруцеллеза крупного рогатого скота.....	132

2.2.3.6. Изучение эффективности различных вариантов ИФА в экспресс-диагностике бруцеллеза животных.....	140
2.2.3.7. Изучение новых схем получения бруцеллезных антивидовых моноспецифических сывороток anti-abortionus и anti-melitensis.....	157
2.2.4. Разработка концепции оптимизации специфической профилактики и поствакцинальной диагностики бруцеллеза животных в современных условиях по пути повышения уровня их технологичности и ее практическая апробация.....	166
3 ЗАКЛЮЧЕНИЕ	174
4 ВЫВОДЫ	202
5 ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ	206
6 СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	209
7 ПРИЛОЖЕНИЯ	263

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы. Контроль любого эпизоотического процесса без системного применения различных средств и методов, в том числе специальных, невозможен. В частности, при бруцеллезе животных особо важными являются вакцинация и поствакцинальная диагностика (Авилов В.М., 1997 [2]; Гулюкин М.И. с соавт., 2016 [124]; Девришов Д.А. с соавт., 2009 [127]; Орлов Е.С., 1971 [260]; Салмаков К.М., 1977 [285]; Фомин А.М., 2001 [332]).

Необходимость использования только тех вакцин, которые при массовом введении животным в оптимальных дозах с определенными методами и кратностью способны обеспечивать не только высокий уровень иммунитета, но и беспрепятственную диагностику в целях выявления бруцеллоносителей в максимально возможные ранние сроки после вакцинации, является очевидной. Такое комплексное свойство вакцин и (или) схем их применения И.А.Косилов (1985) [218] назвал технологичностью.

Поствакцинальная диагностика также должна быть технологичной, то есть не только способной своевременно обеспечить максимальное использование провоцирующих свойств вакцин, но и достаточно простой, быстрой, а также объективной при дифференциации поствакцинальных реакций от постинфекционных (Альбертян М.П. с соавт., 2014 [8]; Гордиенко Л.Н. с соавт., 2017 [110]; Дегтяренко Л.В., Скляр О.Д., 2015 [131]; Чекишев В.М., 1998 [354]).

В современных условиях в ряде регионов страны эпизоотическая ситуация по бруцеллезу резко осложнилась в связи с начавшейся еще в 90-ые годы реструктуризацией животноводства (Авилов В.М. с соавт., 2012; Гулюкин М.И. с соавт., 2013 [119]; Искандаров М.И., 2012 [191]). В процессе стихийного формирования и переформирования хозяйств их эпизоотическое состояние по бруцеллезу не всегда учитывалось. Более того, стала преобладать практика содержания в одном стаде (отаре) животных различных половозрастных групп. Поэтому исчезла возможность использования необходимого в противоэпизоотическом отношении принципа планомерного вытеснения скомпрометированного поголовья. В этих новых условиях ранее технологичные

средства и методы контроля эпизоотического процесса постепенно превратились в нетехнологичные, а зоны приуроченности болезни среди крупного и мелкого рогатого скота стали расширяться (Аракелян П.К., Димов С.К., 2013 [38]).

С учетом изложенного, повышение эффективности контроля эпизоотического процесса бруцеллеза за счет максимальной технологичности использования различных средств и методов в современных условиях стало особенно актуальным.

Степень разработанности проблемы. В мире, в том числе в РФ, в системах специфической профилактики бруцеллеза животных разных видов наиболее широкое применение получили живые вакцины.

Живые инагглютиногенные вакцины (типичные представители: отечественные вакцинные штаммы *B. melitensis* К-24 и *B. abortus* 16/4, R-1096; американский вакцинный штамм RB-51) способны обеспечивать проведение поствакцинальных исследований в любые сроки в целях максимального выявления спровоцированных бруцеллоносителей. Однако их иммуногенность явно недостаточна для обеспечения гарантий эффективного самостоятельного использования в сложных эпизоотических условиях (Кисиль А.С. с соавт., 2017 [209]; Косилов И.А. с соавт., 1999 [219]; Салмаков К.М. с соавт., 2012 [288]; Триленко П.А., 1976 [320]).

Живые слабоагглютиногенные вакцины (в нашей стране это вакцинные штаммы *B. abortus* 82 и 75/79-AB) в регламентированных дозах на благополучном по бруцеллезу взрослом поголовье крупного рогатого скота обеспечивают угасание РА и РСК с антигенами, изготовленными из типичных S-форм бруцелл, обычно к 6 месяцам, РИД с О-ПС антигеном – к 1,5 месяцам после вакцинации. Это в определенной мере позволяет рассчитывать в диагностике на провоцирующие свойства вакцин. Их иммуногенность оказалась вполне достаточной при многократных иммунизациях животных с интервалом 1-2 года (Авилов В.М., 1997 [2]; Косилов И.А. с соавт., 1999 [219]; Никифоров И.П., 1996 [250]; Салмаков К.М., 1977 [285]).

Поствакцинальная диагностика типичного бруцеллеза в условиях широкого использования живых вакцин этого типа сталкивается со сложностями, принципиально связанными с нестабильными антигенными свойствами этих штаммов (Косилов И.А. с соавт., 1999 [219]). До наших исследований проблема оптимизации схем поствакцинальной диагностики, в том числе дифференциальной, продолжала оставаться актуальной.

Живые агглютиногенные вакцины (типичные представители – вакцинные штаммы *B. melitensis* Rev-1 и *B. abortus* 19) в регламентированных дозах при подкожном применении обеспечивают угасание серологических реакций с S-антигенами в течение 10 месяцев лишь при однократном применении молодым животным. Их дальнейшие реиммунизации создают проблемы, связанные с длительной серопозитивностью, что препятствует объективной поствакцинальной диагностике (Авилов В.М., 1997 [2]; Гулюкин М.И. с соавт., 2014 [123]; Юсупов О.Ю. с соавт., 2016 [385] и др.).

Существуют литературные данные о возможности разработать поствакцинальную диагностику бруцеллеза животных в условиях реиммунизаций агглютиногенными вакцинами при условии уменьшения их доз и изменения метода введения (Аракелян П.К., 1997 [18]; Бровик Е.А., 1991 [77]; Иванов А.А., 1996 [182]; Селиванов А.В. с соавт., 1959 [302, 303, 304]; Султанов А.А., 1992 [312]). Однако к моменту наших исследований материалов на эту тему было недостаточно.

Убитые вакцины различного типа имеют длительную историю разработки (Вершилова П.А., 1972 [85]; Гулюкин М.И. с соавт., 2014 [123]; Драновская Е.А., 1976 [168]; Новицкий А.А., Бронников В.С., 1989 [252]; Салмаков К.М. с соавт., 2010, 2013 [287, 290]), но оптимального варианта, пригодного для их широкого применения в ветеринарной практике, так и не было найдено. Основными причинами этого были либо низкая иммуногенность, либо высокий уровень проявления антигенных и/или реактогенных свойств.

Диагностика бруцеллеза животных включает в себя массовую скрининговую экспресс-диагностику, максимальное выявление скрытого

бруцеллоносительства, объективную дифференциацию серологических реакций вакцинной и инфекционной природы, оценку уровня эпизоотической и эпидемической опасности животных, видовую дифференциацию выделенных культур бруцелл и т.д. (Дегтяренко Л.В., 2005 [128]; Косилов И.А. с соавт., 1999 [219]; Юсупов О.Ю. с соавт., 2015 [384] и др.). Технологичность ее средств заключается в их специфичности, оптимальном числе, простоте и скорости применения, минимальных затратах на производство и др.

Обобщая изложенное, следует отметить, что к началу наших исследований актуальная проблема технологичности использования различных средств и методов в контроле эпизоотического процесса бруцеллеза, особенно в связи с изменившимися в последние годы в стране эпизоотическими, организационно-хозяйственными и социально-экономическими условиями ведения животноводства, никем комплексно не рассматривалась, что и определило цель и задачи исследований.

Цель и задачи исследований. Целью исследований явилось теоретическое, экспериментальное и практическое обоснование технологичности использования различных методов и средств контроля эпизоотического процесса бруцеллеза.

В задачи исследований входило:

- оценить эффективность различных методов контроля эпизоотического процесса бруцеллеза с позиций их технологичности;
- изучить технологичность существующих схем специфической профилактики и диагностики бруцеллеза крупного рогатого скота;
- осуществить экспериментальную оценку эффективности новых методов и средств специфической профилактики и диагностики бруцеллеза животных с позиций их технологичности;
- разработать концепцию оптимизации специфической профилактики и поствакцинальной диагностики бруцеллеза животных на основе технологичных схем использования различных средств и методов и апробировать ее в современных практических условиях.

Научная новизна:

– комплексно обоснована необходимость осуществления контроля эпизоотического процесса бруцеллеза с обязательным использованием вакцин на основе принципа технологичности схем их применения;

– экспериментально доказана возможность купирования бруцеллезной инфекции с помощью рациональной схемы применения пролонгированного антибиотика тетрациклинового ряда Нитокс-200 в сочетании с последующей конъюнктивной иммунизацией вакциной из штамма 19 в уменьшенной дозе (Патент № 2501567 «Способ профилактики бруцеллеза животных» от 20 декабря 2013 г.);

– доказана эффективность новой тест-системы ИФА в осуществлении массовой скрининговой экспресс-диагностики бруцеллеза у невакцинированного крупного рогатого скота, а также в инструктивные сроки после иммунизации живыми вакцинами из слабоагглютиногенных штаммов *B. abortus* 82 и 75/79-AB;

– доказана возможность применения новой тест-системы ИФА для массовой скрининговой экспресс-диагностики бруцеллеза у невакцинированного мелкого рогатого скота, а также после конъюнктивной иммунизации живой вакциной из агглютиногенного штамма *B. abortus* 19 в уменьшенных дозах;

– получены результаты, свидетельствующие о перспективах использования в качестве экспресс-метода дифференциальной диагностики бруцеллеза крупного рогатого скота ИФА с О-ПС антигеном по специально разработанной методике, более эффективного, чем официально принятая для этих целей РИД с О-ПС антигеном (Патент № 26635515 «Способ дифференциальной экспресс-диагностики бруцеллеза крупного рогатого скота» от 13 ноября 2017 г.).

– доказаны преимущества использования в комплексе эпизоотической оценки по бруцеллезу стад крупного рогатого скота, иммунизированного живыми вакцинами из слабоагглютиногенных штаммов *B. abortus* 82 и 75/79-AB, R-антигена, изготовленного из природной R-формы бруцелл – *B. ovis*, перед R-антигеном, изготовленным из R-формы *B. abortus* (Патент № 2518308 «Способ дифференциальной эпизоотической оценки по бруцеллезу стад крупного рогатого

скота, иммунизированного живыми вакцинами из диссоциированных штаммов бруцелл» от 10 июня 2014 г.);

– доказана эффективность новых схем получения дифференцирующих видовых сывороток anti-melitensis и anti-abortus (Патент № 2613901 «Способ получения бруцеллезной моноспецифической сыворотки anti-melitensis» от 21 марта 2017 г.; Патент №2639127 «Способ получения бруцеллезной моноспецифической сыворотки anti-abortus» от 19 декабря 2017 г.);

– доказана возможность повышения уровня противозооотической эффективности и технологичности существующих схем специфической профилактики бруцеллеза крупного рогатого скота с использованием живых вакцин из слабоагглютиногенных штаммов *B. abortus* 82 и 75/79-AB за счет совершенствования их отдельных элементов, с учетом особенностей ведения скотоводства в современных условиях;

– предложен диагностический комплекс, способный объективно оценивать эпизоотический статус по бруцеллезу стад крупного рогатого скота, иммунизированного живыми вакцин из слабоагглютиногенных штаммов *B. abortus* 82 и 75/79-AB на основе результатов дифференциации серологических реакций вакцинного и инфекционного происхождения;

– предложена рациональная схема применения А- и М- О-ПС антигенов в диагностике бруцеллеза животных. Доказаны ее противозооотическая эффективность, дифференцирующие возможности и способность оценивать степень эпизоотической и эпидемической опасности по бруцеллезу стад и отар;

– признано неперспективным с позиций технологичности направление поиска убитых адъювант-вакцин из S- и SR-штаммов бруцелл;

– в экспериментах доказана возможность беспрепятственного проведения поствакцинальной диагностики бруцеллеза у животных при использовании конъюнктивального метода иммунизации вакциной из агглютиногенного штамма *B. abortus* 19 в ранние сроки (РИД, РА и РСК), а также способность обеспечить иммунитет, практически не уступающий агглютиногенным и слабоагглютиногенным вакцинам при их подкожном применении;

– доказана противоэпизоотическая эффективность схем вакцинации животных, основанных на конъюнктивальном методе иммунизации живой вакциной из агглютиногенного штамма *B. abortus* 19 в уменьшенных дозах, и рациональной поствакцинальной диагностике.

Теоретическая и практическая значимость диссертационной работы заключается в комплексном обосновании необходимости использования при осуществлении контроля эпизоотического процесса бруцеллеза рациональных схем вакцинации и поствакцинальной диагностики болезни с соблюдением принципа технологичности их применения. Суть указанного принципа в обеспечении беспрепятственной эффективной диагностики в максимально возможные ранние сроки после вакцинации при обязательности обеспечения в неблагополучных и угрожаемых популяциях животных длительного иммунитета необходимого уровня.

Получены результаты, свидетельствующие о возможности управлять уровнем технологичности противобруцеллезных вакцин за счет оптимизации схем иммунизации (тип вакцины, доза, метод введения) и поствакцинальной диагностики (диагностикум, диагностический тест, критерии оценки результатов), а также зоотехнических, организационно-хозяйственных и ветеринарных мероприятий.

Широкое внедрение в ветеринарную практику разработанной с учетом полученных научных результатов концепции оптимизации специфической профилактики и поствакцинальной диагностики бруцеллеза животных в современных условиях их содержания на основе технологичных схем использования различных средств и методов позволяет в значительной мере повысить эффективность систем противобруцеллезных мероприятий за счет ускорения сроков оздоровления неблагополучных стад (отар) и своевременного предотвращения вспышек болезни.

Результаты собственных исследований использованы при разработке 13 нормативно-технических и научно-методических материалов, рекомендованных для широкого практического использования, в том числе:

2 – на всероссийском уровне («Проект концепции по оптимизации противобруцеллезных мероприятий у мелкого и крупного рогатого скота, используемый при разработке системы профилактики и ликвидации бруцеллеза сельскохозяйственных животных на территории Российской Федерации», 2013 г.; «Проект стратегии борьбы с бруцеллезом животных, используемый при подготовке нормативного правового акта, регламентирующего проведение противобруцеллезных мероприятий в современных условиях на территории Российской Федерации», 2015 г.);

2 – на уровне Республики Казахстан (Методические рекомендации «Эффективные в условиях Казахстана противобруцеллезные мероприятия у крупного рогатого скота», 2014 г.; «Концепция обеспечения эпизоотического благополучия по бруцеллезу животноводческих хозяйств, входящих в корпорацию «Восток-Молоко» Восточно-Казахстанской области Республики Казахстан на основе использования в комплексе противобруцеллезных мероприятий у крупного рогатого скота рациональных схем специфической профилактики на долгосрочный период», 2017 г.);

9 – методических рекомендаций, положений и пособий, утвержденных в 2006-2014 годах секцией инфекционной патологии отделения ветеринарной медицины Россельхозакадемии, подсекцией «Инфекционная патология животных в регионе Сибири и Дальнего Востока» отделения ветеринарной медицины Россельхозакадемии и отделения сельскохозяйственных наук РАН.

Результаты исследований могут быть использованы в качестве методической основы в дальнейших научных разработках по оптимизации специальных противобруцеллезных мероприятий у с.-х. животных, а также в учебном процессе ВУЗов ветеринарного профиля.

Методология и методы диссертационного исследования. Области исследований явились эпизоотический процесс бруцеллеза и его контроль, как биологическая основа эпизоотологического надзора, а также средства и методы специфической профилактики и диагностики болезни.

Основой методологии исследования стали научно обоснованная постановка проблемы технологичности использования различных методов и средств контроля эпизоотического процесса бруцеллеза (способности обеспечивать при массовом введении животным вакцин по определенным схемам не только высокий уровень иммунитета, но и беспрепятственную диагностику) и ее рациональное решение, обеспечивающее в новых эпизоотических и социально-экономических условиях максимальную противоэпизоотическую эффективность за счет совершенствования существующих, а также разработки новых средств и методов, подтвержденных патентами РФ на изобретения, отражающими их объективность и полезность.

В результате выполнения диссертации создана база экспериментальных и практических знаний, позволяющая не только сформулировать новые практические рекомендации, но и дополнить и развить ряд теоретических положений.

В работе были использованы: аналитический, эпизоотологический, бактериологический, серологический, иммунологический и другие методы исследований; известные, а также новые диагностические, вакцинные и другие препараты ветеринарного назначения; лабораторные и сельскохозяйственные животные, биологический материал; вакцинные, полевые и эталонные культуры возбудителей бруцеллеза.

Основные положения, выносимые на защиту:

– Эффективный контроль эпизоотического процесса бруцеллеза предусматривает обязательное использование вакцин на основе принципа их технологичности, заключающегося в обеспечении не только высокого уровня иммунитета, но и беспрепятственной диагностики в целях выявления бруцеллоносителей в максимально возможные ранние сроки после вакцинации. У крупного рогатого скота достичь такого эффекта удастся путем рационального использования живых вакцин из слабоагглютиногенных штаммов 82 и 75/79-АВ и последующей дифференциальной диагностики в сочетании с общими организационно-хозяйственными и санитарными мероприятиями, при

относительной однородности сформированных стад в возрастном, эпизоотическом и иммунном отношении. В мелких хозяйствах, где формирование однородных стад становится невозможным, эти схемы вакцинации и поствакцинальной диагностики превращаются в нетехнологичные;

– Технологичной по результатам экспериментальной оценки оказалась схема специфической профилактики на основе конъюнктивальной иммунизации животных вакциной из агглютиногенного штамма 19 в связи с доказанными возможностями беспрепятственной ранней поствакцинальной диагностикой бруцеллеза (РИД, РА и РСК), а также иммунитетом на уровне агглютиногенных и слабоагглютиногенных вакцин при их подкожном применении. Сочетанное применение препарата Нитокс-200 и конъюнктивальной иммунизации вакциной из штамма 19 ускоряет купирование у животных экспериментальной бруцеллезной инфекции. Использование масляных адъювантов, в том числе нового – MONTANIDE™ ISA 61 VG, в убитых вакцинах из S- и SR-штаммов бруцелл не технологично из-за индуцированной ими агглютиногенности, препятствующей объективной диагностике. При изготовлении же дифференцирующих видовых сывороток anti-abortionus и anti-melitensis адъювант MONTANIDE™ ISA 61 VG технологичен: его однократное подкожное введение вместе с инактивированными бруцеллами повышает диагностическую активность и объемы готовых продуктов;

– Технологичность поствакцинальной диагностики бруцеллеза животных обеспечивается комплексом ее возможностей: массовая скрининговая экспресс-диагностика (ИФА); раннее выявление бруцеллоносителей, спровоцированных вакциной (высокие титры РА и РСК, положительная РИД с О-ПС антигенами); дифференциация реакций инфекционной и вакцинной природы (РИД с О-ПС антигенами, РСК с R-антигеном); оценка эпизоотической и эпидемической опасности стад и отар (РИД с О-ПС антигенами; ИФА с О-ПС антигеном в качестве экспресс-метода);

– В разработанной концепции оптимизации специфической профилактики и поствакцинальной диагностики бруцеллеза животных на основе технологичных

схем использования различных средств и методов ведущая роль принадлежит конъюнктивной иммунизации животных вакциной из штамма *B. abortus* 19 в уменьшенных дозах в сочетании с рациональной поствакцинальной диагностикой с доказанной противоэпизоотической эффективностью.

Степень достоверности. Достоверность результатов обусловлена большим объемом экспериментального материала, использованием современных методик исследований, производственным испытанием и статистической обработкой данных. Результаты исследований опубликованы в рецензируемых источниках и апробированы на специализированных научных конференциях.

Апробация работы. Материалы диссертации доложены и обсуждены на:

- Международной научно-практической конференции «Проблемы стабилизации и развития сельскохозяйственного производства Сибири, Монголии и Казахстана в XXI веке» (Новосибирск, 1999);
- Научной конференции молодых ученых СО РАСХН (Краснообск, 2001);
- Всероссийской научно-практической конференции по проблемам хронических инфекций (бруцеллез, туберкулез) (Омск, 2001);
- Международной научной конференции, посвященной 175-летию аграрной науки Сибири «Эпизоотология, диагностика и профилактика хронических инфекционных болезней» (Омск, 2003);
- Международной научно-практической конференции «Аграрная наука Сибири, Монголии, Казахстана, и Башкортостана – сельскому хозяйству» (Новосибирск, 2003);
- Международной научной конференции «Современные проблемы эпизоотологии» (Новосибирск, 2004);
- Сибирском ветеринарном конгрессе «Актуальные вопросы ветеринарной медицины» (Новосибирск, 2005);
- Всероссийской научно-практической конференции, посвященной памяти профессора И.А. Косилова «Современные проблемы диагностики и профилактики хронических зооантропонозных инфекций» (Новосибирск, 2009);

- Сибирском ветеринарном конгрессе «Актуальные вопросы ветеринарной медицины» (Новосибирск, 2010);
- Международной научно-практической конференции, посвященной 70-летию со дня основания Института экспериментальной ветеринарии Сибири и Дальнего Востока «Актуальные вопросы ветеринарной медицины Сибири» (Новосибирск, 2010);
- Международной научно-практической конференции, посвященной памяти выдающегося организатора Сибирской ветеринарной науки А.В. Копырина «Актуальные проблемы инфекционных и незаразных патологий животных», (Омск, 2010);
- Международной научно-практической конференции, посвященной 90-летию СибНИВИ-ВНИИБТЖ «Инфекционная патология животных», (Омск, 2011);
- X, XI, XII, XIV Сибирских ветеринарных конференциях «Актуальные вопросы ветеринарной медицины» (Новосибирск, 2011, 2012, 2013, 2015);
- Международной научно-практической конференции «Современные проблемы пастбищного животноводства в аридной зоне Центрально-Азиатского региона» (Кызыл, 2015);
- Международной научно-практической конференции, посвященной 110-летию Казахского научно-исследовательского ветеринарного института «Интеграция науки и практики в обеспечении ветеринарного благополучия» (Алматы, 2015);
- Научно-практической конференции преподавателей, студентов, магистрантов и аспирантов, посвященной 80-летию Новосибирского ГАУ (Новосибирск, 2016).

Публикации результатов исследований. По материалам диссертации опубликованы 65 научных работ, в которых изложены основные положения выполненной работы, в том числе 24 изданы в периодических изданиях, входящих в Перечень ведущих рецензируемых научных журналов, утвержденных ВАК Министерства образования и науки России и рекомендованных для

публикации основных научных результатов диссертации на соискание ученой степени («Ветеринария», «Достижения науки и техники АПК», «Ветеринария и кормление», «Сибирский вестник сельскохозяйственной науки»); 5 патентов; 10 методических рекомендаций, положений и пособий.

Объем и структура работы. Диссертация изложена на 315 стр. компьютерного текста и включает: введение, обзор литературы, материалы и методы, собственные исследования, заключение, выводы, практические предложения, библиографический указатель использованной литературы, приложения.

Диссертация иллюстрирована 18 таблицами и 26 рисунками. Список использованной литературы включает 446 источников, из которых – 58 иностранных.

1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ КОНТРОЛЯ ЭПИЗООТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ

1.1.1. Современные представления об эпизоотическом процессе

Эпизоотический процесс до настоящего времени воспринимается в виде действующей эпизоотической цепи, в которой три звена: источник инфекции; механизм ее передачи; восприимчивое животное. С учетом изложенного противоэпизоотические мероприятия логично представлять как систему предотвращения ее формирования или нейтрализации (С.И. Джупина, 1991, 2006 [133, 134]; И.А. Бакулов с соавт., 1986 [62]; В.П. Урбан, 1992 [327] и др.).

И.А. Бакулов с соавт. (1986) [62] сформулировал общую эпизоотологическую закономерность, обязательную для любой инфекционной болезни, заключающуюся в том, что инфекционным болезням животных свойственен эпизоотический процесс, и выразил ее в виде 7 законов эпизоотологии:

«...Первый закон – об источнике возбудителя инфекции...»;

«...Второй закон – о соответствии локализации возбудителя, путей его выделения и механизма передачи восприимчивым животным...»;

«...Третий закон – о непосредственных движущих силах эпизоотического процесса...»;

«...Четвертый закон – о вторичных, или посредственных, движущих силах эпизоотического процесса...»;

«...Пятый закон – об изменениях эпизоотологических особенностей инфекционных болезней...»;

«...Шестой закон – об условиях существования и активизации природного очага...»;

«...Седьмой закон – о принципах проведения противоэпизоотических мероприятий...».

Современные трактовки эпизоотического процесса (как и эпидемического) связаны со сложными динамичными паразито-хозяйными отношениями на популяционном и территориальном уровнях под постоянным влиянием различных экологических, социально-экономических и других факторов, другими словами – с функционирующими системами паразит – хозяин или паразитарными системами (В.Д. Беляков, 1964, 1983 [69, 70]; В.Д. Беляков с соавт., 1987, 1989 [71, 72]; Б.Л. Черкасский, 1985, 1986, 1988, 1990, 1991 [356, 357, 358, 359, 360, 361]; И.А. Бакулов с соавт., 1986 [62]; С.И. Джупина, 1991 [133] и др.).

Структура паразитарных систем весьма сложна за счет разнообразия и особенностей возбудителей, их переносчиков и носителей, связей возбудителей с различными хозяевами и внешней средой. Устойчивость паразитарных систем весьма очевидна, что создает большие практические проблемы с полной ликвидацией возбудителей инфекционных болезней как видов в глобальных масштабах (И.А. Косилов, 1975 [216]; В.Ю. Литвин, 1985 [227]; С.И. Джупина, 1991 [133]; Н.А. Шкиль, 1992 [365] и др.).

Ряд исследователей (В.Д. Беляков, 1983 [70]; В.Ю. Литвин, 1985 [227]; С.И. Джупина, 2006 [134] и др.) обосновывает высокую устойчивость паразитарных систем многими факторами:

– многоуровневая организация паразитарных систем: организменный уровень в виде инфекционного процесса; биоценотический уровень в виде эпидемического, эпизоотического или эпифитотического процессов; биостроматический уровень в виде пандемического, панзоотического или панфитотического процессов;

– гибкость паразитарных систем (использование паразитом различных хозяев, замена хозяина и др.);

– гетерогенность популяций паразита (прежде всего по признакам вирулентности и антигенной структуры) и хозяина (прежде всего по признаку его чувствительности к возбудителю);

– резервация паразита (способность в условиях отсутствия возможностей активной циркуляции переживать как в животных организмах, так и вне них);

– многочисленность хозяев и полигостальность паразита;

– неоднозначная зависимость паразита от хозяев (выживаемость в воде и почве).

А.А. Обголец (1992) [256] существование в природе многочисленных возбудителей инфекций обосновывает наличием параллельных механизмов сохранения их видового состава как за счет длительной персистенции в организме отдельных индивидов, так и за счет периодической смены хозяина в процессе выделения бактерий. Эти механизмы, по его мнению, многообразны и зависят как от качественного состояния возбудителя, так и от глубины его адаптации к организму хозяина.

Указанный автор природу персистенции бактерий видит в двух механизмах:

1. Потеря исходных вирулентных и антигенных свойств, или существование в организме в пределах очагов локального иммунодефицита; 2. Повышение вирулентности, или диссеминации в иммунологически некомпетентном организме.

Этот же автор персистенцию бактерий путем последовательной смены хозяев считает возможной при условии обладания возбудителем «агрессивных» свойств за счет многочисленных пассажей через чувствительные макроорганизмы.

С.И. Джупина (1991) [133] эпизоотические процессы всех инфекционных болезней представляет как системы «паразит-хозяин» на популяционном уровне и, с учетом изложенного предложил 4 характеризующие их закона:

«...Закон облигатности. Основной средой жизнедеятельности конкретных паразитов – возбудителей инфекционных болезней могут быть животные только определенных видов. В процессе эволюции между ними и паразитами установилось биологическое равновесие, проявляющееся в латентном переболевании или состоянии «носительства». Животные других видов основной средой жизни такого паразита не являются. Они не приспособились к существованию паразита в их организме и, встретившись с ним, тяжело переболевают. Есть и животные третьих видов, организм которых вообще не является средой жизнедеятельности этих паразитов...»;

«...Биогенетический закон. Состояние биологического равновесия изменяется в ходе эволюции биоценологических отношений паразита и хозяина; со временем агрессивность паразита становится все менее выраженной. Иными словами, характер распространения болезней среди животных – облигатных хозяев зависит от продолжительности взаимоотношений этих животных с паразитом в историческом, эволюционном плане. Чем древнее инфекционная болезнь, тем менее выражено ее проявление у облигатного хозяина в современных условиях. Продолжительность параллельной эволюции паразита и хозяина определяет уровень проявления инфекционного процесса в разные периоды развития эпизоотии...»;

«...Закон стресса. Изменение биохимических показателей организма облигатных хозяев под действием факторов внешней среды приводит к изменению условий существования паразита и является причиной повышения его агрессивности, обострения инфекционного процесса и повышения интенсивности проявления эпизоотического процесса. Следовательно, если состояние «носительства» паразита – возбудителя инфекции обуславливалось привыканием паразита к определенной среде и выработкой толерантности у хозяина к жизнедеятельности паразита, то изменение условий существования паразита ведет к повышению агрессивности и проявлению соответствующей инфекционной болезни...»;

«...Закон потенциальности. Паразиты – возбудители инфекционных болезней иногда случайными путями проникают в организм необлигатного хозяина, который, в силу причин случайного же порядка, оказался удобной средой их жизнедеятельности. Если между паразитом и облигатным хозяином обязательны эволюционно сложившиеся биоценологические связи и организм такого хозяина является оптимальной средой жизнедеятельности паразита, то в природе есть и такие виды животных, организм которых по биохимическим показателям близок к организму облигатных хозяев, но эти животные эволюционно не приспособились к жизнедеятельности в их организме паразитов, так как между ними отсутствовали постоянные биоценологические связи.

Случайное проникновение паразита в организм таких хозяев вызывает острое течение болезни, нередко с летальным исходом.

Высокая контагиозность болезни животных – потенциальных хозяев при наличии путей передачи возбудителя может (в определенной степени) приводить к продолжению ее распространения и без облигатного хозяина. Однако такое распространение всегда вторично, его успешно предупреждают своевременные меры борьбы с болезнями. В большинстве подобных случаев паразит попадает в «биологический тупик» и вся микропопуляция паразита погибает вместе с погубленным ею хозяином....».

Описанные законы составили теорию эпизоотического процесса. На ее основе С.И. Джупиной (1991) [133] была сформулирована и дефиниция эпизоотического процесса.

«...Эпизоотический процесс – есть эволюционно сложившееся закономерное заражение животных – облигатных хозяев соответствующего паразита, приводящее к хроническому течению болезни или «носителству» возбудителя инфекции. При этом степень проявления болезни зависит от продолжительности параллельной эволюции паразита и хозяина и изменений факторов внешней среды. Этот процесс может сопровождаться случайными заражениями животных – потенциальных хозяев, что в большинстве случаев заканчивается их тяжелым переболеванием и гибелью.

Основной причиной и движущей силой эпизоотического процесса являются особенности паразито-хозяинных отношений возбудителей инфекций с организмом облигатного и потенциального хозяев. На эти отношения оказывает существенное влияние внешние условия – хозяйственные и природные».

Далее С.И. Джупина в последующих публикациях (2006, 2015, 2016 [134, 138, 139] и др.) продолжил развивать и совершенствовать выдвинутые им теоретические и практические постулаты в отношении сущности эпизоотического процесса.

В.Д. Беляковым с соавт. (1989) [72] наряду с формулировкой эпидемического процесса предложил понимать эпизоотический

(эпифитотический) процесс как *«...процесс взаимодействия популяции возбудителя-паразита и популяции животных (растений), проявляющийся при определенных социальных и (или) природных условиях единичными и (или) множественными заболеваниями животных (растений), а также бессимптомными формами инфекций...»*.

Таким образом, по результатам ретроспективного анализа литературных данных, современные представления об эпизоотическом процессе связаны с динамичными паразито-хозяйными отношениями на популяционном и территориальном уровнях, зависящими от многообразных внутренних и внешних факторов.

1.1.2. Концепция управляемых инфекций – теоретическая основа контроля эпизоотических процессов

В настоящее время, с учетом очевидности существования систем «паразит – хозяин» или паразитарных систем, неоспоримо и наличие феномена саморегуляции паразитарных систем, который имеет место и при эпидемическом, и при эпизоотическом процессе (В.Д. Беляков, 1964, 1983, 1987 [69, 70, 71]; И.А. Косилов, 1975 [216]; И.А. Бакулов с соавт., 1986 [62]; Н.А. Шкиль, 1992 [365] и др.).

В.Д. Беляковым с соавт. (1989) [72] сформулированы четыре положения этой саморегуляции:

- *«...генотипическая и фенотипическая гетерогенность популяций паразита и хозяина по признакам отношения друг к другу...»*;
- *«...взаимообусловленная изменчивость биологических свойств взаимодействующих популяций...»*;
- *«...фазовая самоперестройка популяций паразита, определяющая неравномерность развития эпидемического процесса...»*;
- *«...регулирующая роль социальных и природных условий в фазовых преобразованиях эпидемического процесса...»*.

Важно подчеркнуть, что существование механизмов саморегуляции логически предполагает и научно обоснованные принципы искусственного вмешательства в эпизоотический и эпидемический процессы, без которых невозможно разрабатывать конкретные противоэпидемические и противоэпизоотические системы. Причем их первоначальной целью является не глобальная ликвидация возбудителей инфекционных болезней, а предотвращение заболеваемости домашних и сельскохозяйственных животных и людей.

На основе теории В.Д. Белякова в эпидемиологии возникла концепция «управляемых инфекций», оказавшаяся правомерной и в эпизоотологии (В.Д. Беляков с соавт., 1989 [72]; С.К. Димов, 1993 [147] и др.). Она принципиально связана с возможностью искусственно создавать на длительный период «биологическое равновесие» между паразитами и хозяевами.

В.Д. Беляковым с соавт. (1989) [72] на основе теории саморегуляции паразитарных систем предложены понятия управления эпидемическим процессом, неуправляемых и управляемых инфекций. Неуправляемыми инфекциями В.Д. Беляков считает группу «... инфекционных заболеваний, для борьбы с которыми пока не разработано потенциально эффективных мероприятий. Управляемые инфекции – это инфекционные болезни, в отношении которых разработаны научно обоснованные мероприятия и показана их эффективность». При этом есть многочисленные факты, когда, с одной стороны, уже существующие научно обоснованные противоэпидемические и противоэпизоотические мероприятия с доказанной эффективностью не находят широкой практической реализации, а с другой, в динамике развития болезни могут произойти улучшения без использования каких-либо средств и методов для этого. Управлять инфекциями можно двумя путями: использование специфических средств защиты; общие санитарные меры. Девастацию, как ликвидацию возбудителя той иной болезни как биологического вида в глобальном масштабе, указанный автор представляет возможной лишь при условии последовательной реализации этапов ее региональной ликвидации.

По В.Д. Белякову «... в идеале ликвидация инфекции может быть достигнута при наличии противоэпидемических мероприятий, губительно действующих на возбудителя как в фазу эпидемического распространения, так и в фазу резервации. Большинство же противоэпидемических мероприятий ориентировано на предупреждение заболеваний. Однако, создание и длительное поддержание условий, препятствующих переходу возбудителя от фазы резервации к фазе эпидемического распространения, обеспечивает элиминацию возбудителя. Для поддержания биологического вида ему требуется непрерывная и непрерывная смена фаз существования. В том числе и поэтому на стадии ликвидации инфекции особо высока потенциальная эффективность клинико-диагностических мероприятий, обеспечивающих своевременное проведение других потенциально эффективных мероприятий в очагах (например, вакцинации). При поддержании тенденции к гиподиагностике и принижению показателей заболеваемости постановка задачи ликвидации инфекций нереальна.

Перспективы ликвидации той или иной инфекции определяются взвешенной оценкой потенциальной эффективности противоэпидемических мероприятий с точки зрения не только предупреждения заболевания, но и влияния на невидимую часть эпидемического процесса. Не всякая управляемая инфекция может быть включена в список инфекций, региональная ликвидация которых реальна на данном этапе наших знаний и возможностей».

Концепция управляемых инфекций, управления эпидемическим процессом получила поддержку у многих исследователей-эпидемиологов (И.С. Гарин, 1987, 1988 [100, 101]; В.Н. Дроздов с соавт., 1987 [171]; А.А. Обгольц, 1992 [256] и др.).

Правомерность использования концепции управляемых инфекций в эпизоотологии и понятия «управление эпизоотическим процессом» обоснована многими учеными (И.А. Бакулов с соавт., 1986 [62]; С.И. Джупина, 1991, 2006, 2015, 2016 [133, 134, 138, 139]; В.В. Сочнев с соавт., 1991 [307]; В.П. Урбан, 1992 [327]; С.К. Димов, 1993 [147]; В.В. Макаров, 2016 [234] и др.).

Характеризуя систему противоэпизоотических мероприятий, в соответствии с этими представлениями, целесообразнее пользоваться научно обоснованным

понятием контроль эпизоотического процесса (состоящий из двух звеньев управление и мониторинг (С.И. Джупина, 2006 [134] др.).

Несмотря на существование принципиальных положений теории и практики контроля эпизоотического процесса вообще и, в частности, при тех или иных болезнях, эта проблема остается актуальной, в том числе при такой опасной для животных и человека хронической инфекционной болезни, как бруцеллез.

1.2. ЭПИЗОТИЧЕСКИЙ ПРОЦЕСС БРУЦЕЛЛЕЗА И МЕТОДЫ ЕГО КОНТРОЛЯ

1.2.1. Эпизоотология бруцеллеза

Бруцеллез сельскохозяйственных животных – до сих пор мировая проблема, хотя и есть определенные успехи борьбы с ним. В РФ он актуален для КРС и МРС, северных оленей.

Он имеет распространение в ряде регионов Северо-Кавказского, Южного, Приволжского и Сибирского федеральных округов РФ, а также в Казахстане и Средней Азии (П.К. Аракелян, С.К. Димов, 2013 [38]; М.И. Гулюкин с соавт., 2013, 2016 [119, 124] и др.).

Эпизоотический процесс бруцеллеза изучали многие исследователи (В.В. Сочнев, 1989 [306]; А.А. Харченко, 1990 [339]; В.П. Ярославцев, 1990 [388]; В.И. Ким, 1991 [206]; В.П. Урбан 1991 [326]; В.М. Авилов, 1997 [2]; А.А. Султанов, 1992 [312]; Ж. Есимова, 2008 [174]; Е.Г. Назаренко, 2009 [249]; М.И. Искандаров, 2012 [191]; Л.Е. Цирельсон с соавт., 2012 [346]; С.И.Н. Анагону, 2013 [12]; В.М. Устаев, 2010 [328]; С.И.Н. Анагону с соавт., 2013 [10, 11]; Л.Н. Гордиенко, 2015 [106]; Н.В. Винокуров с соавт., 2016, 2017 [89, 90]; А.В. Прокудин с соавт., 2016 [275]; Е.С. Слепцов с соавт., 2017 [305]; J. Iezic, 1955 [423]; M. Plomett et al., 1971 [431]; V.S. Almeida et al., 1984 [389]; E. Jack et al., 1986 [422]; R. Ediffhill, 1987 [411]; C. Garcia-Carrillo, 1987 [418]; J.M. Verger et al., 1989 [441] и др.).

Доказано носительство бруцелл и в дикой природе (М.М. Ременцова, 1953 [277] и др.).

Стала очевидной эпизоотическая и эпидемическая опасность как первичных, так и вторичных природных очагов (В.Г. Пилипенко с соавт., 1955 [266]; И.Ф. Таран, 1960 [316, 317]; В.А. Забродин, 1970 [177]; А.Ф. Пинигин, 1971 [267] и др.).

В экспериментальных и практических условиях было доказано, что потенциальная эпизоотологическую роль при бруцеллезе могут играть собаки, кошки, грызуны, птицы, лошади (И.А. Каркадиновская, 1937 [199]; А.П. Простяков, 1954 [276]; М.Л. Сюзюмова, 1954 [315] и др.).

В передаче возбудителя бруцеллеза восприимчивому животному могут участвовать многообразные элементы внешней среды, в которую бруцеллы часто попадают с абортрованными плодами, родовыми истечениями и др. Инфицирование происходит алиментарным, контактным и половым путями. Особое значение имеет вертикальный механизм передачи возбудителя (И.А. Косилов с соавт, 1999 [219]; M. Plommett et al., 1971 [431] и др.).

Бруцеллез сельскохозяйственных животных имеет и большое эпидемиологическое значение. Доказательства этому содержатся во многих научных работах (П.А. Вершилова, 1972 [85]; Б.Р. Узбекова, 1978 [324]; Д.Н. Габдулдина с соавт., 1989 [99]; А.Г. Кноп, 1990 [211] и др.).

Эпизоотическому процессу бруцеллеза в своем проявлении свойственны тенденции как расширения, так и сужения границ распространения, зависящие в ряде стран, регионов, зон и районов от уровня от хозяйственно-экономического уклада и, главным образом, от уровня реализации мер, направленных на выявление и изоляцию из стад и отар зараженных животных, на уничтожение возбудителя во внешней среде и продуктах животного происхождения (С.Н. Вышелесский, 1948, 1977 [96, 97]; П.Ф. Здродовский, 1948 [180]; А.А. Бойко, 1967 [75]; М.Л. Вертелецкий, 1967 [84]; М.М. Иванов, 1975 [186]; П.А. Триленко, 1976 [320]; С.И. Джупина, 2013, 2014 [135, 136]; Г.А. Обьедков,

1989 [257]; В.В. Сочнев с соавт., 1991 [307]; В.М. Авилов, 1997 [2]; И.А. Косилов с соавт., 1999 и др. [219]).

Для бруцеллеза весьма характерно скрытое бессимптомное течение инфекции, связанное с особенностями персистенции и изменений биологических свойств возбудителя (И.А. Косилов, 1975 [216]; П.А. Триленко, 1976 [320]).

Изменчивость бруцелл широко распространена и многообразна (И.А. Косилов, 1975 [216]; П.А. Триленко, 1976 [320]; З.С. Калинина с соавт., 1978 [195]; Л.Н. Гордиенко, 1987 [104]; Л.Н. Гордиенко с соавт., 1988 [105]; Д.Л. Блинкова, 1989 [73]; В.Г. Ощепков, 1990 [262]; И.А. Косилов с соавт., 1999 [219] и др.). Комплексное изучение проблемы изменчивости бруцелл стало новым научным направлением.

Эпизоотологически значимыми явились процессы диссоциации и реверсии бруцелл (И.А. Косилов, 1975 [216]; Л.Н. Гордиенко, 1987; 2015 [104, 106]; Л.Н. Гордиенко с соавт., 1988 [105]; С.И. Джупина, 2014, 2016 [137, 139, 140] и др.).

Вирулентные типичные бруцеллы обуславливают длительное активное течение острой инфекции в стадах при поступлении новых восприимчивых животных. В стадах, куда новых восприимчивых животных не поступает, неизбежно происходит диссоциация циркулирующих бруцелл и острота процесса исчезает (И.А. Косилов, 1975 [216]; П.А. Триленко, 1976 [320] и др.).

В этой связи произошло критическое переосмысление существовавших ранее научных представлений о возможности самовыздоровления животных при бруцеллезе (Р.А. Цион с соавт., 1943 [345]; А.А. Аливердиев, 1960 [4]; И.Р. Замурий, 1949 [178]; П.С. Лазарев с соавт., 1950 [222]; К.П. Ворошилов, 1965 [95]; J. Jesic, 1955 [423] и др.). Оно стало возможным, прежде всего, благодаря теории саморегуляции паразитарных систем, предложенной В.Д. Беляковым (1983) [70], правота основных положений которой была доказана результатами многочисленных экспериментов, контролируемых производственных опытов и практических наблюдений.

Авторы этой теории обосновывали благополучие по бруцеллезу той или иной группы животных отсутствием реагирования в официальных реакциях при массовых серологических исследованиях.

В дальнейшем стало ясно, что выявить всех инфицированных животных невозможно даже при многократных исследованиях (П.А. Вершилова, 1972 [85]; М.М. Иванов, 1975 [186]; А.А. Новицкий, 1989 [254]; Н.П. Иванов, 1984 [188]; И.А. Касьянов, 1980 [203]; М.И. Чернышева с соавт., 1982 [362]; А.П. Красиков, 1996 [220]; П.К. Аракелян, 1986[15]; Г.А. Обьедков, 1989 [257]; Л.В. Дегтяренко, 2005 [128] и др.).

Из взятых в эпизоотологический анализ 94 очагов бруцеллеза за счет систематических исследований и убоя выявляемых больных животных 83 очага за длительный период оздоровить не удалось (И.А. Косилов с соавт., 1999 [219]). Неперспективность метода оздоровления неблагополучных по бруцеллезу стад только с помощью диагностики в сочетании с общими мерами обосновал ряд других исследователей (Е.Г. Назаренко, 2009 [249]; С.И.Н. Анагону, 2013 [12]; С.И.Н. Анагону с соавт., 2013 [10, 11]; Л.Н. Гордиенко с соавт., 2017 [108, 109, 110] и др.).

С учетом вышеизложенного, очевидно, что наряду с механизмами саморегуляции, необходимо хорошо представлять механизмы искусственной регуляции паразито-хозяйинных отношений, а на основе последних – разрабатывать оптимальные системы противоэпизоотических мероприятий.

1.2.2. Ретроспективная оценка эффективности различных методов контроля эпизоотического процесса бруцеллеза

Из предыдущих разделов обзора литературы становится очевидным наличие высокого потенциала управляемости эпизоотическим процессом бруцеллеза, однако уровень возможностей его максимального использования зависит от определенных условий. Главное из них – это разрыв и нейтрализация всех звеньев эпизоотической цепи (источник возбудителя

инфекции, механизм передачи и восприимчивый организм). Реализовать это условие возможно только с помощью оптимального комплекса общих и специальных мероприятий. В процессе разработки и реализации противобруцеллезных мероприятий у разных видов животных в различных регионах РФ положительные результаты получали далеко не всегда (О.З. Исхаков, 1991 [192, 193]; В.М. Авилов, 1997 [2]; И.А. Косилов с соавт., 1999 [219] и др.).

В этой связи актуально понять принципиальный механизм управления эпизоотическим процессом в целях разработки действительно оптимальной системы противобруцеллезных мероприятий.

Принципиально важным с этих позиций являются ретроспективный анализ и современное переосмысление литературных данных о средствах, методах и способах борьбы с бруцеллезом, результатов их экспериментальных и производственных проверок, широкого практического внедрения в рамках бывшего СССР, в том числе РФ.

Как указывает П.Ф. Здродовский (1948) [180], бруцеллез животных в тридцатые-сороковые годы прошлого столетия в СССР был недостаточно изучен. В тридцатые годы он стал подлежать обязательной регистрации. В этот период приступили к обследованию эпизоотических очагов, проверке племенных животных и выработке единых правил борьбы с болезнью. Эпизоотическая ситуация усугубилась в военные и послевоенные годы.

«Опыт оздоровления хозяйств от бруцеллеза показал, что в некоторых оздоровленных хозяйствах, даже при условии замены поголовья новым здоровым, вскоре снова появлялся бруцеллез. В хозяйствах с давней инфекцией и высоким процентом (свыше 15) животных, дающих положительные реакции на бруцеллез, борьба с заболеванием не может ограничиваться только диагностическим контролем и устранением положительно реагирующих животных. Здесь обязательны предохранительные прививки» (А.Д. Иванов, 1955 [184]).

Большинство отечественных и зарубежных ученых в дальнейшем аргументированно придерживалось мнения о необходимости использования вакцин в системах противобруцеллезных мероприятий (К.М. Салмаков, 1977 [285], М.С. Абиджанов, 1967 [1]; Р. Виттоз, 1967 [91]; М.М. Иванов, 1967, 1975, 1977 [185, 186, 187]; П.Н. Жованик, 1975 [176]; П.А. Триленко, 1976 [320]; П.С. Уласевич, 1975 [325]; И.А. Косилов, 1985 [218]; А.А. Новицкий, 1989 [251, 253]; О.З. Исхаков, 1991 [192, 193]; В.В. Сочнев с соавт., 1991 [307]; В.М. Авилов, 1997 [2]; А.А. Султанов, 1992 [312]; Л.Н. Гордиенко, 2017 [109]; Л.Н. Гордиенко с соавт., 2017 [108, 110]; G. McKeown, 1975 [427]; P. Nicoletti, 1978 [428]; G. Alton et al., 1985 [391]; M. Plommet et al., 1985 [435]; N. Bosserey et al., 1984 [395]; L. Valette, 1987 [439] и др.).

Интересно в этой связи отметить, что еще в тридцатые годы на уровне Международного эпизоотического бюро вакцинопрофилактика предлагалась как «...переходная мера на более или менее длительный срок в планах систематического оздоровления восприимчивых животных от бруцеллеза, где в конечном результате возврат к применению одних только методов санитарной профилактики явился бы признанием завершения кампании по борьбе и лучшей гарантией для сохранения полученных результатов...» (Р. Виттоз, 1967 [91]). В течение ряда лет живая вакцина из штамма *V. abortus* 19 нашла широкое применение на крупном и мелком рогатом скоте, как в вынужденных, так и в профилактических целях в качестве обязательной меры во многих государствах, включая Советский Союз (А.А. Бойко, 1967 [75]; О.З. Исхаков, 1991 [193] и др.).

В нашей стране с 1970 года ее применение ограничили только молодняком. От широкого использования указанной вакцины отказались по причине длительного сохранения у взрослых вакцинированных и ревакцинированных животных серопозитивных реакций, препятствующих объективной диагностике. В течение многих лет ученым не удалось найти эффективную дифференциальную поствакцинальную диагностику. Разработанные методы обеспечивали лишь определенную возможность оценки эпизоотического статуса на уровне фермы

(Ф.С. Логинов, 1956, 1959 [229, 230]; К.Д. Дарвишев, 1962 [125]; А.С. Гринин, 1964 [117]; Г.С. Заседателева, 1967 [179]; Ф.П. Локтева, 1967 [231] и др.).

Прекращение вакцинации привело к ухудшению эпизоотической ситуации, усугубившемуся дальнейшими процессами укрупнения животноводческих хозяйств. При этом даже многократное применение комплекса существующих диагностических методов не купировало эпизоотические очаги без вакцинации и ревакцинации (О.З. Исхаков, 1991 [193]; В.М. Авилов, 1997 [2] и др.).

Важно также отметить, что большинство изученных методов массовой диагностики, даже высокочувствительных (РНГА, ИФА и другие), основано на механизме выявления антител. Более логичными в эпизоотологическом отношении были бы методы, основанные на выявлении возбудителя или его антигенов (С.Ж. Садыков, 1976 [284]; Л.А. Малышева, 1977 [235]; В.В. Литвиненко, 1976 [228]; Д.Н. Габдуллина с соавт., 1988 [98]; Ш.А. Барамова, 1988 [63]; К.А. Хамзин, 1990 [337]; Г.З. Идрисов с соавт., 1990 [190]; Б.В. Каральник с соавт., 1991 [198]; Л.С. Аубекерова, 2010 [60] и др.), однако широкого практического применения они так и не нашли. Нельзя также не обратить внимания на ничтожно низкую эффективность диагностики бруцеллеза у молодняка по причине его возрастных особенностей (М.А. Бажин, 1974 [61]; А.А. Новицкий, 1989 [253, 254], А.А. Новицкий с соавт., 1999 [255] и др.).

Были испытаны различные антибактериальные препараты (А.П. Красиков, 1996 [220]; М.К. Мустафин, 1993, 2004 [246, 247]; Е.К. Кинжигитов, 2005 [207]; А.С. Даулетьярова, 2008 [126]; Л.Ж. Уалиев, 2009 [323], Б.М. Мустафин, 2010 [248]; Г.Х. Оспанов, 2010 [261] и др.) однако их использование без дополнительной вакцинации противозооотических гарантий не обеспечивает.

Значительной диагностической и противозооотической эффективностью обладают разнообразные провоцирующие средства, и прежде всего специфические препараты из бруцелл, механизм действия которых основан на феномене «вторичного иммунного ответа» (П.С. Лазарев с соавт., 1950 [223]; П.П. Чубов с соавт., 1963 [363]; А.С. Мангазеева, 1976 [238]; Е.С. Хасенов, 1991

[341] и др.), однако в стадах без иммунитета с их помощью надежное оздоровление не гарантировано.

Оздоровление от бруцеллеза на основе убоя всего неблагополучного поголовья в сочетании с жесткими общими ветеринарно-санитарными мерами эффективно в противоэпизоотическом отношении, но не выдерживает «экономической критики» (А.А. Бойко, 1967 [75] и др.).

Обобщая материалы обзора литературы, касающиеся ретроспективного анализа проводимых противобруцеллезных мероприятий в бывшем СССР и РФ, можно объективно заключить, что единственным радикальным методом контроля эпизоотического процесса бруцеллеза, позволяющим максимально оперативно разорвать и нейтрализовать эпизоотическую цепь, является ликвидация всего скомпрометированного по указанной инфекции поголовья на фоне жестких мер по санации внешней среды эпизоотического очага. Но его использование в широких масштабах на территориях приуроченности болезни практически не реально, прежде всего, в социально-экономическом отношении.

Метод контроля эпизоотического процесса, основанный на использовании только комплексной массовой диагностики, направленной на максимально возможное выявление и убой животных бруцеллоносителей (без вакцинации) в сочетании с ветеринарно-санитарными и ограничительными мероприятиями, как показала практика, оказался далеко не надежным из-за отсутствия гарантий быстрого и надежного оздоровления неблагополучных стад и отар.

В этой связи, достаточно выраженная специфика бруцеллеза диктует обязательность использования средств специфической профилактики бруцеллеза животных, которая особенно обострилась из-за прошедших реструктуризационных процессов в животноводстве, которые нередко сопровождались бесконтрольным расформированием и реформированием ферм, созданием и возрастанием количества мелких фермерских и крестьянских хозяйств, что способствовало в конечном счете значительному расширению зон приуроченности болезни (П.К. Аракелян, С.К. Димов, 2013 [38] и др.).

Анализ литературных данных показывает, что только с помощью вакцин и рационального их применения в сочетании с диагностикой, направленной на своевременное выявление и убой животных-бруцеллоносителей, а также мероприятиями общего ветеринарно-санитарного и организационно-хозяйственного характера можно надежно добиться противоэпизоотического и экономического эффекта.

1.3. РЕТРОСПЕКТИВНЫЙ АНАЛИЗ ПРОБЛЕМ ТЕХНОЛОГИЧНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ РАЗЛИЧНЫХ СРЕДСТВ И СХЕМ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ПРОФИЛАКТИКИ И ДИАГНОСТИКИ В СИСТЕМАХ КОНТРОЛЯ ЭПИЗОТИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА БРУЦЕЛЛЕЗА

1.3.1. Ретроспективный анализ проблем технологичности различных средств и схем специфической профилактики бруцеллеза животных

Результаты исследований большого числа ученых показали, что во многом создание и поддержание в популяции животных необходимого для осуществления контроля эпизоотического процесса перманентного иммунитета определенного уровня напряженности зависит не столько от типа вакцины, сколько от рациональной схемы ее использования (А.Г. Падалица, 1983 [263]; А.А. Новицкий, 1989 [254]; О.З. Исхаков, 1991 [193]; С.К. Димов, 1993 [147]; В.М. Авилов, 1997 [2]; И.А. Косилов с соавт., 1999 [219]; А.А. Новицкий с соавт., 1999 [255]; К.В. Шумилов с соавт., 1999 [376]; Г.С. Корж, 2000 [213]; Т.К. Касымов, 2002 [202] и др.).

И.А. Косилов (1985) [218], рассуждая о проблемах специфической профилактики бруцеллеза животных, подчеркнул важность обеспечения в стаде (отаре) непрерывного (перманентного) иммунитета с помощью той или иной вакцины по определенной схеме, не препятствующей осуществлять

поствакцинальные исследования. Такие средства и схемы их использования он называл технологичными.

При оценке уровня технологичности различных противобруцеллезных вакцин и схем их использования возникает необходимость компромиссного подхода к выбору вакцины. Она должна при определенной схеме использования одновременно обеспечивать не только групповой перманентный иммунитет достаточной напряженности, но и возможность осуществления диагностики, направленной на выявление спровоцированных ей бруцеллоносителей. Такие исследования животных должны быть беспрепятственными или относительно беспрепятственными, то есть проводиться в максимально ранние сроки после вакцинации без проблем с поствакцинальными реакциями или возможностью их дифференциации (А.С. Мангазеева, 1976 [238]; К.М. Салмаков, 1977 [285]; Л.В. Дегтяренко, 2005 [128]; Л.В. Дегтяренко с соавт., 2011, 2015 [130, 131, 132]; С.К. Димов с соавт., 1997 [148]; В.А. Ромахов, 1992 [278]; Г.А. Белозерова, 1993 [66]; М.П. Альбертян, 1996 [7]; А.А. Иванов, 1996 [182]; И.П. Никифоров, 1996 [250]; В.Б. Тэн, 1996 [321]; В.М. Авилов с соавт., 1997 [2]; П.К. Аракелян, 1997 [18]; В.И. Белобаб, 1998 [65]; И.А. Косилов с соавт., 1999 [219]; А.А. Новицкий, К.М. Салмаков, 1999 [255]; А.Н. Бобылев, 2001 [74]; Л.В. Жарова, 2002 [175]; М.И. Гулюкин с соавт., 2013, 2014 [120, 121, 122, 123]; М.П. Альбертян, с соавт., 2015 [9] и др.).

Живые вакцины. В процессе поиска вакцин данного типа исследователи остановились на аттенуированных штаммах бруцелл.

Идеальные требования для живых противобруцеллезных вакцин сформулировал М.К. Юсковец (1960) [377]. По его мнению, противобруцеллезные вакцины «... должны удовлетворять следующим требованиям:

1. Не вызывать в организме животного такой процесс, при котором у самок может возникнуть аборт или тяжелая инфекция.
2. Животные, привитые такой вакциной, не должны быть заразительными для других животных.

3. Предназначенные для вакцинации, то есть для введения в организм, микробы должны быть такого свойства, чтобы после введения сам организм сравнительно легко и быстро мог с ними справиться, то есть, чтобы в известные сроки наступило полное освобождение организма от этих микробов.

4. Штамм не должен вызывать образования агглютининов в крови привитого животного.

5. Указанные свойства штамма должны быть хорошо закреплены (константы)».

Однако указанным требованиям, являющимся абсолютно логичными с точки зрения теории (П.А. Триленко, 1976 [320]; П.А. Вершилова, 1972 [85]; И.А. Косилов, с соавт., 1999 [219]; М.И. Гулюкин с соавт., 2014 [123]; М.П. Альбертян с соавт., 2014 [8] и др.) в полной мере не соответствует ни один из известных штаммов.

Относительное исключение составляют инагглютиногенные (инагглютинабельные) штаммы *V. abortus* 16/4, *V. melitensis* K-24, RB-51, R-1096 и ряд других (И.А. Косилов с соавт., 1999 [219]; Н.К. Гафиятуллин, 2004 [102]; К.М. Салмаков с соавт., 2012 [288]; А.С. Кисиль с соавт., 2017 [209] и др.). Но проблема заключается в относительности самого понятия «инагглютиногенность (инагглютинабельность)». Инагглютиногенные (инагглютинабельные) свойства указанных вакцин в процессе своего существования проявили в той или иной степени нестабильность (А.А. Новицкий, 1989 [254] и др.). Кроме того, они обладают достаточно низким уровнем иммуногенности. Справедливости ради, следует добавить, что существует принципиальная возможность повышения уровня иммуногенности вакцин за счет не только изменения схем иммунизаций, но и применения иммуностимулирующих средств (Е.А. Драновская с соавт., 1982, 1987 [169, 170]; А.П. Красиков, 1996 [220]; В.С. Бронников с соавт., 1991 [82]; К.М. Салмаков с соавт., 2009 [286] и др.), однако до настоящего времени она в официальной ветеринарной практике не реализована.

Большую известность получили живые слабоагглютиногенные вакцины из штаммов *V. abortus* В-1, В-8, 21, 32, 82 пч, 45/20; *V. melitensis* Н-12

(П.Н. Жованик, 1975 [176]; М.С. Абиджанов, 1967 [1]; В.С. Рягузов, 1967 [283]; К.М. Салмаков, 1977 [285]; Г.А. Белозерова, 1993 [66]; И.А. Косилов с соавт. 1999 [219]; L. Valette, 1987 [439] и др.), которые являются компромиссными в отношении проявления иммуногенных и антигенных свойств между инагглютиногенными и агглютиногенными.

С учетом вышеизложенного, следует более подробно рассмотреть с позиций технологичности проблему живых вакцин из агглютиногенных и слабоагглютиногенных штаммов бруцелл и оптимизации схем их практического применения.

Живые агглютиногенные вакцины обладают наибольшими преимуществами из всех типов живых вакцин, прежде всего за счет высоких уровней иммуногенности и стабильности биологических свойств, особенно антигенных (И.А. Косилов с соавт., 1999 [219]).

Вакцина из штамма *B. abortus* 19 обладает наибольшей мировой известностью из всех известных вакцин этого типа (П.А. Вершилова, 1972 [85]). Вакцину из этого штамма стали применять в США с 30-х годов.

Вакцина из штамма 19 достаточно быстро нашла широкое применение в ветеринарной практике на крупном и мелком рогатом скоте в дозах 80 и 40 млрд. м.к. соответственно (С.Н. Вышелесский, 1977 [97]; А.Д. Иванов, 1955 [184]; Ф.П. Локтева, 1968 [232]; М.К. Юсковец, 1960 [377]; А.А. Бойко, 1967 [75]; Л.Л. Вертелецкий, 1967 [84]; Р. Виттоз, 1967 [91]; Г.Н. Глотов, 1969 [103]; Г.Г. Черемисин, 1969 [355]; Е.С. Орлов, 1946, 1971 [258, 259, 260]; П.Н. Жованик, 1975 [176]; К.П. Студенцов, 1975 [310]; П.А. Вершилова, 1972 [85]; М. Berthelon, 1962 [394]; R. Geborieau, 1970 [419]; P. Nicoletti, 1978 [429] и др.). Штамм проявил стабильность биологических свойств.

В процессе широкого использования указанной вакцины у иммунизированных (особенно многократно) животных стали наблюдать длительно сохраняющиеся серологические реакции, что создало серьезные проблемы в проведении диагностических исследований на бруцеллез из-за отсутствия объективных методов дифференциации реакций у больных и здоровых

вакцинированных животных (Е.С. Орлов с соавт., 1946 [259]; М.К. Юсковец, 1960 [377]; А.С. Гринин, 1964 [117]; Р. Виттоз, 1967 [91]; Ф.П. Локтева, 1968 [232]; Е.С. Орлов, 1971 [260]; П.А. Вершилова, 1972 [85]; А.А. Новицкий, 1989 [254]; А.А. Иванов, 1996 [182]; П.К. Аракелян, 1997 [18]; И.А. Косилов с соавт., 1999 [219]; Т.К. Касымов, 2002 [202]; F. Burki, 1961 [396]; Т.Е. Buttler et al., 1981 [397]; G.G. Alton et al., 1985 [391] и др.).

Удалось оценивать эпизоотический статус лишь на уровне фермы (Ф.С. Логинов, 1956 [229]; А.С. Гринин, 1964 [117]; Ф.П. Локтева, 1967 [231]; И.А. Косилов с соавт., 1999 [219] и др.).

С 1970 года она официально была регламентирована лишь для использования на мелком рогатом скоте и телочках 2-6 месячного возраста (В.М. Авилов, 1997 [2]; И.А. Косилов с соавт., 1999 [219]; А.А. Новицкий с соавт., 1999 [255] и др.).

Штамм В. abortus 104М показал стабильность биологических свойств, наличие четких маркеров, более высокую остаточную вирулентность и иммуногенность, чем у штамма 19, безвредность для беременных животных (М.А. Бажин, 1974 [61]; Н.С. Вожаев с соавт., 1980 [92]; К.В. Шумилов с соавт., 1980, 1984 [368, 370, 371]; Т.К. Касымов, 1985 [201]; А.А. Лим, 1987 [226]; Д.Е. Арзамбетов, 1990 [58]; А.Г. Хлыстунов с соавт., 1995 [343]; Ю.В. Русаков, 1991 [282]; И.А. Косилов с соавт., 1999 [219] и др.). Вакцина из указанного штамма широкого применения не получила.

Штамм В. melitensis Rev-1 оказался более иммуногенным, чем штамм В. abortus 19 (М. Herzberg, S.S. Elberg, 1955 [421]). Некоторые авторы (П.С. Уласевич, 1971 [325]; О.Ю. Юсупов, 1981 [379] и др.) утверждали, что единственная вакцинация защищает от заражения овец в естественных условиях на срок до 5 лет, а серологические исследования иммунизированных животных на бруцеллез можно начинать не ранее чем через 2,5-3 года. Его дальнейшие испытания были продолжены рядом как отечественных, так и зарубежных ученых (О.Ю. Юсупов, 1971, 1981, 1983, 1986, 1999 [378, 379, 380, 382, 383]; К.В. Шумилов, 1977 [366]; О.Ю. Юсупов с соавт., 1984, 2016 [381, 385];

А.А. Султанов, 1985, 1992 [311, 312]; R.Fennsterbank et al., 1982 [413] и др.). Они показали, что штамм обладает более значительной остаточной вирулентностью и соответственно более высокой иммуногенностью, чем у штамма *B. abortus* 19, сохраняет стабильность своих биологических свойств при повторных пассажах через организм животного, выделяется с молоком у вакцинированного животного, вызывает раннее появление агглютининов и комплементсвязывающих антител при длительном их сохранении, выраженные аллергенные свойства. У суягных овец вызывает аборт. В частности, была подтверждена достаточно высокая остаточная вирулентность вакцинного штамма *B. melitensis* Rev-1, что в эпидемиологическом отношении недостаточно приемлемо. Сопоставляя регламентированную для подкожного введения овцам дозу 2 млрд. м.к. вакцинного штамма *B. melitensis* Rev-1 с подкожной дозой 40 млрд. м.к. вакцинного штамма *B. abortus* 19, в первом случае можно также логически рассуждать о более высокой реактогенности штамма (включая проявление антигенных свойств в виде серологических реакций и аборты у суягных животных, ранее не подвергавшихся вакцинации против бруцеллеза).

Практика однократного использования указанной вакцины на ярках показала, что такая схема иммунизации в сложных эпизоотических условиях не предохраняла от острых вспышек бруцеллеза уже через 1-2 года (И.А. Косилов с соавт., 1999 [219]).

Роль оптимальных доз и методов введения в эффективности живых агглютиногенных вакцин:

Общеизвестно, что степень технологичности живых агглютиногенных вакцин при использовании в стандартных дозах при подкожном методе введения является минимальной. Не случайно уже давно наряду с изучением вакцин различных типов обращается внимание на изучение возможности уменьшения доз и поиска более эффективных способов иммунизации вакцинами из штаммов 19, Rev-1, 104-М и др. в целях сокращения сроков проведения диагностических исследований животных (К.Ф. Ламихов, 1958 [224]; А.В. Селиванов с соавт., 1959

[302, 303, 304]; А.В. Селиванов, 1956 [300, 301]; И.А. Косилов, 1963 [215]; К.В. Шумилов, 1979 [367]; М.М. Ломинайшвили, 1985 [233]; К.И. Минжасов, 1986 [241]; В.К. Гринько с соавт., 1989 [118]; Е.А. Бровик, 1990, 1991 [76, 77]; К.А. Лайшев, 1990 [225] Ю.В. Русаков, 1991 [282]; А.А. Иванов, 1992, 1996 [181, 182]; И.А. Косилов с соавт., 1999 [219]; В.М. Устаев, 2010 [328]; E. Cocks et al., 1973 [402]; P. Nicolette et al., 1978 [429]; B. Douce, 1979 [410]; L. Corner et al., 1981 [405]; F.Viana et al., 1982, 1986 [442, 443]; R. Fensterbank et al., 1982 [413]; N. Cotrina et al., 1984 [406]; A. Confer et al., 1985 [403]; I. Fania et al., 1985 [412] и др.).

У подкожной иммунизации животных вакциной из штамма 19 подтверждена эффективность, превышающая таковую при накожной; аэрозольный метод вакцинации был более эффективным, чем подкожный и накожный, что можно объяснить более быстрым расселением бруцелл по организму и сокращением сроков сохранения серопозитивные реакций до двух месяцев (А.В. Селиванов с соавт., 1959 [304]; П.А. Вершилова (1972) [85]).

Ни одна противобруцеллезная вакцина не может гарантировать 100 % иммунитета у всех вакцинированных животных. Однако, она в практических условиях максимально обеспечивает предотвращение распространения возбудителя в неблагополучном стаде/отаре, так как при подавляющем большинстве иммунных животных эпизоотическая цепь будет неизбежно прерываться. Повышение уровня иммунитета у ранее вакцинированных животных обеспечивает их отдаленная ревакцинация (Г.Н. Глотов, 1969 [103]; Г.Г. Черемисин с соавт., 1969 [355]; Е.С. Орлов, 1971 [260]; И.А. Косилов 1985 [218] и др.).

Е.С. Орлов (1971) [260] у овец, иммунизированных вакциной из штамма 19, угасание иммунитета отметил к 12 месяцам и в этой связи предложил ревакцинировать их в этот период в целях повышения уровня его напряженности.

И.А. Косилов с соавт. (1999) [219] утверждает, что при первой иммунизации животных против бруцеллеза доза вакцины должны быть максимальной в целях обеспечения наибольшей иммунологической реактивности организма, а при

реиммунизациях, наоборот, минимальных, но способных вызвать активный иммунный ответ без длительной серопозитивности. Есть сообщения о противозепизоотической эффективности основанных на этом принципе схем реиммунизации животных (В.А. Ромахов, 1992 [278]; В.И. Ким, 1991 [206]; Ю.В. Русаков, 1991 [282] др.).

Эффективной признана реиммунизация животных против бруцеллеза на фоне первичного введения живых агглютиногенных вакцин живыми слабоагглютиногенными (И.А. Косилов с соавт., 1999 [219]).

Конъюнктивальная иммунизация заслуживает особого внимания с позиций соответствия потенциальным воротам инфекции. Ее эффективность при бруцеллезе животных была доказана рядом исследователей (И.А. Тарасов, 1937 [318]; А.В. Селиванов, 1956 [300, 301]; К.Ф. Ламихов, 1958 [224]; А.В. Селиванов с соавт., 1959 [302]; А.М. Муминов, 1980 [244]; А.А. Лим, 1987 [226]; К.И. Минжасов, 1986 [241]; Е.А. Бровик, 1990, 1991 [76, 77]; Р.Г. Ягудин с соавт., 1995 [386]; М.П. Альбертян с соавт., 1994 [6]; А.Т. Рукин, 1998 [281]; В.М. Устаев, 2010 [328]; М.И. Искандаров, 2012 [191]; M. Plommet et al., 1976 [432]; M. Plommet, 1980, 1981 [433, 434]; P. Nicoletti et al., 1978 [429]; Ph. Desmettre et al., 1981 [408]; P. Plackket et al., 1980 [430]; R. Fensterbank et al., 1982, 1985, 1987 [413, 414, 415, 416]; M.R. Jiminez De Bagues et al., 1989 [424] и др.).

А.В. Селиванов (1956) [300, 301] экспериментально доказал наибольшую напряженность иммунитета у животных, привитых вакциной из шт. 19 конъюнктивально, чем подкожно. По его данным, конъюнктива – оптимальное место в организме, откуда оперативно и максимально привычным путем происходит антигенное раздражение, приводящее в конечном счете к формированию высокого уровня общей и местной иммунной защиты.

Л.В. Жарова (2002) [175] доказала что через 5 месяцев иммунитет у мелкого рогатого скота, первично привитого вакциной из шт. 19 подкожно (40 млрд. м.к.) и конъюнктивально (4 млрд. м.к.), был по напряженности однозначным, а

серопозитивность у животных в этот срок при конъюнктивальной иммунизации практически отсутствовала.

Серопозитивность у овец, подвергнутых подкожной иммунизации вакциной из шт. 19, не исчезала даже через 1 год после первичной прививки (в 5% случаев оставалась положительная РИД, как известно, являющуюся официальным критерием оценки эпизоотического статуса вакцинированных животных (Н.А. Морозова, 2002 [231]), конъюнктивальная же иммунизация снимала проблему серопозитивности уже через 4 месяца (П.К. Аракелян, 1997 [18]; А.Т. Рукин, 1998 [281]; Л.В. Жарова, 2002 [175]; Н.А. Морозова, 2002 [242])).

В результате обобщения материалов зарубежной и отечественной литературы, касающиеся живых агглютиногенных вакцин, возникают следующие принципиальные соображения.

Их практическое использование для ревакцинации животных в стандартных дозах и при подкожном методе введения не технологично в связи с серопозитивностью, не имеющей надежной дифференциации от постинфекционных.

Первичная подкожная иммунизация животных живыми агглютиногенными вакцинами в стандартных дозах введения вполне технологична при практическом использовании на крупном и мелком рогатом скоте в молодом возрасте (особенно в сложных эпизоотических условиях), так как поствакцинальные реакции к периоду половой зрелости у иммунизированных животных угасают, а базовый иммунитет формируется наиболее прочным и длительным, чем при использовании уменьшенных доз.

Уменьшение доз вакцины при разных способах иммунизации вполне может оказаться технологичным, так как угасание поствакцинальных реакций у иммунизированных и реиммунизированных животных происходит значительно быстрее, что создает перспективу использования различных диагностических методов для беспрепятственного выявления бруцеллоносителей в целях эффективного контроля эпизоотического процесса бруцеллеза.

Наиболее перспективным с позиций технологичности является конъюнктивный метод введения животным живой агглютиногенной вакцины в уменьшенной дозе, способной создать практически однозначный по напряженности с подкожной дозой иммунитет, и при этом обеспечить возможность беспрепятственного выявления бруцеллоносителей в целях эффективного осуществления противоэпизоотических мероприятий.

Вакцина из шт. 19 из известных вакцин этого типа более приемлема для использования, так как менее реактогенна и в большей степени эпидемиологически корректна из-за умеренной остаточной вирулентности.

Однако к моменту начала наших исследований результатов, которые бы подтверждали эффективность такой схемы как на мелком, так и на крупном рогатом скоте, было явно недостаточно.

Живые слабоагглютиногенные вакцины занимают промежуточное положение между агглютиногенными и инагглютиногенными. Из наиболее известных к ним относятся штаммы *B. abortus* В-1, В-8, 21, 82, 82 пч, 75/79-АВ, 45/20; *B. melitensis* Н-12 и другие (М.С. Абиджанов, 1967 [1]; В.С. Рягузов, 1967 [283]; И.А. Косилов с соавт., 1999 [219]; Е.С. Орлов, 1971 [260]; П.Н. Жованик, 1975 [176]; А.С. Мангазеева, 1976 [238]; М.М. Иванов с соавт., 1977 [187]; Г.А. Белозерова, 1993 [66]; И.П. Никифоров, 1996 [250]; В.В. Тяпин, 2005 [322]; Р.А. Крючков, 2010 [221]; Г.Г. Евграфов, 2011 [172]; Н.В. Винокуров с соавт., 2010, 2014 [87, 88] и др.).

Наиболее известна вакцина из шт. *B. abortus* 82. К.М. Салмаков в Казанском ветеринарном институте получил вакцинный штамм, который за счет SR-антигенности обеспечивал у животных иммунитет достаточной напряженности, но при этом, в отличие от вакцинных штаммов, имеющих только S-антигенную структуру, был в значительно меньшей степени агглютиногенным. Серологические реакции угасали к 30 дню после первичной иммунизации интактных животных. Было заявлено, что даже многократные пассажи *in vitro* и *in vivo* сохраняли его стабильным (К.М. Салмаков, 1977 [285]).

Именно этот вакцинный штамм комиссионно был рекомендован для широкой проверки в условиях ветеринарной практики (М.М. Иванов с соавт., 1977 [187]). К его испытанию приступили в СССР в 1974 году (к этому времени, на фоне отмены иммунизации взрослого скота вакциной из шт.19, эпизоотическая ситуация чрезвычайно обострилась). Положительные результаты были получены в ряде регионов страны (А.П. Ростов с соавт., 1980 [280]; А.П. Ростов, 1987 [279]; Н.Х. Хасанов с соавт., 1980 [340]; В.Б. Бельченко с соавт., 1981 [68]; А.Г. Падалица, 1983 [263]; И.А. Косилов, 1985 [218]; И.А. Косилов с соавт., 1999 [219]; А.А. Новицкий, 1989 [254]; О.З. Исхаков, 1991 [192]; В.М. Авилов, 1997 [2]; И.П. Никифоров, 1996 [250]; А.А. Новицкий с соавт., 1999 [255] и др.).

Ряд авторов (А.Г. Падалица, 1983 [263]; А.А. Новицкий, 1989 [254]; О.З. Исхаков, 1991 [192]; В.М. Авилов, 1997 [2]; С.К. Димов, 1993 [147]; В.И. Сайченко, 1995 [297]; И.П. Никифоров, 1996 [250]; И.А. Косилов с соавт., 1999 [219]; А.В. Суспицын, 2005 [314]; Е.С. Хасенов, 2006 [342]) выявил зависимость противоэпизоотического эффекта указанной вакцины от предварительно существовавшего иммунного фона. Среди взрослого поголовья крупного рогатого скота, благополучного по бруцеллезу, при отсутствии иммунного фона (либо животных ранее против бруцеллеза вообще не иммунизировали, либо после иммунизации прошел довольно длительный срок) в ряде случаев наблюдали отрицательные явления в виде абортотности, контагиозности и серопозитивности. Аборты у вакцинированных на неиммунном фоне животных наблюдались в 10-20 % случаев через месяц и еще в течение нескольких месяцев (И.А. Косилов с соавт., 1999 [219]).

Результаты комплексного изучения биологических свойств вакцины показали, что ее отдельные серии отличались антигенной неоднородностью микробных клеток и тенденцией к изменению антигенной структуры в направлении RS– SR–S формы, способностью к длительной персистенции и приживаемости штамма у отдельных животных и даже миграции на непривитых животных при контакте с ними (И.А. Косилов с соавт., 1978 [217]; А.Г. Падалица, 1983 [263]; А.А. Новицкий, 1989 [254]; И.А. Косилов с соавт., 1999 [219] и др.).

Издержки были минимальными на фоне ранее проводимых прививок вакциной из шт. 19 (А.Г. Падалица, 1983 [263]; О.З. Исхаков, 1991 [192]; В.М. Авилов, 1997 [2]; В.И. Сайченко, 1995 [297]; И.А. Косилов с соавт., 1999 [219] и др.).

В дальнейшем для реиммунизации взрослого скота слабоагглютиногенную вакцину из штамма В. abortus 82 стали применять как по гомологичному фону, так и по фону первичной прививки телочек в 2-4 месячном возрасте вакциной из штамма 19 (А.А. Новицкий, 1989 [254]; В.М. Авилов, 1997 [2] ; В.И. Сайченко, 1995 [297]; И.П. Никифоров, 1996 [250]; И.А. Косилов с соавт., 1999 [219]; А.А. Новицкий с соавт., 1999 [255]). Реиммунизации взрослого маточного поголовья КРС оказалась необходимой через каждые 1-2 года, в зависимости от тяжести ситуации (И.А. Косилов с соавт., 1999 [219]).

Слабоагглютиногенная вакцина из штамма В. abortus 75/79-АВ по своим биологическим характеристикам во многом аналогична вакцине из шт.82. Она была предложена для ветеринарной практики как менее реактогенная вакцина, не проявляющая абортотропных свойств. Первоначально ее антигенные свойства были выражены также в значительно меньшей мере (И.П. Никифоров, 1996 [250]).

Обобщая материалы, приведенные в обзоре литературы в отношении живых слабоагглютиногенных вакцин, важно подчеркнуть, что их технологичность во многом зависит прежде всего от рациональных схем их применения, успех практической реализации которых напрямую связан с технологией животноводства.

Система ведения скотоводства, предусматривающая отдельное содержание всех половозрастных групп крупного рогатого скота, изолированное выращивание телок и создание из нетелей отдельных гуртов и групп, формирование и переформирование маточных гуртов по принципу относительной возрастной однородности, обеспечивает возможность создавать и практически однородный перманентный иммунный фон за счет многократного использования живых слабоагглютиногенных вакцин на фоне первичной иммунизации телочек в 3-4 месячном возрасте гомологичной вакциной или живой агглютиногенной вакциной: за 2-3 месяца до осеменения и далее после отела и через каждые 1-2

года (в зависимости от эпизоотической ситуации) до полного оздоровления фермы (хозяйства) или исчезновения эпизоотической угрозы и еще в течение 4 лет после нее. Принципиально важным при этом является постепенное вытеснение всего скомпрометированного поголовья и замена его новым, выращенным из изолированно выращенного здорового молодняка (И.А. Косилов с соавт., 1999 [219]).

Отступления от описанной выше технологии ведения скотоводства связаны прежде всего с допущением совместного содержания животных разных половозрастных групп крупного рогатого скота и отсутствием возрастной однородности в формировании и переформировании маточных гуртов.

Именно такие отступления неизбежно приводят и к отступлениям от общепринятой технологии применения слабоагглютиногенных вакцин, принципиальными из которых могут являться:

- первичное введение слабоагглютиногенной вакцины с незакрепленными антигенными свойствами на неиммунном фоне;
- сужение интервалов между вакцинациями у животных за счет отсутствия надежного учета;
- совместное содержание вакцинированных и невакцинированных животных (животных, вакцинированных в недавние сроки, с животными, вакцинированными в более поздние сроки).

Указанные отступления создают благоприятные возможности для реверсии вакцинного штамма, антигенные свойства которого не стабильны, его приживаемости в организме и проявления длительной реактогенности, в том числе агглютиногенности.

Они особенно характерны для мелких хозяйств, в том числе для личных подсобных, крестьянских и фермерских хозяйств, где скот всех половозрастных категорий однозначно содержится совместно. В таких хозяйствах применение живых слабоагглютиногенных вакцин становится абсолютно не технологичным. В этой связи не случайно в современных условиях в РФ в подавляющем большинстве возникающих эпизоотических очагов животные не

иммунизированы, так как других утвержденных схем иммунизации нет. Более того, число вспышек бруцеллеза животных именно в этих категориях хозяйств за последнее время значительно возрастает. В остальных неблагополучных и угрожаемых скотоводческих хозяйствах живые слабоагглютиногенные вакцины продолжают применять, при этом во многих случаях возникает много проблем, связанных со сложностями в дифференциальной поствакцинальной диагностике, которые далеко не везде и не всегда решаются объективно из-за отсутствия в ветеринарной практике четко прописанного официально утвержденного регламента объективной дифференциальной диагностики бруцеллеза крупного рогатого скота, привитого живыми слабоагглютиногенными вакцинами, что в конечном итоге приводит, с одной стороны, к затягиванию сроков оздоровления неблагополучных хозяйств, а с другой – к необоснованному объявлению неблагополучными хозяйств, где положительные реакции на бруцеллез у животных могут иметь вакцинное происхождение (П.К. Аракелян, С.К. Димов, 2013 и др. [38]).

Убитые (инактивированные, химические, искусственные) вакцины.

В начале поиск был сосредоточен на инактивированных корпускулярных препаратах и различных схемах их применения, но успехом не увенчался (Е.С. Орлов с соавт., 1946 [259]; М.К. Юсковец, 1960 [377]; П.Н. Жованик, 1975 [176] и др.).

Изыскание экологически безопасных вакцин продолжилось в направлении химических и искусственных вакцин (Е.А. Драновская, 1976 [168]; П.Е. Игнатов, 1980 [189]; Р.М. Пашаев, 1981 [264]; Е.А. Драновская с соавт., 1987 [170]; К.В. Шумилов с соавт., 1983 [369]; А.А. Сумароков с соавт., 1984 [313]; Г.И. Григорьева с соавт., 1988, 1989 [112, 113, 114, 116]; В.С. Бронников, 1989, 1990 [78, 80]; В.И. Белобаба с соавт., 1989 [64]; Г.А. Ельшина с соавт., 1989 [173]; А.А. Новицкий, 1989 [254]; В.С. Бронников с соавт., 1990, 1991, 2012 [79, 81, 82; 83]; А.П. Красиков, 1996 [220]; В.И. Белобаба, 1998 [65]; М.И. Петрова, 1998 [265]; И.А. Косилов с соавт., 1999 [219]; Е.Г. Кинжигитов, 2005 [207]; Р. Аманжол, 2008 [57]; С.А. Шаймерденов, 2008 [364]; Л.Ж. Уалиев, 2009 [323]; Б.М. Мустафин, 2010

[248]; С.Г. Канатбаев, 2010 [196]; К.М. Салмаков с соавт., 2010, 2012, 2013 [287, 289, 290, 291]; Т.Г. Попова с соавт., 2012, 2013 [272, 273]; А.М. Фомин с соавт., 2012, 2015 [333, 334]; А.В. Иванов с соавт., 2013 [183]; М.А. Косарев с соавт., 2010 [214]; Г.М. Сафина с соавт., 2016 [298, 299]; A.D. Mc Even, 1955 [426]; L. Joubert et al., 1969 [425]; B. Cunningham et al., 1977 [407]; Woodard et al., 1983 [446]; M. Corbel et al., 1976 [404] и др.).

Появились инактивированные адъювант-вакцины из штаммов 53Н38 и 45/20 в специальном адъюванте (A.D. Mc Even, 1955 [426]; L. Joubert et al., 1969 [425]; J.H.G. Roerink, 1969 [437]; B. Cunningham et al., 1977 [407]; M.R. Reid et al., 1972 [436]; R. Diaz, 1973 [409]; K.J. Beh, 1975 [393]; M.J. Corbell, 1976 [404]; S. Waghela et al., 1976 [445]; J.S. Chung, 1980 [401]; L.F. Woodard et al., 1983 [446]; G.G. Alton et al., 1972 [390]; S. Waghela, 1983 [444]; R. Graumont et al., 1984 [420]; C.C. Chukwu et al., 1996 [400]).

В РФ и бывшем СССР их изучали К.В. Шумилов с соавт. (1989) [372]; Т.К. Касымов (1985, 2002) [201, 202]; Л.Ф. Касьянова (1985) [204, 205]; В.И. Ким, 1991 [206] и другие исследователи, которые отметили реактогенность этих препаратов.

В РФ разработали новую инактивированную адъювант-вакцину из инагглютиногенного штамма *V. abortus* KB 17/100 (К.В. Шумилов с соавт., 1995, 1999 [373, 374, 375, 376]; А.Н. Бобылев, 2001 [74] и др.).

Однако, издержки, возникшие по результатам изучения разнообразных убитых вакцин (недостаточный уровень иммунитета, выраженные реактогенные и антигенные свойства и др.), не позволили им найти широкое практическое применение.

1.3.2. Ретроспективный анализ проблем технологичности различных средств и схем диагностики бруцеллеза животных

Диагностика бруцеллеза – неотъемлемое и важное звено противобруцеллезных мероприятий (Л.В. Дегтяренко, 2005 [128]; М.Е. Алимбекова, 2006 [5];

Л.С. Аубекерова, 2010 [60]; А.М. Сарманов, 2010 [292]; Б.М. Мустафин, 2010 [248]; С.Г. Канатбаев, 2010 [196]; М.К. Каракбаева, 2010 [197]; М.Ю. Карлова, 2012 [200]; И.Н. Каликин, 2012 [194]; Л.В. Дегтяренко с соавт., 2015 [131] и др.).

Серологическая диагностика является массовой. РА появляется у животных через 1-2 недели после их заражения. Однако в более поздние сроки после заражения происходит ее постепенное угасание и диагностическое значение снижается. РСК появляется позднее и на длительный срок, однако не способна полностью заменить РА. Поэтому массовая диагностика предусматривает комплексное использование указанных реакций (Н.Е. Цветков, 1940 [344]; И.А. Косилов, 1975 [216]; А.С. Мангазеева, 1976 [238]; И.А. Косилов с соавт., 1999 [219]). РБП (роз бенгал проба) обеспечивала экспресс-диагностику бруцеллеза (В.Б. Бельченко с соавт., 1981 [67]; И.Н. Каликин, 2012 [194] и др.), но всегда являлась ориентировочным методом.

Массовые исследования животных после вакцинации являются особенно необходимыми, так как обеспечивают выявление спровоцированных вакцинами скрытых бруцеллоносителей. Однако она имеет существенную специфику, так как должна максимально выявить инфицированных животных, обеспечив при этом объективную дифференциацию постинфекционных реакций от поствакцинальных.

В предыдущих разделах обзора литературы о проблемах дифференциальной поствакцинальной диагностики бруцеллеза уже было отмечено, особенно в отношении животных, иммунизированных живыми агглютиногенными вакцинами.

Иммунизация и реиммунизация животных живыми слабоагглютиногенными вакцинами возможность дифференциальной поствакцинальной диагностики бруцеллеза в достаточной степени обеспечивают. Однако необходимость рациональных схем такой диагностики очевидна (В.А. Клименко, 1983 [210]; Л.В. Дегтяренко, 2005 [128]; А.А. Новицкий, 1989 [254]; Т.Г. Попова, 1990 [271]; Ш.Р. Файзрахманов с соавт., 1993 [329]; В.М. Чекишев с соавт., 1997 [353]; Б.И. Антонов с соавт., 1994 [13, 14]; В.И. Сайченко, 1995 [297]; И.П. Никифоров,

1996 [250]; Г.М. Стеблева, 1995, 1998 [308, 309]; В.М. Чекишев, 1998 [354]; И.А. Косилов с соавт., 1999 [219]; Л.В. Дегтяренко с соавт., 2011, 2015 [130, 131, 132] и др.).

Большую известность получила кольцевая реакция (КР) с молоком (О. Fluchauer, 1937 [417]; С.И. Муратов с соавт., 1953 [245]; О.И. Морякова, 1961 [243]; П.Н. Жованик, 1975 [176]; В.А. Клименко, 1983 [210]; С.К. Димов, 1993 [147]; А.А. Новицкий, 1989 [254]; Т.Г. Попова, 1990 [271]; В.И. Сайченко, 1995 [297]; И.А. Косилов с соавт., 1999 [219]; Т.К. Касымов, 2002 [202] и др.).

КР, являясь экспресс-методом обеспечивает возможность проводить исследования на бруцеллез в максимально ранние сроки после вакцинации и своевременно выявлять спровоцированных скрытых бруцеллоносителей, с позиций технологичности имеет определенные издержки, связанные с необходимостью в целях объективной дифференциальной эпизоотической оценки животных проводить исследование на бруцеллез не только цельного молока, но и его разведений (1:4; 1:8; 1:16 и т.д.) цельным молоком от здоровой не вакцинированной против бруцеллеза коровы, а также в ряде случаев прибегать к исключению лабораторными методами субклинических маститов. Кроме того, при длительных сроках доставки и хранения молока для исследования требуется его консервирование (С.К. Димов, 1993 [147]).

В дальнейшем была предложена и апробирована РИД с О-ПС антигеном (С.А. Аскерова, 1988 [59]; С.К. Димов, 1993 [147]; Е.А. Киселев, 1993 [208]; Ш.Р. Файзрахманов с соавт., 1993 [329]; В.М. Чекишев с соавт., 1993, 1997 [347, 348, 352]; Б.А. Антонов с соавт., 1994 [13, 14]; И.А. Косилов с соавт., 1999 [219]; В.И. Сайченко, 1995 [297]; Г.М. Стеблева, 1995, 1998 [308, 309]; В.М. Чекишев, 1995, 1997, 1998 [349, 350, 351, 354]; П.К. Аракелян с соавт., 1996, 1997, 1999, 2000, 2007 [16, 17, 19, 20, 21, 22]; С.К. Димов с соавт., 1997 [148]; О.А. Колганова с соавт., 1997 [212]; Н.А. Морозова, 2002 [242]; К.С. Димов, 2008 [146]; J.W. Chervonogrodzky et al., 1988 [399] и др.). Она позволяет осуществлять дифференциацию поствакцинальных и постинфекционных реакций в условиях использования слабоагглютиногенных вакцин.

О-ПС антиген, полученный из *B. melitensis*, оказался более эффективным при диагностике бруцеллеза овец, в сравнении с аналогичным диагностикумом, из *B. abortus* (К.С. Димов, 2008 [146] и др.). При этом использование различных схем вакцинации может отразиться на специфичности показаний РИД с их использованием. Что требует отдельного изучения.

У крупного рогатого скота, иммунизированного и реиммунизированного живыми слабоагглютиногенными вакцинами сформировалась принципиальная дифференциально-диагностическая схема, включающая использование: РА+РСК при постановке до предельных разведений; КР с молоком, РИД с О-ПС антигеном – как индикаторов наибольшей эпизоотической опасности животных с положительными показателями указанных диагностических тестов; РСК с R-антигеном – положительные показатели которой при более высоких титрах, чем РСК с S-антигеном, предполагали поствакцинальную природу реакций; бактериологического метода, позволяющего выделять из биоматериала от реагирующих животных культуры бруцелл и дифференцировать их; эпизоотологического метода, позволяющего оценивать наличие или отсутствие оснований считать стадо, в котором произошло реагирование, неблагополучным по бруцеллезу (И.А. Косилов с соавт., 1999 [219]; Л.В. Дегтяренко, 2005 [128]; А.В. Суспицын, 2005 [314] и др.). При этом ее совершенствование не останавливалось и до настоящего времени остается актуальным (Л.В. Дегтяренко с соавт., 2011, 2015 [130, 131, 132] и др.). При этом официального дифференциально-диагностического комплекса до сих пор в стране нет.

В частности, существовали различные R-диагностикумы, изготовленные разными авторами (Н.П. Иванов, 1984 [188]; Л.В. Дегтяренко, 2005 [128]; А.М. Фомин, 1990, 2001 [330, 332]; А.М. Фомин с соавт, 1991 [331] и др.).

Хорошо зарекомендовала себя реакция непрямой гемагглютинации (РНГА), показания которой практически полностью совпадают с комплексом РА+РСК и даже превосходят его (К.А. Поздеева с соавт., 1962 [270]; П.А. Вершилова, 1972 [85], И.А. Косилов с соавт., 1999 [219]; L. Carrere et al., 1952 [398]). В дальнейшем был получен новый эритроцитарный диагностикум (С.Г. Хаиров, 2001 [335]). Его

эффективность была подтверждена в ряде научных работ (Л.В. Дегтяренко, 2005 [128]; Н.В. Винокуров, 2010 [86]; С.Г. Хаиров с соавт., 2014 [336]; О.Ю. Юсупов с соавт., 2015 [384]; Э.А. Яникова с соавт., 2016 [387] и др.) Предлагались другие эритроцитарные диагностикумы (М.Ю. Карлова, 2012 [200] и др.).

ИФА при бруцеллезе является специфичным и высокочувствительным диагностическим тестом (З.Б. Маматова, 1986 [236]; З.Б. Маматова с соавт., 1987 [237]; С.П. Меринов, с соавт., 1984 [239, 240]; М.П. Подоляко с соавт., 1995 [269]; Э.М. Плотникова с соавт., 2003 [268]; М.К. Каракбаева, 2010 [197]; L. Valette, 1987 [439]; M.R. Sting et al., 2000 [438] и др.), однако в связи с вакцинацией его использование упирается в проблему дифференциальной диагностики, которая пока официально не решена.

Обобщая материал обзора литературы, касающийся диагностики бруцеллеза животных, следует отметить, что существующие методы массовой диагностики бруцеллеза основаны на выявлении антител, образываемых в организме на внедрение типичных бруцелл. Совершенствование методов осуществляется прежде всего по пути поиска эффективных экспресс-диагностических тестов. Особое значение представляют методы дифференциальной диагностики, способные объективно различать реакции, вызванные у животных вакцинными и «полевыми» бруцеллами, оценивать уровень их эпизоотической опасности.

С позиций технологичности важно обеспечить поступление в ветеринарную практику эффективных диагностических компонентов, как для серологической, так и бактериологической диагностики бруцеллеза, в частности диагностических сывороток.

1.4. Заключение по обзору литературы

Обобщенные научные литературные данные вносят, на наш взгляд, значительную ясность в теоретические основы контроля эпизоотического процесса вообще и бруцеллеза в частности.

С позиций управления эпизоотическим процессом бруцеллеза, необходимость использования вакцин является очевидной.

Причем схема специфической профилактики должна как можно раньше после вакцинации обеспечить проведение исследований, направленных на выявление спровоцированных вакциной бруцеллоносителей и при этом быть максимально безвредной для животных и людей.

Диагностика бруцеллеза должна быть чувствительной, но с дифференцирующими способностями.

Важен и комплекс общих мер, нейтрализующий механизм развития эпизоотического процесса.

В этой связи, наибольшую актуальность в современных условиях представляют научные исследования в следующих направлениях:

- оценка эффективности различных методов и средств контроля эпизоотического процесса бруцеллеза с позиций их технологичности;
- поиск и экспериментальная оценка эффективности новых более технологичных методов и средств специфической профилактики и диагностики бруцеллеза животных;
- разработка и апробация концепции оптимизации специфической профилактики и поствакцинальной диагностики бруцеллеза животных по пути повышения уровня ее технологичности в современных практических условиях.

2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Материалы и методы исследований.

Работа выполнялась в 1999-2016 гг. в Институте экспериментальной ветеринарии Сибири и Дальнего Востока (ИЭВСидВ) Сибирского отделения Россельхозакадемии, в дальнейшем входящем в состав ФГБНУ Сибирского федерального научного центра агробιοтехнологии Российской академии наук (СФНЦА РАН), учреждениях, предприятиях и хозяйствах Сибири и других регионов, в соответствии с тематическими планами НИР ИЭВСидВ:

01.02. «Теоретически обосновать, разработать и предложить для реализации в ветеринарной практике модель системы эпизоотологического мониторинга при бруцеллезе с целью совершенствования противоэпизоотических мероприятий» (2001-2005 гг.);

08.02.01.01;09 «Теоретически обосновать, разработать и апробировать в ветеринарной практике основные принципы оптимизации противоэпизоотических систем для современных эпизоотических и социально-экономических условий» (2006-2010 гг.);

08.02.01.01;09 «Разработать методологию контроля рисков возникновения и распространения эпизоотических очагов зооантропонозов в современных условиях ведения животноводства с использованием новых средств и методов» (2011-2013 гг.);

№ 0779-2014-0102 «Изучение современных особенностей патогенеза хронических и зооантропонозных болезней сельскохозяйственных животных, разработка эффективных систем диагностики и методологии контроля рисков возникновения и распространения эпизоотических очагов» (2014-2016).

В исследованиях использовали следующие методы: *аналитический и монографический* – при анализе научной литературы по проблеме бруцеллеза животных, написании учебно-методических пособий и рекомендаций,

включающих материалы диссертации; *эпизоотологический* – при анализе эпизоотической ситуации по бруцеллезу; *бактериологический*; *серологический*.

В работе использовали официальные противобруцеллезные вакцины (живые из штаммов *B. abortus* 19, 82, 75/79-AB, RB-51 и *B. melitensis* Rev-1; убитую из штамма *B. abortus* KB-17/100), а также экспериментальные вакцинные препараты, изготовленные из различных штаммов бруцелл по различным технологиям, в том числе с использованием адъювантов. Вакцины применяли в различных дозах и разными методами (подкожный, конъюнктивальный). В целях купирования бруцеллезной инфекции у экспериментальных животных использовали различные антибактериальные препараты в разных дозах.

Изучению антигенной структуры бруцелл методом Уайта-Вильсона подвергли различные серии официально выпускаемых слабоагглютиногенных вакцин из штаммов 75/79-AB (4 серии) и 82 (9 серий) в сравнении с живой агглютиногенной вакциной из штамма *B. abortus* 19 (2 серии).

Оценку технологичности применения различных противобруцеллезных вакцин у разных видов животных (более 60 тыс. гол.) провели по материалам анализа отчетных и учетных данных ветлабораторий, госветучреждений регионов. В условиях лаборатории оптимизации противоэпизоотических систем ИЭВСиДВ провели комплексные исследования на бруцеллез более 30000 проб сывороток крови животных разных видов и возрастов с различными иммунологическими и эпизоотологическими характеристиками.

Эксперименты и производственные опыты провели на поголовье более 12 тыс. голов крупного рогатого скота, более 3 тыс. овец, 200 морских свинок, 18 кроликов.

В качестве диагностических тестов применяли РБП, РА, РСК, РНГА, ИФА, с РИД с официальными антигенами.

Кроме того, в РСК использовали R-антигены (официальный овисный диагностикум, изготовленный из природной R-формы бруцелл – *B. ovis*; R-антиген, изготовленный по аналогичной методике из R-формы *B. abortus*); в

РИД – О-ПС антиген, полученный по идентичной технологии из *B. melitensis*; в ИФА – различные варианты тест-систем.

При этом ИФА с различными вариантами разработанной совместно с Сизовым А.А. новой скрининговой тест-системы ставили по общепринятой методике. Показатель оптической плотности до 0,3 соответствовал отрицательному результату, с 0,3 до 0,9 – сомнительному, с 0,9 и выше – положительному.

Постановку ИФА с использованием О-ПС антигена осуществляли по общепринятой методике с тем отличием, что для исследования каждой сыворотки крови использовали две лунки полистирольного планшета с сорбированным на их поверхность антигеном, изготовленным из суточной культуры типичных бруцелл штамма *B. abortus* 19. В обе лунки вносили одинаковое количество сыворотки крови от обследуемого животного и инкубировали при 37⁰С в течение 30 – 60 мин при регулярном встряхивании. При этом во вторую из них для конкурентного анализа дополнительно вносили ОП-С антиген, входящий в официально утвержденный и выпускаемый НПЦ «ВетБиоТест» диагностический набор для РИД в количестве, эквивалентном антигену, сорбированному на поверхность лунок планшета.

В качестве универсального конъюгата применяли препарат, изготовленный на основе рекомбинантного белка G.

Результаты реакции регистрировали на спектрофотометре. Оптическую плотность (ОП) измеряли при длине волны 450 нм.

Интерпретацию результатов осуществляли по формуле:

$$K_{30} = \frac{D1}{D2} * 100, \text{ где}$$

D1 – Оптическая плотность, измеряемая в лунке, содержащей ОП-С антиген (конкурентный иммуноферментный анализ);

D2 – Оптическая плотность, измеряемая в лунке, не содержащей ОП-С антиген (классический иммуноферментный анализ);

$K_{э0}$ – коэффициент, отражающий процентное отношение показателя D1 к показателю D2. Этот коэффициент явился критерием степени эпизоотической опасности по бруцеллезу животного, от которого получен исследованный образец сыворотки крови, и сопоставим с результатами, получаемыми в РИД с О-ПС антигеном.

При этом установили следующую градацию:

$0 \leq K \leq 60$ – коэффициент, определяющий отсутствие у животного высокой эпизоотической опасности по бруцеллезу (РИД с О-ПС антигеном – отрицательная);

$61 \leq K \leq 100$ и выше – коэффициент, определяющий наличие у животного высокой эпизоотической опасности по бруцеллезу (РИД с О-ПС антигеном – положительная).

В работе впервые при бруцеллезе использовали новый французский масляный адьювант MONTANIDE™ ISA 61 VG для получения экспериментальных вариантов адьювант-вакцин, а также для изготовления антигенов для гипериммунизации животных доноров в целях получения высокоактивных моноспецифических бруцеллезных сывороток anti-melitensis и anti-abortus. Адьювант добавляли к микробной взвеси в соотношении 40 и 60 %, соответственно (т.е. для приготовления 10 мл суспензии брали 4 мл микробной взвеси и 6 мл адьюванта), при комнатной температуре интенсивно перемешивали на магнитной мешалке.

На морских свинках изучали проявление серологических реакций и иммунитета к искусственному заражению культурой вирулентного штамма *B. melitensis* (9 опытных групп по 5 гол. и контрольная группа 5 гол.) через 90 дней после введения им вакцин, изготовленных на основе адьюванта MONTANIDE™ ISA 61 VG из инактивированных штаммов бруцелл вида abortus в S- и R- формах с различной концентрацией микробных клеток и МДА (микробный дезинтеграт-антиген, изготовленный из *B. abortus* 19 – S-форма) в разных дозах.

На морских свинках изучали проявление серологических реакций и

иммунитета к искусственному заражению культурой вирулентного штамма *B. melitensis* (4 опытные группы по 10 гол. и контрольная группа 5 гол.) через 90 дней после подкожного и конъюнктивального введения им вакцин, изготовленных на основе живой культуры штамма *B. abortus* 19, а также через 90 дней после подкожного введения им вакцин, изготовленных на основе убитой культуры штамма *B. abortus* 19 (S-форма), с различным содержанием вакцинных бруцелл, совместно с адъювантом MONTANIDE™ ISA 61 VG.

В целях разработки новых схем получения малотрудоемких, эпидемически безопасных, экономически выгодных и высокоэффективных бруцеллезных антивидовых моноспецифических сывороток anti-*abortus* и anti-*melitensis* провели опыты на 18 кроликах.

Используемые штаммы, отвечающие паспортным данным, высевали на одну из питательных сред: эритрит агар, МППГА. После 2-3-суточного роста бактериальную массу смывали с поверхности питательной среды физиологическим раствором с добавлением 0,5 % фенола. Полученную взвесь бруцелл доводили до необходимой концентрации по оптическому стандарту мутности, сливали через двойной марлевый фильтр в колбы и инактивировали прогреванием на водяной бане при температуре 80° С в течение 60 минут, периодически помешивая. Проверляли на чистоту и стерильность путем засева на питательные среды.

В первом опыте при получении бруцеллезной моноспецифической сыворотки anti-*melitensis* использовали взвесь убитой культуры штамма *B. melitensis* 16М с добавлением адъюванта MONTANIDE™ ISA 61 VG. Из здоровых кроликов, предварительно проверенных на бруцеллез серологическими методами, сформировали две группы (по 3 кролика в каждой). Животным 1-ой группы ввели однократно внутривенно живую культуру *B. melitensis* 16М в дозе 200 млн. м.к. в объеме 1 мл. Животным 2-ой группы ввели однократно подкожно инактивированную культуру *B. melitensis* 16М в дозе 200 млн. м.к. в смеси с адъювантом.

Во втором опыте при получении бруцеллезной моноспецифической

сыворотки anti-abortus использовали взвесь убитой культуры штамма *B. abortus* 19 с добавлением адъюванта MONTANIDE™ ISA 61 VG. Из здоровых кроликов, предварительно проверенных на бруцеллез серологическими методами, сформировали 4 группы (по 3 кролика в каждой). Животным 1-ой группы ввели однократно внутривенно в объеме 1 мл смесь (1:1) из инактивированной взвеси вакцинного штамма *B. abortus* 19 концентрацией $3,0-5,0 \times 10^9$ м.к./мл и взвеси живой культуры того же штамма 19 концентрацией $3,0-5,0 \times 10^9$ м.к./мл. Животным 2-ой группы ввели однократно подкожно в область подгрудка инактивированную культуру *B. abortus* 19 в дозе 200 млн. м.к. в смеси с адъювантом MONTANIDE™ ISA 61 VG в общем объеме 1 мл. Животным 3-ей группы ввели однократно подкожно в область инактивированную культуру *B. abortus* 19 в дозе 100 млн. м.к. в смеси с адъювантом MONTANIDE™ ISA 61 VG в общем объеме 1 мл. Животным 4-ой группы ввели однократно подкожно в область подгрудка инактивированную культуру *B. abortus* 19 в дозе 300 млн. м.к. в смеси с адъювантом MONTANIDE™ ISA 61 VG в общем объеме 1 мл.

Кровь от животных опытных групп в обоих опытах в целях получения сывороток брали на 7, 14, 21, 28, 45, 60 и 90 дни после введения антигенов. Исследование полученных сывороток проводили в РА с антигенами, приготовленными из *B. abortus* 544 и *B. melitensis* 565, согласно общепринятой методике до и после адсорбции. Перед адсорбцией сыворотки инактивировали при 60-65° С в течение 1-1,5 ч и обезвреживали мертиолатом натрия до конечной концентрации 1:10000. В дальнейшем проводили адсорбцию полученных сывороток anti-melitensis – бактериальной массой штамма *B. abortus* 544, anti-abortus – бактериальной массой *B. melitensis* 565 количестве $3,5-3,7 \times 10^9$ КОЕ на 10 мл сыворотки. В последующем смесь инкубировали при 37° С в течение 2 ч и восстанавливали (центрифугирование – 30 мин, 5000 об /мин).

В целях поиска технологичной схемы купирования бруцеллезной инфекции были проведены два опыта на морских свинках.

В первом опыте морских свинок четырех групп (по 5 гол. в каждой) искусственно заражали вирулентной культурой *B. melitensis* 16М в дозе 100 м.к.

подкожно. Через 20 суток однократно вводили антибактериальный препарат Нитокс-200 внутримышечно в следующих дозах: 1 группа – 200 мг на 1 кг живой массы; 2 группа – 20 мг/кг; 3 группа – 10 мг/кг. Животным 4 группы препарат не вводили – контроль. Через 10 суток после введения Нитокс-200 проводили эвтаназию морских свинок всех четырех групп. Биоматериал исследовали бактериологически.

Во втором опыте изучали эффективность использования препарата Нитокс-200 в сочетании с вакцинацией. Морских свинок четырех групп (по 5 голов в каждой) искусственно заражали вирулентной культурой бруцелл *B. melitensis* 16М в дозе 100 м.к. Через 20 суток животным 1-ой и 2-ой группы вводили Нитокс-200, внутримышечно в дозе 20 мг/кг живой массы.

Через 8 суток после введения Нитокс-200 животным 2-ой группы вводили вакцину из штамма *B. abortus* 19, конъюнктивально в дозе 100 млн. м.к. (1/10 от общепринятой дозы при подкожном введении). Животным 3-ей группы через 28 суток после заражения вирулентной культурой бруцелл, вводили вакцину из штамма *B. abortus* 19 конъюнктивально в дозе 100 млн. м.к. (1/10 от общепринятой дозы при подкожном введении). 4-ая группа – контроль (животные, искусственно инфицированных вирулентным штаммом *B. melitensis* 16М в дозе 100 м.к.) Через 1 месяц после вакцинации животных проводили эвтаназию морских свинок всех четырех групп. Биоматериал исследовали бактериологически.

Подробные методики приведены при изложении результатов исследований.

Отдельные фрагменты работы выполнялись совместно с П.К. Аракеляном, С.К. Димовым, Е.Б. Барабановой, О.В. Бондаревой, Г.В. Разницыной, Т.А. Янченко, Н.И. Куренской, Г.М. Стеблевой, А.А. Сизовым, В.И. Воробьевым. Автор выражает им искреннюю благодарность.

2.2. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Большинство проведенных исследований выполнено лично. Эти материалы опубликованы в 1999-2018 годах в статьях, где есть соавторы. Основными из них являются Аракелян П.К., Димов С.К., Барабанова Е.Б., Бондарева О.В., Разницына Г.В., Янченко Т.А., Куренская Н.И., Стеблева Г.М., Сизов А.А., Воробьев В.И.

Со стороны всех соавторов об использовании ряда фрагментов, выполненных совместно, возражений нет.

В каждом разделе собственных исследований в квадратных скобках приведены ссылки на все собственные публикации, включенные в список литературы.

2.2.1. Эффективность различных методов контроля эпизоотического процесса бруцеллеза с позиций их технологичности

Материалы собственных исследований по данному разделу содержатся в 23 публикациях, указанных в списке литературы [23, 24, 25, 26, 27, 28, 31, 32, 33, 48, 93, 94, 129, 149, 151, 153, 161, 162, 163, 164, 165, 293, 294], из них 4 – в журналах, рекомендованных ВАК.

Были проанализированы три принципиальных метода контроля эпизоотического процесса бруцеллеза, каждый из которых в обязательном порядке предусматривает осуществление в полном объеме необходимого комплекса общих ветеринарно-санитарных и организационно-хозяйственных мер.

Контроль эпизоотического процесса бруцеллеза с использованием полной одномоментной сдачи на убой всех имеющихся в эпизоотическом очаге животных со строгим соблюдением всех его принципов создает противоэпизоотические гарантии: эпизоотическая цепь оперативно прерывается, так как, наряду с горизонтальным механизмом передачи возбудителя, нейтрализуется и вертикальный механизм, обеспечивающий непрерывную передачу возбудителя от

одного потомства другому. Однако, в условиях нашей страны он оказался в экономическом отношении не приемлемым для реализации в широких масштабах. Его удавалось использовать лишь ограниченно, подвергая в большинстве случаев убою поголовье животных только тех стад и отар, где наблюдали острое течение инфекции.

Метод контроля эпизоотического процесса бруцеллеза, предусматривающий систематические специальные обследования всего неблагополучного по бруцеллезу поголовья с использованием различных диагностических тестов в целях максимального удаления из стад больных животных, стабильных противозооотических гарантий не обеспечивает.

Во-первых, отрицательные результаты в целом по стаду (отаре) в течение длительного времени даже за счет многочисленных систематических исследований с убоем выявленных инфицированных животных удавалось получить далеко не всегда.

Во-вторых, даже на фоне получения отрицательных результатов по стаду (отаре) в связи с отсутствием иммунитета наблюдали рецидивы бруцеллезной инфекции из-за реверсии сохранившихся измененных бруцелл в полноценную S-форму.

В условиях Республики Казахстан наблюдали ситуацию, когда из-за полного отказа от вакцинации животных против бруцеллеза в 2000 годах на официальном уровне в многочисленных зонах приуроченности болезни стали происходить массовые рецидивы инфекции. Бессистемное использование противобруцеллезных вакцин, способствующее в определенной степени купированию острых эпизоотических очагов, стабильных и надежных результатов не давало. Использование в неблагополучных стадах и отарах только диагностики, призванной выявлять инфицированных животных, без вакцинации, надежных результатов в их оздоровлении не обеспечивало. Если за довольно длительный период и удавалось получать отрицательные результаты по группе животных, то даже на таком фоне нередко острые вспышки бруцеллеза все равно происходили.

Весьма демонстративными, на наш взгляд, являются официальные данные по РФ (рисунки 1 и 2). Если на начало 2011 года в РФ официально было зарегистрировано 117 неблагополучных пунктов по бруцеллезу крупного рогатого скота, то на начало 2017 года – 186. Подавляющее большинство (95 %) неблагополучных пунктов приходится на субъекты четырех федеральных округов (Северо-Кавказский – СКФО, Южный – ЮФО, Приволжский – ПФО и Сибирский – СФО) – 60,8; 14,4; 14,0; 5,4 % от их общего количества в РФ соответственно (рисунок 1).

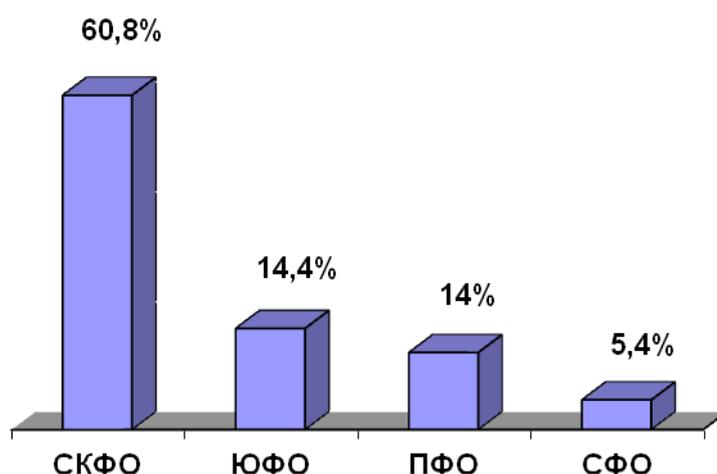


Рисунок 1 – Процентное соотношение числа неблагополучных по бруцеллезу крупного рогатого скота пунктов в четырех федеральных округах к общему числу неблагополучных пунктов в РФ на 01.01.2017 г.

На начало 2017 года официально благополучных по бруцеллезу субъектов РФ было в Северо-Кавказском федеральном округе – 6 из 7 имеющихся, или 85,8 %; Южном – 5 из 8, или 62,5 %; Приволжском – 4 из 14, или 28,3 %; Сибирском – 5 из 12, или 41,6 % (рисунок 2). Наиболее неблагополучными на начало 2017 года, по официальным данным, оказались: в Северо-Кавказском федеральном округе – Карачаево-Черкессия, Северная Осетия, Дагестан и Ставропольский край (51,3, 16,8, 14,2 и 11,5 % неблагополучных пунктов от их общего количества в округе соответственно); в Южном – Астраханская и Волгоградская области, Калмыкия и Краснодарский край (25,8, 25,8, 22,2 и 18,5 % неблагополучных пунктов от их общего количества в округе соответственно); в

Приволжском – Самарская, Саратовская и Оренбургская области (38,4, 30,7 и 23,1 % неблагополучных пунктов от их общего количества в округе соответственно); в Сибирском – Бурятия, Забайкальский и Алтайский края (30,0, 30,0 и 20,0 % неблагополучных пунктов от их общего количества в округе соответственно).

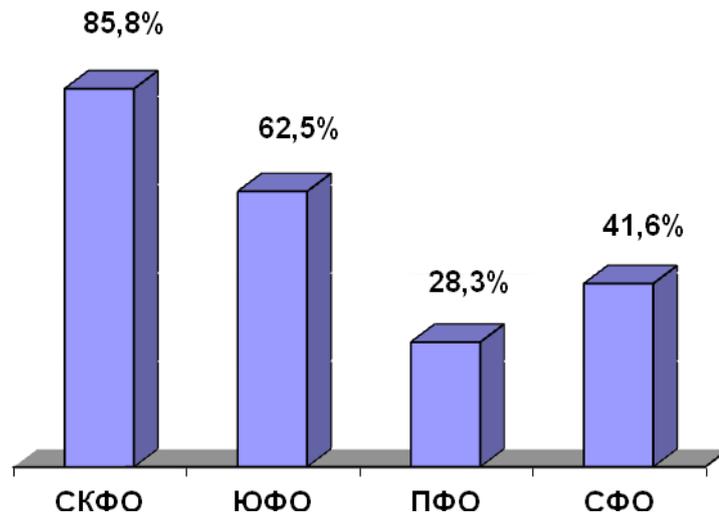


Рисунок 2 – Процентное соотношение неблагополучных по бруцеллезу крупного рогатого скота субъектов к их общему количеству по четырем федеральным округам к общему числу неблагополучных пунктов в РФ на 01.01.2017 г.

Эпизоотологический анализ показывает, что новые вспышки бруцеллеза происходят в последнее время главным образом на фоне отсутствия в угрожаемых и неблагополучных стадах и отарах животных надежного длительного противобруцеллезного иммунитета. Главным образом это мелкие частные хозяйства.

С учетом вышеизложенного, очевидно, что практическое использование метода контроля эпизоотического процесса бруцеллеза, основанного только на систематических исследованиях на бруцеллез неблагополучного поголовья животных в целях выявления инфицированных животных, без вакцинации бесперспективно.

Метод контроля эпизоотического процесса бруцеллеза, основанный на создании и поддержании среди неблагополучного и угрожаемого поголовья

животных высокоиммунного состояния с помощью вакцин на длительный срок существования неблагополучия и/или угрозы заноса возбудителя извне, в сочетании с рациональной поствакцинальной диагностикой, в современных условиях оказался единственно приемлемым в экономическом и противоэпизоотическом отношении.

Однако противоэпизоотическая эффективность разных схем вакцинации оказалась во взаимосвязи с уровнем технологичности последних.

Результаты экспериментов, производственных опытов и практических наблюдений показали, что максимальный противоэпизоотический эффект способны обеспечить только вакцины, обладающие достаточным уровнем иммуногенности. Но даже они не способны обеспечить длительный напряженный иммунитет у животных за счет однократной иммунизации.

В неблагополучных и угрожаемых стадах (отарах), как показали результаты, полученные многими исследователями, в том числе и нами, необходимо первоначально создать у животных грундиммунитет за счет первичной иммунизации, а затем осуществлять реиммунизации с определенным интервалом для поддержания непрерывного (перманентного) иммунитета, препятствующего формированию эпизоотических вариантов возбудителя. Противоэпизоотические гарантии на этом фоне должна обеспечивать рациональная поствакцинальная диагностика, способная даже в ранние сроки после иммунизации (реиммунизации) выявлять спровоцированных вакциной бруцеллоносителей, но при этом обладающая возможностями дифференцировать реакции вакцинной и инфекционной природы.

В настоящее время в РФ официально регламентированы живые противобруцеллезные вакцины. Живые вакцины из инагглютиногенных штаммов бруцелл, как показывают результаты их изучения, из-за полного отсутствия агглютиногенности обеспечивают возможность проведения диагностических исследований животных на бруцеллез в любые сроки после иммунизации и реиммунизации, однако обладают низким уровнем иммуногенности и противоэпизоотической эффективности. Так, в опытах на морских свинках нами

установлено, что иммунитет к искусственному заражению вирулентными бруцеллами животных, привитых инагглютиногенной вакциной из штамма *B. abortus RB-51*, через 3 месяца был на уровне 60 %, а через 6 месяцев – 0 %.

Живые агглютиногенные вакцины на мировом уровне признаны самыми иммуногенными. Уровень их иммуногенности в экспериментах, в том числе наших, достигал во многих случаях 100 %.

Однако научные и практические данные, в том числе полученные нами, показывают, в частности, что подкожная иммунизация животных живой агглютиногенной вакциной в существующих дозах без издержек, связанных с поствакцинальной диагностикой, возможна лишь при однократном введении молодняку (поствакцинальные реакции угасают в течение не более 10 месяцев). На взрослом поголовье ее использование не технологично из-за длительно сохраняющихся серологических реакций, препятствующих поствакцинальной диагностике.

В частности, анализ материалов ее применения на овцах подкожно в официально регламентированной дозе для первичной иммунизации молодняка и последующих реиммунизаций взрослого поголовья в условиях неблагоприятных и угрожаемых хозяйств ряда регионов Сибири показал, что противоэпизоотический эффект удавалось обеспечивать лишь при условии формирования и переформирования отар только по принципу однородности в возрастном, иммунном и эпизоотическом отношениях, а также постепенного вытеснения старого маточного поголовья, скомпрометированного в отношении бруцеллеза. Возможности беспрепятственной массовой поствакцинальной диагностики при указанной схеме вакцинации практически отсутствуют. Контроль эпизоотического благополучия оказался возможным только за счет серологических исследований ярок перед вакцинацией, не подлежащих вакцинации баранов, а также животных, принесших абортированные или мертвые плоды. Однако следует признать, что в тех общественных хозяйствах, где в технологии содержания животных стало сложно или невозможно осуществлять строгое разделение половозрастных групп и формирование однородных в

возрастном, эпизоотическом и иммунном отношении маточных отар, объективная эпизоотическая оценка животных по бруцеллезу в значительной степени усложнилась.

Реиммунизации взрослого поголовья КРС вакциной из шт. 19 были отменены еще в рамках нормативных документов СССР в 1970 году. Поиск возможностей изменить схемы иммунизаций и реиммунизаций осуществлялся ранее в ряде НИУ, однако на момент наших исследований конкретные схемы, приемлемые для широкого практического применения, официально отсутствовали.

В крупных общественных хозяйствах, где предусмотрено разделение половозрастных групп и формирование однородных в возрастном, эпизоотическом и иммунном отношении маточных гуртов, официально регламентированы слабоагглютиногенные вакцины из штаммов 82 и 75/79-АВ. Их многократное системное применение животным обеспечивает формирование у них надежного иммунитета. Контролировать эпизоотическое благополучие и своевременно выявлять эпизоотически опасных животных, спровоцированных живыми слабоагглютиногенными вакцинами, призвана рациональная дифференциальная поствакцинальная диагностика, принципиально позволяющая при ее правильном использовании признавать вакцинное происхождение серологических реакций и таким образом избегать необоснованной сдачи на убой реагирующих животных. Результаты ретроспективной оценки их противоэпизоотической эффективности показали, что в период с 1974 года в масштабах одного из регионов Сибири (при наличии 532 неблагополучных ферм) полного оздоровления его было достигнуто к 2005 году. Ежегодная серопозитивность снизилась к 2005 году с 41 тыс. до 0,2 тыс. голов, или в 205 раз. С 2005 по 2009 год у выявляемого незначительного числа положительно реагирующих вакцинальную природу реакций доказывали в полном объеме. В период 2010-2016 годов периодически регистрировали единичные вспышки бруцеллезной инфекции среди не иммунного крупного рогатого скота по причинам рецидивов болезни или заноса возбудителя извне.

Ниже более подробно приведены результаты анализа противозпизоотической эффективности живых слабоагглютиногенных вакцин из штаммов 82 и 75/79-АВ в условиях различных хозяйств.

Регион «Р», хозяйство «С». Вспышка бруцеллеза произошла в 2011 году среди импортного поголовья крупного рогатого скота в результате заноса возбудителя извне. Быстрому и широкому распространению бруцеллеза среди различных категорий животных способствовали отсутствие у них иммунного фона, а также технология их беспривязного содержания.

До вспышки бруцеллеза в молочном комплексе поголовье коров не подвергали вакцинации против бруцеллеза. Схему иммунизации телок в 4-6 месячном возрасте и повторно – перед осеменением в хозяйстве использовали, однако прекращали применять с августа 2010 г., вернувшись вновь только с июля 2011 года. Иммунизацию коров против бруцеллеза с полным охватом провели в хозяйстве в июле 2011 г., предварительно исследовав на бруцеллез все поголовье коров (1269 гол.) и выявив 90 животных (7 %) с положительными реакциями. Начиная с 3 месяцев после иммунизации коров их исследовали на бруцеллез десятикратно с выявлением 522 гол. с положительными реакциями на бруцеллез (при среднем числе исследованных животных 1100 гол.), в том числе при последнем исследовании в июне 2012 г. 698 коров выявлено 17 гол. с положительными реакциями (2,5 %).

Поголовье нетелей в хозяйстве в мае-июне 2012 г. исследовали на бруцеллез трехкратно, всего было выявлено 35 % реагирующих, из них при последнем исследовании – 5,8 % (9 гол. из 152 гол. исследованных).

Среди телок случного возраста в первом полугодии 2012 г. выявили 2 % реагирующих (4 гол. из 201 гол. исследованных).

Все реагирующее поголовье по результатам проводимых исследований, а также абортировавшие животные сданы на убой.

По результатам проведенного анализа было очевидно, что к июню 2012 года в хозяйстве произошло определенное купирование бруцеллезной инфекции, в том

числе и за счет использования вакцины из штамма 82, обеспечившей как иммунитет, так и провокацию скрытых бруцеллоносителей.

Однако, наличие, прежде всего, у нетелей значительного числа абортос и мертворожденных, а также высокого уровня реагирования на бруцеллез по результатам серологических исследований дало основание считать сложившуюся эпизоотическую ситуацию по бруцеллезу в хозяйстве нестабильной. Кроме того, существующие в хозяйстве круглогодичное беспривязное содержание животных всех половозрастных групп, тесные контакты как внутри той или иной группы, так и между ними (в том числе за счет имевшего место необоснованного с эпизоотологических позиций перемещения животных), система навозоудаления и ряд других технологических и хозяйственных особенностей выступают в качестве существенных факторов, влияющих на интенсивность проявления инфекции.

В таких условиях, в июне 2012 г. существующая система противобруцеллезных мероприятий была оптимизирована в следующих основных направлениях:

1. Обеспечение во всех категориях животных постоянного иммунитета за счет введения им вакцины из штамма 82 по определенной схеме, предусматривающей на фоне первично созданного у молодых животных грундо-иммунитета (первичная иммунизация телок 2-3 мес. возраста и их реиммунизация перед осеменением) последующие реиммунизации маточного поголовья с интервалом не больше 1 года в сочетании с поствакцинальной диагностикой, рационально использующей провоцирующие свойства вакцины, в целях своевременных выявления и сдачи на убой скрытых бруцеллоносителей.

2. Максимальное использование провоцирующих свойств вакцины в целях выявления скрытых бруцеллоносителей с помощью рациональной поствакцинальной диагностики.

С этой целью после каждой очередной иммунизации взрослого маточного поголовья было предусмотрено проведение систематических поствакцинальных исследований уже через 1,5 месяца (РИД, РА и РСК), при этом в течение 6

месяцев после вакцинации диагностически положительными считали титры РА и РСК 200 МЕ и выше и 1:20 и выше соответственно.

3. Комплекс мероприятий, включающих:

- оперативное удаление из стад реагирующих и абортировавших животных, их изоляция и максимально быстрая сдача на убой;
- улучшение качества текущей очистки помещений от навоза, ужесточение дезинфекционного и дератизационного режимов, проводимых на территории комплекса (прежде всего – текущая дезинфекция помещений в отсутствие животных после каждого удаления из стад больных животных);
- упорядочение перегруппировок и перемещений животных из одного помещения в другое с проведением их только по согласованию с главным ветеринарным врачом, направленное на максимальное соблюдение однородности стад в отношении иммунного и эпизоотического статусов;
- оборудование при входах во все животноводческие помещения емкостей с дезрастворами для полноценной обработки резиновой обуви персонала, а также емкостей с дезраствором для обезвреживания инвентаря, закрепленного за каждым помещением;
- повышение противоэпизоотической и противоэпидемической эффективности проводимых противобруцеллезных мероприятий за счет усиления ветеринарно-санитарных мер, а также мероприятий, обеспечивающих личную профилактику и защиту от заражения для работников животноводства.

На рисунке 3 представлена динамика реагирования неблагополучного маточного поголовья КРС при исследованиях на бруцеллез перед иммунизацией, после иммунизации и реиммунизации вакциной из штамма 82 (с интервалом 1 год).

Согласно разработанному плану коров и нетелей молочного комплекса в июне 2012 г. подвергли реиммунизации вакциной из штамма 82 (через 1 год после предыдущей) на фоне систематических исследований, выявления, изоляции и сдачи на убой реагирующих животных (при последнем исследовании 30 коров и нетелей из 800 – 3,7 %).

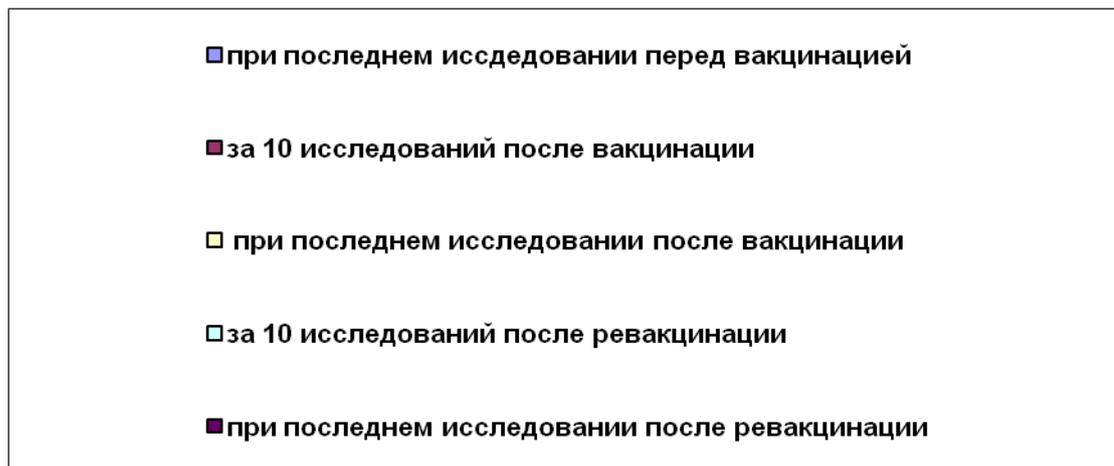
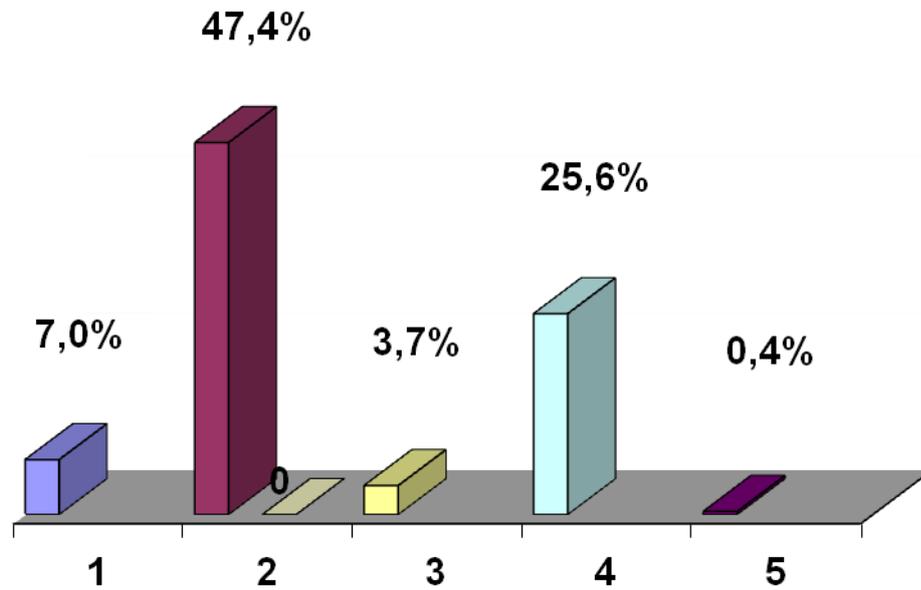


Рисунок 3 – Реагирование неблагополучного маточного поголовья крупного рогатого скота перед исследованием на бруцеллез перед иммунизацией, после иммунизации и реиммунизации вакциной из шт. 82 (с интервалом 1 год)

Систематические ежемесячные исследования иммунизированного маточного поголовья на бруцеллез начали в августе 2012 г. (через 1,5 месяца после вакцинации). До конца 2012 г. было проведено 5 исследований, при которых в рамках 6 месяцев после вакцинации выявляли и отправляли на убой животных с положительными РИД, а также РА и РСК в титрах 200 МЕ и выше и 1:20 и выше соответственно. Всего выявили 167 гол., в том числе при последнем – 48 (7,1 % от числа исследованных). При последующих 5 ежемесячных исследованиях с января по май 2013 г. всего выявлено 38 гол., в том числе при последнем – 3 (0,4 % от числа исследованных). При этом в течение 2013 г.

выявляли и сдавали на убой всех положительно реагирующих животных (без учета их титров). Важно отметить, что в 2013 году уже при первом исследовании 22.01.2013 г. количество положительно реагирующих животных снизилось, по сравнению с предыдущим исследованием 24.12.2012 г., практически в два раза и составило 26 гол. (3,3 % от числа исследованных). При втором исследовании 25.02.2013 г. оно составило уже 5 гол. (0,9 % от числа исследованных, а при последнем исследовании 24.05.2013 г. – 3 гол. (0,4 % от числа исследованных).

При этом следует особо отметить, что с марта 2013 г. прекратилось выявление среди маточного поголовья крупного рогатого скота животных с положительными РИД и РА, которые являются критериями оценки «остроты» проявления инфекции. Если положительные показания РСК по результатам исследований в марте и апреле 2013 г. выражались титрами от 1:5 до 1:40, то по результатам исследований в мае 2013 г. они были только в титре 1:5.

У коров и нетелей за январь-июнь 2013 г. зарегистрировано 4 аборта и 4 мертворожденных (за аналогичные периоды 2012 г. 34 и 47 и 2011 года – 66 и 97 соответственно). У нетелей за январь-июнь 2013 г. зарегистрирован 1 аборт и 2 мертворожденных (за аналогичные периоды 2012 г. 23 и 33 и 2011 года – 5 и 35 соответственно). Иными словами, общее количество аборт и мертворожденных у коров и нетелей за текущий период 2013 года по сравнению с аналогичными периодами 2012 и 2011 годов сведено до минимума.

Таким образом, очевидно, что эпизоотическая ситуация была стабилизирована.

Дальнейшее использование в хозяйстве предложенных специальных мероприятий в сочетании с общими мерами и постепенным вытеснением скомпрометированного поголовья иммунными животными, полученными от коров оздоровленных стад было продолжено. Хозяйство в настоящее время благополучно по бруцеллезу.

Регион «К», хозяйство «Н». Все маточное поголовье КРС в хозяйстве в 2013 году было подвергнуто первичной иммунизации неабортотенной вакциной из штамма 75/79-АВ на сложном эпизоотическом фоне.

В апреле-мае 2014 г. сыворотки крови всего поголовья КРС из указанного хозяйства комплексно исследовали на бруцеллез в ИЭВСиДВ. С учетом полученных результатов, содержание мясного скота на молочной ферме, с учетом его особой эпизоотической опасности, прежде всего из-за массового перезаражения молодняка вертикальным путем в связи с длительным подсосным периодом, было признано в эпизоотологическом отношении несовместимым и все его поголовье до постановки на стойловое содержание было отправлено на убой.

В июне-июле 2014 г. маточное поголовье КРС молочного направления было подвергнуто очередной иммунизации против бруцеллеза вакциной из штамма 82 после предварительного очередного исследования сывороток крови на бруцеллез на базе ИЭВСиДВ, изоляции и сдачи на убой положительно реагирующих.

Так, при последнем исследовании перед ревакцинацией было выявлено среди коров и нетелей из 387 исследованных 14 гол. (3,7 %) с положительными реакциями на бруцеллез, из них 12 – в РИД.

После иммунизации вакциной из штамма 82 из 299 исследованных в октябре 2014 г. коров выявлено 19 гол. (6,3 %) с положительными реакциями на бруцеллез, из них 3 – в РИД. Если сравнить количество выявленных эпизоотически опасных животных, подлежащих убою, при последнем исследовании до вакцинации с количеством выявленных при первом исследовании после вакцинации, то в последнем случае их больше, потому что это – результат проявления провоцирующих свойств вакцины в отношении выявления скрытого бруцеллоносительства.

В октябре-ноябре 2014 г. также были исследованы:

– телки и быки, 194 гол. – реагировало в низких титрах РА и РСК (при отрицательной РИД) 9 гол., из них 5 быков (в связи с особой эпизоотической опасностью их признано целесообразным сдать на убой);

– телки и быки, 227 гол. – выявлено 3 гол. с положительными реакциями на бруцеллез, в т.ч. 2 быка;

– нетели и быки, 58 гол. – выявлено 2 нетели из 52 исследованных и 2 быка из 6 исследованных с положительными реакциями на бруцеллез;

– телята 2-4 мес. возраста, 62 гол. до иммунизации вакциной из шт. 19 – выявлено 5. гол. с низкими титрами РСК. С учетом возможных колостральных антител (поступивших с молоком матерей) признано целесообразным оценивать эпизоотический статус этой группы после иммунизации вакциной из шт. 19 по наличию толерантных животных.

В декабре 2014 г. из 297 проб сывороток крови от коров, иммунированных вакциной из шт. 82 10.06.2014 г., выявлено 5 серопозитивных животных – 1,6 % (РИД отрицательная), что почти в 4 раза меньше по сравнению с их предыдущим исследованием в октябре 2014 г. Это свидетельствует о том, что бруцеллезная инфекция через 6 месяцев после ревакцинации была купирована за счет продления иммунитета и поствакцинальной диагностики, позволившей выявить скрытых бруцеллоносителей благодаря провоцирующим возможностям вакцины и изъять их из стада, отправив на убой, что обеспечило сохранение уровня напряженности иммунитета.

Положительно реагирующих животных в хозяйстве своевременно отправляли на убой.

В марте 2015 г. из 297 проб сывороток крови вышеуказанного стада выявлено 11 серопозитивных животных – 3,7 % (РИД отрицательная). В мае 2015 г. исследована повторно 281 проба сывороток крови животных этого же стада, при этом серопозитивных (в том числе в РИД), подлежащих сдаче на убой, не выявлено.

При исследовании в мае 2015 г. 60 нетелей серопозитивных (в том числе в РИД), подлежащих сдаче на убой, не выявлено.

При исследовании в мае 2015 г. 585 проб сывороток крови от молодняка КРС до 12 мес. возраста, 12-16 и 16-24 месячного возраста животных, обладающих явной эпизоотической опасностью не выявлено (все исследованные животные в РИД реагировали отрицательно); выявлено 8 животных, обладающих потенциальной эпизоотической опасностью, и в этой связи подлежащих сдаче на убой в целях повышения уровня эффективности проводимых противобруцеллезных мероприятий.

Молодняк в возрасте 2-6 мес. подвергали иммунизации вакциной из шт. 19 с исследованием через 15-20 дней после вакцинации с целью выявления толерантных животных – скрытых бруцеллоносителей.

Так, из исследованных в июле 2014 года 264 вакцинированных телят выявлено 38 гол. (14,3 %) толерантных, т.е. не способных ответить реакцией на введение вакцины из-за парализации иммунной системы в результате их бруцеллоносительства (заражение состоялось внутриутробно или с молоком матери). Через 15-20 дней после иммунизации вакциной из штамма 19 в ноябре-декабре 2014 года из 100 исследованных телят выявлено 4 толерантных животных (4 %). Таких животных, как эпизоотически опасных, предусмотрено не допускать до воспроизводства, а после откорма отправить на убой. В этой связи эпизоотические и иммунные характеристики сформированных из таких животных гуртов телок случного возраста в дальнейшем выглядели в значительной степени благоприятнее, чем ранее.

Дальнейшие реиммунизации телок перед случкой проводили в плановом порядке вакциной из штамма 82.

Кроме специальных ветеринарных мероприятий, хозяйству как обязательные в целях быстрого и надежного оздоровления от бруцеллеза были предложены общие организационно-хозяйственные и ветеринарно-санитарные мероприятия.

Была запущена в эксплуатацию первая часть нового молочного комплекса (на 200 коров). Стадо было сформировано из местного поголовья, отобранного по показателям продуктивности и эпизоотическому статусу.

В 2016 году было продолжено проведение плановых комплексных дифференциально-диагностические исследований сывороток крови КРС на бруцеллез на базе лаборатории противоэпизоотических систем ИЭВСиДВ.

Результаты изложенные в таблице 1, показывают, что за период 2014-2016 годов при 10-кратных систематических исследованиях маточного поголовья и молодняка в сочетании с использованием рациональных схем специфической

профилактики и комплекса общих организационно-хозяйственных и ветеринарно-санитарных мероприятий удалось добиться хороших результатов.

Таблица 1 – Динамика результатов исследований сывороток крови крупного рогатого скота из хозяйства «Н» на бруцеллез, проведенных в ИЭВСиДВ в 2014-2016 годах

Дата (мес., год)	Кол-во исслед-ых ж-х	Половозрастная группа	Положительно реагирующие животные				
			Всего		в том числе в РИД		
			кол-во	% из числа исслед-ых	кол-во	% из числа исслед-ных	% из числа положительно реагирующих
<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>	<i>6</i>	<i>7</i>	<i>8</i>
04-05.2014	478	Коровы и нетели	85	17,8 %	46	9,6 %	51,1 %
04-05.2014	80	Молодняк	14	1,75 %	6	0,75 %	42,9 %
06-07.2014	387	Коровы и нетели	14	3,6 %	12	3,1 %	85,7 %
07.2014	264	Телята 2-6 мес.	38 (толер.)	14,4 %			
Ревакцинация коров – июль 2014 (шт.82)							
10-11.2014	351	Коровы и нетели	21	5,9 %	3	0,85 %	14,3 %
10-11.2014	500	Молодняк	5	1 %	0	0	0
10-11.2014	100	Телята 2-6 мес.	4 (толер.)	4 %			
12.2014	297	Коровы и нетели	5	1,7 %	0	0	0
03.2015	297	Коровы и нетели	11	3,7 %	0	0	0
05.2015	341	Коровы и нетели	0	0	0	0	0
05.2015	585	Молодняк	8	1,4 %	0	0	0
Ревакцинация коров – май 2015 (шт.82)							
06.2015	323	Коровы				3	0,9
06-07.2015	127	Телята 2-6 мес.	21 (толер.)	16,5 %			
06.2015	120	Нетели				3	2,5
09.2015	120	Нетели	0	0	0	0	0
09.2015	181	Молодняк	0	0	0	0	0
11.2015	171	Коровы Комплекс	1	0,6 %	0	0	0
11.2015	323	Коровы Ферма	1	0,3 %	0	0	0
11.2015	82	Телята 2-6 мес.	5 (толер.)	6,1 %			
11.2015	120	Нетели	0	0	0	0	0

1	2	3	4	5	6	7	8
11.2015	95	Молодняк	1	1,06 %	0	0	0
02.2016	233	Коровы Ферма	0	0	0	0	0
02.2016	170	Коровы Комплекс	0	0	0	0	0
04.2016	177	Нетели	0	0	0	0	0
04.2016	269	Коровы Ферма	1	0,3 %	0	0	0
04.2016	31	Коровы Ферма	0	0	0	0	0
04.2016	174	Коровы Комплекс	0	0	0	0	0
04.2016	208	Молодняк	1	0,4 %	0	0	0
04.2016	129	Молодняк	0	0	0	0	0
04.2016	129	Телята 2-6 мес.	6 (толер.)	4,8 %	0	0	0
Итого:			234		67		
При первом иссл-ии			137 (из них 38 – толер.)		64		
При послед- нем иссл- ии			8 (из них 6 – толер.)		0		

При последнем исследовании выявилось лишь 8 эпизоотически опасных животных (из них 6 – толерантных), при этом положительно реагирующих в РИД с О-ПС антигеном (диагностическом тесте, являющемся индикатором особой эпизоотической опасности) не выявлено, тогда как при первом исследовании было выявлено 137 эпизоотически опасных животных (из них 38 толерантных), в том числе с помощью РИД – 64.

На рисунке 4 представлена динамика реагирования неблагополучного маточного поголовья КРС при двух исследованиях на бруцеллез перед первой реиммунизацией, а также при 8 последующих исследованиях после первой и второй реиммунизаций вакциной из штамма 82 (с интервалом 1 год) в период с апреля 2014 по апрель 2016 г.

Из приведенных данных очевиден противоэпизоотический эффект, наступивший после реиммунизаций неблагополучного взрослого маточного

поголовья КРС вакциной из штамма 82 с интервалом 1 год. При этом просматривается ведущая роль в выявлении бруцеллоносителей провоцирующих свойств вакцины – как после первой ревакцинации (более выраженная), так и после второй.



Рисунок 4 – Реагирование неблагополучного маточного поголовья КРС при исследованиях на бруцеллез перед первой реиммунизацией, а также после первой и второй реиммунизаций вакциной из шт. 82 (с интервалом 1 год)

Хозяйство «Н» доведено до практического оздоровления за счет иммунной защиты по предложенным рациональным схемам, а также проведения систематических поствакцинальных исследований и дополнительного осуществления комплекса общих организационно-хозяйственных и ветеринарно-санитарных мероприятий. Дальнейшее развитие хозяйства зависит от уровня выполнения предусмотренных противобруцеллезных мероприятий.

Результаты анализа всех возможных факторов риска, способных отрицательно повлиять на эпизоотическую ситуацию и эффективность

проводимых противобруцеллезных мероприятий, свидетельствуют о необходимости обратить особое внимание на:

- качество очистки помещений и территорий от навоза, соблюдение дезинфекционного и дератизационного режимов;
- обеспечение однородности стад в отношении иммунного и эпизоотического статусов за счет только рациональных перегруппировок и перемещений животных по согласованию с ветспециалистами;
- выполнение мер групповой и личной профилактики для работников животноводства;
- изолированное выращивание телок и формирование из нетелей отдельных групп и гуртов;
- выполнение других общих ветеринарно-санитарных, зоотехнических и организационно-хозяйственных мероприятий, предусмотренных официальными действующими положениями, в целях предупреждения возникновения и распространения бруцеллеза животных.

Остается актуальным и контроль рисков, связанных с возможностью попадания в хозяйство возбудителя бруцеллеза извне.

Особо актуальным для хозяйства в настоящий момент является должным образом организованное пополнение нового молочного комплекса здоровым маточным поголовьем, завозимым из стационарно благополучных по бруцеллезу территорий с обеспечением его надежной иммунной защитой от бруцеллеза.

Регион «К», корпорация «В». Противоэпизоотическую эффективность рационального использования на крупном рогатом скоте живых вакцин из штаммов 19, 82 и 75/79-АВ, средств поствакцинальной диагностики в сочетании с общими ветеринарно-санитарными и организационно-хозяйственными мерами изучали на 5 фермах 3 неблагополучных по бруцеллезу хозяйств, входящих в корпорацию «В». В указанных хозяйствах в течение многих лет (до 2012 года) маточное поголовье иммунизации против бруцеллеза вообще не подвергалось. Эпизоотологический анализ статистических данных показал, что с августа 2010 года в большинстве маточных гуртов произошли острые вспышки бруцеллезной

инфекции. За последующие два года по причине бруцеллеза в них произошли потери до 40 и более % имевшегося поголовья крупного рогатого скота.

В течение сентября – ноября 2012 г. в ИЭВСиДВ были проведены трехкратные комплексные диагностические исследования на бруцеллез сывороток крови всего поголовья коров и нетелей хозяйств данной корпорации. Выявленные инфицированные животные (5,3 % от поголовья, в том числе с помощью РИД с О-ПС антигеном – 1,9 %) были своевременно изолированы и сданы на убой.

С учетом современного состояния изученности проблемы бруцеллеза, при объективной оценке реально существующих эпизоотических рисков в отношении указанной болезни во внимание были взяты следующие моменты:

- на практике нельзя исключить, что остающийся в оздоровленных стадах приплод, полученный от животных даже с отрицательными реакциями на бруцеллез при плановых диагностических исследованиях (не говоря о больных животных), является инфицированным;

- в таком случае приплод, полученный от коров ранее неблагополучных по бруцеллезу стад будет основным источником рецидивов болезни, так как телки в силу возрастных особенностей долгое время остаются скрытыми бруцеллоносителями, не проявляя серологических реакций;

- рецидивы инфекции обычно возникают в оздоровленных стадах, где нет постоянно поддерживаемого группового иммунитета, не допускающего формирование и циркуляцию эпизоотических штаммов бруцелл (так называемый «перманентный» иммунитет);

- на невакцинированном поголовье в благополучных стадах возникает реальная угроза возникновения острых вспышек бруцеллеза в связи с возможным заносом возбудителя болезни извне;

- усугубляют ситуацию переформирование стад без учета их эпизоотического состояния по бруцеллезу, а также нарушения в осуществлении необходимого при этом комплекса ветеринарно-санитарных, зоотехнических и организационно-хозяйственных мероприятий.

С учетом вышеизложенного, в таких условиях была признана очевидной необходимость, основываясь на имеющемся научном и практическом опыте, оптимизировать существующую систему противобруцеллезных мероприятий для хозяйств, входящих в корпорацию «В», с ведущей ролью в ней, наряду с общими ветеринарно-санитарными, зоотехническими и организационно-хозяйственными мероприятиями, рациональных схем вакцинации и поствакцинальной диагностики. Применять рациональные схемы вакцинации и поствакцинальной диагностики, в сочетании с общими организационно-хозяйственными и санитарными мерами в угрожаемых стадах было признано важным в течение длительного периода до исчезновения угрозы возникновения вспышек либо за счет рецидивов, либо заноса возбудителя извне.

Иммунизация взрослого маточного поголовья крупного рогатого скота против бруцеллеза с полным охватом в хозяйствах корпорации была проведена в декабре 2012 года вакцинами из штаммов 82 – на ранее созданном иммунном фоне за счет вакцинации молодняка и 75/79-АВ – при отсутствии иммунного фона или отсутствии гарантий в отношении предыдущих вакцинаций (отсутствие abortогенности у вакцины из штамма В. abortus 75/79-АВ было доказано нами на ранее неиммунизированном поголовье коров и нетелей – 200 гол).

В течение 2013-2015 годов молодняк в 2-4 месячном возрасте подвергали иммунизации вакциной из штамма 19, а реиммунизировали перед осеменением вакциной из штамма 82. Реиммунизация коров была проведена в марте-июле 2014 г.

Следует особо отметить, что систематические поствакцинальные исследования привитого маточного поголовья начинали проводить уже через 1,5-3 месяца после каждой вакцинации (РИД, РА и РСК), в целях рационального использования провоцирующих свойств вакцины, позволяющих выявлять скрытых бруцеллоносителей. При этом в течение 6 месяцев после вакцинации диагностически положительными считали титры РА и РСК 200 МЕ и выше и 1:20 и выше соответственно.

Эпизоотическую дифференциальную оценку стад крупного рогатого скота, иммунизированного вакцинами из штаммов 82 или 75/79-АВ осуществляли, используя, наряду с эпизоотологическим методом, серологический метод (РИД с О-ПС антигенами, РА, РСК с оценкой титров и сопоставлении с РСК с R-антигеном).

Кроме специальных мероприятий, осуществляли мероприятия, направленные на:

- оперативное удаление из стад реагирующих и абортировавших животных, их изоляция и максимально быстрая сдача на убой;

- улучшение качества текущей очистки помещений от навоза, ужесточение дезинфекционного и дератизационного режимов, проводимых на территории комплекса (прежде всего – текущая дезинфекция помещений в отсутствие животных после каждого удаления из стад больных животных);

- упорядочение перегруппировок и перемещений животных из одного помещения в другое с проведением их только по согласованию с главным ветеринарным врачом, направленное на максимальное соблюдение однородности стад в отношении иммунного и эпизоотического статусов;

- оборудование при входах во все животноводческие помещения емкостей с дезрастворами для полноценной обработки резиновой обуви персонала, а также емкостей с дезраствором для обезвреживания инвентаря, закрепленного за каждым помещением;

- выпаивание телочкам после молозивного периода заменителя молока;

- изолированное содержание телок с исключением контактов с быками;

- формирование из нетелей отдельных групп и гуртов;

- соблюдение мер групповой и личной профилактики для работников животноводства.

Для каждого хозяйства были разработаны планы внедрения указанной системы.

Первое исследование на бруцеллез иммунизированного маточного поголовья после вакцинации провели в феврале-марте 2013 г. (через 2-3 мес.

после иммунизации, выявив за счет провокации скрытых форм бруцеллеза 62 гол. эпизоотически опасных животных, из них 25 с положительной РИД. При последующих трех систематических исследованиях, проведенных в течение марта-июня 2013 г., было выявлено дополнительно еще 32 гол., из них 15 с положительной РИД, в том числе при последнем – соответственно 2 и 2 гол.

Всех эпизоотически опасных животных своевременно изолировали из стад и сдавали на убой.

Динамика комплексного контроля показала положительные результаты внедрения в хозяйствах корпорации разработанной оптимальной системы противобруцеллезных мероприятий.

В качестве одного из ведущих объективных критериев оценки эпизоотической ситуации была взята такая известная диагностическая реакция, как РИД с О-ПС антигеном. Ее положительные показания даже в условиях широкого применения противобруцеллезных вакцин объективно свидетельствуют о наличии в стадах животных, особо опасных в эпизоотическом отношении.

Так, при первом комплексном исследовании после вакцинации всего маточного поголовья хозяйств корпорации на бруцеллез положительная РИД с О-ПС антигеном выявлена у 25 животных, из них 21 – среди животных фермы «М», а 4 – среди животных фермы «К.Ш.» хозяйства «Ш». Следует отметить, что при последнем комплексном исследовании всего маточного поголовья хозяйств корпорации до вакцинации положительная РИД была у 6 животных (4 – среди животных фермы «М»; 2 – среди животных фермы «К.Ш.»). Иными словами, число эпизоотически опасных животных, выявленных с помощью РИД, резко возросло уже при первом исследовании после вакцинации животных только именно этих двух ферм. На ферме «М» оно возросло более чем в 6 раз за счет того, что на указанной ферме в связи с вертикальным путем передачи возбудителя бруцеллезной инфекции (приплод получали от маточного поголовья, скомпрометированного в отношении бруцеллеза) сформировалось скрытое бруцеллоносительство, которое удалось спровоцировать благодаря применению вакцины, обладающей таким провоцирующим эффектом. Это дало возможность

скорректировать план внедрения системы в отношении указанного гурта по пути прекращения в нем воспроизводства и сдачи поголовья на убой в целях повышения гарантий недопущения распространения инфекции.

При втором, третьем и четвертом систематических исследованиях всего маточного поголовья хозяйств корпорации после вакцинации выявилось всего 15 положительно реагирующих в РИД животных (соответственно 10, 3 и 2).

В частности, при втором исследовании всего маточного поголовья хозяйств корпорации после вакцинации выявилось всего 10 положительно реагирующих в РИД животных, в том числе 6 – среди телок хозяйства «У» и 4 – среди нетелей хозяйства «Д». В обоих случаях – это провоцирующий эффект вакцины, благодаря которому удалось спровоцировать скрытое эпизоотически опасное бруцеллоносительство.

При третьем исследовании маточного поголовья хозяйств корпорации (из числа ранее реагировавших в низких титрах) после вакцинации выявилось всего 3 положительно реагирующих в РИД животных – по одному из хозяйств «У», «Д» и «Ш».

При четвертом исследовании всего маточного поголовья хозяйств корпорации после вакцинации выявилось всего 2 животных с положительной РИД – по одному из хозяйств «Д» и «Ш».

Анализ полученных результатов показывает, что внедрение разработанной оптимальной системы противобруцеллезных мероприятий в конкретных условиях хозяйств корпорации «В» позволило сократить число выявляемых эпизоотически опасных животных к 4-ому исследованию после вакцинации, по сравнению с последним исследованием всего маточного поголовья перед вакцинацией (выявлено 1,7 %) до 0,2 %, то есть более чем в 8 раз.

На таком благоприятном в отношении бруцеллеза эпизоотическом фоне с наличием полноценного иммунного фона в 2014 году была проведена во всех маточных стадах очередная ревакцинация животных против бруцеллеза вакциной из штамма 82 в оптимальные сроки (с учетом предыдущей ревакцинации – не раньше 11-12 месяцев), тем самым преследовалась цель сделать иммунный фон

однородным. Для этого формирование и переформирование гуртов было осуществлено именно с этих позиций.

Так, в хозяйстве «Ш» (ранее наиболее неблагополучном по бруцеллезу) взрослое маточное поголовье было ревакцинировано вакциной из штамма 82 в конце марта 2014 г., при этом гурты были сформированы таким образом, что сроки предыдущих вакцинаций животных были не менее 10-11 мес. и не более 1,5 лет.

В остальных хозяйствах ревакцинация взрослого маточного поголовья против бруцеллеза проведена с интервалом не более 11-12 мес. после предыдущей, в более поздние сроки (июль-август 2014 г.). Все гурты КРС, в том числе молодняка, на момент выхода на пастбищное содержание были сформированы и размещены на пастбищах с учетом их эпизоотического и иммунного статусов.

Первые исследования, проведенные в хозяйстве «Ш» после ревакцинации в октябре-ноябре 2014 г. показали, что из 915 исследованных коров выявлено только 2 гол. с эпизоотической опасностью (1 гол. – ферма «М»; 1 гол. – ферма «К.Ш.»). Учитывая реальную роль проявления провоцирующих свойств вакцины, выявление всего 2 гол. эпизоотически опасных животных в двух гуртах из четырех, свидетельствует о весьма благоприятной эпизоотической ситуации.

При первых исследованиях, проведенных в ноябре 2014 г. хозяйствах «У» и «Д», из 571 гол. коров и нетелей выявлено 5 гол. эпизоотически опасных животных: «У» – 4 гол, в т.ч. 1 – в РИД, «Д» – 1 гол. (РИД отрицательная). Провоцирующие свойства вакцины проявились и в данном случае, но количество реагирующих оказалось незначительным, что свидетельствует об эффективности ранее проведенных мероприятий.

Надежность проводимых противоэпизоотических мер обеспечивает также внедренная в хозяйствах корпорации схема первичной прививки 2-5 месячных телят высокоиммуногенной вакциной из штамма 19, позволяющая при этом выявлять толерантных животных (не способных отвечать на введение вакцины через 15-дней после вакцинации из-за паралича иммунной системы в результате

заражения полевыми бруцеллами внутриутробно или с молоком матери) и не допускать их до воспроизводства.

Всего в 2013-2015 годах было проведено 8 комплексных исследований на бруцеллез взрослого маточного поголовья, при этом выявлено 2,7 % эпизоотически опасных животных из среднего числа имеющегося поголовья, в том числе 0,8 % – с помощью РИД с О-ПС антигеном. В 2015 году за 2 исследования было выявлено лишь 0,3 % животных, потенциально опасных в эпизоотическом отношении (в РИД, являющейся индикатором особой эпизоотической опасности реагирующих животных, были получены отрицательные результаты). Таким образом, в указанных хозяйствах открылись реальные возможности создания стойкого эпизоотического благополучия по бруцеллезу при условии дальнейшего строгого соблюдения основных принципов осуществления противобруцеллезных мероприятий, предусмотренных разработанной системой.

По состоянию на 1 июня 2016 г. современная эпизоотическая ситуация по бруцеллезу во всех хозяйствах корпорации была признана благоприятной, так как характер серологических реакций в большинстве случаев был поствакцинальным. Единичные реагирующие представляли лишь потенциальную эпизоотическую опасность.

Анализ полученных результатов показывает, что внедрение разработанной системы противобруцеллезных мероприятий в конкретных условиях хозяйств корпорации «В» позволило сократить число выявляемых эпизоотически опасных животных до единичных случаев в отдельных гуртах. Надежное оздоровление возможно лишь при условии дальнейшего строгого соблюдения основных принципов осуществления противобруцеллезных мероприятий, предусмотренных разработанной системой. Было признано необходимым продолжать применение рациональных схем вакцинации и поствакцинальной диагностики в течение длительного периода до исчезновения угрозы возникновения вспышек либо за счет рецидивов, либо заноса возбудителя извне.

С учетом материалов, изложенных в данном разделе диссертации, и сопоставления их с современным состоянием изученности рассматриваемой проблемы, нами были разработаны два варианта концептуальной модели контроля эпизоотического процесса бруцеллеза: первый вариант, основанный только на диагностике и удалении из стад серопозитивного поголовья (без вакцинации) – рисунок 5; второй вариант, основанный на создании и поддержании среди неблагополучного и угрожаемого поголовья животных высокоиммунного состояния с помощью вакцин на длительный срок существования неблагополучия и/или угрозы заноса возбудителя извне (перманентный иммунитет), в сочетании с рациональной поствакцинальной диагностикой – рисунок 6.

В концептуальной модели контроля эпизоотического процесса бруцеллеза только на основе диагностики (без вакцинации), приведенной на рисунке 5, схематически представлены две составные части популяции животных, неблагополучной по бруцеллезу: инфицированные животные; неинфицированные животные. Инфицированные животные в свою очередь разделены на три категории:

- животные с острым течением бруцеллеза (циркуляция возбудителя с повышенной вирулентностью в S-форме);
- животные с хроническим течением инфекции (циркуляция возбудителя с пониженной вирулентностью в S-, SR- и RS-формах с потенциалом возможностей реверсии в S-форму и повышения вирулентности, а, значит, обострения инфекции);
- животные скрытые бруцеллоносители (возбудитель в атипичных формах с потенциалом возможности реверсии в S-форму и повышения вирулентности).



Рисунок 5 – Концептуальная модель контроля эпизоотического процесса бруцеллеза только на основе диагностики (без вакцинации)



Рисунок 6 – Концептуальная модель контроля эпизоотического процесса бруцеллеза на основе перманентного иммунитета, создаваемого в популяции животных с помощью вакцин, в сочетании с рациональной поствакцинальной диагностикой

Эпизоотологический анализ показывает, что реальная возможность выявить всех животных с острым течением бруцеллеза существует, но только на момент проведения конкретного исследования. В категориях животных с хроническим течением инфекции, а также животных скрытых бруцеллоносителей при отсутствии перманентного иммунитета за счет возможностей реверсии возбудителя при последующих исследованиях в течение неопределенного времени могут выявляться животные с высокими титрами РА и РСК, положительной РИД с О-ПС антигеном, в том числе в большом количестве. Заражение ранее неинфицированных животных при отсутствии перманентного иммунитета реально возможно в любое время (оно сопровождается различными серологическими реакциями, в том числе в высоких титрах). Однако выявить всех зараженных животных, тем более одномоментно, невозможно из-за несовершенства диагностики.

Общий результат контроля эпизоотического процесса бруцеллеза только на основе диагностики (без вакцинации) заключается в том, что рецидивы бруцеллезной инфекции в таких популяциях животных абсолютно не исключены, даже на фоне отрицательного реагирования.

В концептуальной модели контроля эпизоотического процесса бруцеллеза, основанной на обеспечении среди неблагополучного и угрожаемого поголовья животных перманентного иммунитета с помощью вакцин в сочетании с рациональной поствакцинальной диагностикой, приведенной на рисунке 6 схематически представлены те же составные части и категории популяции животных, неблагополучной по бруцеллезу, что и в рисунке 5, с аналогичными характеристиками эпизоотического статуса.

Возможности использования систематических комплексных исследований на бруцеллез всех животных рассматриваемой популяции на фоне перманентного иммунитета выглядят в разрезе каждой категории следующим образом:

Перед вакцинацией существует реальная возможность выявить всех животных с острым течением бруцеллеза.

В категориях животных с хроническим течением инфекции, животных скрытых бруцеллоносителей, а также условно не инфицированных животных на фоне перманентного иммунитета возможности использования систематических исследований животных на бруцеллез выглядят совершенно иным образом:

За счет рационального использования провоцирующих свойств вакцин появилась возможность в ранние сроки после вакцинации (ревакцинации) выявлять животных, обладающих наибольшей эпизоотической опасностью (высокие титры РА и РСК, положительная РИД с О-ПС антигеном);

На фоне сформировавшегося и поддерживаемого на популяционном уровне перманентного иммунитета выявление животных с явной и потенциальной эпизоотической опасностью за счет систематических поствакцинальных исследований, обладающих дифференцирующими возможностями, до получения отрицательных результатов стало реально возможным за более короткий период, чем без вакцинации. На фоне перманентного иммунитета формируется тенденция к элиминации возбудителя.

Общий результат контроля эпизоотического процесса бруцеллеза, основанного на обеспечении среди неблагополучного и угрожаемого поголовья животных перманентного иммунитета с помощью вакцин в сочетании с рациональной поствакцинальной диагностикой, заключается в том, что рецидивы бруцеллезной инфекции в таких популяциях животных практически исключены.

Согласно материалам, отражающим смысл концептуальных моделей контроля эпизоотического процесса бруцеллеза, приведенных в рисунках 5 и 6, очевидна перспективность концептуальной модели контроля эпизоотического процесса бруцеллеза на основе перманентного иммунитета, создаваемого в популяциях животных с помощью вакцин, в сочетании с рациональной поствакцинальной диагностикой (рисунок 6). Ее принципиальные положения достаточно убедительно, на наш взгляд, подтверждены приведенными в данном разделе материалами.

2.2.2. Технологичность существующих схем специфической профилактики и диагностики бруцеллеза крупного рогатого скота

Материалы собственных исследований по данному разделу содержатся в 14 публикациях, указанных в списке литературы [34, 36, 43, 94, 141, 151, 153, 162, 163, 164, 165, 274, 293, 294], из них 4 – в журналах, рекомендованных ВАК.

Как показывают изложенные в разделе 2.2.1. результаты, живые слабоагглютиногенные вакцины в рекомендованных инструкциями дозах способны обеспечивать за счет многократных иммунизаций взрослого поголовья крупного рогатого скота с определенным интервалом (1-2 года) требуемый уровень иммунитета, препятствующий формированию в иммунных стадах эпизоотических вариантов возбудителя, и при этом в принципиальном отношении не препятствовать поствакцинальной диагностике в целях выявления спровоцированных бруцеллоносителей.

Их системное многократное применение животным оказалось максимально эффективным в крупных общественных хозяйствах, где полностью соблюдается принцип разделения половозрастных групп и формирования однородных в возрастном, эпизоотическом и иммунном отношении маточных гуртов. В таких условиях максимально эффективной является и рациональная дифференциальная поствакцинальная диагностика, принципиально позволяющая при ее правильном использовании контролировать эпизоотическое благополучие и своевременно выявлять эпизоотически опасных животных, спровоцированных живыми слабоагглютиногенными вакцинами, объективно признавать вакцинное происхождение серологических реакций и таким образом избегать необоснованной сдачи на убой реагирующих животных. Иными словами, технологичность существующих схем вакцинации и поствакцинальной диагностики в этих случаях оказывалась на достаточном уровне.

Однако в новых социально-экономических условиях стали возникать проблемы с соблюдением должного уровня технологичности таких схем. Начиная с 90-ых годов и до настоящего времени при наличии крупных скотоводческих

хозяйств существуют многочисленные мелкие хозяйства, где соблюдать принцип разделения половозрастных групп и формирования однородных в возрастном, эпизоотическом и иммунном отношении маточных гуртов стало соблюдать сложно и нередко невозможно. В этих условиях стабильно высокий уровень иммунитета у крупного рогатого скота на длительный период оказался особо необходимым. Однако при широком использовании живых слабоагглютиногенных вакцин, обладающих нестабильными антигенными свойствами, в том числе большим потенциалом реверсии вакцинных штаммов стали многочисленными факты реагирования животных в стадах, где отсутствовали эпизоотологические основания считать их неблагополучными по указанной болезни, и в этой связи значительно возросла необходимость их объективной дифференциальной оценки.

Основным экспресс-критерием, указывающим на высокий уровень эпизоотической опасности реагирующих животных выступает положительная РИД с О-ПС антигеном.

Характерными критериями для реакций поствакцинальной природы оказались высокие титры РСК с R-антигеном при низких титрах РА и РСК с S-антигеном.

На основе вышеуказанных принципов с нашим участием был разработан комплекс дифференциально-диагностических исследований (рисунок 7), включающий в себя 5 этапов:

1. Эпизоотологическое обследование фермы, хозяйства

Уточняют эпизоотическую ситуацию фермы по бруцеллезу до применения вакцин, возможность заноса инфекции извне путем ввода животных или их контакта с неблагополучным поголовьем, сроки появления реагирующих животных, выраженность серологических реакций (титры РА и РСК), их количественное соотношение и динамику проявления; аборт, результаты бактериологического исследования плодов и результаты серологических исследований поголовья других ферм и частного сектора обследуемого хозяйства. Выясняют сроки и кратность вакцинации животных разных возрастных групп.

2. Серологические исследования

Для уточнения эпизоотического состояния стад сыворотки крови и молоко от реагирующих на бруцеллез коров направляют в ветеринарную лабораторию для повторного комплексного серологического исследования.

В этом комплексе, наряду с применением стандартных S-диагностикумов (РА, РСК с единым бруцеллезным антигеном до предельных титров) и РИД с О-ПС А-антигеном, изготовленным из *V. abortus* необходимо использовать дополнительные тесты:

- РСК с R- антигеном (овисный диагностикум и др.) до предельных титров;
- РИД с О-ПС М-антигеном, изготовленным из *V. melitensis*.

Когда же серологический метод не дает однозначных оснований для того, чтобы признать характер реакций как вакцинный, прибегают к бактериологическому методу с обязательной постановкой биопробы на морских свинках.

По результатам комплексных исследований для диагностического убоя отбирают животных, давших положительные реакции с S-антигенами в более высоких титрах, чем с R-антигеном (обязательно – животных с положительной РИД).

3. Бактериологические исследования

Высев материала проводится на обычные питательные среды – МППБ, МППА или бруцеллагар по одной пробирке на бульон и две пробирки с агаром из 14-16 исследуемых объектов от каждого животного: селезенка, печень, различные лимфоузлы, кателидоны, околоплодная жидкость, желудок плода. Лимфатические узлы берутся попарно.



Рисунок 7 – Эпизоотическая оценка по бруцеллезу стад крупного рогатого скота, иммунизированного против бруцеллеза живыми слабоагглютиногенными вакцинами из штаммов *B. abortus* 82 и 75/79-AB

Морских свинок через 15, 25 40 суток после заражения материалом исследуют в РА с бруцеллезным антигеном до предельного титра и на 40 день проводят эвтаназию с последующим проведением бактериологического исследования. Высев делают на МППБ, МППА или бруцеллагар из селезенки, печени, крови из сердца, мочи, костного мозга и лимфатических узлов – подчелюстного, заглоточного, околоушного, предлопаточного, пахового и парааортального, попарно. Бактериологические высевы инкубируют в термостате при температуре 37,0⁰ С (половину пробирок с посевом на агар из каждого объекта) в анаэробных условиях в течение в течение 30 дней.

4. Оценка эпизоотической ситуации

Стадо признается неблагополучным по бруцеллезу:

– при выявлении в стаде животных с положительными РА и/или РСК в титрах 200 МЕ и выше и 1:20 и выше соответственно и положительных результатах РИД с О-ПС антигенами, положительных результатах КР с молоком (титр 1:16 и выше), в том числе при их переисследовании с интервалом 1 месяц. При выявлении положительной РИД только с О-ПС М-антигеном (при одновременном использовании О-ПС А- и М-антигенов) можно предполагать наличие в стаде крупного рогатого скота *B. melitensis*;

– в случае выделения из биоматериала от реагирующих животных культуры с признаками полевого штамма: положительная пластинчатая РА с S-бруцеллезной сывороткой при отрицательной пластинчатой РА с R-бруцеллезной сывороткой и отрицательной пробе с трипафлавином (акрифлавином), ее росте в анаэробных условиях начиная с 8-10 суток и позже;

– при отрицательном результате бактериологического исследования, но повышении титров РА с S-антигеном у морских свинок, зараженных биоматериалом от реагирующих животных, при исследовании их сывороток крови через 15, 25 и 40 суток после заражения.

На такое стадо накладывают ограничения по бруцеллезу и мероприятия в нем проводят в соответствии с действующей инструкцией.

При отсутствии показателей, подтверждающих наличие бруцеллеза в стаде, необходимо ежеквартально проводить исследование сыворотки крови в РА, РСК и РИД с О-ПС антигенами до получения отрицательного результата.

В дальнейшем контроль благополучия осуществляется путем двукратного исследования (весной и осенью) сыворотки крови в РА, РСК и РИД с О-ПС антигенами.

5. Оценка эпизоотического статуса реагирующих животных

В случае признания стада неблагополучным с положительно реагирующими животными поступают как с больными животными (сдают на убой).

В хозяйствах, признанных благополучными, животных с РА в титре не выше 100 МЕ и РСК в разведении не выше 1:5 – 1:10 повторно исследуют, в том числе дополнительно – в РСК с R-антигеном. В случае превалирования титров R-антител есть основания утверждать о поствакцинальном характере реакций. Кроме того, при повторных исследованиях при поствакцинальном характере реакций, РА и РСК с S-антителами как правило, в большинстве случаев угасают, или их титры снижаются. Таких животных отправлять на убой нет оснований.

Нами в 2013-2016 годах в условиях ряда территорий Сибири и других регионов (68 хозяйств 24 административных районов) получены материалы, объективно доказывающие с помощью комплекса указанных критериев благополучие по бруцеллезу многих хозяйств, в том числе возможность предотвращения необоснованной сдачи на убой реагирующих животных.

Из 335 проб сывороток крови маточного поголовья КРС 26 хозяйств (после однократного и многократного применения вакцин из штаммов 82 и 75/79-AB прошло 6-10 мес.) в РИД с О-ПС антигеном реагирующих не было. Всего реагировало в РА и РСК с S-антигеном 234 пробы, из них в высоких разведениях – 28, в том числе в РСК – 28. При этом в РСК с R-антигеном всего реагировало 195 проб, в том числе в высоких титрах – 79.

Из 712 проб сывороток крови маточного поголовья КРС 42 хозяйств через 11-23 мес. после иммунизации (реиммунизации) вакцинами из штаммов 82 и 75/79-AB РИД с О-ПС антигеном была отрицательной во всех случаях. Всего

реагировало в РА и РСК с S-антигеном 407 проб, из них в высоких титрах РА и/или РСК – 28 проб, в том числе в РСК – 20. При этом в РСК с R-антигеном всего реагировало 330 проб, в том числе в высоких титрах – 91.

В рисунках 8 и 9 приведены данные, которые демонстративно показывают, что при отрицательных результатах РИД с О-ПС антигеном как в ранние, так и в отдаленные сроки после иммунизации противобруцеллезными вакцинами из диссоциированных штаммов высокие титры РСК с R-антигеном в значительной степени превышали в % отношении высокие титры с S-антигеном, в том числе в РСК. Это подтверждает вакцинную природу реакций.

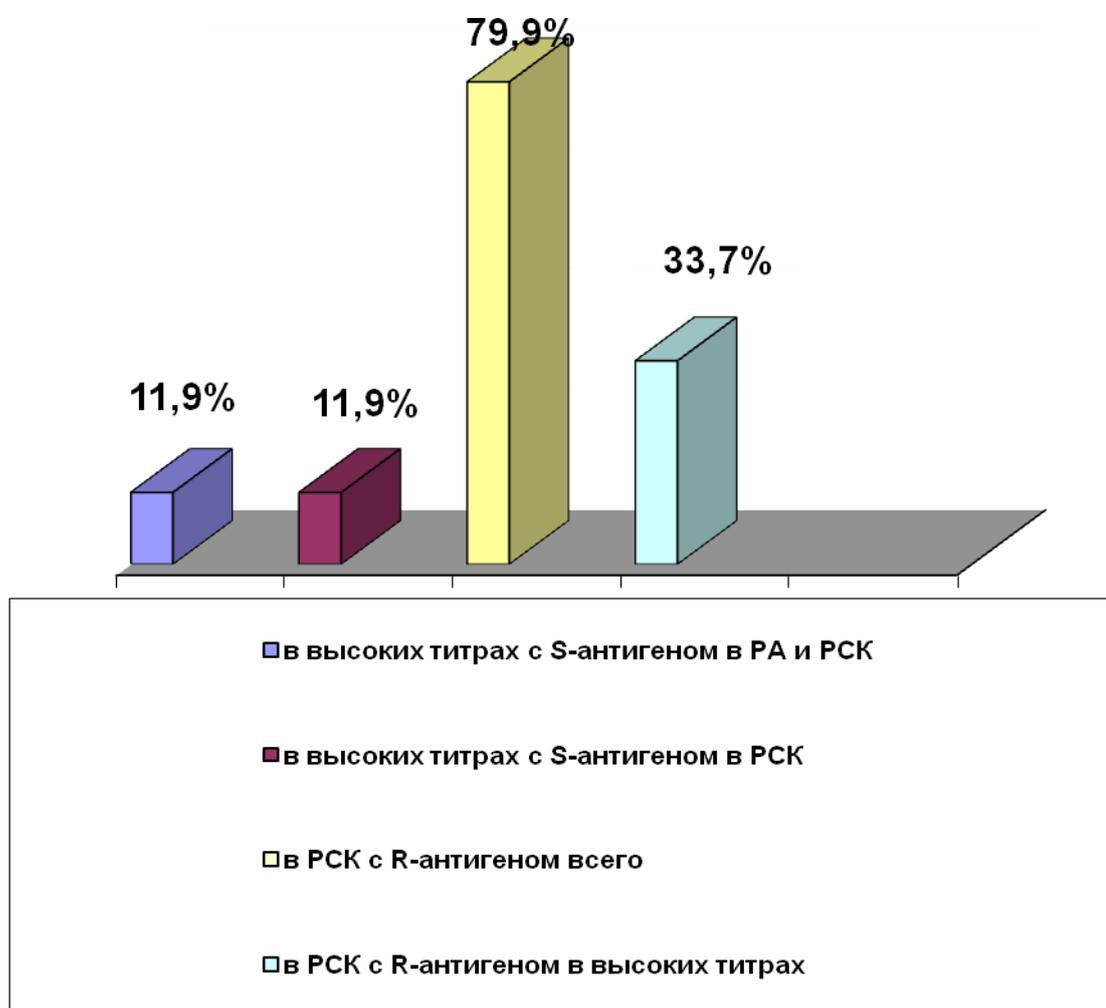


Рисунок 8 – Реагирование на бруцеллез в высоких титрах с S-антигеном и в РСК с R-антигеном (в т.ч. в высоких титрах) в процентах к общему реагированию с S-антигеном у КРС через 6-10 мес. после иммунизации вакцинами из диссоциированных штаммов

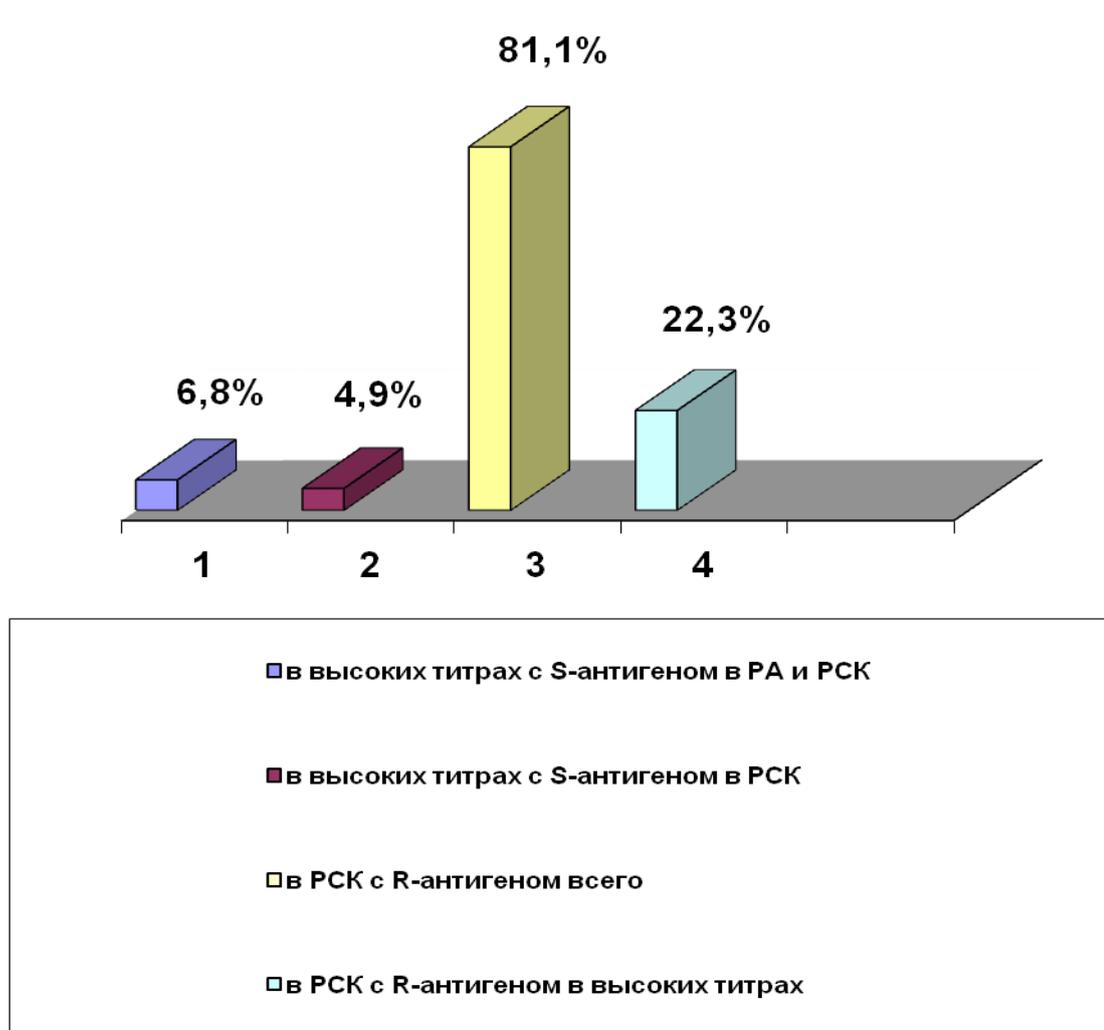


Рисунок 9 – Реагирование на бруцеллез в высоких титрах с S-антигеном и в РСК с R-антигеном (в т.ч. в высоких титрах) в процентах к общему реагированию с S-антигеном у КРС через 11-23 мес. после иммунизации вакцинами из диссоциированных штаммов

В качестве исключения из описанной ситуации следует отметить возможность единичного реагирования в РИД с О-ПС антигеном при отсутствии эпизоотологических оснований считать такие хозяйства неблагополучными по бруцеллезу. Их благополучие подтверждали результатами бактериологического исследования биоматериала от животных с положительной РИД (культур возбудителя бруцеллеза не выделено).

В процессе комплексного эпизоотологического обследования таких стад были выявлены различные факторы, способствующие проявлению у животных поствакцинальных реакций с S-диагностикумами (совместное содержание иммунизированного и неиммунизированного поголовья, первичная иммунизация

животных во взрослом состоянии, нарушения интервалов между иммунизациями и др.).

С учетом результатов, полученных в экспериментах и производственных опытах, реально считать вакцинные штаммы 82 и 75/79-AB диссоциантами с незакрепленной генетически антигенной структурой. Иными словами, они под действием эндогенных и экзогенных факторов могут в значительной степени изменяться как по пути диссоциации (и в результате в их антигенной структуре будет превалировать R-компонент, обуславливающий преобладающее проявление у иммунизированных животных R-антител), так и по пути реверсии (тогда в их антигенной структуре будет превалировать S-компонент, обуславливающий преобладающее проявление у иммунизированных животных S-антител).

Отдельного внимания в качестве одного из возможных факторов, наряду с вышеперечисленными, заслуживает наличие в выпускаемых биопредприятиями слабоагглютиногенных вакцинах тенденции к превалированию S-компонента.

Методом Уайта-Вильсона исследовали различные серии официально выпускаемых слабоагглютиногенных вакцин из штаммов 75/79-AB (4 серии) и 82 (9 серий) в сравнении с агглютиногенной вакциной из штамма *B. abortus* 19 (2 серии).

Полученные результаты приведены в таблице 2. При исследовании антигенной структуры двух серий вакцины из штамма *B. abortus* 19 установлено ее соответствие официально заявленной (97,6-100 % колоний в S-форме).

У всех 4 серий вакцины из штамма *B. abortus* 75/79-AB в их антигенной структуре превалировал S-компонент (92,9 – 99,8 % колоний в S-форме).

При исследовании 9 серий вакцины из штамма *B. abortus* 82 колонии в S-форме составили в общей структуре от 0,9 до 57,4 %, в SR-форме – от 2,8 до 26,8 %, в RS-форме – от 1,1 до 20,4 %, в R-форме – от 9,9 до 90,0 %.

Колонии в S-форме в 4 сериях из 9 составляли 16,7-57,4 %; в SR-форме – в 5 сериях из 9 – 11,7-26,8 %; в RS-форме в 2 сериях из 9 – 11,7-20,4 %; в R-форме – в 8 сериях из 9 – 46,7-90,0 % (из них в 6 – более 70 %). То есть, в большинстве исследованных серий указанной вакцины в антигенной структуре превалировал

R-компонент. Однако в одной серии вакцины колонии в S-форме составили 57,4 %.

Таблица 2 – Антигенная структура различных серий противобруцеллезных вакцин

Вакцина из штамма	Серия	Срок годности	% колоний в форме			
			S	SR	RS	R
B. abortus 19	С. 11	до 11.12	100,0	–	–	–
B. abortus 19	С. 2	до 04.12	97,6	0,4	–	2
B. abortus 75-79 АВ	С. 1	до 02.12	99,8	–	–	0,2
B. abortus 75-79 АВ	С. 2	до 07.12	98,5	1	–	0,5
B. abortus 75-79 АВ	С. 2	до 07.12	96,3	–	0,1	3,6
B. abortus 75-79 АВ	С. 1	до 02.12	92,9	0,2	0,9	6,1
B. abortus 82	С. 18	до 08.12	57,4	12,3	20,4	9,9
B. abortus 82	С. 25	до 10.12	19,9	11,7	11,7	56,7
B. abortus 82	С. 19	до 07.11	17,4	4,8	6,6	71,2
B. abortus 82	С. 28	до 11.12	16,7	26,8	9,8	46,7
B. abortus 82	С. 10	до 04.11	9,2	2,8	2,1	85,9
B. abortus 82	С. 13	до 05.11	7,1	8,5	4,4	80,0
B. abortus 82	С. 7	до 05.12	4,3	24,4	1,1	70,2
B. abortus 82	С. 8	до 05.12	4	3,6	2,4	90,0
B. abortus 82	С. 31	до 11.12	0,9	21,2	7,5	70,4

Таким образом, вакцины из штаммов B. abortus 75/79-AB и 82 могут создавать проблемы с дифференциацией поствакцинальных реакций у животных не только за счет изменения их агглютиногенных свойств под воздействием различных факторов, но и за счет изначального наличия в ряде серий бруцелл с высоким уровнем агглютиногенных свойств.

Нами были получены материалы, доказывающие роль гетерогенных препаратов в стимуляции выработки бруцеллезных антител, особенно у животных, многократно реиммунизированных против бруцеллеза.

Так, в одном из благополучных хозяйств при плановом исследовании на бруцеллез 150 коров, многократно иммунизированных вакциной из штамма 82 коров (последний раз – 1 год назад) было выявлено 13 животных с РА и РСК различного характера, в том числе 5 из них – с положительной РИД (у всех регистрировали высокие титры РСК с S-антигеном при низких титрах РСК с R-

антигеном). Выяснилось, что за 14 дней до взятия крови указанным животным вводили вакцины против сибирской язвы и эмкара, а также аллерген туберкулин. При повторном взятии крови от 5 животных с положительной РИД через 14 дней после предыдущего результаты исследования были иными: в РИД реагирующих не было; РСК с S-антигеном в разведении 1:20 и РА в титре 1:100 была в одной пробе; в остальных пробах титры РА и РСК с S-антигеном не превышали 50 МЕ и 1:10, тогда как РСК с R-антигеном была положительной в разведении 1:20 во всех исследованных пробах. Животное с показаниями РА 100 МЕ и РСК с S-антигеном 1:20 и РСК с R-антигеном 1:20 было убито с диагностической целью и при бактериологическом исследовании биоматериала (включая биопробу) культур бруцелл не выявлено.

В другом благополучном хозяйстве угрожаемой зоны в 4 маточных стадах крупного рогатого скота мясного направления (498 гол), в которых последняя иммунизация вакциной из штамма 82 была проведена 2 года назад, выявлено 156 животных (31,3 %) с положительными и сомнительными РА и РСК на бруцеллез. Было выяснено, что 14 дней назад они были иммунизированы адьювант-вакциной против ящура.

В двух стадах коров в возрасте 5-6 лет (количество вакцинаций против бруцеллеза не превышало 4 раз) из общего числа исследованных 261 гол. было выявлено 37 реагирующих (14,1 %). Реагирующих в высоких титрах РА и РСК, а также в РИД не было. РСК с R-антигеном отмечена у 35 животных. Через 1 месяц из 27 исследованных животных РА и РСК с S-антигеном угасли полностью у 14 животных (51,8 %). Из 13 оставшихся титры РА и РСК были низкими (не выше 50 МЕ и 1:5 соответственно) у 12. У одного животного была зарегистрирована РСК с S-антигеном в разведении 1:20.

В двух стадах коров в возрасте 8-11 лет (количество вакцинаций против бруцеллеза составляло 6 и более раз) из общего числа исследованных 237 гол. было выявлено 119 реагирующих (50,2 %), в том числе в высоких титрах РА и РСК (включая РСК 1:20 с оценкой +) 12 гол., из них 4 реагировали в РИД. При повторном исследовании сывороток крови, взятой от 119 животных через 1 месяц

после предыдущего РА и РСК угасли полностью лишь у 8 животных (6,9 %). РСК с R-антигеном была у 77 животных. Из 111 оставшихся титры РА и РСК были низкими (не выше 50 МЕ и 1:5 соответственно) у 102, кроме 9 животных у которых РСК была в разведении 1:20, в том числе у 8 из них с оценкой +. У одного животного была зарегистрирована РСК с S-антигеном в разведении 1:20. РИД была отрицательной во всех случаях.

Полное угасание реакций произошло через 4 мес. после введения им вакцины против ящура.

Это не единственные примеры, свидетельствующие о влиянии гетерогенных препаратов на выработку бруцеллезных антител у животных на фоне их вакцинации против бруцеллеза.

На фоне создания крупных молочных скотоводческих комплексов в масштабах страны продолжают существовать многочисленные мелкие хозяйства, в которых допускается совместное содержание животных разных половозрастных групп, а поступление новых животных недостаточно контролируется. В них стало невозможным применять живые слабоагглютиногенные вакцины из-за серьезных препятствий в объективной дифференциации поствакцинальных реакций. Не случайно среди неиммунного поголовья стали возникать многочисленные острые вспышки бруцеллеза. В этой связи необходимость новых, технологичных схем вакцинации и последующих поствакцинальных исследований стала очевидной.

2.2.3. Эффективность новых методов и средств специфической профилактики и диагностики бруцеллеза животных с позиций их технологичности

Материалы собственных исследований по данному разделу содержатся в 42 публикациях, указанных в списке литературы [23, 24, 25, 29, 30, 31, 35, 37, 39, 40, 41, 42, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 142, 143, 144, 145, 150, 152, 154, 155, 156, 157, 163, 164, 165, 166, 167, 295, 296] из них 17 – в журналах, рекомендованных ВАК, а также 5 патентов.

2.2.3.1. Экспериментальная оценка адьювант-вакцин

Ранее были изучены десять масляных адьювантов, полученных из ВНИИ защиты животных.

Предварительно интересовали их реактогенные свойства на месте введения. Каждый из адьювантов смешивали с инактивированной при 70⁰ С в течение 30 минут в пропорции 1:1 взвесью вакцинного штамма Рев-1 в концентрации 1 млрд. м.к. Однородную смесь получали с помощью гомогенизатора (3 тыс. оборотов в течение 10 минут). Изготовленные препараты вводили подкожно в области живота слева в объеме 1 мл, а соответствующие адьюванты без всяких компонентов (3310, 3404, 3310М, 5310, 4210, 3110, 4505, 3505, П, П + 3505) – справа в том же объеме. За местами введения препаратов животным ежедневно наблюдали в течение 48 дней, используя ряд визуальных показателей (гиперемия, отечность, воспаление кожи).

Высокая реактогенность проявилась у вакцинных препаратов с адьювантами 5310, 4210, П, П + 3505, 6505. Сами адьюванты изменений не вызывали. У вакцин на основе адьювантов 3110, 3310, 3310М, 3505 и 3405, реактогенные свойства были менее выраженными. В частности, в серии следующих опытов на морских свинках они оказались у всех пяти выбранных препаратов на основе вышеперечисленных адьювантов при концентрации 100 млн. м.к. штамма Рев-1 в пределах соответствующих требований (лишь у некоторых из них на месте введения были незначительные отечность или гиперимия). Однако даже через 5 месяцев после введения препаратов (предельный срок наблюдения) зафиксирован активный синтез антител в РА и РСК в разных группах у 50-100 % животных.

В следующем опыте на 15 морских свинках испытали препарат с использованием адьюванта 3310М, не отличающийся от остальных четырех ни по реактогенным, ни по агглютиногенным свойствам, взяв в разных группах концентрацию вакцинных клеток 500 тыс., 2 млн. и 50 млн. м.к. в 1 мл соответственно. Имеющийся в его составе адьювант 3310М способствовал

активной выработке антител в течение 120 дней у животных во всех группах. Неоднородное угасание реакций во всех группах отмечено лишь к 150 дню.

Изучение динамики формирования и угасания иммунологических реакций после введения вакцины из штамма Рев-1 без адъюванта и на его основе (3310М) продолжили на овцах. Сформировали три группы животных (по 20 гол.).

У животных первой группы, иммунизированных живой вакциной из шт. Рев-1 в дозе 2 млрд. м.к., полное угасание поствакцинальных антител произошло к 120 дню. У животных второй и третьей групп, иммунизированных инактивированной адъювант-вакциной на основе вышеуказанного вакцинного штамма с концентрацией бруцелл 50 млн. и 500 млн. соответственно, серопозитивность (в том числе положительная РИД) сохранилась до предельного срока (250 дней).

Приведенные результаты свидетельствуют о резко выраженных на овцах агглютиногенных свойствах адъювант-вакцин из шт. Рев-1 (независимо от дозы), причем выявлена активная продукция антител, выявляемых в РИД с О-ПС антигеном.

Нетехнологичность слабоагглютиногенной инактивированной вакцины из штамма *B. abortus* 82 на основе адъюванта 3310М подтвердили при реиммунизации на фоне живой вакцины из вышеуказанного штамма (через 1 год более 80 % положительно реагировало не только в РА и РСК, но и в РИД с О-ПС антигеном).

Нетехнологичной оказалась и адъювант-вакцина из R-штамма *B. abortus* KB 17/100 ВГНКИ у коров благополучного по бруцеллезу стада (90 гол.) на фоне их многократной прививки вакциной из штамма 82 из-за высокой реактогенности (у значительного числа иммунизированных животных образовались припухлости больших размеров, в большинстве случаев вскрывшиеся, сохранявшиеся в течение нескольких месяцев).

Новым адъювантом, который в отношении использования в составе противобруцеллезных вакцин никем еще не изучался, является масляный адъювант MONTANIDE™ ISA 61 VG.

Изучали проявление серологических реакций и иммунитета к искусственному заражению культурой вирулентного штамма *B. melitensis* у морских свинок через 90 дней после введения им вакцин, изготовленных на основе адьюванта из инактивированных штаммов бруцелл вида *abortus* в S- и R-формах с различной концентрацией микробных клеток и МДА (микробный дезинтегрat-антиген, изготовленный из *B. abortus* 19 – S-форма) и в разных дозах.

Из здоровых интактных морских свинок по принципу аналогов было сформировано 9 опытных групп животных (по 5 гол.), которым подкожно были введены вакцины:

1. Адьювант-вакцина, изготовленная на основе масляного адьюванта MONTANIDE™ ISA 61 VG с добавлением убитой культуры штамма *B. abortus* 19 (S-форма), в дозе 500 млн. м.к.;

2. Аналогичный препарат (50 млн. м.к.);

3. Аналогичный препарат (5 млн. м.к.);

4. Адьювант-вакцина, изготовленная на основе масляного адьюванта MONTANIDE™ ISA 61 VG с добавлением инактивированной культуры штамма *B. abortus* 54-70 (R-форма), в дозе 2,5 млрд. м.к.;

5. Аналогичный препарат (500 млн. м.к.);

6. Аналогичный препарат (50 млн. м.к.);

7. Адьювант-вакцина, изготовленная на основе масляного адьюванта MONTANIDE™ ISA 61 VG с добавлением МДА (микробный дезинтегрat-антиген, изготовленный из *B. abortus* 19 – S-форма), в дозе 25 мг.;

8. Аналогичная вакцина в дозе 50 мг.;

9. Аналогичная вакцина в дозе 100 мг.

Изучение проявления серологических реакций у морских свинок в течение 90 дней после введения им вакцин, изготовленных на основе адьюванта из инактивированных штаммов бруцелл вида *abortus* в S- и R-формах с различным количеством микробных клеток и МДА (микробный дезинтегрat-антиген, изготовленный из *B. abortus* 19 – S-форма) в различных дозах, показало следующие результаты (таблица 3).

У животных, иммунизированных адъювант-вакциной из штамма 19, во все сроки исследования у трех групп животных, при использовании разного количества инактивированных микробных клеток (500 млн., 50 млн. и 5 млн. м.к.) РСК с R-антигеном была отрицательной.

Таблица 3 – Агглютиногенные свойства различных вариантов адъювант-вакцин после подкожной вакцинации (опыт на морских свинках)

№ п/п	Вакцина, доза	Количество животных	Результаты серологических исследований на день после вакцинации		
			РА (средний титр)	РСК (средний титр)	Положительная РИД
1	Адъювант-вакцина 19 – 500 млн. м.к.	5	116 МЕ	1:80	5
2	Адъювант-вакцина 19 – 50 млн. м.к.	5	112 МЕ	1:80	4
3	Адъювант-вакцина 19 – 5 млн. м.к.	5	40 МЕ	1:45	1
4	Адъювант-вакцина 54-70 – 2,5 млрд. м.к.	5	2 МЕ	1:5	–
5	Адъювант-вакцина 54-70 – 500 млн. м.к.	5	–	1:5	–
6	Адъювант-вакцина 54-70 – 50 млн. м.к.	5	–	–	–
7	Адъювант-вакцина МДА – 25 мг	5	130 МЕ	1:80	4
8	Адъювант-вакцина МДА – 50 мг	5	128 МЕ	1:80	4
9	Адъювант-вакцина МДА – 100 мг	5	144 МЕ	1:80	5

Из рисунка 10 видно, что положительные РА и/или РСК с S-антигеном и РИД с О-ПС антигеном через 90 дней после иммунизации наблюдали у 100 % животных, которым вводили по 500 млн. м.к.; у 100 и 80 % соответственно, в группе животных, которым вводили по 50 млн. м.к.; у 80 и 20 %, соответственно в группе животных, которым вводили по 5 млн. м.к. указанного варианта адъювант-вакцины. Иными словами, ярко выраженные антигенные свойства проявились у животных, иммунизированных адъювант-вакциной этого типа как в дозе 500 млн. м.к., так и в дозах, уменьшенных и в 10, и в 100 раз.

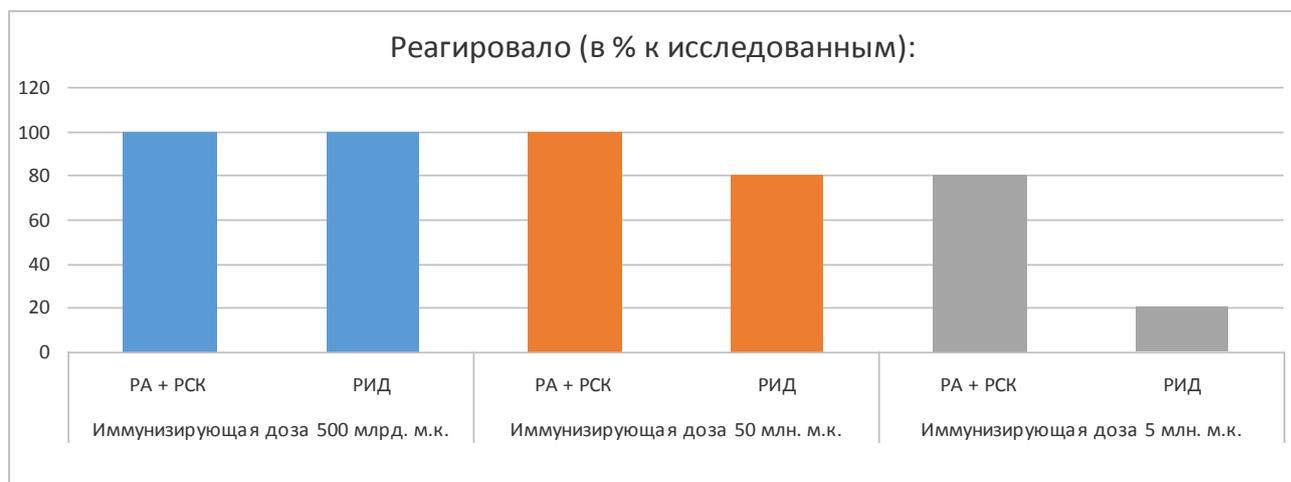


Рисунок 10 – S-антигенные свойства адъювант-вакцины из шт. *B. abortus* 19 на морских свинках через 90 дней после иммунизации

Как видно из рисунка 11, у животных, иммунизированных адъювант-вакциной, изготовленной из инагглютиногенного штамма *B. abortus* 54-70 (R-форма), через 90 дней высокие титры РСК с R-антигеном и отрицательная РИД с О-ПС антигеном отмечены у трех групп животных, иммунизированных различным количеством инактивированных микробных клеток (2,5 млрд., 250 млн., 25 млн. м.к.). Высоких титров РА и/или РСК с S-антигеном не наблюдали во все сроки исследования и во всех трех группах животных. При этом отрицательные РА и/или РСК наблюдали у 40 % животных 4-ой и 5-ой групп (вакцинированных в дозе по 2,5 млрд. и 250 млн.м.к. соответственно) и у 100 % животных 6-ой группы (25 млн. м.к.). Таким образом, S-антигенные свойства у животных, иммунизированных адъювант-вакциной из R-штамма бруцелл, все равно проявились в одинаковой мере (60 % реагирующих в низких титрах РА и/или РСК) при дозах 2,5 млрд. м.к. и 250 млн. м.к. И только при дозе 25 млн. м.к. они не проявились.



Рисунок 11 – S-антигенные свойства адъювант-вакцины из шт. *B. abortus* 54-70 (R) на морских свинках через 90 дней после иммунизации

Как видно из рисунка 12, у животных, иммунизированных адъювант-вакциной, изготовленной на основе масляного адъюванта MONTANIDE™ ISA 61 VG с добавлением МДА (микробный дезинтеграт-антиген из *B. abortus* 19 – S-форма), через 90 дней высокие титры РА и/или РСК с S-антигеном наблюдали у 100 % животных 7, 8 и 9 групп, которым вводили по 25, 50 и 100 мг, соответственно. Положительный результат РИД с О-ПС антигеном наблюдали у 80 % животных 7-ой и 8-ой групп и у 100 % животных 9-ой группы. Высокие титры РСК с R-антигеном были у животных 7-ой, 8-ой и 9-ой групп в 60, 40 и 80 % случаев, соответственно. Таким образом, у адъювант-вакцины из МДА S-антигенные свойства в виде РА и/или РСК проявились у всех животных, независимо от дозы – 100, 50 и 25 мг. Положительная РИД у 100 % животных была при дозе 100 мг, у 80 % – при дозах 50 и 25 мг.

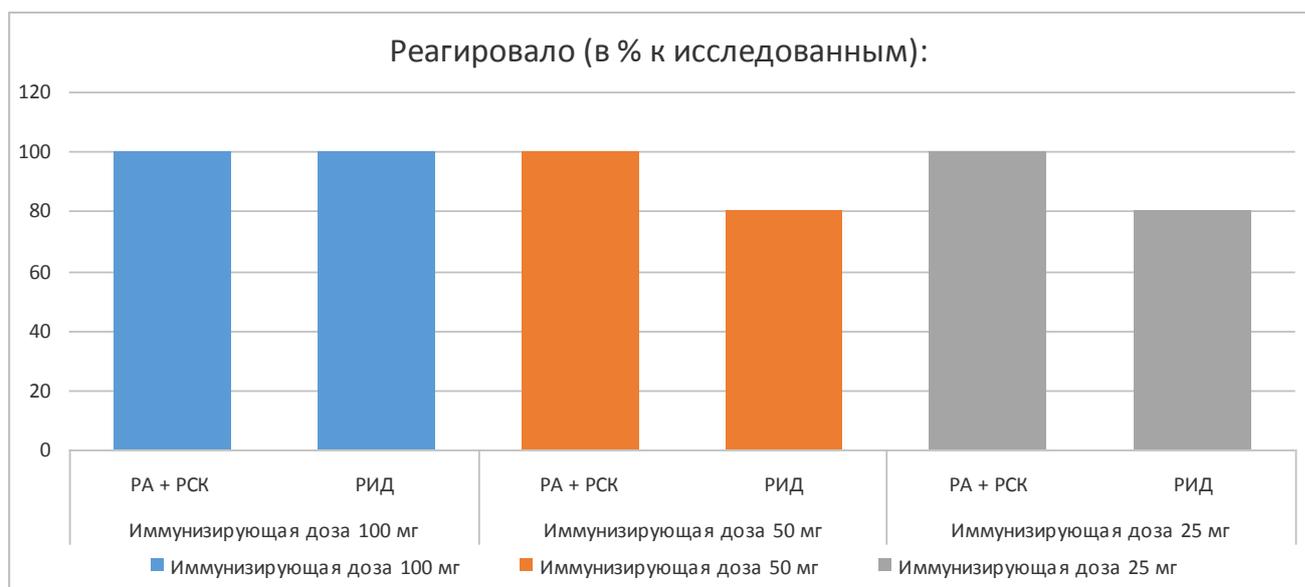


Рисунок 12 – S-антигенные свойства вакцины из МДА (шт. 19) на морских свинках через 90 дней после иммунизации

Результаты изучения уровня иммунитета у морских свинок, привитых разными вариантами вакцин, оказались следующими (таблица 4).

Таблица 4 – Иммуногенные свойства различных адъювант-вакцин через 90 дней после подкожной вакцинации (опыт на морских свинках)

№ п/п	Вакцина, доза	Количество животных	Результаты бактериологических исследований биоматериала от убитых ж-х через 30 дней после заражения		
			число заразившихся	иммунитет, %	индекс инфицированности
1	Адъювант-вакцина шт. 19 – 500 млн. м.к.	5	1	80	2,0
2	Адъювант-вакцина шт. 19 – 50 млн. м.к.	5	–	100	–
3	Адъювант-вакцина шт. 19 – 5 млн. м.к.	5	3	40	18,0
4	Адъювант-вакцина шт. 54-70 – 2,5 млрд. м.к.	5	4	20	24,0
5	Адъювант-вакцина шт. 54-70 – 500 млн. м.к.	5	4	20	42,0
6	Адъювант-вакцина шт. 54-70 – 50 млн. м.к.	5	4	20	30,0
7	Адъювант-вакцина МДА – 25 мг	5	1	80	2,0
8	Адъювант-вакцина МДА – 50 мг	5	4	20	14,0
9	Адъювант-вакцина МДА – 100 мг	5	3	40	12,0
10	Контроль	5	5	–	38,0

Как видно из рисунка 13, у животных, иммунизированных адъювант-вакциной из штамма 19 (S-форма), через 90 дней иммунитет к искусственному заражению вирулентной культурой *B. melitensis* 565 в дозе 100 м.к. был в 1-ой, 2-ой и 3-й группах (вакцинированных в дозе 500 млн. м.к., 50 млн. м.к. и 5 млн. м.к., соответственно) на уровне 80, 100 и 40% соответственно (заразилось в первой группе одна из 5-и морских свинок, во второй – 0 из 5-и и в третьей – 3 из 5 голов). Другими словами, при иммунизирующей дозе 50 млн. м.к. иммунитет был на 100 % уровне, тогда как при дозе 500 млн. м.к. (в 10 раз больше) он был на уровне 80 %, а при дозе 5 млн. м.к. (в 10 раз меньше) – 40 %.

У животных, иммунизированных адъювант-вакциной, изготовленной из инагглютиногенного штамма *B. abortus* 54-70 (R-форма), через 90 дней иммунитет к искусственному заражению вирулентной культурой *B. melitensis* 565 в дозе 100 м.к. был у животных 4-ой, 5-ой и 6-ой групп (вакцинированы в дозе – 2,5 млрд. м.к., 250 млн.м.к. и 25 млн. м.к. соответственно) на одинаковом уровне – 20 % (в каждой группе заразилось по 4 животных).

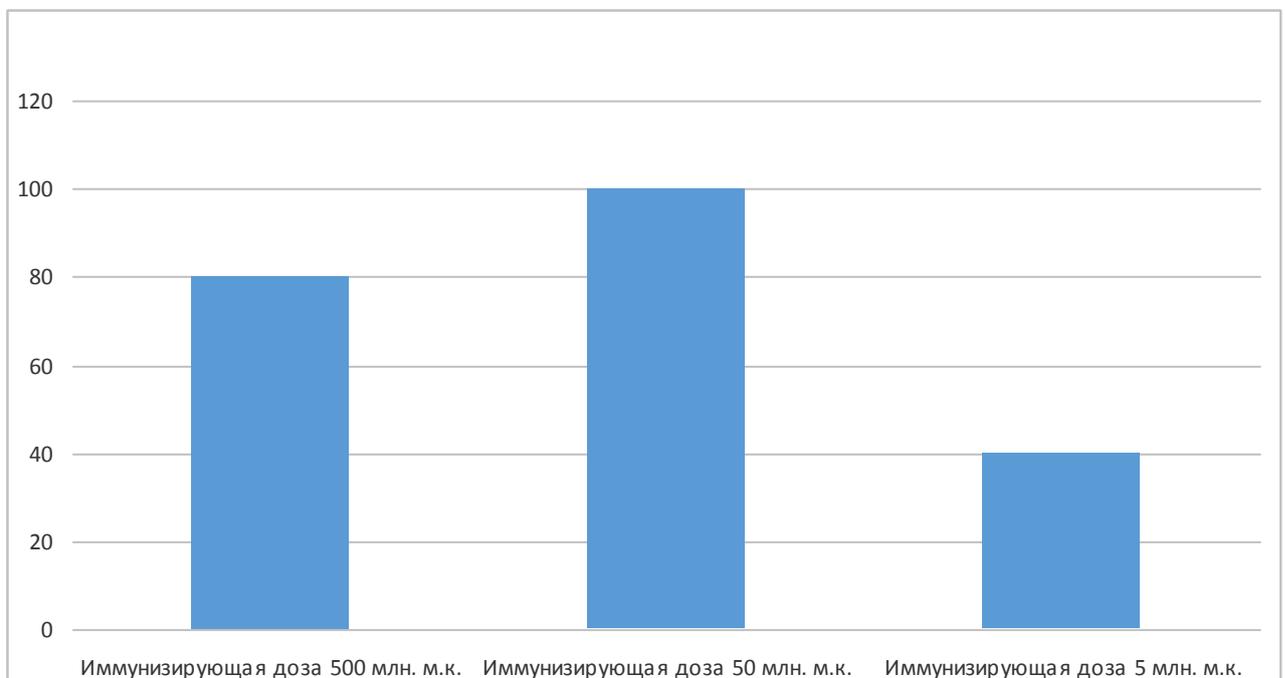


Рисунок 13 – Иммунитет к искусственному заражению бруцеллезом морских свинок, иммунизированных адъювант-вакциной из шт. 19

Рисунок 14 свидетельствует, что у животных, иммунизированных адъювант-вакциной, изготовленной на основе масляного адъюванта MONTANIDE™ ISA 61 VG с добавлением МДА (микробный дезинтегра-антиген, изготовленный из *B. abortus* 19 – S-форма), через 90 дней иммунитет к искусственному заражению вирулентной культурой *B. melitensis* 565 в дозе 100 м.к. был у морских свинок 7-ой, 8-ой и 9-ой групп (введено по 25, 50 и 100 мг соответственно) на уровнях 80, 20 и 40 % соответственно (заразилось в 7-ой, 8-ой и 9-ой группах 1, 4 и 3 из 5-и в каждой соответственно). Иными словами, при иммунизирующей дозе 100 мг иммунитет был на уровне 40 %, при дозе 50 мг (в 2 раза меньше) – 20 %, а при дозе 25 мг (в 4 раза меньше) – 80 %. То есть, самая минимальная доза МДА вызвала у морских свинок иммунитет максимального уровня.

В контрольной группе (неиммунизированные против бруцеллеза морские свинки) заразились все 5 животных, каждому из которых вводили культуру вирулентного штамма *B. melitensis* 565 в дозе 100 м.к.

Таким образом, максимально агглютиногенные свойства проявились у животных, иммунизированных адъювант-вакцинами, изготовленными из агглютиногенного штамма *B. abortus* 19 (S-форма) и МДА (микробный дезинтегра-антиген, изготовленный из *B. abortus* 19 – S-форма). Причем кардинальное уменьшение дозы не привело к существенному снижению уровня их проявления. Иммуногенность вакцин этих типов при искусственном заражении животных культурой вирулентного штамма *B. melitensis* оказалась максимальной и на 90 день после иммунизации при разных дозах применения была на уровне 40-100 % у адъювант-вакцины из штамма 19 и 20-80 % – у адъювант-вакцины из МДА (микробный дезинтегра-антиген, изготовленный из *B. abortus* 19 – S-форма).

У животных, иммунизированных адъювант-вакциной, изготовленной из инагглютиногенного штамма *B. abortus* 54-70 (R-форма) агглютиногенные свойства проявились умеренно, а при минимальной дозе 25 млн. м.к. вообще не проявились, а ее иммуногенность на 90 день иммунизации оказалась при разных дозах применения одинаково низкой – 20 %.

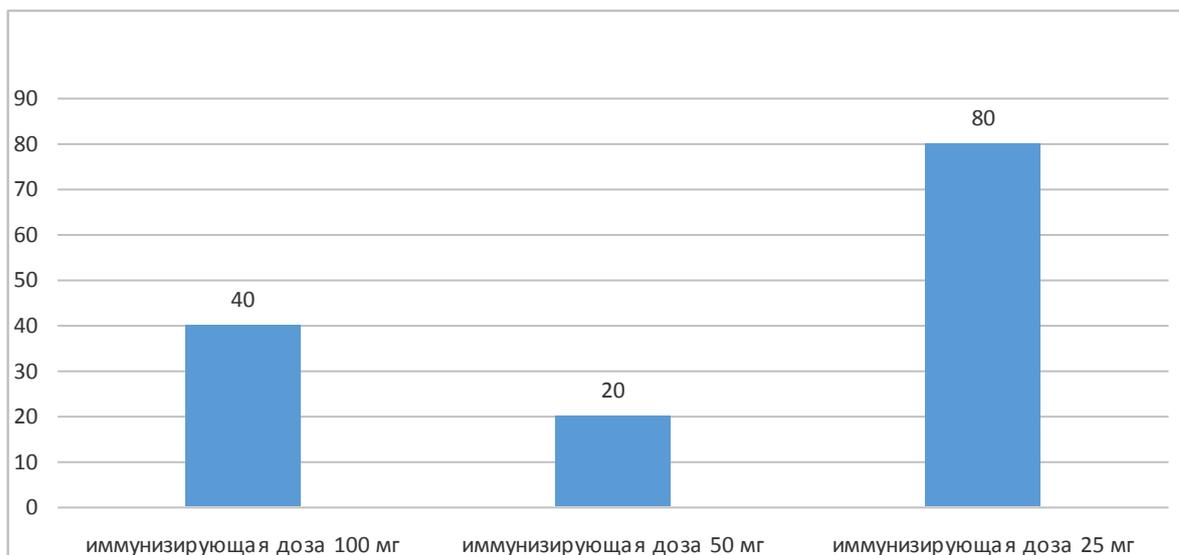


Рисунок 14 – Иммунитет к искусственному заражению бруцеллезом морских свинок, иммунизированных адъювант-вакциной из МДА

Целью наших дальнейших исследований явилось изучение проявления серологических реакций и иммунитета к искусственному заражению культурой вирулентного штамма *B. melitensis* у морских свинок через 90 дней после подкожного и конъюнктивального введения им вакцин, изготовленных на основе живой культуры штамма *B. abortus* 19, с различным количеством микробных клеток, а также через 90 дней после подкожного введения им вакцин, изготовленных на основе убитой культуры штамма *B. abortus* 19 (S-форма), с различным количеством микробных клеток, совместно с адъювантом MONTANIDE™ ISA 61 VG (таблица 5).

Из здоровых интактных морских свинок по принципу аналогов было сформировано 4 опытные группы животных (по 10 гол.), которым подкожно были введены вакцины:

1-я группа: живая культура штамма *B. abortus* 19 в дозе 1 млрд. м.к. подкожно;

2-я группа: живая культура штамма *B. abortus* 19 в дозе 100 млн. м.к. конъюнктивально;

3-я группа: убитая культура штамма *B. abortus* 19 в дозе 100 млн. м.к. совместно с адъювантом подкожно;

4-я группа: убитая культура штамма *B. abortus* 19 в дозе 1 млрд. м.к. совместно с адьювантом подкожно.

Изучение проявления серологических реакций у морских свинок в течение 90 дней после введения им вакцин, изготовленных различных вариантов вакцин, изготовленных на основе штамма *B. abortus* 19, при разных схемах применения показало следующие результаты (таблица 5).

У животных, иммунизированных живой вакциной из штамма 19 (1 млрд. м.к.) подкожно, через 90 дней в 100 % случаев были отмечены высокие титры РА и/или РСК с S-антигеном, но отрицательная РИД с О-ПС антигеном.

У животных, иммунизированных живой вакциной из штамма 19 в дозе 100 млн. м.к. конъюнктивально через 90 дней полностью отсутствовали положительная РИД с О-ПС антигеном и высокие титры РА и/или РСК с S-антигеном. РА была отрицательной в 80 % случаев, РСК – в 100 % (не выше 1:10).

В группах животных, иммунизированных убитой вакциной в дозах как 100 млн. м.к., так и 1 млрд. м.к. совместно с адьювантом подкожно, высокие титры РА и/или РСК отмечены в 100 % случаев соответственно, а РИД с О-ПС антигеном была положительной в 70 и 80 % случаев соответственно.

Таблица 5 – Агглютиногенные свойства живой и адьювант-вакцин из шт. *B. abortus* 19 через 90 дней после вакцинации (опыт на морских свинках)

Вакцина, доза, метод введения	Количество животных	Результаты серологических исследований		
		РА	РСК	РИД
Адьювант-вакцина <i>B. abortus</i> 19 – 100 млн. м.к. подкожно	10	372 МЕ	1:80	7
Адьювант-вакцина <i>B. abortus</i> 19 – 1 млрд. м.к. подкожно	10	11056 МЕ	1:72	8
Вакцина <i>B. abortus</i> 19 – 100 млн. м.к. конъюнктивально	10	7 МЕ	1:17,5	–
Вакцина <i>B. abortus</i> 19 – 1 млрд. м.к. подкожно	10	37 МЕ	1:39	–

Из рисунка 15 следует, что в группе морских свинок, иммунизированных вакциной из штамма 19 конъюнктивально, S-антигенные свойства проявились, по

сравнению с другими группами, минимально (РА и РИД отсутствовали; РСК – у 100 % не выше 1:10). В остальных группах высокие титры РА и /или РСК отмечены в 100 % случаев; РИД у морских свинок, привитых живой вакциной, не проявилась, а у животных, иммунизированных адъювант-вакциной в дозах 100 млн. м.к. и 1 млрд. м.к., была положительной у 70 и 80 % животных соответственно.

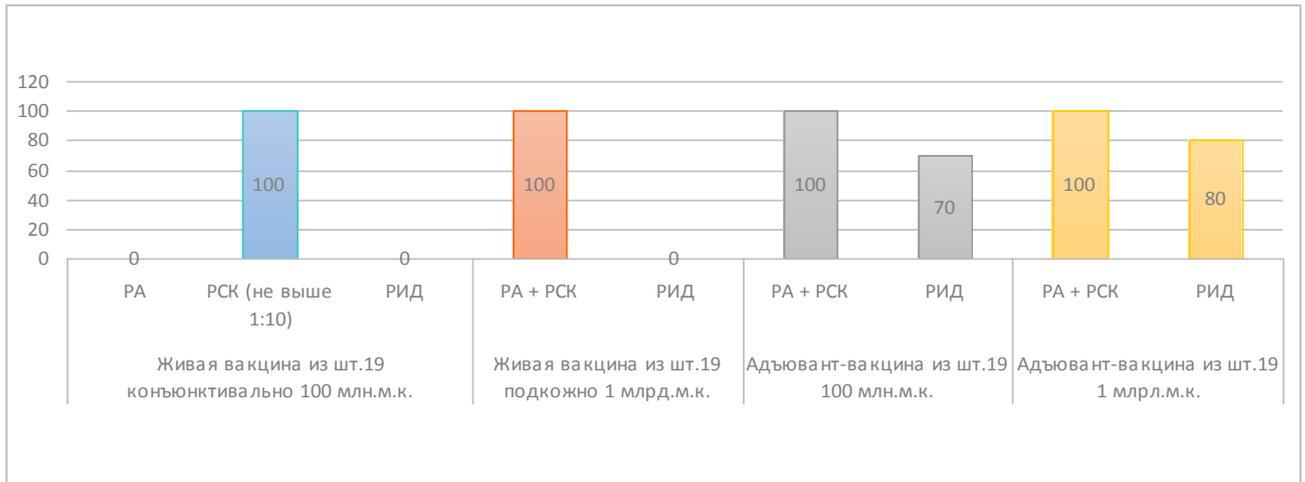


Рисунок 15 – S-антигенные свойства живых и адъювант-вакцин из шт. 19 на морских свинках через 90 дней после иммунизации

Иммунитет к искусственному заражению вирулентной культурой *V. melitensis* 565 в дозе 100 м.к. изучали на морских свинках, привитых разными вариантами вакцин на основе штамма *V. abortus* 19 по различным схемам изучали, взяв в каждую опытную группу по 5 гол. (таблица 6).

В качестве контрольной взяли 5 здоровых морских свинок, искусственно заразив их культурой вирулентного штамма *V. melitensis* 565 в дозе 100 м.к.

Через 90 дней после иммунизации иммунитет у животных к искусственному заражению вирулентной культурой *V. melitensis* 565 в дозе 100 м.к. оказался:

- в группе иммунизированных живой культурой штамма *V. abortus* 19 в дозе 1 млрд. м.к. подкожно – на уровне 100 %;
- в группе иммунизированных живой культурой штамма *V. abortus* 19 в

дозе 100 млн. м.к. конъюнктивально – на уровне 80 %;

– в группе иммунизированных убитой культурой штамма *B. abortus* 19 в дозе 100 млн. м.к. совместно с адьювантом подкожно – на уровне 80 %;

– в группе иммунизированных убитой культурой штамма *B. abortus* 19 в дозе 1 млрд. м.к. совместно с адьювантом подкожно – на уровне 40 %.

В контрольной группе (неиммунизированные против бруцеллеза морские свинки) заразились все 5 животных, каждому из которых вводили культуру вирулентного штамма *B. melitensis* 565 в дозе 100 м.к.

Таблица 6 – Иммуногенные свойства живой и адьювант-вакцин из шт. *B. abortus* 19 через 90 дней после вакцинации (опыт на морских свинках)

Вакцина, доза, метод введения	Результаты бактериологических исследований			
	кол-во ж-х	заразилось	иммунитет, %	индекс инфицированности
Адьювант-вакцина <i>B. abortus</i> 19 – 100 млн. м.к. подкожно	5	1	80	8,0
Адьювант-вакцина <i>B. abortus</i> 19 – 1 млрд. м.к. подкожно	5	2	60	16,0
Вакцина <i>B. abortus</i> 19 – 100 млн. м.к. конъюнктивально	5	1	80	1,3
Вакцина <i>B. abortus</i> 19 – 1 млрд. м.к. подкожно	4	–	100	–
Контроль	5	5	–	23,3

Из рисунка 16 следует, что иммунитет у животных, привитых живой вакциной в дозе 100 млн. м.к. конъюнктивально, оказался на одинаковом уровне (80 %) с животными, иммунизированных убитой культурой штамма *B. abortus* 19 в дозе 100 млн. м.к. совместно с адьювантом подкожно, уступив иммунитету у животных, иммунизированных живой культурой штамма *B. abortus* 19 в дозе 1 млрд. м.к. подкожно.

Таким образом, все изученные варианты адьювант-вакцин, изготовленных из агглютиногенных, слабоагглютиногенных или инагглютиногенных штаммов оказались нетехнологичными, прежде всего по причине их выраженной агглютиногенности или низкой иммуногенности (у

инагглютиногенных вакцин).

Перспективной из изученных схем иммунизации оказалась схема, предусматривавшая конъюнктивальное введение морским свинкам живой вакцины из штамма *B. abortus* 19 в дозе 100 млн. м.к.

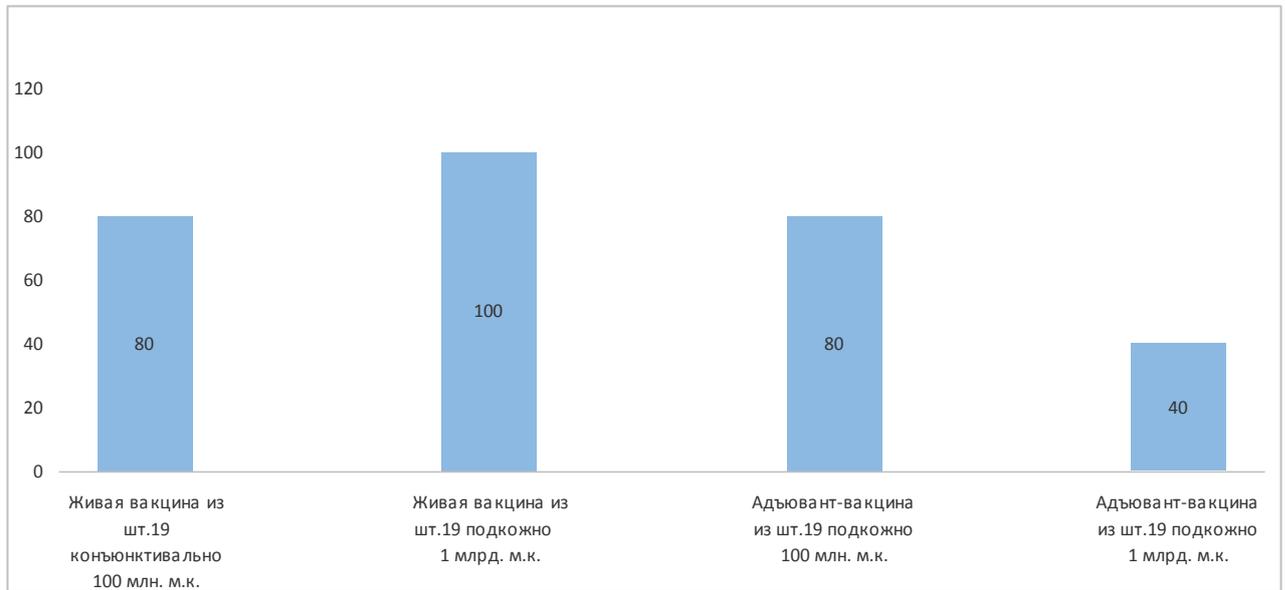


Рисунок 16 – Иммунитет к искусственному заражению бруцеллезом морских свинок, иммунизированных живой вакциной из шт. 19 (конъюнктивально и подкожно) и адьювант-вакциной из шт. 19 (подкожно в разных дозах)

2.2.3.2. Экспериментальное изучение технологичности конъюнктивальной иммунизации животных против бруцеллеза живой вакциной из штамма *B. abortus* 19 в уменьшенной дозе

В ранее проведенных исследованиях было установлено, что иммунитет к искусственному заражению бруцеллезу овец, двукратно (интервал 1 год) иммунизированных живой вакциной из штамма 19 конъюнктивально (4 млрд. м.к.) и подкожно (40 млрд. м.к.) имел несущественные отличия (77,8 и 88,9%).

РА и РСК в группе овец, подвергнутых конъюнктивальной иммунизации вакциной из штамма 19 (245 гол.) полностью угасли к 90 и 120 дням соответственно. В группе овец, подвергнутых подкожной иммунизации этой же

вакциной (274 гол.), серопозитивность сохранялась у ряда животных и через 1 год.

Из рисунка 17 следует, что после трехкратной конъюнктивальной иммунизации овец живой вакциной из штамма 19 полное угасание поствакцинальных антител наступило в РА через 1 мес., в РИД – через 3 мес. РСК оставалась у 7 % животных и через 3 мес.

После четырех конъюнктивальных иммунизаций овец РИД и РА угасли через 2,5 месяца, а РСК (не выше 1:5) регистрировали к этому сроку у 1,3 % исследованных животных.

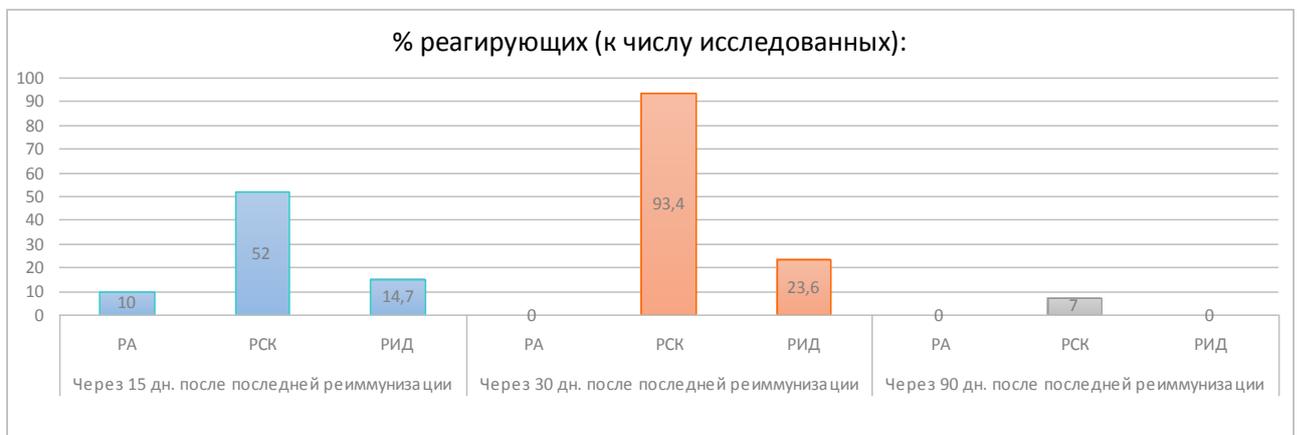


Рисунок 17 – Реагирование овец, иммунизированных трехкратно вакциной из шт. 19 конъюнктивально в дозе 4 млрд. м.к. (с интервалом 1 год)

В опыте на 120 гол. здорового крупного рогатого скота различных половозрастных групп, привитых конъюнктивально живой вакциной из штамма 19 в дозе 8 млрд. м.к. в объеме 0,1 мл физ. р-ра (на фоне их предварительного исследования на бруцеллез в РА и РСК с отрицательными результатами) поствакцинальные реакции в виде РА и РСК, проявившиеся на 15-й день после конъюнктивальной иммунизации у 13,3-66,6 % из числа исследованных, полностью угасли к 85 дню (таблица 7).

Таблица 7 – Динамика проявления поствакцинальных реакций у здорового крупного рогатого скота разных половозрастных групп, иммунизированного вакциной из штамма *B. abortus* 19 конъюнктивально

Срок после вакцинации, дни	Количество исследованных животных	Число положительно реагирующих животных		
		РА + РСК		РИД
		Всего	в высоких титрах	
<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>
Коровы				
15	45	22	–	–
30	45	17	–	–
85	45	–	–	–
Нетели				
15	15	10	–	–
30	15	3	–	–
85	15	–	–	–
Телки старше года				
15	30	20	2	–
30	30	14	–	–
85	30	–	–	–
Телки до года				
15	30	4	–	–
30	30	1	–	–
85	30	–	–	–

Как следует из рисунка 18, минимально возможным сроком исследований крупного рогатого скота на бруцеллез после конъюнктивальной иммунизации в целях выявления спровоцированных вакциной бруцеллоносителей оказались 15 дней для РИД и 30 дней для РА и/или РСК.



Рисунок 18 – Реагирование крупного рогатого скота, иммунизированного однократно вакциной из шт. 19 конъюнктивально в дозе 8 млрд. м.к.

2.2.3.3. Поиск технологичной схемы купирования бруцеллезной инфекции

При бруцеллезе животных существовали попытки использования различных антибактериальных препаратов. При этом акцент делался главным образом на достижение санирующего эффекта. Однако рациональная схема купирования бруцеллезной инфекции с использованием антибактериального препарата в сочетании с вакцинацией к началу наших исследований отсутствовала.

При выборе антибактериального средства с позиции перспективы его применения важным моментом является его широкий спектр действия, а также пролонгированное действие, обеспечивающие длительное пребывание в организме для оказания максимального антибактериального эффекта.

В отношении воздействия на бруцеллы положительно зарекомендовали себя антибиотики тетрациклинового ряда. ЗАО «Нита-фарм» (г. Саратов) выпускает препарат Нитокс-200, представляющий собой окситетрациклин дигидрат пролонгированного действия. Данный препарат широко применяется в ветеринарной практике при лечении и профилактике многих инфекционных болезней животных.

Важным критерием при выборе вакцины являются технологичность метода применения, а также способность создания у животных необходимого уровня иммунитета и возможность проведения поствакцинальных исследований в ранние сроки для выявления инфицированных животных.

Таким требованиям, по результатам предварительных опытов, соответствует вакцина из штамма *B. abortus* 19 при конъюнктивальном методе ее введения в дозе, уменьшенной в 10 раз, по сравнению с подкожным введением. С учетом вышеизложенного, были поставлены опыты на морских свинках.

Целью наших исследований явилась разработка экспериментальной модели купирования бруцеллезной инфекции на лабораторных животных (морские свинки).

В первом опыте морских свинок четырех групп (по 5 гол. в каждой)

искусственно заражали вирулентной культурой *B. melitensis* 16М в дозе 100 м.к. подкожно. Через 20 суток однократно вводили антибактериальный препарат Нитокс-200 внутримышечно в следующих дозах: 1 группа – 200 мг на 1 кг живой массы; 2 группа – 20 мг/кг; 3 группа – 10 мг/кг. Животным 4 группы препарат не вводили – контроль. Через 10 суток после введения Нитокс-200 проводили эвтаназию животных. Биоматериал исследовали бактериологически. Результаты испытания представлены в таблице 8.

От животных 1 группы культур бруцелл не выделено. Во 2 группе от одного животного выделена 1 культура с измененными свойствами (RS-форма). В 3 группе от трех животных выделены вирулентные бруцеллы. В контрольной группе от всех животных выделили культуры заражающего (исходного) штамма бруцелл.

Таблица 8 – Результаты применения различных доз Нитокса-200 при купировании экспериментальной бруцеллезной инфекции (опыт на морских свинках)

№ группы	Количество голов в группе	Заражающий штамм, доза заражения, способ введения	Нитокс-200: доза введения через 20 суток после заражения; мг/кг ж.м.	Результат бактериологического исследования (выявлено бруцеллоносителей)	
				абс. число (n)	%
1	5	<i>B. melitensis</i> 16М – 100 м.к., подкожно	200	–	–
2	5	<i>B. melitensis</i> 16М – 100 м.к., подкожно	20	1	20,0
3	5	<i>B. melitensis</i> 16М – 100 м.к., подкожно	10	3	60,0
4	5	<i>B. melitensis</i> 16М – 100 м.к., подкожно	–	5	100,0

Примечание: $P \leq 0,001$

Как показано на рисунке 19, в группе инфицированных животных, где вводили Нитокс в дозе 200 мг/кг ж.м., бруцеллоносителей не выявлено, в группе, где вводили Нитокс в дозе 20 мг/кг ж.м., выявлено 20 % бруцеллоносителей, в группе, где вводили Нитокс в дозе 10 мг/кг ж.м. – 60 %, в группе, где

инфицированным животным никаких препаратов не вводили – 100 %.

Таким образом, при введении разных доз препарата Нитокс-200 животным, инфицированным бруцеллезом оптимальной дозой, обеспечивающей купирование инфекционного процесса, признана доза 20 мг/кг живой массы.

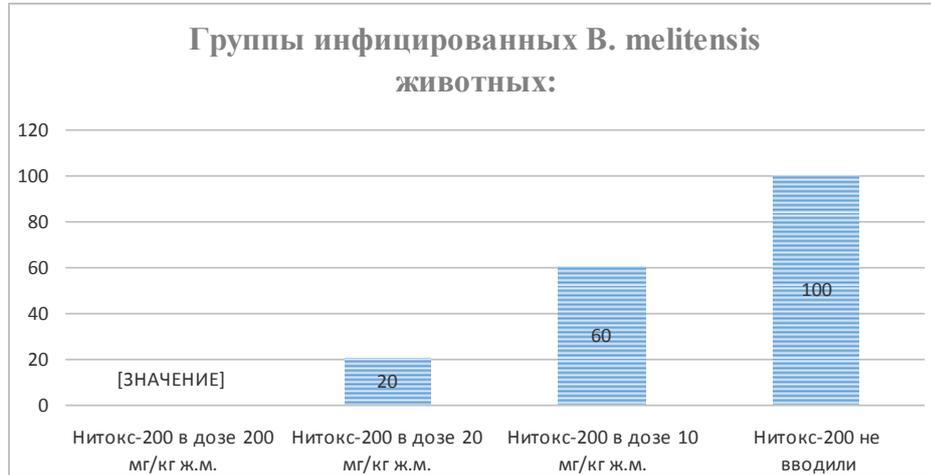


Рисунок 19 – Процент выявления бруцеллоносителей у инфицированных *V. melitensis* морских свинок после введения разных доз Нитокса-200

Во втором опыте (таблица 9) изучали эффективность использования препарата Нитокс-200 в сочетании с вакцинацией. Морских свинок четырех групп (по 5 голов в каждой) искусственно заражали вирулентной культурой бруцелл *V. melitensis* 16М в дозе 100 м.к. Через 20 суток животным 1-ой и 2-ой группы вводили Нитокс-200, внутримышечно в дозе 20 мг/кг живой массы.

Таблица 9 – Результаты сочетанного применения Нитокса-200 и конъюнктивальной иммунизации при купировании экспериментальной бруцеллезной инфекции (опыт на морских свинках)

№ группы	Количество голов в группе	Заражающий штамм, доза заражения, место введения	Нитокс-200, доза введения через 20 суток после заражения; мг/кг ж.м.	Вакцинация (вакцина, доза)	Результат бакт. исследования (выявлено бруцеллоносителей)	
					абс.	%
1	2	3	4	5	6	7
1	5	<i>V. melitensis</i> 16М 100 м.к., подкожно	20	–	2	40,0

1	2	3	4	5	6	7
2	5	<i>B.melitensis</i> 16М 100 м.к., подкожно	20	<i>B.abortus</i> 19, конъюнктивально 100 млн.м.к.	–	–
3	5	<i>B.melitensis</i> 16М 100 м.к., подкожно	–	<i>B.abortus</i> 19 конъюнктивально 100 млн.м.к.	4	80,0
4	5	<i>B.melitensis</i> 16М 100 м.к., подкожно	–	–	5	100,0

Примечание: $P \leq 0,001$

Через 8 суток после введения Нитокс-200 животным 2-ой группы вводили вакцину из штамма *B. abortus* 19 конъюнктивально в дозе 100 млн. м.к. (1/10 от общепринятой дозы при подкожном введении). Животным 3-ей группы через 28 суток после заражения вирулентной культурой бруцелл, вводили вакцину из штамма *B. abortus* 19 конъюнктивально в дозе 100 млн. м.к. (1/10 от общепринятой дозы при подкожном введении). 4-ая группа – контроль (животные, искусственно зараженные вирулентным штаммом *B. melitensis* 16М в дозе 100 м.к.). Через 30 дней после иммунизации проводили эвтаназию морских свинок всех четырех групп. Биоматериал исследовали бактериологически.

В 1 группе от одного животного выделена культура заражающего (исходного) штамма в типичной форме, а от 1 – в измененной (RS) форме. Во 2 группе культур бруцелл не выделено. В 3 группе культура заражающего штамма была выделена от 4 животных. В контрольной группе от всех животных выделили вирулентные культуры бруцелл заражающего (исходного) штамма.

Как показано на рисунке 20, при введении инфицированным животным Нитокс-200 в дозе 20 мг/кг живой массы с последующей иммунизацией с интервалом 8 дней вакциной из штамма *B. abortus* 19, конъюнктивально в дозе 100 млн. м.к. (1/10 от общепринятой подкожной дозы), через месяц инфицированных животных не обнаружено; в группе инфицированных животных, где вводили только Нитокс-200, выявлено 40 % бруцеллоносителей, в группе, где вводили только вакцину из шт. 19 конъюнктивально – 80 %, в группе,

где инфицированным животным никаких препаратов не вводили – 100 %.

Обобщая полученные результаты, следует отметить, что в первом опыте при введении разных доз препарата Нитокс-200 животным, инфицированным бруцеллезом оптимальной дозой, обеспечивающей купирование инфекционного процесса, признана доза 20 мг/кг живой массы. Во втором опыте при введении инфицированным животным Нитокс-200 в дозе 20 мг/кг живой массы с последующей иммунизацией с интервалом 8 дней вакциной из штамма *B. abortus* 19 конъюнктивально в дозе 100 млн. м.к. (1/10 от общепринятой подкожной дозы), через месяц инфицированных животных не обнаружено.

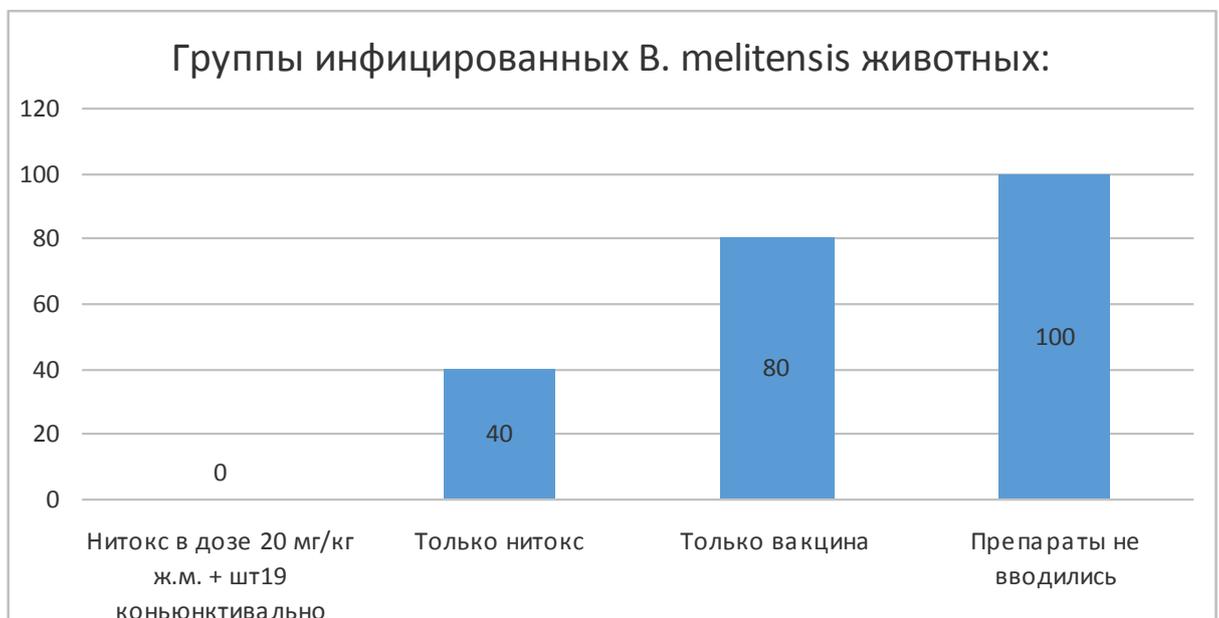


Рисунок 20 – Процент выявления бруцеллоносителей у инфицированных *B. melitensis* морских свинок после введения Нитокса-200 и вакцины из шт. 19 (конъюнктивально)

Изученная схема позволяет сократить сроки купирования инфекционного процесса, обеспечивая возможность проведения поствакцинальных исследований в ранние сроки, ускоряя оздоровление поголовья животных и сокращая выбраковку животных.

2.2.3.4. Оценка эффективности использования О-ПС антигенов в диагностике бруцеллеза животных

Из многих изученных диагностических тестов, комплекс РА+РСК оказался вполне приемлемым при условии использования в сроки, когда нет препятствий в виде поствакцинальных реакций. Однако он и ряд других достаточно распространенных диагностических реакций с сыворотками крови (РБП, РНГА, ИФА) в ранней диагностике, рассчитанной на «обслуживание» провоцирующего эффекта вакцинного препарата (как агглютиногенного, так и слабоагглютиногенного), оказались не способными объективно выявлять бруцеллоносителей, оценивать и прогнозировать степень эпизоотической опасности животных по бруцеллезу и уровень активности бруцеллезной инфекции в целом по стаду (отаре).

Такой способностью даже в ранние сроки после вакцинации животных обладают О-полисахаридные (ПС) диагностикумы, используемые в РИД.

Эффективность РИД с О-ПС А- и М-антигенами для диагностики бруцеллеза мелкого рогатого скота

РИД с О-ПС А- и М-антигенами не проявились у здоровых овец (30 гол.) через 90 дней после их двух-трехкратной прививки вакциной из штамма 19 конъюнктивально в дозе 4 млрд. м.к. К этому сроку РСК угасла у всех животных, а низкие титры РА сохранились у 10 % (3 гол.).

Отдельного рассмотрения заслуживают результаты, полученные при исследовании в РИД с О-ПС А- и М-антигенами сывороток крови здоровых овец через 1 год после их ревакцинации (штаммы *B. abortus* 19 и *B. melitensis* Rev-1 подкожным методом в дозах 40 млрд. м.к. и 2 млрд. м.к. соответственно). Так, из 98 исследованных проб сывороток крови овец, реиммунизированных вакциной из штамма *B. abortus* 19, положительная РИД отмечена в 6 пробах, при этом ее

показания с А- и М-антигенами совпали в 5 случаях. В одной пробе РИД была положительной только с А-антигеном. Из 200 овец, реиммунизированных вакциной из штамма *B. melitensis* Rev-1, положительная РИД отмечена у 12, при этом ее показания с А- и М-антигенами совпали в 4 случаях. У 8 РИД была положительной только с М-антигеном.

Иными словами, среди овец, иммунизированных вакциной из штамма *B. abortus* 19, в РИД с О-ПС А-антигеном реагировало положительно 6,1 % из числа исследованных, а с О-ПС М-антигеном – 5,1 %, т.е. меньше. Среди овец, иммунизированных вакциной из штамма *B. melitensis* Rev-1, в РИД с О-ПС А-антигеном реагировало положительно 2 % из числа исследованных, а с О-ПС М-антигеном – 6 %, т.е. больше (рисунок 21). На лицо определенная диагностическая видоспецифичность О-ПС антигенов, изготовленных из бруцелл разных видов.

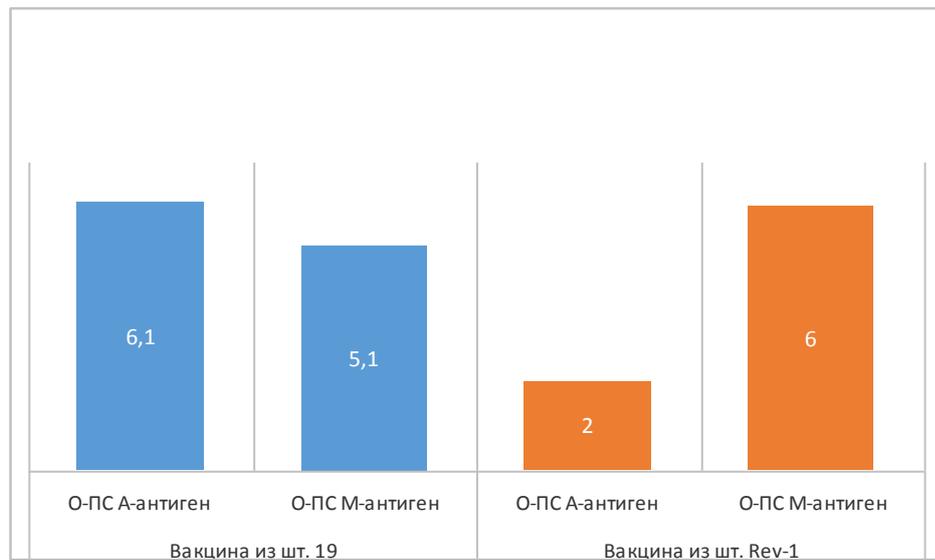


Рисунок 21 – Реагирование сывороток крови овец, иммунизированных вакцинами из шт. *B. abortus* 19 и *B. melitensis* Rev-1, в РИД с О-ПС А- и М-антигенами (в % к числу исследованных)

При естественном бруцеллезе мелкого рогатого скота (отара 212 гол.) РИД с О-ПС антигенами, совпадая с показаниями РБП, РА, РСК в разных сочетаниях, в диагностическом отношении в значительной степени уступила РБП и комплексу РА+РСК. Однако положительная РИД выступает в качестве объективного

индикатора степени эпизоотической опасности отары. Выявлено всего 121 гол. или 57,1 % реагирующих животных, в том числе в РИД с О-ПС А-антигеном реагировало положительно 38 проб (17,9 %), а с О-ПС М-антигеном – 40 проб (18,8 %). При этом только с О-ПС А-антигеном реагирующих не выявлено, а только с О-ПС М-антигеном выявлено 2 (5 %).

В двух отарах овец (273 гол.) при естественном бруцеллезе на фоне отсутствия вакцинации против бруцеллеза выявлено всего 69 или 25,2 % реагирующих животных, в том числе в РИД с О-ПС А-антигеном реагировало положительно 39 гол. (14,3 %), а с О-ПС М-антигеном – 54 (19,7 %).

В пяти неблагополучных хозяйствах с течением инфекции на фоне подкожной прививки овец вакциной из штамма 19 в дозе 40 млрд. м.к. из 1251 гол. в РА и РСК выявили всего 393 или 31,3 % реагирующих животных, в том числе в РИД с О-ПС А-антигеном реагировало положительно 44 пробы (3,5 %), а с О-ПС М-антигеном – 87 (7,0 %).

В трех неблагополучных хозяйствах с течением инфекции на фоне конъюнктивальной прививки овец вакциной из штамма 19 в дозе 4 млрд. м.к. из 732 гол. выявили всего 258 или 35,2 % реагирующих животных, в том числе в РИД с О-ПС А-антигеном реагировало положительно 14 проб (1,9 %), а с О-ПС М-антигеном – 47 проб (6,4 %).

Таким образом в РИД с О-ПС А- и М-антигенами реагировало положительно (в % к числу исследованных) среди овец с естественным течением инфекции без вакцинации 15,8 и 19,3 % соответственно, с течением инфекции на фоне подкожной иммунизации вакциной из шт. 19 – 3,5 и 6,9 % соответственно, а на фоне конъюнктивальной иммунизации этой же вакциной – 1,9 и 6,4 % соответственно (рисунок 22).

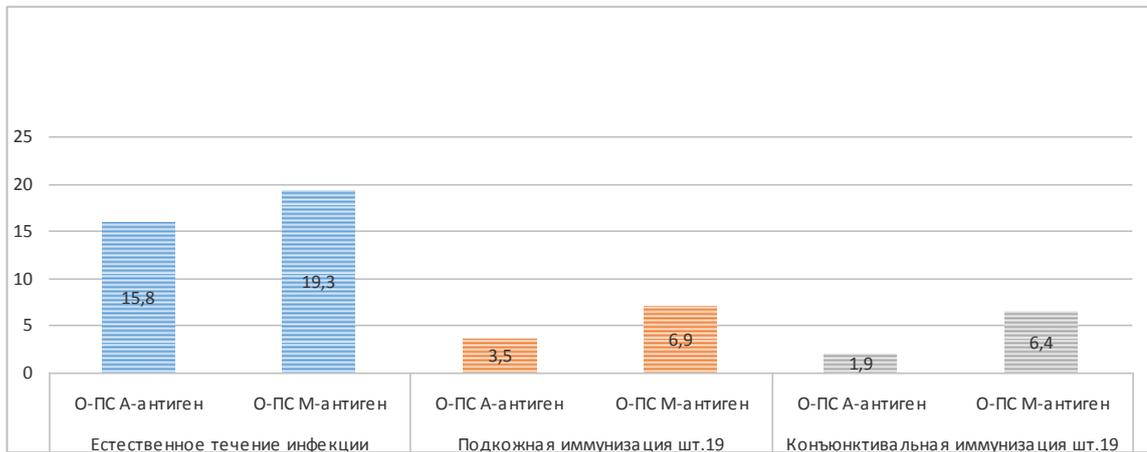


Рисунок 22 – Реагирование сывороток крови овец с течением бруцеллеза без вакцинации и на фоне подкожной и конъюнктивальной иммунизаций вакциной из шт. 19 в РИД с О-ПС А- и М-антигенами (в % к числу исследованных)

Таким образом, РИД с О-ПС антигенами, совпадая с показаниями РА и РСК в разных сочетаниях, в диагностическом отношении в значительной степени уступает этому комплексу. Однако, с ее помощью можно констатировать активное течение инфекции (положительная РИД выступает в качестве индикатора степени эпизоотической опасности отары). В условиях естественного течения бруцеллезной инфекции (без вакцинации) число реагирующих в РИД с О-ПС М-антигеном превышало таковое с О-ПС А-антигеном в 1,2 раза, на фоне подкожной иммунизации вакциной из штамма *B. abortus* 19 в 1,9 раза, на фоне конъюнктивальной иммунизации этой же вакциной – в 3,3 раза.

В условиях применения вакцин из штаммов как *B. abortus* 19, так и *B. melitensis* Rev-1 подкожным методом в дозах 40 млрд. м.к. и 2 млрд. м.к. соответственно отмечено выявление положительной РИД вакцинного происхождения.

Полученные нами результаты комплексных исследований убедительно доказывают необходимость производства О-ПС М-антигена из вакцинного штамма *B. melitensis* по аналогичной методике, используемой при производстве официально утвержденного О-ПС А-антигена из вакцинного штамма *B. abortus*, и его широкого использования в дифференциальных поствакцинальных исследованиях.

Эффективность РИД с О-ПС А-антигеном для дифференциальной диагностики бруцеллеза крупного рогатого скота

При эпизоотологически доказанном отсутствии возможностей миграции на крупный рогатый скот *B. melitensis*, в дифференциально-диагностических исследованиях (РИД) использовали только О-ПС А-антиген (изготовленный из бруцелл вида *abortus*).

У невакцинированных против бруцеллеза коров (513 гол.) четырех неблагополучных хозяйств выявили 171 гол. реагирующих в РА и/или РСК с S-антигеном (33,3 %), из них 57 – с положительной РИД (11,1 % от общего числа исследованных и 33,3 % от общего числа реагирующих). В отдельных хозяйствах число реагирующих в РИД составляло от 1,9 до 25,1 % к числу исследованных и от 10,6 до 43,5 % к числу реагирующих.

Весьма интересными являются результаты использования РИД с О-ПС А-антигеном в трех других неблагополучных хозяйствах.

В хозяйстве №1 при исследовании 241 животного маточного стада КРС с естественным бруцеллезом (рисунок 23) было выявлено 13 гол. с положительными РА и РСК (5,3 % из числа исследованных). РИД с О-ПС А-антигеном была отрицательной. На этом фоне (после удаления из стада реагирующих животных) применили вакцину из штамма *B. abortus* 75/79-AB. При первом исследовании (через 4 мес.) из 220 исследованных животных выявлено 14 с положительными РА и РСК (6,4 % из числа исследованных), в том числе в РИД – 12 проб (5,5 % из числа исследованных и 85,7 % из общего числа реагирующих). При втором исследовании после вакцинации (через 1 мес. после предыдущего) из 207 исследованных проб выявлено уже только 8 проб с положительными РА и РСК (3,9 % из числа исследованных), в том числе в РИД – только одна проба (0,48 % из числа исследованных и 12,5 % из общего числа реагирующих).

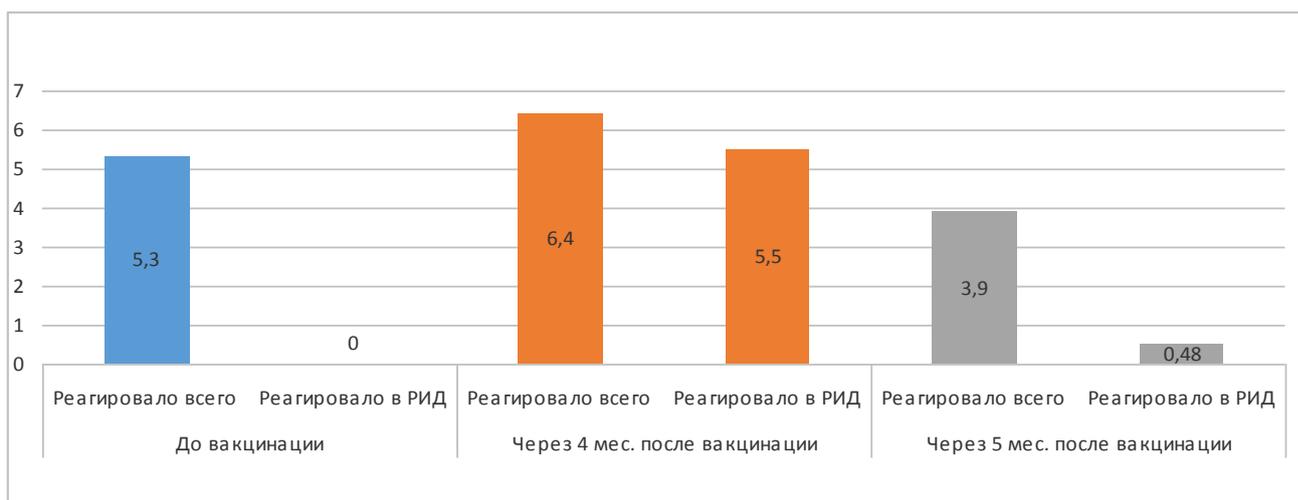


Рисунок 23 – Общее реагирование и реагирование в РИД до и после вакцинации животных против бруцеллеза (в % к числу исследованных). Хозяйство № 1

В хозяйстве №2 (таблица 10) при исследовании 296 проб сывороток крови животных маточного стада с естественным бруцеллезом было выявлено 6 проб с положительными РА и РСК (2,1% из числа исследованных). РИД была положительной в 4 пробах (1,4 % из числа исследованных и 75 % из общего числа реагирующих). После удаления из стада реагирующих животных применили вакцину из штамма *B. abortus 75/79-AB*. При первом исследовании (через 4 мес.) из 301 исследованной пробы выявлено 34 пробы с положительными РА и РСК (11,3 % из числа исследованных), в том числе в РИД – 21 проба (6,9 % из числа исследованных и 61,7 % из общего числа реагирующих).

При втором исследовании после вакцинации (через 1 мес. после предыдущего) из 266 исследованных проб выявлено уже только 3 пробы с положительными РА и РСК (1,1 % из числа исследованных), в том числе в РИД реагирующих не было.

Таблица 10 – Роль РИД с О-ПС антигеном при бруцеллезе крупного рогатого скота в выявлении скрытых бруцеллоносителей, спровоцированных вакциной

Даты проведения комплексных исследований животных на бруцеллез						
14.11.2012 г (до введения вакцины из штамма 75/79-АВ)		20.02.2013 г (через 1,5 месяца после вакцинации)		20.03.2013 г (через 3 месяца после вакцинации)		
Количество исследованных животных (гол.)						
296		301		266		
Реакции	кол-во реагирующих животных	% к числу исследованных животных	кол-во реагирующих животных	% к числу исследованных животных	кол-во реагирующих животных	% к числу исследованных животных
РА+РСК	12	4,0	161	53,4	181	68,0
РА: 200 МЕ и выше	0	0,0	20	6,6	3	1,3
100 МЕ	2	0,7	22	7,3	19	7,1
50 МЕ	1	0,3	87	28,9	94	35,3
РСК-S 1:20 и выше	6	2,0	34	11,3	40	15,0
1:10	0	0,0	13	4,3	17	6,4
1:5	3	1,0	37	12,3	121	45,5
РИД	4	1,4	21	7,0	0	0,0

В хозяйстве №3 при исследовании 236 проб сывороток крови животных маточного стада с естественным бруцеллезом было выявлено 2 пробы с положительными РА и РСК (0,8 % из числа исследованных). РИД с О-ПС А-антигеном была отрицательной (рисунок 24). После удаления из стада реагирующих животных применили вакцину из штамма *V. abortus 75/79-АВ*. При первом исследовании (через 4 мес.) из 234 исследованных проб выявлено 12 проб с положительными РА и РСК (5,1 % из числа исследованных), в том числе в РИД – 3 пробы (1,3 % из числа исследованных и 25 % из общего числа реагирующих).

При втором исследовании после вакцинации (через 1 мес. после предыдущего) из 229 исследованных положительных РА, РСК и РИД не выявлено.

При исследовании 778 проб сывороток крови иммунизированных вакциной из штамма 82 коров и нетелей неблагополучных по бруцеллезу стад через 6 мес. РА и РСК с S-диагностикумом выявлено 40 реагирующих, в т.ч. в титрах 200 МЕ и выше и 1:20 и выше – 10 проб (в т.ч. 5 – в РСК), из них в РИД с О-ПС антигеном – 8 проб. В РСК с R-антигеном реагировало всего 10 проб, из них в разведении 1:20 и выше – 2.

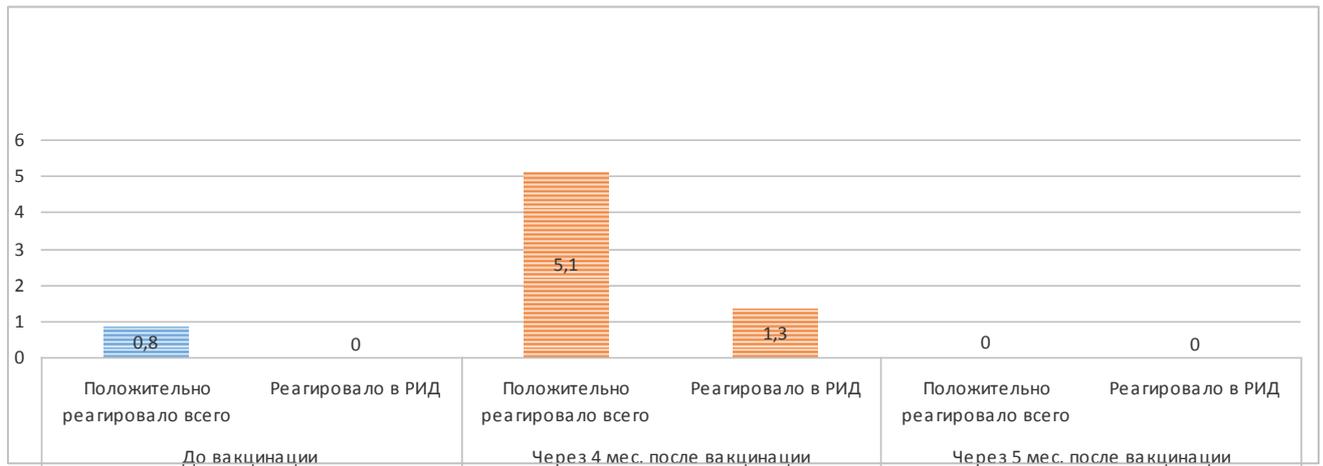


Рисунок 24 – Общее реагирование и реагирование в РИД до и после вакцинации животных против бруцеллеза (в % к числу исследованных). Хозяйство № 3

Не менее интересны результаты применения РИД с О-ПС А-антигеном при диагностике бруцеллеза у коров и нетелей, иммунизированных вакциной из штамма *V. abortus* 75/79-AB на фоне острого течения инфекции (аборт).

Первое исследование после вакцинации было проведено через 10 месяцев. Из 478 исследованных проб было выявлено 85 проб с положительными РА и РСК (17,8 % из числа исследованных), в том числе в РИД – 46 проб (9,6 % из числа исследованных и 51,1 % из общего числа реагирующих).

При втором исследовании после вакцинации (через 2 мес. после предыдущего) из 387 исследованных проб было выявлено уже только 14 проб с положительными РА и РСК (3,6 % из числа исследованных), в том числе в РИД – 12 проб (3,1 % из числа исследованных и 85,7 % из общего числа реагирующих).

По такому фону провели ревакцинацию животных вакциной из штамма *V. abortus* 82.

При первом исследовании после ревакцинации (через 4 мес.) из 351 исследованной пробы выявлена 21 проба с положительными РА и РСК (5,9 % из числа исследованных), в том числе в РИД – 3 пробы (0,9 % из числа исследованных и 14,3 % из общего числа реагирующих).

При втором исследовании после ревакцинации (через 1 мес. после предыдущего) из 297 исследованных проб выявлено 5 положительно реагирующих в РА, РСК проб (1,7 % из числа исследованных). РИД была отрицательной.

Таким образом, РИД с О-ПС А-антигеном при бруцеллезе, вызванном у КРС бруцеллами вида *abortus*, выступает в качестве основного средства определения степени активности течения инфекции на вакцинном фоне, выявляя животных, наиболее опасных в эпизоотическом и эпидемическом отношении. Важно подчеркнуть, что весьма эффективным является применение РИД в ранние сроки после иммунизации (реиммунизации) живыми вакцинами из диссоциированных штаммов бруцелл. Используя провоцирующий эффект вакцин, с помощью РИД с О-ПС А-антигеном удастся убедиться, насколько много в неблагополучном стаде было скрытых бруцеллоносителей, обладающих наибольшей эпизоотической опасностью.

2.2.3.5. Оценка эффективности использования РСК с R-антигеном, изготовленным из *B. ovis*, в дифференциальной поствакцинальной диагностике бруцеллеза крупного рогатого скота

В РФ наиболее технологичными были признаны живые слабоагглютиногенные вакцины из штаммов *B. abortus* 82 и *B. abortus* 75/79-AB (последняя была предложена в ветеринарную практику из-за отсутствия abortогенных свойств). Принципиальной схемой специальных противобруцеллезных мероприятий предусмотрена двукратная прививка телок (в возрасте три-пять мес. и перед случкой, а затем реиммунизации коров с периодичностью не более двух лет в сочетании с поствакцинальной

диагностикой, а также постепенным вытеснением скомпрометированных животных здоровым иммунным скотом и реализацией комплексных мероприятий общего характера.

В дифференциальных поствакцинальных исследованиях иммунизированных животных было найдено оптимальное сочетание используемых реакций: РА и РСК с S-антигеном, РИД с О-ПС антигеном.

В благополучных хозяйствах мы нередко наблюдали выявление положительных серологических реакций на бруцеллез с помощью единого бруцеллезного диагностикума, изготовленного из типичных бруцелл в S-форме, при проведении плановых диагностических исследований ранее вакцинированных животных. При этом на большом фактическом материале было доказано, что положительный результат РИД с О-ПС антигеном подтверждает наличие в стаде особо опасных в эпизоотическом отношении животных. Однако на вопрос, являются ли серопозитивные в РСК животные при отрицательной РИД больными, или реакции носят поствакцинальный характер, ответить однозначно без дополнительных исследований не представлялось возможным. Возможность получить убедительные доказательства в таких случаях появилась при включении в дифференциальные поствакцинальные исследования R-антигена РСК.

Подтверждать поствакцинальную природу реакций у крупного рогатого скота, иммунизированного живыми слабоагглютиногенными вакцинами, нам удавалось во многих случаях высокими титрами РСК с R-антигеном при отсутствии эпизоотологических показаний, отрицательной РИД с О-ПС и низких титрах РА и РСК с единым бруцеллезным S-диагностикумом.

В дифференциальной серологической поствакцинальной диагностике бруцеллеза крупного рогатого скота обычно используют РСК с R-антигенами, изготовленными из R-форм *B. abortus*. Однако следует отметить, что все инагглютиногенные штаммы *B. abortus*, полученные искусственно, по сути являются генетически не стабильными диссоциантами и нередко приобретают в своей антигенной структуре вновь S-компонент, который может влиять на

объективность результатов, получаемых при использовании в дифференциальной диагностике изготовленных из них антигенов.

В нашей стране официально утвержден и выпускается биопредприятием антиген, изготавливаемый из природной стабильной R-формы бруцелл – *B. ovis*, входящий в диагностический набор, предназначенный только для серологической диагностики болезни овец, вызванной бруцеллами вида *ovis* (инфекционный эпидидимит баранов).

С учетом вышеизложенного, нами была поставлена цель сравнительно изучить эффективность применения в дифференциальных исследованиях сывороток крови крупного рогатого скота, привитого живыми слабоагглютиногенными вакцинами, РСК с R-антигенами, изготовленными из *B. ovis* и R-формы *B. abortus*.

R-антиген из R-штамма *B. abortus* изготовили по технологии, аналогичной изготовлению официального овисного диагностикума.

На первом этапе эффективность указанных R-антигенов сравнили при дифференциальных исследованиях 180 сывороток крови животных благополучного стада, привитых вакциной из штамма 82 два месяца назад. В РА с единым бруцеллезным диагностикумом и реакции иммунной диффузии (РИД) реагирующих не было. Результаты РСК с единым бруцеллезным диагностикумом (S-антиген) были положительными (титр 1:5-1:10) в 59 пробах из 180 исследованных (32,8 %).

Результаты РСК с официальным овисным диагностикумом были положительными (титр 1:5-1:80) в 134 пробах из 180 исследованных (74,4 %); с R-антигеном из *B. abortus* – в 127 пробах из 180 (70,6 %).

Из 59 проб с положительным результатом РСК с единым бруцеллезным диагностикумом (S-антиген) РСК с овисным диагностикумом была положительной в 100 % случаев, а РСК с R-антигеном из *B. abortus* – в 58 пробах.

Титры РСК с овисным диагностикумом (R-антиген) превышали титры РСК с единым бруцеллезным диагностикумом (S-антиген) в 30 пробах, а с R-антигеном из R-штамма *B. abortus* – только в 19 пробах.

Из 121 пробы с отрицательной РСК с единым бруцеллезным диагностикумом (S-антиген) РСК с овисным диагностикумом была положительной (титр 1:5-1:80) в 75 пробах, а с R-антигеном *B. abortus* – в 69 пробах.

На втором этапе исследовали 63 пробы сывороток крови животных 3-х благополучных по бруцеллезу ферм, привитых вакциной из штамма *B. abortus* 82 последний раз два года назад.

Результаты по ферме №1 (10 проб сывороток):

- РА с единым бруцеллезным диагностикумом – реагирующих не было;
- РИД – реагирующих не было;
- РСК с единым бруцеллезным диагностикумом (S-антиген) – положительная в 2 пробах;
- РСК с официальным овисным диагностикумом (R-антиген) – положительная в 9 пробах;
- РСК с R-антигеном из *B. abortus* – реагирующих не было.

Результаты по ферме №2 (9 проб сывороток):

- РА с единым бруцеллезным диагностикумом – реагирующих не было;
- РИД – реагирующих не было;
- РСК с единым бруцеллезным диагностикумом (S-антиген) – положительная в 2 пробах;
- РСК с официальным овисным диагностикумом (R-антиген) – положительная в 9 пробах;
- РСК с R-антигеном из *B. abortus* – положительная в 7 пробах.

Результаты по ферме №3 (44 пробы сыворотки):

- РА с единым бруцеллезным диагностикумом – положительно в одной пробе;
- РИД с О-ПС антигеном – отрицательно во всех пробах;
- РСК с единым бруцеллезным диагностикумом (S-антиген) – положительно в 14 пробах;
- РСК с официальным овисным диагностикумом (R-антиген) – положительно в 42 пробах;

– РСК с R-антигеном из R-штамма *B. abortus* – положительно в 6 пробах.

Результаты первых двух этапов изложены в таблице 11.

Таблица 11 – Эффективность овисного диагностикума (R-антигена) в РСК в дифференциальной диагностике бруцеллеза крупного рогатого скота в разные сроки после иммунизации вакциной из штамма *B. abortus* 82

Фермы, благополучные по бруцеллезу	Срок после иммунизации (мес.)	Исследовано проб	Реагировало положительно							
			РА+РСК с единым антигеном		РИД		РСК с R-антигеном из:			
			абс.	%	абс.	%	B. ovis		B. abortus	
						абс.	%	абс.	%	
Ферма №1	2	180	59	32,8	–	–	134	74,4	129	70,6
Ферма №2	24	10	2	20,0	–	–	9	90,0	–	–
Ферма №3	24	9	2	22,2	–	–	9	100	7	77,8
Ферма №4	24	44	14	31,8	–	–	42	95,5	6	13,6

Примечание: $P \leq 0,001$

На третьем этапе провели испытание эффективности РСК с овисным R-диагностикумом в дифференциальных исследованиях сывороток крови животных 3-х ферм с различной эпизоотической обстановкой.

Ферма 1 – благополучная по бруцеллезу; животные привиты вакциной из штамма 82.

Результаты исследования 256 проб сывороток крови:

- РА, РНГА и РИД – отрицательные во всех пробах;
- РСК с единым бруцеллезным диагностикумом (S-антиген) – положительно в 41 пробах
- РСК с официальным овисным диагностикумом (R-антиген) – положительно в 118 пробах.

Из 41 пробы с положительной РСК с единым бруцеллезным диагностикумом (S-антиген) во всех пробах РСК была положительной с овисным диагностикумом.

Из 215 проб с отрицательной РСК с единым бруцеллезным диагностикумом (S-антиген) РСК была положительной в титрах 1:5-1:80 с овисным диагностикумом в 67 пробах.

Бактериологически бруцеллез не подтвержден.

Ферма 2 – неблагополучная по бруцеллезу, животные привиты вакциной из штамма 82.

Результаты исследований 107 проб сывороток крови:

- РА – положительная в 17 пробах;
- РИД – положительная в 13 пробах;
- РСК (S-антиген) – положительная в 21 пробе;
- РСК с официальным овисным диагностикумом (R-антиген) – положительно в 5 пробах.

При этом титры РСК с овисным диагностикумом (R-антиген) были одинаковы с титрами РСК с единым бруцеллезным антигеном (S-антиген) или ниже их.

При бактериологическом исследовании биоматериала от реагирующих животных выделены вирулентные культуры возбудителя.

Ферма 3 – неблагополучная по бруцеллезу, животные против указанной болезни не привиты.

Результаты исследований 76 проб сывороток крови:

- РА с единым бруцеллезным диагностикумом – положительно в 8 пробах, сомнительно – в 20 пробах;
- РИД – положительная в 12 пробах;
- РСК (S-антиген) – положительно в 22 пробах, сомнительно в 53 пробах;
- РСК с официальным овисным диагностикумом (R-антиген) – отрицательно во всех пробах.

Диагноз на бруцеллез подтвержден бактериологически (выделение вирулентного возбудителя).

Таким образом, по результатам применения в дифференциальной диагностике бруцеллеза РСК с различными R-антигенами, оказалось, что в благополучном по бруцеллезу стаде через два мес. после прививки животных слабоагглютиногенной вакциной количество выявляемых животных с положительной РСК с R-антигенами превышало таковое с S-антигеном в 2,2 раза,

в 51,7 % случаев титры РСК с R-антигенами превышали таковые в РСК с S-антигеном. В 61,9 % случаев РСК с R-антигеном была положительной при отрицательной РСК с S-антигеном, что подтверждает поствакцинальный характер реакций. При этом преимущества овисного антигена в дифференциальной оценке поствакцинальных реакций были в 1,5 раза выше, чем у R-антигена из *B. abortus*. В отдаленные сроки (два года) у животных благополучного стада вакциной из диссоциированного штамма *B. abortus* 82 количество выявляемых животных с положительной РСК с R-антигенами превышало таковое с S-антигеном в среднем в 3,3 раза, а преимущества овисного антигена в дифференциальной оценке поствакцинальных реакций были в 4,6 раза выше, чем у R-антигена из *B. abortus*. В этом случае также убедительно доказан поствакцинальный характер реакций.

При использовании РСК с R-антигеном (овисный диагностикум) в комплексной дифференциальной оценке стад КРС с различными иммунологическими и эпизоотическими характеристиками были получены следующие результаты (рисунок 25):

– **на ферме, благополучной по бруцеллезу**, у животных, привитых вакциной из штамма 82 при отрицательных результатах РИД и РА количество выявляемых животных с положительной РСК с R-антигеном превышало таковое с S-антигеном в 2,6 раза (16,6 и 42,1 % к числу исследованных соответственно), полностью совпав с показаниями РСК с S-антигеном. При этом из числа отрицательно реагирующих животных в РСК с S-антигеном 31,2 % реагировало в РСК с R-антигеном (овисный диагностикум). Такой характер реакций убедительно доказывает их вакцинную природу;

– **на ферме, неблагополучной по бруцеллезу**, у животных, привитых вакциной из штамма 82 при наличии положительной РИД у 12,1 % исследованных животных количество выявляемых животных с положительной РСК с R-антигеном было ниже такового с S-антигеном более чем в 4 раза (19,6 и 4,6 %). Титры РСК с R-антигеном были одинаковыми или ниже, чем таковые в РСК с S-антигеном. Такой характер реакций убедительно доказывает их инфекционную природу, что дополнительно было подтверждено бактериологически;

– на ферме, неблагополучной по бруцеллезу, где иммунизацию животных вакциной из штамма *B. abortus* 82 не проводили, при наличии положительной РИД у 15,8 % исследованных животных в РСК с R (овисным) диагностикумом реагирующих не было (так как животные не подвергались иммунизации вакцинами из диссоциированных штаммов бруцелл). Положительная РСК с S-антигеном была зарегистрирована у 28,9 % исследованных животных. Это убедительно доказывает их инфекционную природу, что дополнительно было подтверждено бактериологически.

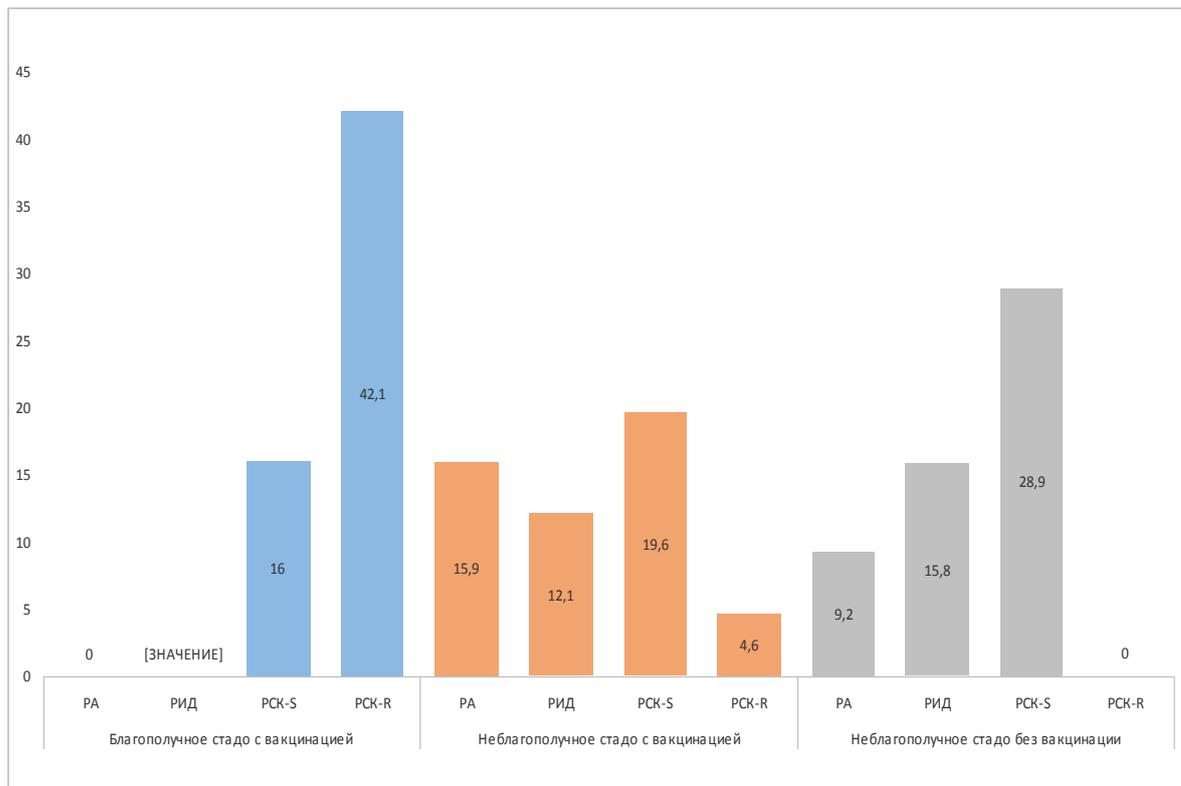


Рисунок 25 –Реагирование на бруцеллез поголовья крупного рогатого скота с разным эпизоотическим и иммунным статусом (в % к числу исследованных)

Выявленные, по результатам опытов, значительные преимущества овисного диагностикума в дифференциальной оценке поствакцинальных реакций по сравнению с R-антигеном из *B. abortus* реально объяснимы имеющимися в научной литературе фактами о нестабильности искусственно полученных R-штаммов *B. abortus*, и, как следствие, о приобретении ими S-антигенного компонента, который, вытесняя R-компонент, способствует при изготовлении из

таких штаммов R-диагностикума, потере активности последнего. Природные R-штаммы бруцелл генетически закреплены, а значит, стабильны.

Таким образом, взятый для изготовления официального овисного диагностикума природный штамм *B. ovis* идеально подходит и для изготовления диагностикума, приемлемого для дифференциальной диагностики бруцеллеза крупного рогатого скота, привитого вакцинами из диссоциированных штаммов бруцелл.

2.2.3.6. Изучение эффективности различных вариантов ИФА в экспресс-диагностике бруцеллеза животных

В нашей стране официально признанным обязательным диагностическим комплексом при бруцеллезе животных являются реакция агглютинации (РА) и реакция связывания комплемента (РСК) с единым бруцеллезным диагностикумом, изготовленным из типичных бруцелл в S-форме. Однако он не обладает свойствами способа экспресс-диагностики, так как на его постановку уходит более суток. Кроме того, он имеет такие существенные недостатки, как большая трудоемкость, субъективная оценка результатов диагностики, невозможность стандартизации проведения диагностики. Известны и другие диагностические тесты. Например, к способам экспресс-диагностики бруцеллеза животных относят РБП и РНГА.

На постановку РБП (роз бенгал проба – пластинчатая цветная реакция агглютинации) уходит несколько минут, однако с ее помощью нет гарантированной возможности количественно оценить наличие антител.

Показания РНГА (реакции непрямой гемагглютинации), регламентированной в РФ в качестве способа экспресс-диагностики бруцеллеза животных, практически полностью поглощают показания РА и РСК. Однако, у данного способа большая трудоемкость, достаточно большое время (6 часов) для первичной постановки реакции, субъективная оценка результатов, отсутствие стандартизации и автоматизации проведения диагностики.

Уже давно известен наиболее чувствительный и обеспечивающий автоматизированные постановку и учет реакций способ диагностики бруцеллеза животных на основе различных вариантов ИФА.

Однако, в связи с использованием у животных противобруцеллезных вакцин, из за высокой диагностической чувствительности он до сих пор не нашел в нашей стране широкого применения.

Кроме того, в большинстве предлагаемых на его основе диагностических тест-систем существует ряд других сложностей, связанных, в частности, с изготовлением антигена, сложностью и длительностью постановки реакции, отсутствием универсального ферментного конъюгата для исследования сывороток крови разных видов животных и т.п.

Целью наших исследований явилась разработка диагностической скрининговой тест-системы ИФА, пригодной для практического использования в качестве массового экспресс-метода диагностики бруцеллеза у животных, в том числе иммунизированных против указанной болезни.

В процессе реализации цели исследований было испытано много различных вариантов диагностической тест-системы ИФА, отличающихся использованием различных антигенов, конъюгатов, техникой постановки реакции и т.п.

В итоге была разработана тест-система ИФА на основе антигена только из *B. abortus*, которая оказалась более эффективной, чем на основе антигенов только из *B. melitensis*, а также из *B. abortus* + *B. melitensis*. В результате выбор в дальнейших исследованиях был остановлен именно на ней.

Ниже изложена методика проведения анализа, оценки и интерпретации полученных результатов при использовании разработанной системы тест-системы ИФА.

Проведение анализа. Для исследования сывороток крови в ИФА отбирали необходимое количество стрипов, нумеровали их в соответствии с описью исследуемых проб водостойким маркером из-за возможного выпадения из рамки-держателя во время тестирования. Оставшиеся стрипы хранили в полиэтиленовом пакете с влагопоглотителем, при температуре 4⁰ С. Для внесения контрольных

сывороток использовали любые лунки планшета. Для этого в лунки вносили по 100 мкл K+, в две другие лунки планшета – по 100 мкл K-. В остальные лунки планшета вносили по 80 мкл РБР-С.

В остальные лунки планшета с РБР-С вносили по 20 мкл исследуемых сывороток. Раствор перемешали пять раз пипетированием, не касаясь дна лунки. Цвет РБР-С должен измениться: происходит незначительное просветление раствора.

После внесения проб сывороток планшет помещали в пластиковый пакет или накрывали крышкой и инкубировали 30 мин при 37⁰ С. После инкубации лунки освобождали от содержимого резким встряхиванием и пять раз промывали рабочим раствором ФСБ-Т, каждый раз полностью заполняя лунки буфером, и, выждав определенное время (от 30 сек до 1 минуты), вытряхивали содержимое. Во время обработки большого количества планшетов можно оставлять их с промывочным раствором до 20 минут. Затем планшет подсушивали и во все лунки микропанели вносили по 100 мкл раствора конъюгата; планшет помещали в пластиковый пакет или накрывали крышкой и выдерживали 30 мин при 37 °С.

После повторной инкубации проводили процедуру промывания лунок рабочим раствором ФСБ-Т по описанной выше методике. После промывки во все используемые лунки микропанели вносили по 100 мкл раствора субстрата и выдерживали 15 минут при 37 °С в темноте. По истечению указанного времени реакцию останавливали внесением в каждую лунку по 50 мкл стоп-раствора.

Оценка результатов реакции. Результаты ИФА регистрировали на спектрофотометре. Оптическую плотность (ОП) измеряли при длине волны 450 нм. Нулевой уровень («бланк») задавали по воздуху. Результаты учитывали только в том случае, если в лунках с K- среднее значение ОП (ОПК-) не более 0,2, в лунках с K+ среднее значение ОП (ОПК+) не менее 1,0.

Рассчитывали ОПкрит. по формуле:

$$\text{ОПКрит.} = \text{ОПК-(ср.)} + 0,2,$$

где ОПК-(ср.) – среднее значение ОП (ОПК-) по двум лункам.

Если значение оптической плотности исследуемого образца не превышает 0,3 – то результат анализа считали отрицательным (IgG к бруцелле не определены).

Если значение оптической плотности исследуемого образца попадает в интервал от 0,3 до 0,9 – то результат анализа сомнительный. Рекомендуется повторить исследование такой сыворотки, а в случае повторного сомнительного результата – провести исследование сыворотки, полученной из крови, взятой от данного животного повторно через 15-30 дней.

Если значение оптической плотности исследуемого образца превышает 0,9 – то результат анализа положительный.

У здоровых животных, как не вакцинированных, так и вакцинированных против указанной болезни (КРС – вакциной из штамма 82, через 6 мес.; МРС – вакциной из штамма 19 конъюнктивально в дозе 4 млрд. м.к., через 4 мес.) все исследованные пробы (по 50-100 проб в каждой категории) показали отрицательный результат как по комплексу серологических реакций (РНГА, РА + РСК), так и в ИФА.

У животных неблагополучных стад, как подвергавшихся, так и не подвергавшихся иммунизации против бруцеллеза (по 5-14 проб в каждой категории), получены результаты, свидетельствующие о полном соответствии показаний ИФА показаниям РНГА и диагностическому комплексу РА + РСК и большей диагностической чувствительности ИФА по сравнению с указанными реакциями в отношении выявления антител к бруцеллам.

В новой тест-системе ИФА в сравнении с тест-системой производства ФГУП «Курская биофабрика – фирма Биок» были получены результаты, свидетельствующие о том, что предложенная нами тест-система по специфичности показаний и чувствительности при исследовании 20 проб сывороток крови крупного рогатого скота не уступила тест-системе производства ФГУП «Курская биофабрика – фирма Биок», имея при этом преимущества в чувствительности, простоте постановки, учета и интерпретации реакций, а также во времени, затрачиваемом на исследования и учет реакций.

Изучение эффективности новой тест-системы ИФА в сравнении с общепринятыми диагностическими методами (РА, РСК и РИД с О-ПС антигеном) было продолжено.

Специфичность показаний новой тест-системы ИФА была подтверждена на здоровом невакцинированном поголовье КРС – 370 гол (реагирующих в ИФА, РА и РСК с S-антигеном, РСК с R-антигеном, РИД с О-ПС антигеном не было).

При исследовании 158 проб сывороток крови неиммунизированного КРС из хозяйства с острым течением инфекции получены следующие результаты.

Отрицательные результаты РА, РСК и РНГА с S-диагностикумами, а также в РИД с О-ПС антигеном получены в 53 пробах. Из указанных 53 проб отрицательный результат ИФА получен в 34 пробах, сомнительный – в 7, положительный – в 12 пробах.

В остальных 105 пробах получены положительные или сомнительные результаты ИФА, из них:

- в 39 пробах при отрицательных РА, РСК и РИД, но положительных или сомнительных результатах РНГА;
- в 31 пробе при положительных или сомнительных результатах РА, РСК и РНГА, но отрицательной РИД;
- в 35 пробах при положительных результатах РА и/или РСК, РНГА и РИД.

Иными словами, положительные и сомнительные показания новой тест-системы ИФА полностью поглотили положительные и сомнительные показания всех участвовавших в сравнительном изучении эффективности тестов (в 105 пробах), при этом дополнительно с помощью только новой тест-системы ИФА выявлено еще 19 реагирующих животных.

Из таблицы 12 очевидно, что из 969 проб сывороток крови неиммунизированного КРС 6 неблагополучных стад выявили с помощью комплекса РА+РСК 324 пробы с положительными и сомнительными реакциями, полностью совпавшими с положительными и сомнительными результатами исследований в ИФА с новой диагностической тест-системой.

Кроме того, дополнительно только с помощью ИФА было выявлено еще 194 пробы с положительными и сомнительными реакциями.

Таблица 12 – Диагностическая эффективность новой тест-системы ИФА при бруцеллезе у неиммунизированного крупного рогатого скота неблагополучных стад

№№ стад	Кол-во иссл. ж-х	РЕАГИРОВАЛО	
		В РА, РСК и ИФА	Дополнительно только в ИФА
1	170	74	55
2	159	53	21
3	155	38	48
4	139	41	32
5	201	114	37
6	145	4	1
ИТОГО	969	324	194

Анализ результатов исследований 201 пробы сывороток крови неиммунизированного против бруцеллеза КРС неблагополучного стада показал, что в 56 пробах высокие титры РА и РСК с S-диагностикумом (РА 200 МЕ и выше, РСК 1:20 и выше) совпали с положительными результатами ИФА, при этом положительная РИД выявлена в 33 пробах. Показатели оптической плотности в этих пробах были в большинстве случаев достаточно высокими, однако четкой корреляции между ее высокими показателями и фактом реагирования в РИД не обнаружено. Поэтому реагирование в РИД выступает в качестве интегрального показателя групповой эпизоотической оценки того или иного стада по бруцеллезу. Иными словами, указанная реакция дает возможность при дополнительных исследованиях реагирующих в ИФА, РА и РСК животных объективно оценивать степень их эпизоотической опасности.

ИФА, по материалам исследований сывороток крови животных с естественным острым течением бруцеллезной инфекции, без вакцинации, в сравнении с РА и РСК, оказался, таким образом, наиболее эффективным, позволяющим за одно исследование выявлять в среднем более 50 % инфицированных животных. Однако, совершенно очевидно, что в целях

оздоровления стад использование только одной диагностики, пусть и самой чувствительной, без специфической защиты не перспективно. Поэтому необходимы рациональные схемы вакцинации в сочетании с поствакцинальной диагностикой, способной на фоне формирования иммунитета, купирующего развитие острой инфекции, обеспечивать не только выявление в стадах скрытых бруцеллоносителей, за счет использования провоцирующих свойств вакцин, но и дифференциацию поствакцинальных реакций от постинфекционных. В этой ситуации целесообразно использовать ИФА в качестве экспресс-метода массовой скрининговой поствакцинальной диагностики с дополнительным привлечением комплекса специальных методов для расшифровки природы реакций, выявленных с его помощью.

Даже в условиях иммунизации животных новая тест-система ИФА обеспечивает возможность прибегать к классическим методам исследований – РА и РСК, а также дополнительным дифференциальным методам (РИД с О-ПС антигеном и РСК с R-антигеном) только при переисследовании реагирующих в ИФА животных.

Постановку РСК с S- и R-антигенами осуществляли до предельных разведений – в случае превалирования титров S-антител над титрами R-антител, постинфекционного характера реакций, а в случае превалирования титров R-антител над титрами S-антител – их поствакцинального характера.

Интересными в этом отношении оказались результаты комплексного исследования на бруцеллез сывороток крови иммунизированного скота двух неблагополучных стад (таблица 13).

Таблица 13 – Диагностическая эффективность новой тест-системы ИФА при бруцеллезе у иммунизированного крупного рогатого скота неблагополучных стад

№№ п/п	Инв. № животного	Результаты серологических исследований				
		РА	РСК-S	РСК-R	РИД	ИФА
1	2	3	4	5	6	7
1	01230	отр.	1:5	отр.	отр.	пол. (1,824)
2	01151	отр.	1:10	отр.	отр.	пол. (1,351)
3	1000	отр.	1:10	отр.	отр.	пол. (1,162)

1	2	3	4	5	6	7
4	01218	отр.	1:40	отр.	отр.	пол. (1,965)
5	01250	отр.	1:40	отр.	отр.	пол. (1,718)
6	228	50 МЕ	отр.	отр.	отр.	пол. (1,899)
7	01235	50 МЕ	1:10	отр.	отр.	сомн. (0,640)
8	9643	50 МЕ	1:20	1:20	отр.	пол. (1,758)
9	1264	50 МЕ	1:20	1:20	пол.	пол. (1,442)
10	11257	50 МЕ	1:40	отр.	отр.	пол. (1,829)
11	9450	100 МЕ	1:20	1:20	пол.	пол. (1,029)
12	1122	100 МЕ	1:20	1:20	отр.	пол. (1,754)
13	4825	100 МЕ	1:40	отр.	отр.	пол. (1,264)
14	9498	200 МЕ	1:20	1:20	пол.	пол. (1,595)
15	1178	200 МЕ	1:20	1:20	отр.	пол. (1,477)
16	0268	200 МЕ	1:20	1:20	пол.	пол. (0,903)
17	9116	200 МЕ	1:20	1:20	отр.	сомн. (0,698)
18	5958	200 МЕ	1:20	1:20	пол.	пол. (1,689)
19	743	200 МЕ	1:20	1:20	отр.	пол. (1,635)
20	1015	200 МЕ	1:40	отр.	пол.	пол. (1,929)

У здорового, иммунизированного живыми слабоагглютиногенными вакцинами крупного рогатого скота, с дополнительным использованием при переисследовании сывороток крови животных, реагирующих в ИФА и РА+РСК, РИД и РСК с R-антигеном, оказались иными (таблица 14).

При исследовании 500 сывороток здорового КРС через 10 месяцев после последней его вакцинации (шт. 82) в РА реагирующих не было, в РСК-S выявлено 6 реагирующих проб (2 – 1:5, 1 – 1:10, 3 – 1:20). В ИФА реагировало 13 проб (4 – положительных, 9 – сомнительных), в том числе в 6 случаях результаты (в трех – положительные, в 3 – сомнительные) совпали с РСК-S. 7 проб реагировало только в ИФА (2 – положительно, 5 – сомнительно).

Таблица 14 – Диагностическая эффективность новой тест-системы ИФА при бруцеллезе у иммунизированного крупного рогатого скота благополучных стад

№№ п/п	Инв. № ж- го	Результаты серологических исследований				
		РА	РСК-S	РСК-R	РИД	ИФА
1	2	3	4	5	6	7
Стадо № 1 (исследовано 187 проб)						
1	0015	отр.	1:10	1:20	отр.	сомн. (0,061)
2	974	отр.	1:5	1:20	отр.	сомн. (0,783)
3	137	отр.	1:20	1:40	отр.	пол. (1,408)
4	544	отр.	отр.	отр.	отр.	сомн. (0,560)

1	2	3	4	5	6	7
5	354	отр.	отр.	отр.	отр.	сомн. (0,357)
6	328	отр.	отр.	отр.	отр.	сомн. (0,357)
7	31	отр.	отр.	отр.	отр.	сомн. (0,454)
Стадо № 2 (исследовано 313 проб)						
8	1451	отр.	1:5	1:20	отр.	сомн. (0,855)
9	9623	отр.	1:20	1:40	отр.	пол. (1,162)
10	271	отр.	1:20	1:40	отр.	пол. (1,068)
11	210	отр.	отр.	отр.	отр.	сомн. (0,441)
12	9623	отр.	отр.	отр.	отр.	пол. (1,749)
13	038	отр.	отр.	отр.	отр.	пол. (1,030)

При дополнительном исследовании 6 проб с положительной РСК-S в РСК-R в 100 % получены положительные результаты в титрах, превышающих таковые в РСК-S, а в РИД с О-ПС антигеном – во всех случаях отрицательные результаты. Дополнительно 7 проб реагировало только в ИФА при отрицательных РА и РСК-S, в РСК-R и РИД с О-ПС – антигеном.

При исследовании 502 проб сывороток крови здорового КРС, привитого вакцинами из штаммов 75/79-АВ и 82, с положительными и сомнительными реакциями с помощью комплекса РА+РСК было выявлено 58 проб – 11,5 % из числа исследованных, с помощью ИФА 68 проб – 13,5 % (положительные и сомнительные показания РА+РСК полностью совпали с положительными и сомнительными показаниями ИФА; дополнительно к РА+РСК выявлено 10 проб – 2 % из числа исследованных). В РИД реагирующих не было, что свидетельствует об отсутствии в обследуемых стадах эпизоотически опасных в отношении бруцеллеза животных. Поствакцинальную природу реакций подтвердили положительные результаты РСК с R-антигеном, превосходящие по титрам РСК с S-антигеном.

Таким образом, у вакцинированных против бруцеллеза животных принципиально важным является дополнительное исследование проб с положительными и сомнительными показаниями ИФА в РА и РСК с официальным единым бруцеллезным S-диагностикумом, в РИД с официальным О-ПС антигеном,

а также в РСК с R-антигеном, в целях более объективной групповой оценки эпизоотического статуса стад по бруцеллезу.

Если при выявлении реагирующих животных с положительными и даже сомнительными показаниями ИФА (с подтверждением или неподтверждением реагирования в РА и РСК) в неблагополучных по бруцеллезу стадах среди неиммунизированного скота целесообразна сдача их на убой в полном объеме, то при исследовании вакцинированного скота с помощью дополнительных дифференциальных методов (РИД, РСК с R-антигеном) в случае подтверждения бруцеллезной инфекции сдача всех реагирующих животных целесообразна, а в случае ее исключения и признания поствакцинального характера реакций – нецелесообразна.

У МРС неблагополучной отары, не подвергавшегося вакцинации, в РНГА из 5 исследуемых проб реагировали все 5 проб в титрах 100-800 МЕ (все совпали с показаниями комплекса РА+РСК с титрами 25-400 МЕ и 1:5-1:10 соответственно). В ИФА с новой тест-системой из 5 исследуемых сывороток крови показали положительный результат все 5 проб с показателями оптической плотности 2,488-2,719. Это свидетельствует о полном соответствии показаний ИФА показаниям РНГА и диагностическому комплексу РА+РСК и большей диагностической чувствительности ИФА по сравнению с указанными реакциями в отношении выявления антител к бруцеллам (в данном случае «полевым»).

У МРС неблагополучной отары, привитого вакциной из штамма 19 конъюнктивально в дозе 4 млрд. м.к. (в регламентированные сроки после нее), в РНГА из 6 исследуемых проб реагировали все 6 проб в титрах 100-800 МЕ (все совпали с показаниями комплекса РА+РСК с титрами 50-400 МЕ и 1:5-1:80 соответственно). В ИФА с новой тест-системой из 6 исследуемых сывороток крови показали положительный результат все 6 проб с показателями оптической плотности 1,151-2,427. Это свидетельствует о полном соответствии показаний ИФА показаниям РНГА и диагностическому комплексу РА+РСК и большей диагностической чувствительности ИФА по сравнению с указанными реакциями в отношении выявления антител к бруцеллам.

Таким образом, результаты комплексного изучения эффективности ИФА с новой скрининговой тест-системой при бруцеллезе КРС и МРС, в т.ч. в условиях его иммунизации живыми противобруцеллезными вакцинами, показали перспективы его широкого внедрения в ветеринарную практику.

Разработанная тест-система ИФА обеспечивает возможность прибегать к классическим методам исследований – РА и РСК, а также дополнительным дифференциальным методам (РИД с О-ПС антигеном и РСК с R-антигеном) лишь при переисследовании реагирующих в ИФА.

Отдельного рассмотрения заслуживают результаты исследования на бруцеллез в ИФА с новой тест-системой в сравнении с комплексом РА+РСК сывороток крови северных оленей.

У 164 северных оленей благополучной зоны в РА, РСК, РБП и ИФА реагирующих не было.

У северных оленей (81 гол.) неблагополучной зоны при отрицательных результатах РА и РСК у 100 % животных в ИФА с новой тест-системой получены сомнительные результаты в четырех пробах, что может свидетельствовать о факте возможного скрытого носительства бруцелл у животных с сомнительными показаниями ИФА.

ИФА с О-ПС антигеном. В предыдущих разделах собственных исследований мы отмечали, что полная ликвидация всего скомпрометированного поголовья (включая приплод) в сочетании с полным комплексом ветеринарно-санитарных мероприятий более эффективна в противоэпизоотическом отношении, однако по экономическим причинам в нашей стране она в широких масштабах является неприемлемой.

Даже самая комплексная диагностика, направленная на максимальное выявление бруцеллоносителей, при систематическом использовании на фоне реализуемого комплекса общих ветеринарно-санитарных мероприятий, в качестве специальной меры не обеспечивает гарантий надежного оздоровления стад (отар) от бруцеллеза, без рецидивов.

Такие гарантии в значительной мере повышались применением вакцин по рациональным схемам в сочетании с массовой серологической диагностикой.

Полнота возможностей такой диагностики во многом зависела от технологичности схем вакцинации.

При этом важно отметить, что РА+РСК в условиях применения как агглютиногенных, так и слабоагглютиногенных вакцин оказались не способными своевременно и объективно выявлять бруцеллоносителей, оценивать и прогнозировать степень эпизоотической опасности животных по бруцеллезу и уровень активности бруцеллезной инфекции в целом по стаду.

Такой дифференциально-диагностической способностью, как показали исследования, в том числе и наши, обладают О-ПС антигены (О-цепь полисахаридов), используемые в РИД.

Однако РИД с О-ПС антигеном не обладает свойствами метода экспресс-диагностики, так как на ее постановку и учет уходит 2 суток. Кроме того, она имеет такие существенные недостатки, как большая трудоемкость, субъективная оценка результатов диагностики, невозможность стандартизации проведения диагностики.

Общеизвестно, что иммуноферментный анализ (ИФА) является наиболее современным и эффективным диагностическим тестом.

Однако разработанная нами новая скрининговая тест-система ИФА с использованием специфического антигена из типичных бруцелл вида *abortus*, сорбированного на поверхность лунки полистиролового планшета, дифференцирующими возможностями не обладает.

Иными словами, указанная тест-система, являясь экспресс-методом, не обеспечивает дифференциацию реакций вакцинного и инфекционного происхождения и оценку степени эпизоотической опасности реагирующих животных без дополнительного привлечения других диагностических методов.

В этой связи весьма актуальной и в научном, и в практическом отношении задачей явилось изучение эффективности метода дифференциальной экспресс-диагностики бруцеллеза крупного рогатого скота, основанного на параллельном

исследовании сывороток крови в двух вариантах иммуноферментного анализа (классическом – с использованием специфического антигена из типичных бруцелл вида abortus, сорбированного на поверхность лунки полистиролового планшета, а также конкурентном анализе, заключающемся в добавлении на фоне специфического антигена из типичных бруцелл вида abortus в качестве конкурирующего агента О-ПС антигена, обладающего дифференциально-диагностическими возможностями).

Постановку ИФА осуществляли по общепринятой методике с тем отличием, что для исследования каждой сыворотки крови использовали две лунки полистирольного планшета с сорбированным на их поверхность антигеном, изготовленным из суточной культуры типичных бруцелл штамма B. abortus 19. В обе лунки вносили одинаковое количество сыворотки крови от обследуемого животного и инкубировали при 37⁰ С в течение 30 – 60 мин при регулярном встряхивании.

При этом во вторую из них для конкурентного анализа дополнительно вносили О-ПС антиген, входящий в официально утвержденный и выпускаемый НПЦ «ВетБиоТест» в РИД, в количестве, эквимолярном антигену, сорбированному на поверхность лунок планшета.

В качестве универсального конъюгата применяли препарат, изготовленный на основе рекомбинантного белка G.

Результаты реакции регистрировали на спектрофотометре. Оптическую плотность (ОП) измеряли при длине волны 450 нм.

Интерпретацию результатов осуществляли по формуле

$$K.эо = \frac{D1}{D2} * 100, \text{ где}$$

D1 – Оптическая плотность, измеряемая в лунке, содержащей ОП-С антиген (конкурентный иммуноферментный анализ);

D2 – Оптическая плотность, измеряемая в лунке, не содержащей ОП-С антиген (классический иммуноферментный анализ);

$K_{эо}$ – коэффициент, отражающий процентное отношение показателя D1 к показателю D2. Этот коэффициент явился критерием степени эпизоотической опасности по бруцеллезу животного, от которого получен исследованный образец сыворотки крови, и сопоставим с результатами, получаемыми в РИД.

При этом установили следующую градацию:

$0 \leq K \leq 60$ – коэффициент, определяющий отсутствие у животного высокой эпизоотической опасности (РИД – отрицательная);

$61 \leq K \leq 100$ и выше – коэффициент, определяющий наличие у животного высокой эпизоотической опасности по бруцеллезу (РИД с О-ПС антигеном – положительная).

В начале проверили специфичность показаний ИФА с обычным антигеном, изготовленным из бруцелл вида *abortus*, с параллельным использованием О-ПС антигена в конкурентном анализе, на сыворотках от здоровых животных без вакцинации и с вакцинацией против бруцеллеза.

При исследовании на бруцеллез сывороток крови от крупного рогатого скота благополучных стад, не подвергавшегося вакцинации, по комплексу серологических реакций (РА+РСК, РИД) все пробы (5 проб) показали отрицательный результат.

В ИФА при отрицательном и положительном контролях и отрицательных результатах классического и конкурентного вариантов в 100 % $K_{эо}$ составил $0 \leq K \leq 60$.

У здоровых животных, подвергавшихся вакцинации, по комплексу серологических реакций (РА+РСК, РИД) все пробы (13 проб) показали отрицательный результат. В ИФА при отрицательном и положительном контролях, отрицательных результатах классического и конкурентного вариантов в 12 пробах, сомнительном и отрицательном результатах классического и конкурентного вариантов соответственно в одной пробе $K_{эо}$ во всех 13 пробах составил $0 \leq K \leq 60$.

На втором этапе изучали дифференциально-диагностическую эффективность ИФА с антигеном, изготовленным из бруцелл вида *abortus*, и дополнительным использованием О-ПС антигена в конкурентном анализе, у здорового

вакцинированного КРС с положительными и сомнительными результатами РА+РСК и отрицательной РИД (таблица 15).

Все исследованные 55 проб по комплексу серологических реакций (РА+РСК) показали положительный или сомнительный результат (в разном сочетании). Реагирующих в РИД не было. В ИФА при отрицательном и положительном контролях с учетом результатов классического и конкурентного вариантов во всех пробах К.эо составил $0 \leq K \leq 60$.

Таблица 15 – Диагностическая эффективность ИФА с использованием О-ПС антигена при бруцеллезе у иммунизированного крупного рогатого скота благополучных стад

№ п/п	Результаты серологических исследований					Интерпретация результатов ИФА (степень эпизоотической опасности)
	РА	РСК	РИД	ИФА (оптич. плотность) Обычный Конкурентный		
1	2	3	4	5	6	7
Хозяйство № 1						
1	50 МЕ	1:20	Отр.	0,634	0,120	К.эо $0 \leq K \leq 60$
2	Отр.	1:10	Отр.	0,193	0,066	К.эо $0 \leq K \leq 60$
3	50 МЕ	Отр.	Отр.	0,323	0,167	К.эо $0 \leq K \leq 60$
4	Отр.	1:20	Отр.	-	-	К.эо $0 \leq K \leq 60$
5	Отр.	Отр.	Отр.	0,420	0,099	К.эо $0 \leq K \leq 60$
6	Отр.	1:10	Отр.	0,459	0,199	К.эо $0 \leq K \leq 60$
7	50 МЕ	1:5	Отр.	-	-	К.эо $0 \leq K \leq 60$
8	50 МЕ	1:10	Отр.	1,670	0,771	К.эо $0 \leq K \leq 60$
9	200 МЕ	1:10	Отр.	0,274	0,064	К.эо $0 \leq K \leq 60$
10	50 МЕ	1:20	Отр.	-	-	К.эо $0 \leq K \leq 60$
Хозяйство № 2						
11	Отр.	1:5	Отр.	1,125	0,402	К.эо $0 \leq K \leq 60$
12	Отр.	1:5	Отр.	0,767	0,329	К.эо $0 \leq K \leq 60$
13	100 МЕ	1:5	Отр.	0,884	0,295	К.эо $0 \leq K \leq 60$
14	Отр.	1:5	Отр.	0,454	0,190	К.эо $0 \leq K \leq 60$
15	50 МЕ	1:5	Отр.	1,475	0,416	К.эо $0 \leq K \leq 60$
16	50 МЕ	1:5	Отр.	1,678	0,461	К.эо $0 \leq K \leq 60$
17	50 МЕ	1:5	Отр.	0,883	0,361	К.эо $0 \leq K \leq 60$
18	50 МЕ	1:10	Отр.	1,217	0,661	К.эо $0 \leq K \leq 60$
19	50 МЕ	1:10	Отр.	1,253	0,401	К.эо $0 \leq K \leq 60$
20	200 МЕ	1:5	Отр.	0,887	0,325	К.эо $0 \leq K \leq 60$
21	Отр.	1:5	Отр.	0,863	0,489	К.эо $0 \leq K \leq 60$

1	2	3	4	5	6	7
Хозяйство № 3						
22	100 МЕ	1:5	Отр.	1,246	0,479	К.эо $0 \leq K \leq 60$
23	Отр.	1:10	Отр.	1,698	0,734	К.эо $0 \leq K \leq 60$
24	Отр.	1:10	Отр.	1,628	0,496	К.эо $0 \leq K \leq 60$
25	Отр.	1:10	Отр.	1,148	0,369	К.эо $0 \leq K \leq 60$
26	100 МЕ	1:10	Отр.	1,793	0,917	К.эо $0 \leq K \leq 60$
27	100 МЕ	1:10	Отр.	1,199	0,591	К.эо $0 \leq K \leq 60$
28	100 МЕ	Отр.	Отр.	0,461	0,168	К.эо $0 \leq K \leq 60$
29	100 МЕ	1:10	Отр.	1,666	0,547	К.эо $0 \leq K \leq 60$
30	100 МЕ	Отр.	Отр.	1,657	0,488	К.эо $0 \leq K \leq 60$
31	100 МЕ	1:10	Отр.	1,026	0,420	К.эо $0 \leq K \leq 60$
32	100 МЕ	Отр.	Отр.	0,452	0,203	К.эо $0 \leq K \leq 60$
33	Отр.	1:5	Отр.	0,969	0,383	К.эо $0 \leq K \leq 60$
34	50 МЕ	1:5	Отр.	1,375	0,217	К.эо $0 \leq K \leq 60$
35	50 МЕ	Отр.	Отр.	1,440	0,492	К.эо $0 \leq K \leq 60$
36	50 МЕ	1:5	Отр.	0,625	0,316	К.эо $0 \leq K \leq 60$
37	50 МЕ	1:10	Отр.	1,396	0,454	К.эо $0 \leq K \leq 60$
Хозяйство № 4						
38	Отр.	1:5	Отр.	0,621	0,255	К.эо $0 \leq K \leq 60$
39	50 МЕ	1:5	Отр.	0,763	0,278	К.эо $0 \leq K \leq 60$
40	Отр.	1:20	Отр.	0,865	0,177	К.эо $0 \leq K \leq 60$
41	50 МЕ	1:20	Отр.	1,770	0,474	К.эо $0 \leq K \leq 60$
42	50 МЕ	Отр.	Отр.	0,481	0,327	К.эо $0 \leq K \leq 60$
43	50 МЕ	1:10	Отр.	1,007	0,285	К.эо $0 \leq K \leq 60$
44	50 МЕ	Отр.	Отр.	1,156	0,241	К.эо $0 \leq K \leq 60$
45	Отр.	1:10	Отр.	0,534	0,156	К.эо $0 \leq K \leq 60$
46	Отр.	1:10	Отр.	0,568	0,168	К.эо $0 \leq K \leq 60$
Хозяйство № 5						
47	Отр.	1:10	Отр.	0,259	0,091	К.эо $0 \leq K \leq 60$
48	50 МЕ	1:10	Отр.	0,883	0,210	К.эо $0 \leq K \leq 60$
49	50 МЕ	1:20	Отр.	0,373	0,033	К.эо $0 \leq K \leq 60$
50	50 МЕ	1:5	Отр.	0,658	0,356	К.эо $0 \leq K \leq 60$
51	50 МЕ	1:10	Отр.	0,258	0,099	К.эо $0 \leq K \leq 60$
52	Отр.	1:10	Отр.	0,587	0,150	К.эо $0 \leq K \leq 60$
53	50 МЕ	1:5	Отр.	0,589	0,098	К.эо $0 \leq K \leq 60$
54	Отр.	1:10	Отр.	0,399	0,158	К.эо $0 \leq K \leq 60$
55	50 МЕ	1:20	Отр.	0,279	0,073	К.эо $0 \leq K \leq 60$

На третьем этапе изучали дифференциально-диагностическую эффективность ИФА с антигеном, изготовленным из бруцелл вида abortus, и дополнительным использованием О-ПС антигена в конкурентном анализе у животных неблагополучных стад без вакцинации и с вакцинацией против бруцеллеза (таблица 16).

На основе полученных результатов установлена закономерность: в сыворотках крови крупного рогатого скота с различными эпизоотическими и иммунологическими характеристиками (независимо от результатов РА и РСК), исследованных на бруцеллез в ИФА с параллельным использованием классического и конкурентного (с добавлением О-ПС антигена) вариантов К.эо составлял при отрицательной РИД $0 \leq K \leq 60$, а при положительной РИД – $61 \leq K \leq 100$ и выше.

Установленная закономерность позволяет предлагать вместо официально принятой в дифференциальной диагностике РИД, на постановку и учет которой уходит до 48 часов, применять иммуноферментный анализ в двух параллельных вариантах постановки – классическом с использованием специфического антигена из типичных бруцелл вида *abortus* и конкурентном – с дополнительным использованием О-ПС антигена при конъюгате на основе рекомбинантного белка G (учет реакций через 2 часа). Это позволит значительно сэкономить время, затрачиваемое на проведение исследований, учет и интерпретацию полученных результатов, упростить и повысить объективность и воспроизводимость этих процессов за счет их инструментального обеспечения.

Таблица 16 – Диагностическая эффективность ИФА с использованием О-ПС антигена при бруцеллезе у крупного рогатого скота неблагополучных стад (без вакцинации и с вакцинацией)

№ п/п	Результаты серологических исследований				Интерпретация результатов ИФА (степень эпизоотической опасности)	
	РА	РСК	РИД	ИФА (оптич. плотность) Обычный Конкурентный		
1	2	3	4	5		6
Животные неблагополучных стад без вакцинации						
1	Отр.	Отр.	Отр.	0,272	0,097	К.эо $0 \leq K \leq 60$
2	Отр.	1:20	Отр.	–	–	К.эо $0 \leq K \leq 60$
3	50 МЕ	1:20	Отр.	0,328	0,101	К.эо $0 \leq K \leq 60$
4	Отр.	Отр.	Отр.	–	–	К.эо $0 \leq K \leq 60$
5	Отр.	1:20	Отр.	–	–	К.эо $0 \leq K \leq 60$
6	200 МЕ	1:20	Пол.	0,308	0,232	К.эо $61 \leq K \leq 100$ и выше
7	200 МЕ	1:20	Пол.	0,276	0,221	К.эо $61 \leq K \leq 100$ и выше
8	200 МЕ	1:20	Пол.	0,227	0,211	К.эо $61 \leq K \leq 100$ и выше

1	2	3	4	5	6	7
9	200 МЕ	1:20	Пол.	0,556	0,348	К.эо $61 \leq K \leq 100$ и выше
10	200 МЕ	1:20	Пол.	0,462	0,673	К.эо $61 \leq K \leq 100$ и выше
Животные неблагополучных стад с вакцинации						
1	50 МЕ	1:20	Отр.	0,330	0,103	К.эо $0 \leq K \leq 60$
2	100 МЕ	1:20	Отр.	0,218	0,106	К.эо $0 \leq K \leq 60$
3	Отр.	1:20	Отр.	0,255	0,111	К.эо $0 \leq K \leq 60$
4	50 МЕ	1:20	Отр.	0,319	0,109	К.эо $0 \leq K \leq 60$
5	Отр.	1:20	Отр.	0,355	0,108	К.эо $0 \leq K \leq 60$
6	200 МЕ	1:20	Пол.	0,262	0,236	К.эо $61 \leq K \leq 100$ и выше
7	200 МЕ	1:20	Пол.	0,520	0,473	К.эо $61 \leq K \leq 100$ и выше
8	200 МЕ	1:20	Пол.	0,230	0,213	К.эо $61 \leq K \leq 100$ и выше
9	200 МЕ	1:20	Пол.	0,365	0,825	К.эо $61 \leq K \leq 100$ и выше
10	200 МЕ	1:20	Пол.	0,462	0,474	К.эо $61 \leq K \leq 100$ и выше

2.2.3.7. Изучение новых схем получения бруцеллезных антивидовых моноспецифических сывороток anti-abortus и anti-melitensis

Для дифференциации возбудителей бруцеллеза в бактериологической диагностике в качестве одного из основных методов используют антивидовые моноспецифические бруцеллезные сыворотки.

Принцип их получения заключается в достижении высокого уровня антител за счет гипериммунизации животных-продуцентов (кроликов) культурами бруцелл, с последующей адсорбцией полученных сывороток взвесью бруцелл гетерологичного вида, для удаления общих для них антител.

Суть ранее известных способов получения антивидовых моноспецифических бруцеллезных сывороток anti-melitensis и anti-abortus заключается в однократном получении гипериммунной сыворотки при обескровливании животных-продуцентов через 5-7 дней после внутривенной иммунизации кроликов живыми культурами бруцелл соответствующего вида.

Их принципиальными недостатками являются:

- трудоемкость процессов;
- эпидемическая опасность, связанная с использованием живых культур бруцелл видов melitensis и abortus;

– небольшой объем выходов конечных продуктов за счет возможности только однократного получения сывороток с необходимым титром антител от животных-продуцентов при их обескровливании, а значит, их высокая себестоимость.

Использование живых культур бруцелл для гипериммунизации животных-продуцентов всегда являлось вынужденным, так как получить гипериммунную сыворотку с высоким титром антител, используя убитые культуры, было невозможно из-за отсутствия эффективных безвредных адъювантов, способных компенсировать и даже усилить гуморальный ответ.

Французский препарат MONTANIDE™ ISA 61 VG (производитель – фирма «SEPPIC») является готовым к использованию масляным адъювантом для ветеринарных вакцин, способным создавать эмульсии «вода в масле», содержит особое обогащенное светлое минеральное масло и высокоочищенное ПАВ, полученное из маннитола и очищенной олеиновой кислоты растительного происхождения.

Препарат MONTANIDE™ ISA 61 VG не содержит компонентов животного происхождения. Рецептуры вакцин с MONTANIDE™ ISA 61 VG вызывают сильный и продолжительный иммунный ответ.

По сравнению с традиционными масляными эмульсиями суспензия с MONTANIDE™ ISA 61 VG является устойчивой, стабильной и легко вводимой. Для приготовления 100 г вакцины необходимо: MONTANIDE™ ISA 61 VG – 60 г и водной антигенной среды – 40 г.

Стабильные эмульсии получают путем смешивания водной среды в MONTANIDE™ ISA 61 VG, при комнатной температуре или ниже, при интенсивном перемешивании.

С учетом вышеизложенного, целью настоящей работы явилась разработка новых схем получения малотрудоемких, эпидемически безопасных, экономически выгодных и высокоэффективных бруцеллезных антивидовых моноспецифических сывороток anti-abortionus и anti-melitensis на основе использования убитых культур бруцелл в сочетании с современным адъювантом MONTANIDE™ ISA 61 VG.

Используемые штаммы, отвечающие паспортным данным, высевали на одну из питательных сред: эритрит агар, МППГА.

После 2-3-суточного роста бактериальную массу смывали с поверхности питательной среды физиологическим раствором с добавлением 0,5% фенола.

Полученную взвесь бруцелл доводили до необходимой концентрации по оптическому стандарту мутности, сливали через двойной марлевый фильтр в колбы и инактивировали прогреванием на водяной бане при температуре 80° С в течение 60 минут, периодически помешивая.

Проверяли на чистоту и стерильность путем засева на питательные среды.

Получение эффективной бруцеллезной моноспецифической сыворотки anti-melitensis. Взвесь убитой культуры штамма *B. melitensis* 16М с добавлением адьюванта MONTANIDE™ ISA 61 VG (в соотношении 40 и 60 %, соответственно, т.е. для приготовления 10 мл суспензии брали 4 мл взвеси и 6 мл адьюванта) при комнатной температуре интенсивно перемешивали на магнитной мешалке.

В качестве животных-продуцентов использовали кроликов.

Из здоровых кроликов, предварительно проверенных на бруцеллез серологическими методами, сформировали две группы (по 3 кролика в каждой).

Животным 1-ой группы ввели однократно внутривенно живую культуру *B. melitensis* 16М в дозе 200 млн. м.к. в объеме 1 мл.

Животным 2-ой группы ввели однократно подкожно инактивированную культуру *B. melitensis* 16М в дозе 200 млн. м.к. в смеси с адьювантом.

Кровь от животных опытных групп в целях получения сывороток брали на 7, 14, 21, 28, 45, 60 и 90 дни после введения антигенов.

Исследование полученных сывороток проводили в РА с антигенами, приготовленными из *B. abortus* 544 и *B. melitensis* 565, согласно общепринятой методике до и после адсорбции.

Перед адсорбцией сыворотки инактивировали при 60-65° С в течение 1-1,5 ч и обезвреживали мертиолатом натрия до конечной концентрации 1:10000.

В дальнейшем проводили адсорбцию полученных сывороток anti-melitensis – бактериальной массой штамма *B. abortus* 544, anti-abortus – бактериальной массой *B. melitensis* 565 количестве $3,5-3,7 \times 10^9$ КОЕ на 10 мл сыворотки.

В последующем смесь инкубировали при 37°C в течение 2 ч и восстанавливали центрифугированием (30 мин, 5000 об /мин).

РА с сыворотками крови, полученными от кроликов на 7 день после их сенсibilизации, в первой группе была положительной с антигенами инактивированных культур бруцелл видов *abortus* и *melitensis* до адсорбции – в разведении 1:40-1:80 и 1:80-1:160, а после адсорбции – 1:20 и 1:160-320 соответственно; во второй группе до адсорбции 1:80 и 1:40, а после адсорбции – 0-1:10 и 1:40-1:80, соответственно.

РА с сыворотками крови, полученными от кроликов на 14 день после их сенсibilизации, в первой группе до адсорбции была положительной с антигенами инактивированных культур бруцелл видов *abortus* и *melitensis* в разведении 1:160-1:2560 и 1:80-1:1280, а после адсорбции – 1:10-1:20 и 1:160-320, соответственно; во второй группе до адсорбции 1:160-1:1280 и 1:160-1:1280, а после адсорбции – 0-1:20 и 1:80-1:160, соответственно.

РА с сыворотками крови, полученными от кроликов на 21 день после их сенсibilизации, в первой группе до адсорбции была положительной с антигенами инактивированных культур бруцелл видов *abortus* и *melitensis* в разведении 1:160-1:320 и 1:80-1:640, а после адсорбции – 1:10 и 1:320 соответственно; во второй группе до адсорбции 1:40-1:160 и 1:80-1:640, а после адсорбции – 1:10 и 1:320-1:640, соответственно.

РА с сыворотками крови, полученными от кроликов на 28 день после их сенсibilизации, в первой группе до адсорбции была положительной с антигенами инактивированных культур бруцелл видов *abortus* и *melitensis* в разведении 1:160 и 1:1280-1:2560, а после адсорбции – 1:10 и 1:160-1:320 соответственно; во второй группе до адсорбции 1:640-1:1280 и 1:640-1:2560, а после адсорбции – 1:10-1:20 и 1:320, соответственно.

РА с сыворотками крови, полученными от кроликов на 35 день после их сенсibilизации, в первой группе до адсорбции была положительной с антигенами инактивированных культур бруцелл видов *abortus* и *melitensis* в разведении 1:160-1:320 и 1:1280-1:2560, а после адсорбции – 1:40-1:160 и 1:80-1:320 соответственно; во второй группе до адсорбции 1:640-1:1280 и 1:640-1:2560, а после адсорбции – 1:10 и 1:320, соответственно.

РА с сыворотками крови, полученными от кроликов на 60 день после их сенсibilизации, в первой группе до адсорбции была положительной с антигенами инактивированных культур бруцелл видов *abortus* и *melitensis* в разведении 1:160-1:320 и 1:1280-1:2560, а после адсорбции – 1:40-1:160 и 1:80-1:320, соответственно; во второй группе до адсорбции 1:640-1:1280 и 1:640-1:2560, а после адсорбции – 1:10 и 1:320 соответственно.

РА с сыворотками крови, полученными от кроликов на 90 день после их сенсibilизации, в первой группе до адсорбции была положительной с антигенами инактивированных культур бруцелл видов *abortus* и *melitensis* в разведении 1:160-1:320 и 1:160-1:640, а после адсорбции – 1:40 и 1:80-1:160 соответственно; во второй группе до адсорбции 1:320 и 1:640, а после адсорбции – 1:20 и 1:80-1:160 соответственно.

Таким образом, из приведенных данных, очевидно, что оптимальной является схема получения бруцеллезной моноспецифической сыворотки *anti-melitensis*, испытанная на животных второй группы, в которой использовалась однократная подкожная гипериммунизация в область подгрудка суспензией инактивированной культуры бруцелл вида *melitensis* в смеси с масляным адъювантом MONTANIDE™ ISA 61 VG.

Через 6 месяцев после хранения бруцеллезных моноспецифических сывороток *anti-melitensis*, полученных от кроликов, гипериммунизированных по разным схемам, проверили их диагностическую активность (таблица 17).

Установлено, что сыворотка, полученная от кроликов по схеме, предусматривающей однократную подкожную гипериммунизацию инактивированной культурой бруцелл вида *melitensis* в смеси с масляным

адьювантом MONTANIDE™ ISA 61 VG, сохранила свою активность (РА в разведении не ниже 1:160) в течение 6 месяцев после ее получения из крови, взятой через 28 дней после гипериммунизации, в отличие от сыворотки, полученной при однократной внутривенной гипериммунизации живой культурой бруцелл вида *melitensis* без адьюванта, потерявшей активность в более ранние сроки.

Таблица 17 – Диагностическая активность моноспецифических сывороток anti-*melitensis* на 28 день после сенсibilизации (адсорбция сывороток *B. abortus* 3,5 млрд. м.к. на 10 мл сыворотки) и через 6 месяцев после хранения

Группа (штамм, доза и метод сенсibilизации)	№ кролика	Сроки взятия крови			
		через 28 дней после первого введения антигена		через 6 мес. хранения полученной сыворотки	
		РА с <i>B.abortus</i> 544	РА с <i>B.melitensis</i> 16М	РА с <i>B.abortus</i> 544	РА с <i>B.melitensis</i> 16М
Первая группа <i>B.melitensis</i> 16М (живая) 200 млн.м.к. в/венно	М-1	10#	320++	10#	160++
	М-2	10+++	160++	10+++	160++
	М-3	10#	320++	10#	320++
Вторая группа <i>B.melitensis</i> 16М (инакт.) 200 млн.м.к. + адьюв. п/кожно	М-4	20#	320+++	10#	320+++
	М-5	10+++	320++	10+++	160++
	М-6	10+++	320++	10+++	320++

Получение эффективной бруцеллезной моноспецифической сыворотки anti-*abortus*. В опыте изучали сравнительную эффективность четырех схем получения бруцеллезной моноспецифической сыворотки anti-*abortus*, для чего из здоровых кроликов, предварительно проверенных на бруцеллез серологическими методами, сформировали 4 группы (по 3 кролика в каждой).

Животным 1-ой группы ввели однократно внутривенно в объеме 1 мл смесь (1:1) из инактивированной взвеси вакцинного штамма *B. abortus* 19 концентрацией $3,0-5,0 \times 10^9$ м.к./мл и взвеси живой культуры того же штамма 19 концентрацией $3,0-5,0 \times 10^9$ м.к. /мл.

Животным 2-ой группы ввели однократно подкожно в область подгрудка инактивированную культуру *B. abortus* 19 в дозе 200 млн. м.к. в смеси с

адьювантом MONTANIDE™ ISA 61 VG в общем объеме 1 мл.

Животным 3-ей группы ввели однократно подкожно в область инактивированную культуру *B. abortus* 19 в дозе 100 млн. м.к. в смеси с адьювантом MONTANIDE™ ISA 61 VG в общем объеме 1 мл.

Животным 4-ой группы ввели однократно подкожно в область подгрудка инактивированную культуру *B. abortus* 19 в дозе 300 млн. м.к. в смеси с адьювантом MONTANIDE™ ISA 61 VG в общем объеме 1 мл.

РА с сыворотками крови, полученными от кроликов на 7 день после их сенсibilизации, в первой группе была положительной до адсорбции с антигенами убитых культур бруцелл видов *abortus* и *melitensis* в разведении 1:80-1:160 и 1:80, а после адсорбции – 1:320 и 0-1:10, соответственно; во второй группе – до адсорбции 1:40-1:80 и 0-1:80, а после адсорбции – 1:20-1:40 и 0-1:10, соответственно; в третьей группе – до адсорбции 1:40-1:80 и 0-1:80, соответственно, а после адсорбции 1:20-1:40 и 0-1:10, соответственно; в четвертой группе – до адсорбции 1:40-1:80 и 0-1:80, соответственно, а после адсорбции – 1:20-1:40 и 0-1:10, соответственно.

РА сыворотками крови, полученными от кроликов на 14 день после их сенсibilизации, в первой группе была положительной до адсорбции с антигенами убитых культур бруцелл видов *abortus* и *melitensis* в разведении 1:640-1:2560 и 1:1280-1:2560, а после адсорбции – 1:160 и 1:10-20, соответственно; во второй группе – до адсорбции 1:320-1:1280 и 1:80-1:1280, а после адсорбции – 1:160-1:320 и 0-1:10, соответственно; в третьей группе – до адсорбции 1:80-1:320 и 1:80-1:320, соответственно, а после адсорбции – 1:20-1:160 и 0-1:10, соответственно; в четвертой группе – до адсорбции 1:320-1:1280 и 1:160-1:1280, соответственно, а после адсорбции 1:160-1:320 и 0-1:10, соответственно.

РА с сыворотками крови, полученными от кроликов на 21 день после их сенсibilизации, в первой группе была положительной до адсорбции с антигенами убитых культур бруцелл видов *abortus* и *melitensis* в разведении 1:160-1:320 и 1:640-1:1280, а после адсорбции – 1:160-1:1280 и 1:20, соответственно; во второй группе – до адсорбции 1:160-1:1280 и 1:80-1:1280, а после адсорбции –

1:160 и 0-1:20, соответственно; в третьей группе до адсорбции – 1:80-1:160 и 0-1:80, соответственно, а после адсорбции – 1:80 и 0-1:10, соответственно; в четвертой группе – до адсорбции 1:320-1:1280 и 1:160-1:1280, соответственно, а после адсорбции 1:160-1:320 и 0-1:20, соответственно.

РА с сыворотками крови, полученными от кроликов на 28 день после их сенсibilизации, в первой группе была положительной до адсорбции с антигенами убитых культур бруцелл видов *abortus* и *melitensis* в разведении 1:160 и 1:640-1:1280, а после адсорбции – 1:160-1:320 и 1:20-1:40, соответственно; во второй группе – до адсорбции 1:320-1:640 и 1:640-1:1280, а после адсорбции – 1:320 и 0-1:10, соответственно; в третьей группе – до адсорбции 1:80-1:320 и 0-1:80, соответственно, а после адсорбции – 1:20-1:160 и 0-1:10, соответственно; в четвертой группе – до адсорбции 1:640 и 1:640-1:1280, соответственно, а после адсорбции – 1:320 и 0-1:10, соответственно.

РА с сыворотками крови, полученными от кроликов на 35 день после их сенсibilизации, в первой группе была положительной до адсорбции с антигенами убитых культур бруцелл видов *abortus* и *melitensis* в разведении 1:160 и 1:640-1:1280, а после адсорбции – 1:80-1:160 и 1:10 соответственно; во второй группе – до адсорбции 1:320-1:640 и 1:320-1:1280, а после адсорбции – 1:320 и 0-1:10, соответственно; в третьей группе – до адсорбции 1:160 и 1:80-1:320, соответственно, а после адсорбции – 1:80 и 0-1:10, соответственно; в четвертой группе – до адсорбции 1:640 и 1:320-1:1280, соответственно, а после адсорбции – 1:320 и 0-1:10, соответственно.

РА с сыворотками крови, полученными от кроликов на 60 день после их сенсibilизации, в первой группе была положительной до адсорбции с антигенами убитых культур бруцелл видов *abortus* и *melitensis* в разведении 1:160 и 1:640-1:1280, а после адсорбции – 1:80-1:160 и 1:10, соответственно; во второй группе до адсорбции – 1:320-1:640 и 1:320-1:1280, а после адсорбции – 1:320 и 0-1:10, соответственно; в третьей группе до адсорбции – 1:80-1:160 и 0-1:160, соответственно, а после адсорбции 1:80 и 0-1:10, соответственно; в четвертой

группе до адсорбции – 1:640 и 1:160-1:1280, соответственно, а после адсорбции – 1:320 и 0-1:10, соответственно.

РА с сыворотками крови, полученными от кроликов на 90 день после их сенсибилизации, в первой группе была положительной до адсорбции с антигенами убитых культур бруцелл видов *abortus* и *melitensis* в разведении 1:160-1:320 и 1:80, а после адсорбции – 1:80 и 1:40 соответственно; во второй группе до адсорбции – 1:160 и 1:320, а после адсорбции – 1:320 и 0-1:10, соответственно, в третьей группе до адсорбции – 1:80 и 0-1:80, соответственно, а после адсорбции – 1:20-40 и 0-1:10, соответственно; в четвертой группе до адсорбции – 1:160-1:320 и 1:320-1:640, соответственно, а после адсорбции – 1:320 и 0-1:10, соответственно.

Таким образом, из приведенных данных, очевидно, что оптимальной является схема получения бруцеллезной моноспецифической сыворотки anti-*abortus*, испытанная на животных второй группы, в которой использовалась однократная подкожная гипериммунизация в область подгрудка суспензия инактивированной культуры бруцелл вида anti-*abortus* в смеси с масляным адъювантом MONTANIDE™ ISA 61 VG.

Диагностическую активность бруцеллезных моноспецифических сывороток anti-*abortus*, полученных от кроликов, гипериммунизированных по разным схемам, проверили через 6 месяцев их хранения (таблица 18).

Установлено, что сыворотка, полученная от кроликов по схеме, предусматривающей однократную подкожную, в область подгрудка, гипериммунизацию обеззараженной культурой бруцелл вида *abortus* в смеси с масляным адъювантом MONTANIDE™ ISA 61 VG, сохранила свою активность (РА в разведении не ниже 1:160) в течение не менее 6 месяцев после ее получения из крови, взятой через 28 дней после гипериммунизации, в отличие от сыворотки, полученной при однократной внутривенной гипериммунизации смеси 1:1 обеззараженной и живой культурой бруцелл вида *abortus* без адъюванта, потерявшей активность в более ранние сроки.

Таблица 18 – Диагностическая активность моноспецифических сывороток anti-abortus на 28 день после сенсibilизации (адсорбция сывороток *B. melitensis* 3,5 млрд. м.к. на 10 мл сыворотки) и через 6 месяцев после хранения

Группа (штамм, доза и метод сенсibilизации)	№ кролика	Сроки взятия крови			
		Через 28 дней после первого введения антигена		через 6 мес. хранения полученной сыворотки	
		РА с abortus 544	РА с <i>B.melitensis</i> 565	РА с abortus 544	РА с <i>B.melitensis</i> 565
1-я группа <i>B.abortus</i> 19 (живая+инакт. 1:1) 4 млрд.м.к., в/венно	А-1	160МЕ+++	20МЕ++++	160МЕ+++	20МЕ++++
	А-2	320МЕ+++	40МЕ++++	160МЕ++	40МЕ++
	А-3	320МЕ+++	40МЕ++++	160МЕ++	40МЕ++
2-я группа <i>B.abortus</i> 19 (инакт.+адьюв) 200 млн.м.к., п/кожно	А-4	320МЕ+++	10МЕ++++	320МЕ++++	10МЕ++++
	А-5	320МЕ++	—	320МЕ+++	—
	А-6	320МЕ++	—	320МЕ+++	—

Обобщая результаты исследований в данном разделе, следует отметить, что получение бруцеллезных антивидовых моноспецифических диагностической сывороток anti-melitensis и anti-abortus на основе однократной подкожной гипериммунизации кроликов инактивированными культурами бруцелл соответствующих видов в смеси с новым масляным адьювантом MONTANIDE™ ISA 61 VG позволяет снизить трудоемкость процесса, максимально повысить его противоэпидемическую безопасность, а также максимально повысить объемы сывороток с более высокой активностью за счет многократного (не менее 4-х раз) взятия крови.

2.2.4. Разработка концепции оптимизации специфической профилактики и поствакцинальной диагностики бруцеллеза животных в современных условиях по пути повышения уровня их технологичности и ее практическая апробация.

Материалы собственных исследований по данному разделу содержатся в 10 публикациях, указанных в списке литературы [29, 30, 33, 35, 107, 155, 156, 158, 159, 160], из них 1 – в журнале, рекомендованном ВАК.

С учетом результатов, изложенных в разделе 2.2.2., были усовершенствованы существующие схемы вакцинации и поствакцинальных исследований КРС.

С учетом результатов, изложенных в разделе 2.2.3., признаны технологичными новые диагностические и профилактические методы.

– конъюнктивальный метод иммунизации животных вакциной из штамма 19 в уменьшенной дозе;

– рациональная схема купирования бруцеллезной инфекции у животных;

– рациональная схема использования О-ПС антигенов в диагностике бруцеллеза животных;

– РСК с R-антигеном из *B. ovis* для дифференциальных поствакцинальных исследований на бруцеллез КРС;

– ИФА в качестве экспресс-диагностического метода.

Кроме того, технологичными были признаны изготовленные по разработанной с нашим участием антивидовые сыворотки anti-abortionus и anti-melitensis, предназначенные для использования в бактериологической диагностике бруцеллеза в целях дифференциации видов бруцелл.

На этой основе была разработана концепция оптимизации специфической профилактики и поствакцинальной диагностики бруцеллеза животных в современных эпизоотических и социально-экономических условиях (рисунок 26).

Ведущая роль в ней принадлежит конъюнктивальной иммунизации животных вакциной из штамма 19, так как она позволяет беспрепятственно осуществлять раннюю поствакцинальную диагностику с помощью комплекса РА+РСК и РИД с О-ПС антигеном.

Ниже приведены результаты ее практической апробации:

При бруцеллезе мелкого рогатого скота. Ранее противобруцеллезные вакцины у МРС предусматривались в крупном общественном овцеводстве и козоводстве в целях создания в отарах непрерывного (перманентного) иммунитета использование живых агглютиногенных вакцин. Однако многократные подкожные вакцинации препаратами с S-антигенной структурой в

связи с реструктуризацией этих отраслей животноводства и возникновением частных мелких хозяйств, где все половозрастные группы содержатся вместе, потеряли свой практический смысл из-за исчезнувшей возможности осуществлять планомерную дифференцированную ротацию скомпрометированных животных, что привело к их длительной передержке. Это обстоятельство усугубилось отсутствием экономической мотивации к их сдаче на убой. Выявление скрытого бруцеллоносительства оказалось невозможным из-за S-антигенности вакцинного происхождения, которую нельзя надежно дифференцировать от постинфекционной.

Это и послужило основанием предложить многократную конъюнктивальную иммунизацию МРС вакциной из штамма 19 в дозе 4 млрд. м.к., открывающую возможность проводить поствакцинальные исследования в РА, РСК и РИД с О-ПС антигенами (из *B. abortus* – А-антиген и *B. melitensis* – М-антиген) уже через 3-4 месяца. В экспериментах была доказана высокая иммуногенность вакцины при многократном использовании животным по вышеуказанной схеме.

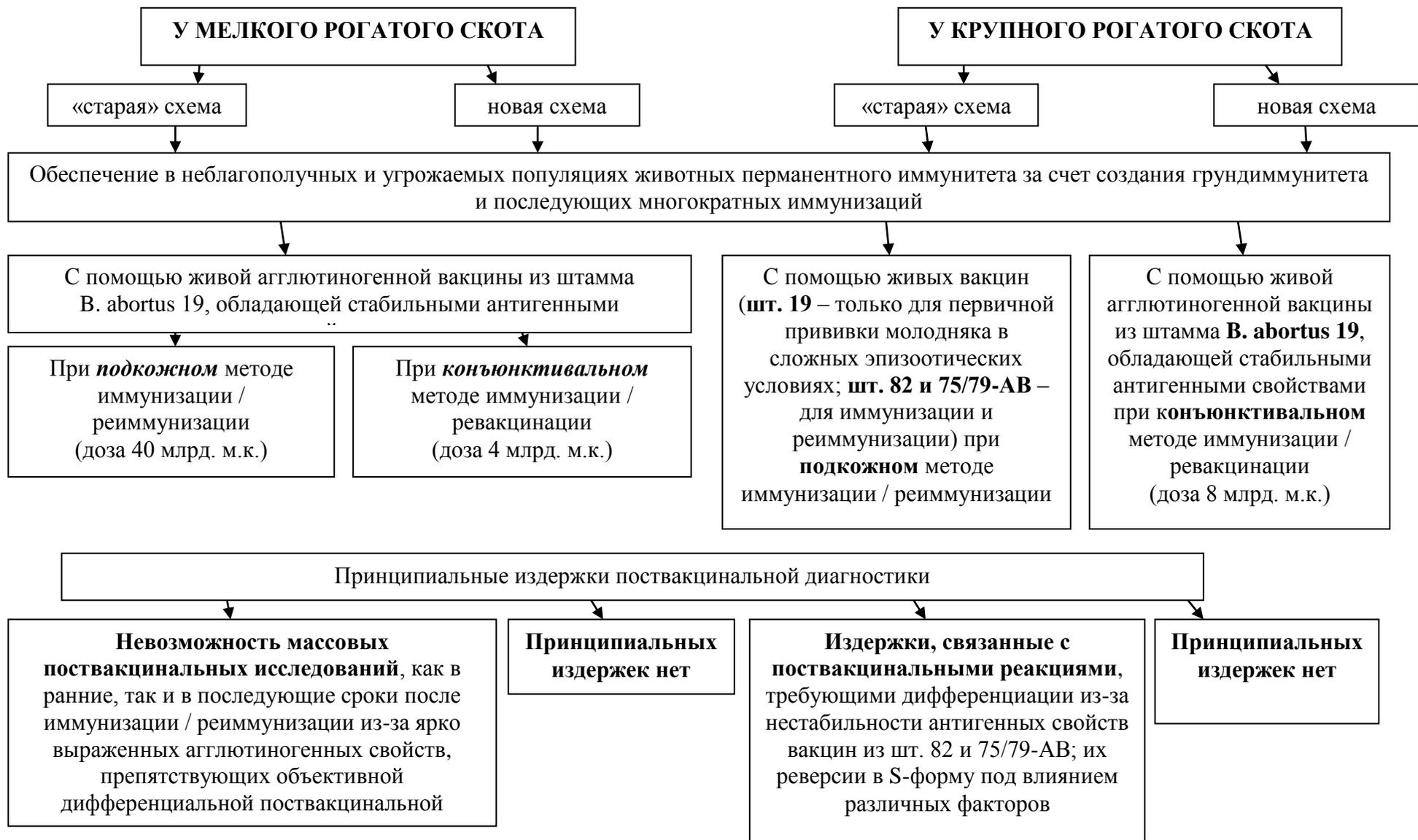


Рисунок 26 – Концепция оптимизации специфической профилактики и поствакцинальной диагностики бруцеллеза животных в современных эпизоотических и социально-экономических условиях

В Республике Тыва ситуация по бруцеллезу осложнилась в 1998-2002 годах. В этой связи в 2003-2008 годах в Барун-Хемчикском кожууне, граничащем с Республикой Хакасия, осуществили ежегодные конъюнктивальные прививки МРС вакциной из штамма 19 в дозе 4 млрд. м.к., за счет чего открылась возможность выявления скрытых бруцеллоносителей серологическими методами, в т.ч. с помощью РИД с О-ПС антигеном.

Если в 2002 году в Барун-Хемчикском кожууне было зарегистрировано 15 активно действующих эпизоотических очагов, с которыми были связаны 32 случая заболевания людей острым бруцеллезом (из 54 случаев, зарегистрированных в 2002 году в целом по республике), то в 2007 году – только один с 7 случаями заболевания людей острым бруцеллезом.

В 14 старых эпизоотических очагах мелкого рогатого скота (6000 гол.) заболеваемость людей не проявилась в течение 2008 г. и даже нескольких предыдущих лет. При этом их купирование осуществляли с использованием конъюнктивального метода иммунизации и проведения дальнейших комплексных поствакцинальных исследований. К этому времени удалось довести количество выделяемых реагирующих животных до единичного и даже получить в некоторых отрицательные результаты.

Иными словами, эпидемическая ситуация по бруцеллезу была стабилизирована главным образом за счет массовых иммунизаций и реиммунизаций в 2003-2008 годах против бруцеллеза восприимчивого неблагополучного и угрожаемого поголовья МРС вакциной из штамма 19 конъюнктивальным методом в сочетании с выявлением в активно действующих очагах с помощью диагностического комплекса, и прежде всего РИД с О-ПС антигеном, наиболее опасных в эпизоотическом отношении животных, являющихся источниками заболевания людей, и их убоем.

К сожалению, с 2009 года в Республике Тыва иммунизация мелкого рогатого скота против бруцеллеза конъюнктивальным методом была прекращена, главным образом, из-за субъективного подхода к этой проблеме со стороны специалистов госветслужбы республики: возвратились к использованию на

мелком рогатом скоте только подкожного метода иммунизации, что фактически закрыло возможность объективной эпизоотической оценки отар по бруцеллезу.

Уже в 2008 году эпидемическая ситуация по бруцеллезу в Республике Тыва осложнилась, и прежде всего за счет Барун-Хемчикского кожууна (14 из 24 случаев в целом по республике). Заболеваемость людей бруцеллезом была связана практически с 9 новыми эпизоотическими очагами (более 3000 гол.), в 50 % которых мелкий рогатый скот оказался непривитым против бруцеллеза вообще, а в остальных иммунный фон был неоднородным (часть животных была непривита).

С учетом изложенного, Республика Тыва превратилась в зону приуроченности бруцеллеза, прежде всего мелкого рогатого скота, представляя особую эпизоотическую опасность прежде всего для граничащей с ней Республикой Хакасия из-за значительных хозяйственных связей, возможностей несанкционированного перемещения животных и сложностей в их объективной эпизоотической оценке по бруцеллезу.

Из Республики Тыва в Хакасию было завезено значительное поголовье овец. При его карантинировании на территории Республики Хакасия в тех или иных партиях завезенного поголовья отмечали серологические реакции на бруцеллез, которые, по результатам дополнительных исследований, могли носить и вакцинный характер. Из-за ежегодной иммунизации основного поголовья против бруцеллеза вакциной из штамма 19 подкожным методом, объективно осуществлять его эпизоотическую оценку стало возможным принципиальным образом только с помощью РИД с О-ПС А- и М-антигенами. В частности, диагностические преимущества О-ПС антигена, изготовленного из *B. abortus*, и отсутствие таковых у О-ПС антигена, изготовленного из *B. melitensis*, послужили основой для выводов об их существенном дифференциально-диагностическом значении в схемах эпизоотической оценки вакцинированного поголовья.

Было признано целесообразным завоз поголовья мелкого рогатого скота из Республики Тыва осуществлять, согласно существующим договоренностям, только из благополучных по бруцеллезу районов с максимальным контролем всех

этапов этого процесса со стороны госветслужбы, начиная с места их первоначального пребывания и до места их дальнейшего содержания. При этом особое внимание обращали на целесообразность завоза невакцинированного поголовья ярок и переярок, что в значительной степени облегчало оценку результатов серологических исследований завозимых животных в период их карантинирования на территории Республики Хакасия. Однако повышенные эпизоотические и эпидемические риски в Республике Хакасия сохранялись.

Именно поэтому **в Республике Хакасия** с 2008 года по согласованию с Департаментом ветеринарии МСХ РФ стал широко использоваться конъюнктивальный метод иммунизации МРС против бруцеллеза.

У здорового МРС (1000 гол), привитого вакциной из штамма 19 конъюнктивально в дозе 4 млрд. м.к. в 6 отарах (перед иммунизацией реагирующих РА, РСК и РИД не было) через 4 месяца после прививки титры РА и РСК не превышали 100 МЕ и 1:10 у 0,4 % и 0,8 %; реагирующих в РИД не было.

Безвредность этого метода иммунизации доказана в условиях Республики Хакасия в 2008-2009 годах на поголовье более 80 тыс. гол., при этом никаких поствакцинальных осложнений не отмечено.

Хронометраж показал, что процесс иммунизации овец конъюнктивальным методом, при соответствующей организации процесса более быстрый (в 1,5 раза), чем подкожным, простой и надежный.

При подкожном методе введения вакцины овцам нередко могут возникать поствакцинальные осложнения, а также ситуации, когда вакцина при нарушениях техники ее введения под кожу животным не попадает.

Эффект конъюнктивальной иммунизации МРС вакциной из штамма 19 был доказан в масштабах республики Хакасия.

Если в 2008 году конъюнктивальной иммунизации было подвергнуто 36914 гол. мелкого рогатого скота, то в последующие 2009-2013 годы иммунизируемое этим методом поголовье составляло 44700-65131 гол. Вспышки бруцеллеза мелкого рогатого скота на данной территории возникали в течение 2009-2013 годов только среди неиммунного к возбудителю бруцеллеза поголовья. В одном

же из районов, где от вакцинации указанным методом отказались, на неиммунном поголовье овец наблюдали острые вспышки бруцеллеза (в 2009 году – 4, в 2010 – 7, в 2011 – 3, в 2012 – 3, в 2013 году – 3), при этом в эпизоотических очагах отметили заболеваемость бруцеллезом людей.

Описанный подход к оптимизации противобруцеллезных мероприятий у мелкого рогатого скота обеспечивает реальный противоэпизоотический и противоэпидемический эффект.

Таким образом, необходимость его практической реализации в масштабах страны очевидны.

При бруцеллезе крупного рогатого скота. Стабильно высокий долгосрочный иммунитет у крупного рогатого скота оказался в новых эпизоотических, эпидемических и социально-экономических условиях особенно необходимым. Его создание на основе живых вакцин из диссоциированных штаммов 82 и 75/79-АВ, стало нетехнологичным в мелких общественных и частных хозяйствах, в которых затруднено строгое разделение половозрастных групп и формирование однородных в возрастном, эпизоотическом и иммунном отношении маточных гуртов. Усугубилась ситуация с поствакцинальными реакциями, усложняющими объективную диагностику бруцеллеза животных.

При серологическом обследовании 208 животных в одном из неблагополучных по бруцеллезу хозяйств у 28 из них в сыворотке обнаружили специфические агглютинирующие и комплементсвязывающие антитела в высоких титрах, а в 3 случаях – преципитины к О-ПС антигену. Положительно реагирующий скот убили. Оставшееся поголовье (180 гол) конъюнктивально иммунизировали вакциной из штамма 19 в дозе 8 млрд. м.к. Через 1,5 месяца благодаря провоцирующим свойствам вакцины удалось выделить и отправить на убой большое количество (32,3 %) скрытых бруцеллоносителей. При последующем исследовании, проведенном через 15 дней, количество эпизоотически опасных животных сократилось более чем в 5 раз.

Таким образом, при бруцеллезе КРС подход к оптимизации противобруцеллезных мероприятий на основе многократной конъюнктивальной

иммунизации вакциной из штамма 19 и ранней поствакцинальной диагностики с использованием РИД с О-ПС А- и М-антигенами и РА и РСК, по аналогии с МРС, имеет большие перспективы.

3. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В связи с актуальностью проблемы технологичности противобруцеллезных мероприятий целью исследований явилось теоретическое, экспериментальное и практическое обоснование возможности обеспечения в современных максимальной эффективности контроля эпизоотического процесса бруцеллеза за счет повышения уровня технологичности используемых методов и средств.

Первой задачей исследований явилась оценка эффективности трех принципиальных методов контроля эпизоотического процесса бруцеллеза (каждый из которых в обязательном порядке предусматривает осуществление в полном объеме необходимого комплекса общих мер) с учетом их технологичности.

Были проанализированы три принципиальных метода контроля эпизоотического процесса бруцеллеза.

Первый метод, предусматривающий полную ликвидацию скомпрометированных в отношении бруцеллеза животных, способен при условии строгого соблюдения всех его принципов обеспечивать противозооотические гарантии, но широкого применения не получил по экономическим причинам (И.А. Косилов с соавт., 1999 [219] и др.).

Второй метод, основанный на систематической диагностике с использованием различных тестов в целях изъятия из стад бруцеллоносителей, противозооотических гарантий на длительный срок не обеспечивает. Проведенный нами анализ показал, что без использования противобруцеллезных вакцин, в ряде регионов показал его низкую эффективность. Даже на фоне получения в течение длительного срока отрицательных результатов по стаду (отаре) в связи с отсутствием иммунитета в более отдаленные сроки наблюдали рецидивы бруцеллезной инфекции из-за реверсии сохранившихся измененных бруцелл в полноценную S-форму. Мы, с учетом полученных результатов, обосновали этот механизм в виде концептуальной модели. Полученные нами данные по принципиальным позициям совпадают с результатами, полученными

другими исследователями (И.А. Косилов с соавт., 1999 [219]; Е.Г. Назаренко, 2009 [249]; С.И.Н. Анагону, 2013 [12]; П.К. Аракелян с соавт., 2013 [38]; Л.Н. Гордиенко с соавт., 2017 [110] и др.).

Третий метод, основанный на использовании средств специфической профилактики в сочетании с рациональной поствакцинальной диагностикой, оказался, по результатам наших исследований, единственно приемлемым в экономическом и противоэпизоотическом отношении. Нами была разработана концептуальная модель, обосновывающая механизм контроля эпизоотического процесса бруцеллеза на основе перманентного иммунитета, создаваемого в популяции животных с помощью вакцин в сочетании с рациональной поствакцинальной диагностики.

У большинства ученых существует принципиальная точка зрения, основанная на необходимости обязательного использования в системах противобруцеллезных мероприятий у разных видов животных вакцин в сочетании с диагностикой и общими мерами (С.Н. Вышеслесский, 1977 [97]; М.К. Юсковец, 1960 [377]; А.А. Бойко, 1967 [75]; Л.А. Вертелецкий, 1967 [84]; Р. Виттоз, 1967 [91]; Е.С. Орлов, 1971 [260]; П.А. Вершилова, 1972 [85]; П.Н. Жованик с соавт., 1975 [176]; П.А. Триленко, 1976 [320]; К.М. Салмаков, 1977 [285]; О.Ю. Юсупов, 1986, 1989 [382, 383]; П.С. Уласевич с соавт., 1975 [325]; А.А. Новицкий, 1989 [254]; О.З. Исхаков, 1991 [193]; В.И. Ким, 1991 [206]; В.М. Авилов, 1997 [2]; С.К. Димов, 1993 [147]; И.П. Никифоров, 1996 [250]; П.К. Аракелян, 1997 [18]; И.А. Косилов с соавт., 1999 [219]; А.А. Новицкий с соавт., 1999 [255]; Т.К. Касымов, 2002 [202]; М.И. Искандаров, 2012 [191]; П.К. Аракелян с соавт., 2013 [38]; М.П. Альбертян с соавт., 2014 [8]; М.И. Гулюкин с соавт., 2014, 2016 [123, 124]; Л.Н. Гордиенко с соавт., 2017 [110] и др.).

Эффективность противобруцеллезных мероприятий с использованием вакцин оказалась зависимой от технологичности последних.

Экспериментальное изучение живых инагглютиногенных вакцин показало, что, не смотря на полное отсутствие агглютиногенности и возможность проведения диагностических исследований животных на бруцеллез в любые

сроки после иммунизации вакцинами указанного типа, они обладают низким уровнем иммуногенности и противозoonотической эффективности. Так, в опытах на морских свинках нами установлено, что иммунитет к искусственному заражению вирулентными бруцеллами животных, иммунизированных вакциной из инагглютиногенного штамма *B. abortus* RB-51 через 3 мес. после вакцинации был на уровне 60 %, а через 6 мес. – 0 %. Таким образом, с учетом разработанной нами концептуальной модели, перманентный иммунитет в неблагополучных и угрожаемых популяциях животных теоретически можно обеспечить лишь за счет систематических реиммунизаций с интервалом не более 6 месяцев, что недостаточно технологично. Более реальной выглядит схема ревакцинации животных вакцинами такого типа на фоне их первичной иммунизации наиболее иммуногенной живой агглютиногенной вакциной (С.К. Димов, 1993 [147] и др.), однако в современных условиях существования мелких частных хозяйств сложно и даже невозможно обеспечить постоянное соблюдение принципа необходимой эпизоотической, иммунной, и половозрастной однородности стада. Однократное же введение животным вакцин такого типа обеспечивает противозoonотический эффект не за счет иммуногенности, а за счет своевременного использования их провоцирующих свойств. Такую возможность выявлять скрытых бруцеллоносителей обеспечивает механизм провоцирующих свойств вакцин, основанный на вторичном иммунном ответе (И.А. Косилов, 1975 [216]; А.С. Мангазеева, 1976 [238]; К.М. Салмаков с соавт., 2012, 2013 [288, 291] и др.).

Живые агглютиногенные вакцины, напротив, на мировом уровне признаны самыми иммуногенными. Уровень их иммуногенности в экспериментах, в том числе наших, достигал во многих случаях 100 %.

Однако научные и практические данные, полученные рядом исследователей (А.А. Новицкий, 1989 [254]; О.З. Исхаков, 1991 [193]; С.К. Димов, 1993 [147]; В.М. Авилов, 1997 [2]; И.А. Косилов с соавт., 1999 [219] и др.), а также нами, показывают, в частности, что применение вакцины из шт. 19 при ее подкожном методе введения в официально регламентированных дозах (КРС – 80 млрд. м.к., МРС – 40 млрд. м.к.) без издержек, связанных с поствакцинальной диагностикой,

возможно лишь при однократной иммунизации молодняка (поствакцинальные реакции в этом случае угасают практически через 10 месяцев). Реиммунизация взрослых животных указанной вакциной по той же схеме оказалась не технологичной из-за длительно сохраняющихся серологических реакций, препятствующих поствакцинальной диагностике.

Результаты экспериментов, производственных опытов и практических наблюдений показали, что максимальный противоэпизоотический эффект способны обеспечить только те противобруцеллезные вакцины, которые, обладая достаточным уровнем иммуногенности и формируя за счет рациональных схем применения групповой перманентный иммунитет, не препятствуют ранней поствакцинальной диагностике в целях максимального выявления спровоцированных вакцинацией скрытых бруцеллоносителей.

Так, ретроспективно оценивая противоэпизоотическую эффективность и технологичность живых вакцин из слабоагглютиногенных штаммов *B. abortus* 82 и 75/79-AB (в том числе на фоне первичной иммунизации молодняка вакциной из агглютиногенного штамма *B. abortus* 19) начиная с 1974 года в масштабах одного из регионов Сибири (при наличии 532 ферм, неблагополучных по бруцеллезу крупного рогатого скота) установили, что за счет их использования в сочетании с рациональной диагностикой и общими мерами полного оздоровления добились к 2005 году. С 2005 по 2009 год у выявляемого незначительного числа положительно реагирующих вакцинную природу реакций доказывали в полном объеме. В период 2010-2016 годов периодически регистрировали единичные вспышки бруцеллезной инфекции среди не иммунного крупного рогатого скота по причинам рецидивов болезни или заноса возбудителя извне.

Противоэпизоотическая эффективность рационального использования вышеперечисленных вакцин и средств поствакцинальной диагностики в сочетании с общими ветеринарно-санитарными и организационно-хозяйственными мерами была доказана на 5 фермах 3 неблагополучных по бруцеллезу хозяйств молочной корпорации «В» в период 2012-2015 годов. До этого срока маточное поголовье иммунизации против бруцеллеза вообще не

подвергалось. Осуществлялись лишь диагностика и сдача реагирующих на убой. Эпизоотологический анализ статистических данных показал, что с августа 2010 года в большинстве маточных гуртов произошли острые вспышки бруцеллезной инфекции. За последующие два года по причине бруцеллеза в них произошли потери до 40 и более % имевшегося поголовья крупного рогатого скота.

В течение сентября-ноября 2012 г. в ИЭВСиДВ были проведены трехкратные комплексные диагностические исследования на бруцеллез сывороток крови всего поголовья коров и нетелей. Выявленные инфицированные животные (5,3 % от поголовья, в том числе с помощью РИД с О-ПС антигеном – 1,9 %) были своевременно изолированы и сданы на убой.

Массовая иммунизация взрослого маточного поголовья крупного рогатого скота в хозяйствах корпорации была проведена в декабре 2012 года вакцинами из штаммов 82 – на ранее созданном иммунном фоне за счет вакцинации молодняка и 75/79-AB – при отсутствии иммунного фона или отсутствии гарантий в отношении предыдущих вакцинаций (отсутствие abortогенности у вакцины из штамма В. abortus 75/79-AB было доказано нами на ранее неиммунизированном поголовье коров и нетелей (200 гол). В течение 2013-2015 годов молодняк в 2-4 месячном возрасте подвергали иммунизации вакциной из штамма 19, а реиммунизировали перед осеменением вакциной из штамма 82. Реиммунизация коров была проведена в марте-июле 2014 г. Кроме специальных мероприятий, осуществлялся комплекс общих мер. В 2013-2015 годах было проведено 8 комплексных исследований на бруцеллез взрослого маточного поголовья, при этом выявлено 2,7 % эпизоотически опасных животных из среднего числа имеющегося поголовья, в том числе 0,8 % – с помощью РИД с О-ПС антигеном. В 2015 году за 2 исследования было выявлено лишь 0,3 % животных, потенциально опасных в эпизоотическом отношении (в РИД, являющейся индикатором особой эпизоотической опасности реагирующих животных, были получены отрицательные результаты). В указанных хозяйствах открылись реальные возможности создания стойкого эпизоотического благополучия по бруцеллезу при условии дальнейшего строгого соблюдения основных принципов

осуществления противобруцеллезных мероприятий, предусмотренных разработанной системой.

Таким образом, нами комплексно обоснована необходимость осуществления контроля эпизоотического процесса бруцеллеза с обязательным использованием вакцин, соблюдая принцип технологичности схем их применения, что в принципиальном отношении подтверждается результатами, полученными другими исследователями (А.А. Новицкий, 1989 [254]; С.К. Димов, 1993 [147]; В.М. Авилов, 1997 [2]; И.А. Косилов с соавт., 1999 [219] и др.).

Изучение технологичности существующих схем специфической профилактики и диагностики бруцеллеза крупного рогатого скота явилось второй задачей исследований.

В стадах крупного рогатого скота, иммунизированного вакцинами из штаммов 82 или 75/79-АВ где эпизоотологически бруцеллез исключался, стали проявляться сомнительные и даже положительные серологические реакции, требующие объективной дифференциальной оценки (И.А. Косилов с соавт., 1999 [219]; И.П. Никифоров, 1996 [250]; Т.Г. Попова, 1990 [271]; С.К. Димов, 1993 [147]; В.И. Сайченко, 1995 [297]; Г.М. Стеблева, 1998 [309]; А.В. Суспицын, 2005 [314]; Л.В. Дегтяренко с соавт., 2011, 2015 [130, 131]; И.Н. Каликин, 2012 [194]; М.Ю. Карлова, 2012 [200]; П.К. Аракелян с соавт., 2013 [38] и др.).

На основе многочисленного фактического материала было объективно доказано, что основным критерием, подтверждающим эпизоотическую опасность реагирующих животных, является положительная РИД с О-ПС антигеном, а характерными критериями для реакций поствакцинальной природы оказались высокие титры РСК с R-антигеном при низких титрах РА и РСК с S-антигеном. Наши результаты совпали с материалами других исследователей (И.А. Косилов с соавт., 1999 [219]; П.К.Аракелян с соавт., 2013 [38] и др.).

На основе вышеуказанных принципов с нашим участием был разработан, а затем усовершенствован комплекс дифференциально-диагностических исследований, включающий в себя 5 этапов:

1. Эпизоотологическое обследование фермы, хозяйства;

2. *Серологические исследования:* для уточнения эпизоотического состояния стад сыворотки крови от реагирующих на бруцеллез коров направляют в ветеринарную лабораторию для повторного комплексного серологического исследования в РА, РСК с единым бруцеллезным антигеном до предельных титров, РИД с О-ПС А-антигеном, изготовленным из *B. abortus*, РИД с О-ПС М-антигеном, изготовленным из *B. melitensis*, РСК с R-антигеном (овисный диагностикум и др.) до предельных титров; по результатам комплексных исследований для диагностического убоя отбирают животных, давших положительные реакции с S-антигенами в более высоких титрах, чем с R-антигеном (обязательно – животных с положительной РИД);

3. *Бактериологические исследования:* высев материала на питательные среды из 14-16 исследуемых объектов от каждого животного; постановка биопробы на морских свинках; выделение, индикация и дифференциация культур;

4. *Оценка эпизоотической ситуации:*

Стадо признается неблагополучным по бруцеллезу:

- при выявлении в стаде животных с положительными РА и/или РСК (высокие титры), РИД с О-ПС антигенами, положительных результатах КР с молоком (титр 1:16 и выше), в том числе при их переисследовании с интервалом 1 месяц. При выявлении положительной РИД только с О-ПС М-антигеном (при одновременном использовании О-ПС А- и М-антигенов) можно предполагать наличие в стаде крупного рогатого скота *B. melitensis*;

- в случае выделения из биоматериала от реагирующих животных культуры с признаками полевого штамма: положительная пластинчатая РА с S-бруцеллезной сывороткой при отрицательной пластинчатой РА с R-бруцеллезной сывороткой и отрицательной пробе с трипафлавином (акрифлавином), ее росте в анаэробных условиях начиная с 8-10 суток и позже;

- при отрицательном результате бактериологического исследования, но повышении титров РА с S-антигеном при исследовании сывороток крови морских свинок через 15, 25 и 40 суток после заражения.

На такое стадо накладывают ограничения по бруцеллезу и мероприятия в нем проводят в соответствии с действующей инструкцией.

При отсутствии показателей, подтверждающих наличие бруцеллеза в стаде, необходимо ежеквартально проводить комплексные диагностические исследования до получения отрицательного результата.

В дальнейшем контроль благополучия осуществляется путем плановых двукратных исследований (весной и осенью);

5. Оценка эпизоотического статуса реагирующих животных:

В случае признания стада неблагополучным с положительно реагирующими животными поступают как с больными животными (сдают на убой).

В хозяйствах, признанных благополучными, животных с РА в титре не выше 100 МЕ и РСК в разведении не выше 1:5-1:10 повторно исследуют, в том числе дополнительно – в РСК с R-антигеном. В случае превалирования титров R-антител есть основания утверждать о поствакцинальном характере реакций. Кроме того, при повторных исследованиях при поствакцинальном характере реакций, РА и РСК с S-антигеном как правило, в большинстве случаев угасают, или их титры снижаются. Таких животных отправлять на убой нет оснований.

Нами в 2013-2016 годах в условиях ряда территорий Сибири и других регионов (68 хозяйств 24 административных районов) получены материалы, объективно доказывающие с помощью комплекса указанных критериев благополучие по бруцеллезу многих хозяйств, в том числе возможность предотвращения необоснованной сдачи на убой реагирующих животных.

В 26 хозяйствах при исследовании 335 проб сывороток крови маточного поголовья КРС в ранние сроки (6-10 мес.) после применения слабоагглютиногенных вакцин реагирующих в РИД не было. Всего реагировало в РА и РСК с S-антигеном 234 пробы, из них в высоких титрах – 28. При этом в РСК с R-антигеном всего реагировало 195 проб, в том числе в высоких титрах – 79.

В 42 хозяйствах при исследовании 712 проб сывороток крови маточного поголовья в более поздние сроки (через 11-23 мес.) после иммунизации реиммунизации) этими же вакцинами, реагирующих в РИД не было. Всего

реагировало в РА и РСК с S-антигеном 407 проб, из них в высоких титрах РА и/или РСК – 28 проб. При этом в РСК с R-антигеном всего реагировало 330 проб, в том числе в высоких титрах – 91.

В качестве исключения из описанной ситуации следует привести случаи единичного реагирования в РИД с О-ПС антигеном при отсутствии эпизоотологических оснований считать данные хозяйства неблагополучными по бруцеллезу. Благополучие указанных хозяйств подтвердили результатами бактериологического исследования биоматериала от животных с положительной РИД (культур возбудителя бруцеллеза не выделено). Есть и другие аналогичные примеры. В процессе комплексного эпизоотологического обследования таких стад были выявлены различные факторы, способствующие проявлению у животных поствакцинальных реакций с S-диагностикумами (совместное содержание иммунизированного и неиммунизированного поголовья, первичная иммунизация животных во взрослом состоянии, нарушения интервалов между иммунизациями и др.). Эти результаты являются новыми.

Отдельного внимания в качестве одного из возможных факторов, наряду с вышеперечисленными, заслуживает и наличие в выпускаемых биопредприятиями слабоагглютиногенных вакцинах бруцелл с антигенной структурой, тяготеющей к S-компоненту. Так, при исследовании 4 серий вакцины из штамма *B. abortus* 75/79-AB колонии в S-форме обнаружили у 92,9-99,8 % из их общей структуры. При исследовании 9 серий вакцины из штамма *B. abortus* 82 колонии в S-форме составляли в отдельных сериях до 57,4 %, в SR-форме – от 2,8 до 26,8 %, в RS-форме – от 1,1 до 20,4 %, в R-форме – от 9,9 до 90,3 %. Эти приведенные нами данные также представляют научную новизну.

В научной литературе есть отдельные сообщения об определенной роли гетерогенных препаратов в стимуляции выработки бруцеллезных антител у животных, иммунизированных против бруцеллеза (А.В. Суспицын, 2005 [314] и др.).

Однако нами были получены принципиально новые материалы, доказывающие влияние гетерогенных препаратов на выработку бруцеллезных антител у животных, многократно реиммунизированных против бруцеллеза.

Так, в одном из благополучных хозяйств при плановом исследовании на бруцеллез 150 коров через 1 год после многократной иммунизации вакциной из штамма 82 коров было выявлено 13 положительно реагирующих, в том числе 5 – в РИД (у них же регистрировали высокие титры РСК с S-антигеном при низких титрах РСК с R-антигеном). Выяснилось, что за 14 дней до взятия крови указанным животным вводили вакцины против сибирской язвы и эмкара, а также аллерген туберкулин. При повторном исследовании указанных 5 животных положительная РИД исчезла. РСК с S-антигеном в разведении 1:20 и РА в титре 1:100 была в одной пробе; в остальных пробах титры РА и РСК не превышали 50 МЕ и 1:10. РСК с R-антигеном была положительной в разведении 1:20 во всех случаях. Животное с показаниями РА 100 МЕ и РСК с S-антигеном 1:20 и РСК с R-антигеном 1:20 было убито с диагностической целью и при бактериологическом исследовании биоматериала (включая биопробу) культур бруцелл не выявлено.

В другом благополучном хозяйстве угрожаемой зоны в 4 маточных стадах крупного рогатого скота мясного направления (498 гол) через 2 года после последней иммунизации вакциной из штамма 82 выявлено 156 животных (31,3 %) с положительными и сомнительными РА и РСК. Было выяснено, что 14 дней назад они были иммунизированы адъювант-вакциной против ящура.

В двух стадах коров в возрасте 5-6 лет (количество вакцинаций против бруцеллеза не превышало 4 раз) из общего числа исследованных 261 гол. было выявлено 37 реагирующих (14,1 %), в том числе высоких титров РА и РСК положительной РИД не выявлено. При повторном исследовании сывороток крови, взятой от 27 животных через 1 месяц после предыдущего, РА и РСК с S-антигеном угасли полностью у 14 животных (51,8 %). РСК с R-антигеном отмечена у 35 животных. Из 13 оставшихся титры РА и РСК были низкими (не выше 50 МЕ и 1:5 соответственно) у 12. У одного животного была зарегистрирована РСК с S-антигеном в разведении 1:20.

В двух стадах коров в возрасте 8-11 лет (количество вакцинаций против бруцеллеза составляло 6 и более раз) из общего числа исследованных 237 гол.

было выявлено 119 реагирующих (50,2 %), в том числе в высоких титрах РА и РСК (включая РСК 1:20 с оценкой +) 12 гол., из них у 4-х была положительной РИД. При повторном исследовании сывороток крови, взятой от 119 животных через 1 месяц после предыдущего, РА и РСК угасли полностью лишь у 8 животных (6,9 %). РСК с R-антигеном была у 77 животных. Из 111 оставшихся титры РА и РСК были низкими (не выше 50 МЕ и 1:5 соответственно) у 102. У 9 животных РСК была в разведении 1:20, в том числе у 8 из них с оценкой +. РИД была отрицательной во всех случаях.

Полное угасание серологических реакций во всех четырех стадах наступило через 4 месяца после вакцинации животных против ящура.

Это не единственные примеры, свидетельствующие о влиянии гетерогенных препаратов на выработку бруцеллезных антител у животных на фоне их вакцинации против бруцеллеза. В этой связи соблюдать объективность эпизоотологической оценки в условиях использования живых вакцин из диссоциированных штаммов бруцелл с незакрепленными антигенными характеристиками, становится все сложнее и сложнее.

На фоне создания крупных молочных скотоводческих комплексов в масштабах страны продолжают существовать многочисленные мелкие хозяйства, в которых допускается совместное содержание животных разных половозрастных групп, а поступление новых животных недостаточно контролируется. В них стало невозможным применять живые слабоагглютиногенные вакцины из-за серьезных препятствий в объективной эпизоотологической оценке. Не случайно среди неиммунного поголовья стали возникать многочисленные острые вспышки бруцеллеза (П.К. Аракелян с соавт., 2013 [38] и др.). В этой связи необходимость новых, технологичных схем вакцинации и диагностики стала очевидной.

Поиск и экспериментальная оценка эффективности новых методов и средств специфической профилактики и диагностики бруцеллеза животных с позиций их технологичности являлись третьей задачей наших исследований.

Поиск и экспериментальная оценка адъювант-вакцин.

Адьювант-вакцины при бруцеллезе животных в нашей стране официально не регламентированы. Ранее нами была доказана нетехнологичность адьювант-вакцин, изготовленных на основе одного из пяти неактогенных масляных адьювантов (3310 М ВНИИЗЖ) из штаммов *B. melitensis* Рев-1 и *B. abortus* 82 у мелкого и крупного рогатого скота соответственно по причине резко выраженной у них агглютиногенности. Ряд исследователей (Л.Ф. Касьянова, 1985 [204, 205]; К.В. Шумилов с соавт., 1989, 1995, 1999 [372, 373, 374, 375]; Т.К. Касымов, 2002 [202] и др.) столкнулся с аналогичной проблемой при изучении адьювант-вакцин из S- и RS-штаммов бруцелл на основе других адьювантов.

Отечественная адьювант-вакцина из R-штамма *B. abortus* KB 17/100, по нашим данным, у коров на фоне вакцины из штамма *B. abortus* 82, оказалась реактогенной (образование в местах введения вскрывающихся абсцессов у значительного числа иммунизированных животных).

Целью наших дальнейших исследований явилось изучение проявления серологических реакций и иммунитета к искусственному заражению культурой вирулентного штамма *B. melitensis* у морских свинок через 90 дней после введения им вакцин, изготовленных на основе нового масляного адьюванта MONTANIDE™ ISA 61 VG из инактивированных штаммов бруцелл вида *abortus* в S- и R-формах с различной концентрацией микробных клеток и МДА (микробный дезинтегра-антиген, изготовленный из *B. abortus* 19 – S-форма) в разных дозах. Указанный адьювант в противобруцеллезных вакцинах был применен нами впервые.

Максимально агглютиногенные свойства проявились у животных, иммунизированных адьювант-вакцинами из штамма 19 (при разных дозах серопозитивность, в том числе положительная РИД, к 90 дню сохранялась у 60-100 % животных) а также МДА (микробный дезинтегра-антиген, изготовленный из шт. 19).

Причем кардинальное уменьшение дозы не приводило к существенному снижению уровня их проявления. Иммуногенность вакцин этих типов при искусственном заражении животных бруцеллезом оказалась максимальной и

достигала 80-100 %.

У животных, иммунизированных адьювант-вакциной, изготовленной из инагглютиногенного штамма *V. abortus* 54-70 (R-форма) агглютиногенные свойства проявились умеренно, а при минимальной дозе 25 млн. м.к. вообще не проявились, а ее иммуногенность на 90 день иммунизации оказалась при разных дозах применения одинаково низкой – 20 %.

Таким образом, все изученные варианты адьювант-вакцин, изготовленных из агглютиногенных, слабоагглютиногенных или инагглютиногенных штаммов оказались нетехнологичными, прежде всего по причине их выраженной агглютиногенности или низкой иммуногенности (у инагглютиногенных вакцин).

Целью наших дальнейших исследований явилось изучение проявления серологических реакций и иммунитета к искусственному заражению культурой вирулентного штамма *V. melitensis* у морских свинок через 90 дней после подкожного и конъюнктивального введения вакцин, изготовленных на основе живой культуры штамма *V. abortus* 19, в разных дозах, а также подкожного введения вакцин, изготовленных на основе убитой культуры штамма *V. abortus* 19 (S-форма), с различным количеством микробных клеток, совместно с адьювантом MONTANIDE™ ISA 61 VG.

У животных, иммунизированных живой вакциной из штамма 19 в дозе 1 млрд. м.к. подкожно, через 90 дней после иммунизации в 100 % случаев были отмечены высокие титры РА и/или РСК с S-антигеном, но отрицательная РИД с О-ПС антигеном. У животных, иммунизированных этой же вакциной в дозе 100 млн. м.к. конъюнктивально через 90 дней после иммунизации во всех случаях положительной РИД и высоких титров РА и РСК не было; РА была отрицательной в 80 % случаев. РСК была в 100 % случаев положительной в титрах не выше 1:10.

В группах животных, иммунизированных убитой культурой штамма *V. abortus* 19 в дозах как 100 млн. м.к., так и 1 млрд. м.к. совместно с адьювантом подкожно, высокие титры РА и/или РСК отмечены в 100 % случаев соответственно, а положительная РИД – в 70 и 80 % случаев соответственно.

Через 90 дней после иммунизации иммунитет у животных к искусственному заражению вирулентной культурой *B. melitensis* 565 в дозе 100 м.к. оказался:

– в группе иммунизированных живой культурой штамма *B. abortus* 19 в дозе 1 млрд. м.к. подкожно – на уровне 100 %;

– в группе иммунизированных живой культурой штамма *B. abortus* 19 в дозе 100 млн. м.к. конъюнктивально – на уровне 80 %;

– в группе иммунизированных убитой культурой штамма *B. abortus* 19 в дозе 100 млн. м.к. совместно с адъювантом подкожно – на уровне 80 %;

– в группе иммунизированных убитой культурой штамма *B. abortus* 19 в дозе 1 млрд. м.к. совместно с адъювантом подкожно – на уровне 40 %.

Таким образом, перспективной из изученных схем иммунизации оказалась схема, предусматривавшая конъюнктивальное введение морским свинкам живой вакцины из штамма *B. abortus* 19 в дозе 100 млн. м.к. Эти результаты нами получены впервые.

В предыдущих исследованиях было установлено, что иммунитет к искусственному заражению бруцеллезу овец, двукратно (интервал 1 год) иммунизированных живой вакциной из штамма 19 конъюнктивально (4 млрд. м.к.) и подкожно (40 млрд. м.к.) имел несущественные отличия (77,8 и 88,9%).

РА и РСК в группе овец, подвергнутых конъюнктивальной иммунизации вакциной из штамма 19 (245 гол.) полностью угасли к 90 и 120 дням соответственно. В группе овец, подвергнутых подкожной иммунизации этой же вакциной (274 гол.), серопозитивность сохранялась у ряда животных и через 1 год.

После четырех конъюнктивальных иммунизаций овец РИД и РА угасли через 2,5 месяца, а РСК (не выше 1:5) регистрировали к этому сроку у 1,3 % исследованных животных.

Полученные нами результаты существенно дополняют материалы, полученные в этом направлении другими исследователями (П.К. Аракелян, 1997 [18]; А.Т. Рукин, 1998 [281]; Л.В. Жарова, 2002 [175]; Н.А. Морозова, 2002 [242];

К.С. Димов, 2008 [146]; R.Fensterbank et al., 1985, 1987 [414, 415, 416]; F.C.Viana et al., 1986 [443] и др.).

Дальнейшие контролируемые опыты провели на здоровом КРС, иммунизированном конъюнктивально вакциной из штамма *V. abortus* 19 в дозе 8 млрд. м.к. (1/10 подкожной дозы для крупного рогатого скота в объеме 0,1 мл физ. р-ра). Эти материалы являются новыми, так как ранее изучались другие дозы указанной вакцины, в частности, 5 млрд. м.к. (А.А. Лим с соавт., 1987 [226]; В.М. Устаев, 2010 [328]). Доза 8 млрд. м.к. была взята, по аналогии с мелким рогатым скотом (4 млрд. м.к. – 1/10 от общепринятой у этого вида животных подкожной дозы 40 млрд. м.к.) априорно – 1/10 от общепринятой подкожной дозы у крупного рогатого скота 80 млрд. м.к., что в таком варианте является технологичным в том числе с позиций простоты разведения вакцины.

120 гол. здорового КРС предварительно исследовали на бруцеллез в РА и РСК с отрицательными результатами и подвергли конъюнктивальной вакцинации вышеописанной методике. Кровь от иммунизированных животных брали через 15, 30 и 85 дней после иммунизации. У животных перечисленных половозрастных групп поствакцинальные реакции в виде РА и РСК, проявившиеся на 15-й день после конъюнктивальной иммунизации у 13,3-66,6 % из числа исследованных, полностью угасли к 85 дню.

С учетом полученных результатов, минимально возможным сроком исследований крупного рогатого скота на бруцеллез после конъюнктивальной иммунизации в целях выявления спровоцированных вакциной бруцеллоносителей оказались 15 дней для РИД и 30 дней для РА и/или РСК.

Таким образом, в экспериментах доказана возможность беспрепятственного проведения после конъюнктивальной вакцинации исследований в ранние сроки (РИД, РА и РСК), а также способность обеспечить иммунитет, не уступающий агглютиногенным и слабоагглютиногенным вакцинам при их подкожном применении.

Поиск технологичной схемы купирования бруцеллезной инфекции. При бруцеллезе животных существовали попытки использования различных

антибактериальных препаратов. При этом акцент делался главным образом на достижение saniрующего эффекта (А.П. Красиков, 1996 [220]; В.Б. Тэн, 1996 [321]; Е.К. Кинжигитов, 2005 [207]; А.С. Даулетьярова, 2008 [126]; Л.Ж. Уалиев, 2009 [323]; Ж. Есимова, 2008 [174]; Б.М. Мустафин, 2010 [248]; Г.Х. Оспанов, 2010 [261] и др.).

Однако рациональная схема купирования бруцеллезной инфекции с использованием антибактериального препарата в сочетании с вакцинацией к началу наших исследований отсутствовала.

При выборе антибактериального средства с позиции перспективы его применения ориентировались на его широкий спектр действия и пролонгированный эффект, обеспечивающие длительное пребывание в организме для оказания максимального антибактериального эффекта, а также на широкую доступность и приемлемую стоимость.

По результатам предварительных исследований на морских свинках из ряда испытанных препаратов наиболее эффективным оказался официально выпускаемый антибиотик тетрациклинового ряда Нитокс-200.

В качестве важных критериев при выборе вакцины учитывали способность создания у животных необходимого уровня иммунитета и возможность проведения поствакцинальных исследований в ранние сроки для выявления инфицированных животных, в том числе за счет метода ее введения. Таким требованиям, по результатам предварительных опытов, соответствовала вакцина из штамма 19 при конъюнктивальном введении в дозе, уменьшенной в 10 раз, по сравнению с подкожным введением. С учетом вышеизложенного, были поставлены опыты на морских свинках.

В первом опыте при введении разных доз препарата Нитокс-200 животным, инфицированным бруцеллезом оптимальной дозой, обеспечивающей купирование инфекционного процесса, признана доза 20 мг/кг живой массы.

Во втором опыте при введении инфицированным животным Нитокс-200 в дозе 20 мг/кг живой массы с последующей иммунизацией с интервалом 8 дней вакциной из штамма В. abortus 19, конъюнктивально в дозе 100 млн. м.к. (1/10 от

общепринятой подкожной дозы), через месяц инфицированных животных не обнаружили.

Изученная схема позволяет сократить сроки купирования инфекционного процесса, обеспечивая возможность проведения поствакцинальных исследований в ранние сроки, ускоряя оздоровление поголовья животных и сокращая выбраковку животных.

Таким образом, экспериментально доказана возможность купирования бруцеллезной инфекции с помощью рациональной схемы применения доступного в ветеринарной практике пролонгированного антибиотика тетрациклинового ряда в сочетании с последующей конъюнктивальной иммунизацией вакциной из штамма *V. abortus* 19. Полученные результаты являются новыми.

Эффективность РИД с О-ПС А- и М-антигенами для диагностики бруцеллеза мелкогорного скота.

При исследовании 30 проб сывороток крови здорового МРС через три месяца после двух-трехкратной конъюнктивальной иммунизации вакциной из штамма 19 в дозе 4 млрд. м.к. РИД с О-ПС А- и М-антигенами и РСК были отрицательными во всех пробах. РА зарегистрирована в титре 25 МЕ в 3 пробах (10 %).

Отдельного рассмотрения заслуживают результаты, полученные при исследовании в РИД с О-ПС А- и М-антигенами сывороток крови здоровых овец через один год после реиммунизации вакцинами из штаммов *V. abortus* 19 и *V. melitensis* Rev-1 подкожным методом в рекомендованных дозах. Из 98 исследованных проб сывороток крови животных, привитых вакциной из штамма *V. abortus* 19, положительная РИД отмечена в 6 пробах, при этом ее показания с А- и М-антигенами совпали в 5 случаях. В одной пробе РИД была положительной только с А-антигеном. Из 200 исследованных проб сывороток крови овец, реиммунизированных вакциной из штамма *V. melitensis* Rev-1, положительная РИД отмечена в 12 пробах, при этом ее показания с А- и М-антигенами совпали в 4 случаях. В 8 пробах РИД была положительной только с М-антигеном.

При исследовании МРС пяти неблагополучных хозяйств с течением инфекции (1251 гол.) на фоне подкожной прививки вакциной из штамма 19 подкожно в РА и РСК всего реагировало 393 или 31,3 %, в том числе в РИД с О-ПС А-антигеном 44 (3,5 %), а с О-ПС М-антигеном – 87 (7,0 %).

При исследовании МРС трех неблагополучных хозяйств (732 гол.) с течением инфекции на фоне конъюнктивальной вакцинации вакциной из штамма 19 выявили всего 258 или 35,2 % реагирующих животных, в том числе в РИД с О-ПС А-антигеном реагировало положительно 14 проб (1,9 %), а с О-ПС М-антигеном – 47 проб (6,4 %).

Важно обратить внимание на то, что РИД с О-ПС антигенами, совпадая с показаниями РА и РСК в разных сочетаниях, в диагностическом отношении в значительной степени уступает этому комплексу. Однако с ее помощью можно констатировать активное течение инфекции (положительная РИД выступает в качестве индикатора степени эпизоотической опасности отары). В условиях течения бруцеллезной инфекции на фоне подкожной вакцинации число реагирующих в РИД с О-ПС М-антигеном превышало таковое с О-ПС А-антигеном в 1,9 раза, а на фоне конъюнктивальной иммунизации этой же вакциной – в 3,3 раза.

Эффективность РИД с О-ПС А-антигеном для дифференциальной диагностики бруцеллеза крупного рогатого скота.

При эпизоотологически доказанном отсутствии возможностей миграции на крупный рогатый скот *V. melitensis*, использовали только О-ПС А-антиген из бруцелл вида *abortus*.

У невакцинированных коров (513 гол) из 4-х неблагополучных хозяйств выявили 171 гол. реагирующих в РА и/или РСК с S-антигеном (33,3 %), из них 4 – в РИД (11,1 % от общего числа исследованных и 33,3 % от общего числа реагирующих). В отдельных хозяйствах число реагирующих в РИД составляло от 1,9 до 25,1 % к числу исследованных и от 10,6 до 43,5 % к числу реагирующих.

У иммунизированных вакциной из штамма 82 коров и нетелей неблагополучных стад (778 гол.) через 6 мес. в РА и РСК с S-диагностикумом

выявлено 40 реагирующих, в т.ч. в титрах 200 МЕ и выше и 1:20 и выше – 10 проб (в т.ч. 5 – в РСК), из них в РИД с О-ПС антигеном – 8 проб. В РСК с R-антигеном реагировало всего 10 проб, из них в разведении 1:20 и выше – 2.

Таким образом, РИД с О-ПС А-антигеном у КРС, инфицированного бруцеллами вида *abortus*, выступает в качестве основного средства определения степени активности течения бруцеллезной инфекции на фоне вакцинации, выявляя животных, наиболее опасных в эпизоотическом и эпидемическом отношении. Используя провоцирующий эффект вакцин, с помощью РИД с О-ПС А-антигеном удастся убедиться, насколько много в неблагополучном стаде было скрытых бруцеллоносителей, обладающих наибольшей эпизоотической опасностью.

Полученные нами результаты существенно дополняют данные, полученные в этом направлении другими исследователями (J.W. Chervonogrodzky et. al., 1988 [399]; С.К. Димов, 1993 [147]; Е.А. Кисилев, 1993 [208]; Ш.Р. Файзрахманов с соавт., 1993 [329]; В.М. Чекишев с соавт., 1997 [353]; В.М. Чекишев, 1998 [354]; Б.И. Антонов с соавт., 1994 [13]; Г.М. Стеблева, 1998 [309]; И.А. Косилов с соавт., 1999 [219]; Н.А. Морозова, 2002 [242]; П.К. Аракелян с соавт., 2007 [21, 22]; К.С. Димов, 2008 [146] и др.).

Оценка эффективности использования РСК с R-антигеном, изготовленным из V. ovis, в дифференциальной поствакцинальной диагностике бруцеллеза крупного рогатого скота.

В дифференциальных поствакцинальных исследованиях КРС, иммунизированного вакцинами из диссоциированных штаммов бруцелл ряд исследователей (И.А. Косилов, 1975 [216]; Н.П. Иванов, 1984 [188]; А.М. Фомин, 1990, 2001 [330, 331]; С.К. Димов, 1993 [147]; И.П. Никифоров, 1996 [250]; В.И. Белобаб, 1998 [65]; И.А. Косилов с соавт., 1999 [219]; Л.В. Дегтяренко, 2005 [128]; Л.В. Дегтяренко с соавт., 2011, 2015 [130, 131]; G.G. Alton et al., 1986 [392] и др.) использовали в качестве диагностического критерия, характеризующего вакцинный процесс, R-антигены, изготовленные из искусственно полученных R-

штаммов *B. abortus*. В частности, существует R-бруцеллезный антиген ФЦТРБ-ВНИВИ (г. Казань).

В нашей стране официально утвержден и выпускается биопредприятием антиген, изготавливаемый из природной стабильной R-формы бруцелл *B. ovis*, входящий в диагностический набор, предназначенный только для серологической диагностики болезни овец, вызываемой *B. ovis* (инфекционный эпидидимит баранов). Есть сообщения, доказывающие, что существует практически полное антигенное родство между R-формами бруцелл видов *abortus*, *melitensis*, *suis* и бруцеллами видов *ovis* и *canis*, находящимися в природной стабильной R-форме (И.А. Косилов с соавт., 1999 [219] и др.).

С учетом вышеизложенного, нами была поставлена цель сравнительно изучить эффективность в дифференциально-диагностических исследованиях КРС, привитого слабоагглютиногенными вакцинами, РСК с R-антигенами, изготовленными из *B. ovis* R-формы *B. abortus*.

R-антиген из R-штамма *B. abortus* изготовили по технологии, аналогичной изготовлению официального овисного диагностикума.

Таким образом, по результатам проведенных исследований в РСК с использованием различных R-антигенов у здорового КРС, привитого слабоагглютиногенной вакциной, через 2 мес. количество выявляемых животных с положительной РСК с R-антигенами превышало таковое с S-антигеном в 2,2 раза, в 51,7 % случаев титры РСК с R-антигенами превышали таковые в РСК с S-антигеном. В 61,9 % случаев РСК с R-антигеном была положительной при отрицательной РСК с S-антигеном, что подтверждает поствакцинальный характер реакций. При этом преимущества овисного антигена в дифференциальной оценке поствакцинальных реакций были в 1,5 раза выше, чем у R-антигена из *B. abortus*. Через два года после прививки здорового КРС вакциной из диссоциированного штамма *B. abortus* 82 количество выявляемых животных с положительной РСК с R-антигенами превышало таковое с S-антигеном в среднем в 3,3 раза, а преимущества овисного антигена в дифференциальной оценке поствакцинальных реакций были в 4,6 раза выше, чем у R-антигена из *B. abortus*. В этом случае

также убедительно доказан поствакцинальный характер реакций.

Таким образом, доказаны преимущества использования в дифференциально-диагностическом комплексе у КРС, привитого слабоагглютиногенными вакцинами, R-антигена, изготовленного из природной R-формы бруцелл – *B. ovis*, перед R-антигеном, изготовленным из R-формы *B. abortus*.

Разработка диагностической тест-системы ИФА. В литературе есть сообщения об изучении эффективности при бруцеллезе животных ИФА, как одного из самых чувствительных диагностических тестов (С.П. Меринов с соавт., 1984; Г.И. Григорьева с соавт., 1990 [115]; К.А. Хамзин с соавт., 1990 [338]; М.П. Подоляко, 1995 [269]; М.К. Каракбаева, 2010 [197]; L. Valette, 1987 [440] и др.).

Нас интересовала возможность разработки скрининговой тест-системы ИФА, пригодной для массовой экспресс-диагностики бруцеллеза у животных, в том числе иммунизированных против указанной болезни.

Было испытано много различных вариантов диагностической тест-системы ИФА, отличающихся использованием различных антигенов, конъюгатов, техникой постановки реакции и т.п.

В итоге была разработана тест-система ИФА на основе антигена только из *B. abortus*, которая оказалась более эффективной, чем на основе антигенов только из *B. melitensis*, а также из *B. abortus*+*B. melitensis*, как у крупного, так и мелкого рогатого скота, в том числе и вакцинированного против бруцеллеза.

В результате выбор в дальнейших исследованиях был остановлен именно на ней.

Учет реакций осуществлялся автоматизировано с использованием оборудования, официально аттестованного для применения в РФ.

Разработанную тест-систему ИФА испытали у КРС и МРС. При исследовании здоровых животных, как не вакцинированных, так и вакцинированных против указанной болезни (КРС – вакциной из шт. 82 подкожно, через 6 мес.; МРС – из шт. 19 конъюнктивально, через 4 мес.) все исследованные пробы (по 50-100 проб в каждой категории) показали

отрицательный результат как по комплексу серологических реакций (РНГА, РА+РСК), так и в ИФА.

При исследовании на бруцеллез сывороток крови от крупного и мелкого рогатого скота неблагополучных стад, как подвергавшегося, так и не подвергавшегося иммунизации против бруцеллеза, получены результаты, свидетельствующие о полном соответствии показаний ИФА показаниям РНГА и диагностическому комплексу РА+РСК и большей диагностической чувствительности ИФА по сравнению с указанными реакциями в отношении выявления антител к бруцеллам.

В новой тест-системе ИФА в сравнении с тест-системой производства ФГУП «Курская биофабрика – фирма Биок» (20 проб) были получены результаты, свидетельствующие о том, что предложенная нами тест-система не уступила тест-системе производства ФГУП «Курская биофабрика – фирма Биок», имея при этом преимущества в чувствительности, простоте постановки, учета и интерпретации реакций, а также во времени, затрачиваемом на исследования и учет реакций.

Дальнейшее изучение новой тест-системы ИФА в схемах диагностики бруцеллеза в сравнении с общепринятыми диагностическими методами (2800 проб) у КРС, в т.ч. привитого живыми слабоагглютиногенными вакцинами, с разными эпизоотическими характеристиками показало ее диагностическую эффективность и специфичность.

С учетом вышеизложенного, принципиально важно в дифференциально-диагностических исследованиях КРС, привитого слабоагглютиногенными вакцинами (в частности, широко применяющейся в РФ вакциной из шт.82), проводить дополнительные исследования животных с положительными и сомнительными показаниями ИФА (подтвержденными положительными и сомнительными РА и РСК с официальным единым бруцеллезным S-диагностикумом), в целях более объективной групповой оценки эпизоотического статуса стад по бруцеллезу, в РИД с официальным О-ПС антигеном, а также в РСК с R-антигеном.

Если при выявлении реагирующих животных с положительными и даже сомнительными показаниями ИФА (с подтверждением или неподтверждением реагирования в РА и РСК) в неблагополучных по бруцеллезу стадах среди неиммунизированного скота целесообразна сдача их на убой в полном объеме, то при исследовании вакцинированного скота с помощью дополнительных дифференциальных методов (РИД, РСК с R-антигеном) в случае подтверждения бруцеллезной инфекции сдача всех реагирующих животных целесообразна, а в случае ее исключения и признания поствакцинального характера реакций – нецелесообразна.

Таким образом, результаты комплексного изучения эффективности ИФА с новой тест-системой для скрининговой экспресс-диагностики крупного бруцеллеза рогатого скота, в том числе в условиях его иммунизации живыми противобруцеллезными вакцинами, показали перспективы его широкого внедрения в ветеринарную практику. Разработанная тест-система ИФА перспективна для применения в качестве скрининговой при массовых исследованиях КРС на бруцеллез, в т.ч. в условиях их иммунизации (что выделяет ее среди других тест-систем ИФА), обеспечивая возможность прибегать к классическим методам исследований – РА и РСК, а также дополнительным дифференциальным методам (РИД с О-ПС антигеном и РСК с R- антигеном) лишь при переисследовании реагирующих в ИФА.

ИФА с О-ПС антигеном. В целях дифференциальной экспресс-диагностики бруцеллеза крупного рогатого скота изучена новая методика постановки ИФА, отличающаяся от общепринятой тем, что для исследования каждой сыворотки крови использовали две лунки полистирольного планшета с сорбированным на их поверхность антигеном, изготовленным из *B. abortus* 19. При этом во вторую из них для конкурентного анализа дополнительно вносили ОП-С антиген (входящий в официально утвержденный и выпускаемый НПЦ «ВетБиоТест» диагностический набор РИД) в количестве, эквивалентном антигену, сорбированному на поверхность лунок планшета. В качестве универсального конъюгата применяли препарат, изготовленный на основе рекомбинантного белка G.

При интерпретации результатов соотношение показателей оптической плотности, измеряемой отдельно в лунке, содержащей О-ПС антиген (конкурентный иммуноферментный анализ) и лунке, не содержащей О-ПС антиген (классический иммуноферментный анализ), выразили в процентах и определили в качестве коэффициента степени эпизоотической опасности (К.эо) по бруцеллезу животного, от которого получен исследованный образец сыворотки крови.

К.эо составлял при отрицательной РИД с О-ПС антигеном $0 \leq K \leq 60$, а при положительной – $61 \leq K \leq 100$ и выше.

Полученные результаты свидетельствуют о возможности использования ИФА в предлагаемом варианте (время постановки и учета реакций – 2 часа) вместо официально принятой РИД с О-ПС антигеном, на постановку и учет которой уходит до 48 часов.

Таким образом, получены результаты, свидетельствующие о перспективах использования в качестве экспресс-метода у КРС ИФА с О-ПС антигеном по специально разработанной методике, более эффективного, чем официально принятая для этих целей РИД с О-ПС антигеном. Материалы являются новыми.

Изучение новых схем получения бруцеллезных антивидовых моноспецифических сывороток anti-abortionus и anti-melitensis. Изучали различные схемы получения антивидовых моноспецифических сывороток, необходимых в бактериологической диагностике бруцеллеза, на основе использования убитых культур бруцелл в сочетании с масляным адьювантом MONTANIDE™ ISA 61 VG (производитель – фирма «SEPPIC», Франция).

Было установлено, что сыворотки anti-melitensis и anti-abortionus, полученные от кроликов по схемам, предусматривающим их однократную подкожную гипериммунизацию инактивированными культурами бруцелл соответственно видов melitensis и abortionus в дозах 200 млн. м.к. в смеси с масляным адьювантом MONTANIDE™ ISA 61 VG (60 % адьюванта и 40 % водной среды антигена), и адсорбированные взвесью бруцелл гетерологичных видов, сохранили свою активность (РА в разведении не ниже 1:160) в течение не менее 6 месяцев после

их получения из крови, взятой через 21, 28, 35 и 60 дней после гипериммунизации. Сыворотки, полученные при однократной внутривенной гипериммунизации живыми культурами бруцелл видов *melitensis* и *abortus* без адьюванта при обескровливании животных-продуцентов через 5-7 дней после внутривенной иммунизации кроликов живыми культурами бруцелл соответствующего вида, теряли диагностическую активность в течение 28-35 дней.

Получение бруцеллезных антивидовых моноспецифических диагностических сывороток *anti-melitensis* и *anti-abortus* по описанным схемам позволяет снизить трудоемкость процесса, максимально повысить его противоэпидемическую безопасность, а также максимально повысить объем сыворотки, получаемой от одного животного, с более высокой активностью за счет многократного (не менее 4-х раз) взятия крови.

С учетом результатов, изложенных в предыдущих разделах диссертации, была разработана новая концепция оптимизации специфической профилактики и поствакцинальной диагностики бруцеллеза животных в современных эпизоотических и социально-экономических условиях.

Ведущая роль в ней принадлежит конъюнктивной иммунизации животных вакциной из штамма 19, так как она позволяет беспрепятственно осуществлять раннюю поствакцинальную диагностику с помощью комплекса РА+РСК и РИД с О-ПС антигеном.

Ранее противобруцеллезные вакцины у МРС предусматривались в крупном общественном овцеводстве и козоводстве в целях создания в отарах непрерывного (перманентного) иммунитета. Однако многократные подкожные вакцинации препаратами с S-антигенной структурой в связи с реструктуризацией этих отраслей животноводства и возникновением частных мелких хозяйств, где все половозрастные группы содержатся вместе, потеряли свой практический смысл из-за исчезнувшей возможности осуществлять планомерную дифференцированную ротацию скомпрометированных животных, что привело к их длительной передержке. Это обстоятельство усугубилось отсутствием экономической мотивации к их сдаче на убой. Выявление скрытого

бруцеллоносительства оказалось невозможным из-за S-антигенности вакцинного происхождения, которую нельзя надежно дифференцировать от постинфекционной.

Это и послужило основанием предложить многократную конъюнктивальную иммунизацию МРС вакциной из штамма 19 в дозе 4 млрд. м.к., открывающую возможность проводить поствакцинальные исследования в РА, РСК и РИД с О-ПС антигенами (из *V. abortus* – А-антиген и *V. melitensis* – М-антиген) уже через 3-4 месяца. В экспериментах была доказана высокая иммуногенность вакцины при многократном использовании животным по вышеуказанной схеме.

В одном из регионов РФ в 2003-2008 годах на территории со сложной эпизоотической и эпидемической ситуацией по бруцеллезу осуществили ежегодные конъюнктивальные прививки МРС вакциной из штамма 19 в дозе 4 млрд. м.к., за счет чего открылась возможность выявления скрытых бруцеллоносителей серологическими методами, в т.ч. с помощью РИД с О-ПС антигеном.

Если в 2002 году было зарегистрировано 15 активно действующих эпизоотических очагов, с которыми были связаны 32 случая заболевания людей острым бруцеллезом (из 54 случаев, зарегистрированных в 2002 году в целом по республике), то в 2007 году – только один с 7 случаями заболевания людей острым бруцеллезом.

В 14 старых эпизоотических очагах мелкого рогатого скота (6000 гол.) заболеваемость людей не проявилась в течение 2008 г. и даже нескольких предыдущих лет. При этом их купирование осуществляли с использованием конъюнктивального метода иммунизации и проведения дальнейших комплексных поствакцинальных исследований. К этому времени удалось довести количество выделяемых реагирующих животных до единичного и даже получить в некоторых отрицательные результаты.

Иными словами, эпидемическая ситуация по бруцеллезу была стабилизирована главным образом за счет массовых иммунизаций и

реиммунизаций в 2003-2008 годах против бруцеллеза восприимчивого неблагополучного и угрожаемого поголовья МРС вакциной из штамма 19 конъюнктивальным методом в сочетании с выявлением в активно действующих очагах с помощью диагностического комплекса, и прежде всего РИД с О-ПС антигеном, наиболее опасных в эпизоотическом отношении животных, являющихся источниками заболевания людей, и их убоем.

В другом регионе с повышенными эпизоотическими и эпидемическими рисками с 2008 года по согласованию с Департаментом ветеринарии МСХ РФ стал широко использоваться конъюнктивальный метод иммунизации МРС против бруцеллеза.

У здорового МРС (1000 гол), привитого вакциной из штамма 19 конъюнктивально в дозе 4 млрд. м.к. в 6 отарах (перед иммунизацией реагирующих РА, РСК и РИД не было) через 4 месяца после прививки титры РА и РСК не превышали 100 МЕ и 1:10 у 0,4 % и 0,8 %; реагирующих в РИД не было.

Безвредность этого метода иммунизации доказана в 2008-2009 годах на поголовье более 80 тыс. гол., при этом никаких поствакцинальных осложнений не отмечено.

Хронометраж показал, что процесс иммунизации овец конъюнктивальным методом, при соответствующей организации процесса более быстрый (в 1,5 раза), чем подкожным, простой и надежный.

При подкожном методе введения вакцины овцам нередко могут возникать поствакцинальные осложнения, а также ситуации, когда вакцина при нарушениях техники ее введения под кожу животным не попадает.

Если в 2008 году конъюнктивальной иммунизации было подвергнуто 36914 гол. мелкого рогатого скота, то в последующие 2009-2013 годы иммунизируемое этим методом поголовье составляло 44700-65131 гол. Вспышки бруцеллеза мелкого рогатого скота возникали в течение 2009-2013 годов только среди неиммунного к возбудителю бруцеллеза поголовья. В одном же из районов, где от вакцинации указанным методом отказались, на неиммунном поголовье овец наблюдали острые вспышки бруцеллеза (в 2009 году – 4, в 2010 – 7, в 2011 – 3, в

2012 – 3, в 2013 году – 3), при этом в эпизоотических очагах отметили заболеваемость бруцеллезом людей.

При бруцеллезе крупного рогатого скота. Стабильно высокий долгосрочный иммунитет у крупного рогатого скота оказался в новых эпизоотических, эпидемических и социально-экономических условиях особенно необходимым. Его создание на основе живых вакцин из диссоциированных штаммов 82 и 75/79-АВ, стало нетехнологичным в мелких общественных и частных хозяйствах, в которых затруднено строгое разделение половозрастных групп и формирование однородных в возрастном, эпизоотическом и иммунном отношении маточных гуртов. Усугубилась ситуация с поствакцинальными реакциями, усложняющими объективную диагностику бруцеллеза животных.

При серологическом обследовании 208 животных в одном из неблагополучных по бруцеллезу хозяйств у 28 из них в сыворотке обнаружили специфические агглютинирующие и комплементсвязывающие антитела в высоких титрах, а в 3 случаях – преципитины к О-ПС антигену. Положительно реагировавший скот убили. Оставшееся поголовье (180 гол) конъюнктивно иммунизировали вакциной из штамма 19 в дозе 8 млрд. м.к. Через 1,5 месяца благодаря провоцирующим свойствам вакцины удалось выделить и отправить на убой большое количество (32,3 %) скрытых бруцеллоносителей. При последующем исследовании, проведенном через 15 дней, количество эпизоотически опасных животных сократилось более чем в 5 раз.

Таким образом, из приведенных данных очевидна необходимость практической реализации предлагаемой концепции в масштабах страны как у мелкого, так и крупного рогатого скота.

4. ВЫВОДЫ

1. Эффективный контроль эпизоотического процесса бруцеллеза не возможен без перманентного (непрерывного) иммунитета в неблагополучных и угрожаемых стадах (отарах) и ранней поствакцинальной диагностики. Живые инагглютиногенные вакцины недостаточно иммуногенны, агглютиногенные – при официальных дозах и методе введения препятствуют диагностике. Живые слабоагглютиногенные вакцины из штаммов 82 и 75/79-AB, обеспечивая приемлемые иммунитет и диагностику, достаточно технологичны, но при формировании гуртов из однородного в половозрастном, эпизоотическом и иммунном отношении поголовья.

2. У крупного рогатого скота, иммунизированного вакцинами из штаммов 82 и 75/79-AB, высокие титры РСК с R-антигеном при низких титрах РА и РСК с S-антигеном и отрицательной РИД с O-ПС антигеном, а также отсутствии эпизоотологических оснований являются объективным критерием благополучия таких стад по бруцеллезу. В ряде случаев у вакцинированных животных при наличии единичного реагирования в РА и/или РСК (200 МЕ и 1:20 и выше соответственно), и даже в РИД с O-ПС антигеном бруцеллез исключали не только эпизоотологически, но и бактериологически (возбудителя не выделяли).

3. Гетерогенные препараты (вакцины, диагностикумы и другие биологические средства) при введении крупному рогатому скоту, ранее иммунизированному против бруцеллеза (особенно многократно) живыми слабоагглютиногенными вакцинами, оказались способными в течение 1,5 и более месяцев стимулировать у части животных выработку бруцеллезных антител в РА и РСК (в том числе в высоких титрах) и даже в РИД с O-ПС антигеном. Благополучие стад по бруцеллезу подтверждалось эпизоотологически, угасанием поствакцинальных реакций (включая РИД) и отрицательными результатами бактериологических исследований.

4. Снижению уровня технологичности использования живых слабоагглютиногенных противобруцеллезных вакцин на крупном рогатом скоте

способствует реверсия вакцинных штаммов. Колонии в S-форме обнаружили в ряде серий вакцины из штамма 75/79-AB у 92,9-99,8 % из их общей структуры, а вакцины из штамма 82 – до 57,4 %. Кроме того, возрастание в них S-антигенности, усложняющей дифференциальную диагностику, возможно и в условиях мелких хозяйств при совместном содержании животных разных половозрастных групп и контактах вакцинированного и невакцинированного поголовья.

5. Инактивированные адъювант-вакцины, изготовленные на основе различных масляных адъювантов из бруцелл видов *abortus* и *melitensis* в S- и SR-формах, оказались нетехнологичными в результате проявления у животных высоких уровней (вплоть до 100 %) длительно сохраняющейся серопозитивности (РА, РСК, РИД с О-ПС антигеном) а из бруцелл в R-форме – по причине низкой иммуногенности (на уровне 20 % через 90 дней после иммунизации).

6. Конъюнктивальная иммунизация животных разных видов вакциной из штамма 19 в дозе, 1/10 от общепринятой подкожной, в экспериментах обеспечивает иммунитет у искусственному заражению вирулентными бруцеллами на уровне 77,8-80 %, подкожная – 88,9-100 %. Угасание РА и РСК у животных после конъюнктивальной иммунизации происходит, как правило, не позже чем через 3-4 месяца, РИД – значительно раньше (через 15-30 дней).

7. Экспериментальная модель купирования бруцеллезной инфекции, основанная на введении животным, искусственно зараженным бруцеллезом, антибактериального препарата Нитокс-200 в дозе 20 мг на кг живой массы при их обязательной последующей иммунизации через 8 дней вакциной из штамма 19 конъюнктивально в дозе 1/10 от общепринятой подкожной, обеспечила через 1 месяц полную элиминацию вирулентных бруцелл. Указанная модель при ее практической реализации открывает перспективы для ускорения оздоровления поголовья животных.

8. Положительная РИД с О-ПС антигенами, уступая показаниям РА и РСК, является индикатором эпизоотической опасности отары или стада. В очаге бруцеллеза, вызванного *B. melitensis*, число реагирующих в РИД с О-ПС М-

антигеном на фоне иммунизации МРС вакциной из штамма 19 подкожно превышало таковое с О-ПС А-антигеном в 1,9 раза, а конъюнктивально – в 3,3 раза. РИД с О-ПС А-антигеном способна оценивать активность проявления у КРС бруцеллеза, вызываемого *B. abortus*, даже в ранние сроки после иммунизации слабоагглютиногенными вакцинами.

9. У крупного рогатого скота, привитого слабоагглютиногенными вакцинами, в благополучных по бруцеллезу хозяйствах количество выявляемых животных с положительной РСК с R-антигенами превышало таковое с S-антигеном в 2,2-3,3 раза. При этом преимущества овисного антигена (изготовленного из природной R-формы – *B. ovis*) в дифференциальной оценке поствакцинальных реакций были в 1,5-4,6 раза выше, чем у R-антигена из *B. abortus*.

10. Разработанная тест-система ИФА специфична и перспективна для массовой скрининговой экспресс-диагностики бруцеллеза животных, даже в условиях вакцинации. Положительные и сомнительные показания ИФА в 21,1 % исследованных проб полностью совпали с выявленными с положительными и сомнительными РА и РСК, а также положительной РИД, а в 9,8 % – проявились на фоне их отрицательных показаний. В этой связи потребность в классических методах очевидна лишь при переисследовании реагирующих в ИФА проб.

11. При исследовании сывороток крови крупного рогатого скота неблагополучных по бруцеллезу стад (с естественным течением инфекции и на фоне вакцинации) положительные показатели ИФА, осуществленного с О-ПС антигеном по специально разработанной методике, позволяющей затрачивать на постановку и учет реакций 2 часа, полностью совпали с положительными показателями официально принятой РИД с О-ПС антигеном, на постановку и учет которой уходит 48 часов.

12. Получение бруцеллезных антивидовых моноспецифических диагностических сывороток anti-melitensis и anti-abortionus по новым схемам на основе однократной подкожной гипериммунизации кроликов инактивированными культурами бруцелл соответствующих видов в смеси с

новым масляным адъювантом MONTANIDE™ ISA 61 VG позволяет не только повысить и длительно сохранить их диагностическую активность, но и снизить трудоемкость процесса, максимально повысить его противоэпидемическую безопасность и объемы получаемых сывороток.

13. Разработана концепция оптимизации специфической профилактики и поствакцинальной диагностики бруцеллеза на основе технологичных схем использования различных средств и методов. Ведущая роль в ней принадлежит конъюнктивной иммунизации животных вакциной из штамма 19 в сочетании с рациональной диагностикой. С ее помощью в угрожаемом по бруцеллезу регионе в 2009-2013 годах удалось предотвратить массовое возникновение очагов бруцеллеза овец (тогда как за этот же период в одном из районов, где от конъюнктивной иммунизации овец отказались, произошло 20 острых вспышек инфекции). В неблагополучном по бруцеллезу регионе был купирован острый очаг бруцеллеза крупного рогатого скота, при этом число выявленных бруцеллоносителей за два поствакцинальных исследования (по сравнению с последним до вакцинации) снизилось в два раза.

5. ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

Результаты исследований использованы при разработке следующих нормативно-технических и научно-методических документов:

1. «Проект концепции по оптимизации противобруцеллезных мероприятий у мелкого и крупного рогатого скота, используемый при разработке системы профилактики и ликвидации бруцеллеза сельскохозяйственных животных на территории Российской Федерации» (письмо Департамента ветеринарии МСХ РФ № 25/1148 от 13 мая 2013 г.).

2. «Проект стратегии борьбы с бруцеллезом животных, используемый при подготовке нормативного правового акта, регламентирующего проведение противобруцеллезных мероприятий в современных условиях на территории Российской Федерации» (письмо Департамента ветеринарии МСХ РФ № 25/3377 от 23 ноября 2015 г.).

3. «Концепция обеспечения эпизоотического благополучия по бруцеллезу животноводческих хозяйств, входящих в корпорацию «Восток-Молоко» Восточно-Казахстанской области Республики Казахстан на основе использования в комплексе противобруцеллезных мероприятий у крупного рогатого скота рациональных схем специфической профилактики на долгосрочный период», утвержденная Комитетом ветеринарного надзора и контроля МСХ Республики Казахстан 16 марта 2017 г.

4. «Концепция оптимальной системы контроля эпизоотического процесса бруцеллеза мелкого рогатого скота в новых условиях овцеводства» (утв. подсекцией «Инфекционная патология животных в регионе Сибири и Дальнего Востока» отделения ветеринарной медицины Россельхозакадемии, протокол №3 от 14 сентября 2006 г.).

5. Методические рекомендации «Система контроля эпизоотического процесса бруцеллеза мелкого рогатого скота» (утв. секцией инфекционной патологии отделения ветеринарной медицины Россельхозакадемии, протокол №1 от 21 апреля 2009 г.).

6. Методические рекомендации «Эпизоотологическая диагностика – научно-методическая основа контроля эпизоотических процессов» (утв. подсекцией «Инфекционная патология животных в регионе Сибири и Дальнего Востока» отделения ветеринарной медицины Россельхозакадемии, протокол №3 от 19 мая 2010 г.).

7. Методические рекомендации «Основные принципы оптимизации противозооотических систем для современных эпизоотических и социальных условий» (утв. подсекцией «Инфекционная патология животных в регионе Сибири и Дальнего Востока» отделения ветеринарной медицины Россельхозакадемии, протокол №3 от 19 мая 2010 г.).

8. «Концепция контроля рисков возникновения и распространения эпизоотических очагов зооантропонозов» (утв. подсекцией «Инфекционная патология животных в регионе Сибири и Дальнего Востока» отделения ветеринарной медицины Россельхозакадемии, протокол №2 от 29 апреля 2011 г.).

9. «Концепция новых методов диагностики и специфической профилактики бруцеллеза животных» (утв. подсекцией «Инфекционная патология животных в регионе Сибири и Дальнего Востока» отделения ветеринарной медицины Россельхозакадемии, протокол №3 от 21 августа 2011 г.).

10. Методические рекомендации «Эффективные в условиях Казахстана противобруцеллезные мероприятия у крупного рогатого скота» (одобрены 12-13 февраля 2014 г. на международной научно-практической конференции «Научные и практические основы борьбы с бруцеллезом животных с участием руководства МСХ Республики Казахстан в качестве пилотного проекта и рекомендованы для широкого внедрения в Республике Казахстан).

11. Методическое пособие «Экспресс-диагностика бруцеллеза животных с использованием ИФА» (утв. подсекцией «Инфекционная патология животных в регионе Сибири и Дальнего Востока» отделения ветеринарной медицины Россельхозакадемии, протокол №3 от 19 ноября 2014 г.).

12. Методические положения «Рациональная схема купирования бруцеллезной инфекции у животных» (утв. подсекцией «Инфекционная патология

животных в регионе Сибири и Дальнего Востока» отделения ветеринарной медицины Россельхозакадемии, протокол №3 от 19 ноября 2014 г.).

13. Методические положения «Рациональная схема использования РИД с различными О-ПС антигенами в дифференциальной диагностике бруцеллезе животных» (утв. подсекцией «Инфекционная патология животных в регионе Сибири и Дальнего Востока» отделения сельскохозяйственных наук РАН, протокол №2 от 10 октября 2014 г.).

Перспективы дальнейшей разработки

Разработанная концепция оптимизации специфической профилактики и поствакцинальной диагностики бруцеллеза животных является приемлемой для современных условий ведения животноводства и основана на:

– рациональных схемах вакцинации, обеспечивающих в неблагополучных и угрожаемых популяциях животных непрерывный (перманентный) иммунитет и не препятствующих ранней диагностике в целях выявления бруцеллоносителей, спровоцированных вакциной;

– купировании бруцеллезной инфекции с помощью антибактериального средства в сочетании с вакцинацией в целях недопущения формирования эпизоотических вариантов возбудителей бруцеллеза;

– диагностике, обеспечивающей как групповую, так и индивидуальную экспресс-оценку эпизоотического статуса по бруцеллезу, максимальное выявление эпизоотически опасных животных и предотвращение сдачи на убой животных с вакцинной природой реакций.

Она имеет большие перспективы дальнейшего совершенствования по пути как повышения эффективности уже известных, так и поиска новых средств и методов контроля эпизоотического процесса бруцеллеза с соблюдением принципа их технологичности.

6. СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абиджанов, М.С. Применение противобруцеллезной вакцины из неагглютиногенного штамма «Невский-12» // Бруцеллез и туберкулез сельскохозяйственных животных: Материалы Международной конференции МЭБ (28 июня – 2 июля 1965 г.). – Москва. – 1967. – С. 175-179.
2. Авилов, В.М. Эпизоотологический надзор при бруцеллезе крупного рогатого скота в современных условиях: дис. ... д-ра ветеринар. наук: 16.00.03 / Авилов Вячеслав Михайлович. – Нижний Новгород, 1997. – 360 с.
3. Авилов, В.М. Эпизоотический процесс бруцеллеза крупного рогатого скота и перспективы девакации возбудителя этой инфекции / С.И. Джупина, К.М. Салмаков // Ветеринарный врач. – 2012. – № 5. – С. 2-4
4. Аливердиев, А.А. О самовыздоровлении крупного рогатого скота при бруцеллезе / А.А. Аливердиев // Ветеринария. – 1960 – № 4. – С.20.
5. Алимбекова, М.Е. Диагностика бруцеллеза сельскохозяйственных животных и инфекционного эпидидимита баранов в реакции агглютинации с помощью цветных антигенов: автореф. дис. ... канд. ветеринар. наук: 16.00.03 / Алимбекова Меруерт Ерболатовна. – Алматы, 2006. – 29 с.
6. Альбертян, М.П. Вакцина из штамма 19 при конъюнктивальном методе введения против бруцеллеза крупного рогатого скота / М.П. Альбертян, Р.П. Яраев // Тез. науч. конф. «Проблемы изыскания, синтеза и производства новых препаратов для ветеринарии». – Самарканд. – 1994. – С. 13.
7. Альбертян, М.П. Иммунологическая, патоморфологическая оценка эффективности противобруцеллезных вакцин и совершенствование средств и методов специфической профилактики бруцеллеза животных: автореф. дис. ... д-ра ветеринар. наук: 16.00.03 / Альбертян Мкртич Погосович. – Москва, 1996. – 50 с.
8. Альбертян, М.П. Проблемы и перспективы специфической профилактики бруцеллеза крупного рогатого скота живыми вакцинами / М.П. Альбертян [и др.] // Ветеринария и кормление. – 2014. – № 5. – С. 62-63.
9. Альбертян, М.П. Антигенные и иммуногенные свойства

слабоагглютиногенной вакцины против бруцеллеза животных / М.П. Альбертян [и др.] // Ветеринария. – 2015. – № 9. – С. 27-30

10. Анагону, С.И.Н. Особенности проявления и борьбы с бруцеллезом животных в странах Африканского континента / С.И.Н. Анагону, О.Д. Скляр, Ю.А. Ватников // В сборнике: Инновационные процессы в АПК Сборник статей V Международной научно-практической конференции преподавателей, молодых ученых, аспирантов и студентов. Общая редакция – декан аграрного факультета РУДН доктор сельскохозяйственных наук, профессор В.Г. Плющиков. – Москва. – 2013. – С. 136-137.

11. Анагону, С.И.Н. Особенности проявления бруцеллеза животных и борьбы с ним в странах африканского континента / С.И.Н. Анагону, О.Д. Скляр, Ю.А. Ватников // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Агрономия и животноводство. – 2013. – № 2. – С. 55-60.

12. Анагону, С.И.Н. Совершенствование противобруцеллезных мероприятий в условиях отгонно-пастбищного ведения животноводства Республики Бенин: автореф. дис. ... канд. ветеринар. наук: 16.00.03 / Анагону Сессине Ингрид Надин. – Москва, 2013. – 22 с.

13. Антонов, Б.И. Реакция иммунодиффузии в агаровом геле (РИД) с 0-ПС антигеном ИЭВСидВ при диагностике бруцеллеза крупного рогатого скота / Б.И. Антонов, К.В. Шумилов, О.Д. Скляр // Ветеринария. – 1994. – № 8. – С. 19-21.

14. Антонов, Б.И. Реакция иммунодиффузии в агаровом геле (РИД) с 0-ПС антигеном ИЭВСидВ при диагностике бруцеллеза крупного рогатого скота / Б.И. Антонов [и др.] // Ветеринария. – 1994. – № 11. – С. 19-22.

15. Аракелян, П.К. Диагностика бруцеллеза яков: автореф. дис. ... канд. ветеринар. наук: 16.00.03 / Аракелян Петрос Карапетович. – Новосибирск, 1986. – 19 с.

16. Аракелян, П.К. Дифференциация больных и вакцинированных против бруцеллеза овец // Ветеринария. – 1996. – № 11. – С. 10-13.

17. Аракелян, П.К. Дифференциация вакцинированных и больных бруцеллезом овец / П.К. Аракелян, Е.Б. Барабанова // Эпизоотология,

диагностика, профилактика и меры борьбы с болезнями животных: сб. научн. тр. СО РАСХН ИЭВСиДВ. – Новосибирск. – 1997. – С. 74-77.

18. Аракелян, П.К. Оптимизация противоэпизоотических мероприятий при заболеваниях, вызываемых у овец бруцеллами видов *melitensis* и *ovis*: автореф. дис. ... д-ра ветеринар. наук: 16.00.03 / Аракелян Петрос Карапетович. – Омск, 1997. – 38 с.

19. Аракелян, П.К. Результаты изучения РИД с О-ПС антигеном у овец, многократно привитых вакциной из штамма 19 / П.К. Аракелян [и др.] // Материалы международной научно-практической конференции: «Проблемы стабилизации и развития сельскохозяйственного производства Сибири, Монголии и Казахстана в XXI веке». – Новосибирск. – 1999. – С. 150-151.

20. Аракелян, П.К. Показания РИД с О-полисахаридным антигеном после иммунизации овец против бруцеллеза / П.К. Аракелян [и др.] // Ветеринария. – 2000. – № 1. – С. 29-30.

21. Аракелян, П.К. Способ диагностики мелкого рогатого скота / П.К. Аракелян [и др.] // Патент РФ № 2303458. – 2007.

22. Аракелян, П.К. РИД с О-ПС антигеном из *B. melitensis* для диагностики бруцеллеза у овец / П.К. Аракелян [и др.] // Ветеринария. – 2007. – № 3. – С. 23-25.

23. Аракелян, П.К. Результаты изучения РИД с О-полисахаридным антигеном у овец, многократно привитых вакциной из штамма 19 [Текст] / П.К. Аракелян, Е.Б. Барабанова, А.С. Димова [и др.] // В кн.: Проблемы стабилизации и развития сельскохозяйственного производства Сибири, Монголии и Казахстана в XXI веке. Международная научно-практическая конференция. – Новосибирск. 1999. – С. 150-151.

24. Аракелян, П.К. Влияние разных методов иммунизации овец вакциной из штамма 19 и кратности прививки на проявление серологических реакций (РА, РСК, РИД) [Текст] / П.К. Аракелян, И.А. Косилов, А.С. Димова [и др.] // В сб.: Инфекционная патология животных. ВНИИБТЖ. – Омск. 2001. – С. 77-80.

25. Аракелян, П.К. Экспериментальное изучение технологичности живой и инактивированной (с адьювантами) вакцин из штамма *B. melitensis* REV-1

[Текст] / П.К. Аракелян, А.С. Димова // В сб.: Аграрная наука Сибири, Монголии, Казахстана и Башкортостана – сельскому хозяйству. Труды 6-й международной научно-практической конференции. – Новосибирск. 2003. – С. 109-111.

26. Аракелян, П.К. Практическая реализация концепции оптимизации противобруцеллезных мероприятий у мелкого рогатого скота в Сибири [Текст] / П.К. Аракелян, И.А. Косилов, А.С. Димова [и др.]. // В сб.: Современные проблемы эпизоотологии. Материалы Международной научной конференции. – Новосибирск. 2004. – С. 20-23.

27. Аракелян, П.К. Экологическое обоснование эпизоотолого-эпизоотологического анализа эффективности противобруцеллезных мероприятий у мелкого рогатого скота (на примере Республики Тыва) [Текст] / П.К. Аракелян, Ю.С. Барановская, А.С. Димова // В сб.: Омская биологическая школа. Ежегодник, межвузовский сборник научных трудов. – Омск. 2005. – С. 108-111.

28. Аракелян, П.К. Сравнительная характеристика эпизоотических процессов и меры борьбы с заболеваниями, вызываемыми у овец бруцеллами видов *melitensis* и *ovis* [Текст] / П.К. Аракелян, И.А. Косилов, А.С. Димова [и др.] // Сиб. вест. с.-х. науки. – 2005. – № 2. – С. 12-15.

29. Аракелян, П.К. Концепция оптимальной системы контроля эпизоотического процесса бруцеллеза мелкого рогатого скота в новых условиях овцеводства [Текст] / П.К. Аракелян, В.Г. Ощепков, ... А.С. Димова [и др.] // Методические рекомендации – Омск, 2007. – 10 с.

30. Аракелян, П.К. Система контроля эпизоотического процесса бруцеллеза мелкого рогатого скота [Текст] / П.К. Аракелян, В.Г. Ощепков, ... А.С. Димова [и др.] // Методические рекомендации – Новосибирск, 2010. – 16 с.

31. Аракелян, П.К. Оптимизация противобруцеллезных мероприятий у мелкого рогатого скота [Текст] / П.К. Аракелян, О.В. Бондарева, ... А.С. Димова [и др.] // Достижения науки и техники АПК. – 2011. – № 9. – С. 72-75.

32. Аракелян, П.К. РНГА в массовой экспресс-диагностике бруцеллеза мелкого рогатого скота [Текст] / П.К. Аракелян, О.В. Бондарева, ... А.С. Димова [и др.]. // Ветеринария. – 2011. – № 11. – С. 62-68.

33. Аракелян, П.К. Оптимизация противобруцеллезных мероприятий у мелкого рогатого скота в современных эпизоотических и социально-экономических условиях [Текст] / П.К. Аракелян, С.К. Димов, ... А.С. Димова [и др.]. // Инфекционная патология животных: мат. Междунар. науч.-практ. конф., посвящ. 90-летию СибНИВИ-ВНИИБТЖ. – Омск, 2011. – С. 10-13.
34. Аракелян, П.К. Проблемы специфической профилактики бруцеллеза крупного рогатого скота с использованием живых слабоагглютиногенных вакцин [Текст] / П.К. Аракелян, Е.Б. Барабанова, ... А.С. Димова [и др.]. // Ветеринария. – 2012. – № 11. С. 6-9.
35. Аракелян, П.К. Концепция новых методов диагностики и специфической профилактики бруцеллеза животных [Текст] / П.К. Аракелян, С.К. Димов, ... А.С. Димова [и др.]. // Методические положения – Омск, 2012. – 16 с.
36. Аракелян, П.К. Антигенные свойства разных серий живых вакцин из диссоциированных штаммов бруцелл [Текст] / П.К. Аракелян, Е.Б. Барабанова, ... А.С. Димова [и др.]. // Сиб. вест. с.-х. науки. – 2013. – № 1. – С. 68-71.
37. Аракелян, П.К. Оценка активности очагов бруцеллеза мелкого рогатого скота с помощью РИД [Текст] / П.К. Аракелян, О.В. Бондарева, С.К. Димов, А.С. Димова [и др.]. // Ветеринария. – 2013. – № 2. – С. 19-20.
38. Аракелян, П.К. Оптимизация мероприятий при бруцеллезе сельскохозяйственных животных в современных условиях [Текст] / П.К. Аракелян, С.К. Димов // Ветеринария. – 2013. – № 4. – С. 23-27.
39. Аракелян, П.К. Экспериментальная лабораторная модель купирования бруцеллезной инфекции [Текст] / П.К. Аракелян, О.В. Бондарева, ... А.С. Димова [и др.]. // Ветеринария. – 2013. – № 8. – С. 29-31.
40. Аракелян, П.К. Противоэпизоотическая и противоэпидемическая эффективность рациональных схем специфической профилактики и поствакцинальной диагностики бруцеллеза мелкого рогатого скота [Текст] / П.К. Аракелян, О.В. Бондарева, ... А.С. Димова [и др.]. // Достижения науки и техники АПК. – 2013. – № 1. – С. 36-39.

41. Аракелян, П.К Патент 2501567 Российская Федерация, А61К 39/10. Способ профилактики бруцеллеза животных [Текст] / Аракелян П.К., Бондарева О.В., Барабанова Е.Б., Димов С.К., Димова А.С.; заявитель и патентообладатель Государственное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский институт бруцеллеза и туберкулеза животных. – № 2012142934/15; заявл. 15.08.2012; опубл. 20.12.2013, Бюл. № 35.

42. Аракелян, П.К. Агглютиногенные и иммуногенные свойства разных вариантов вакцин из штамма *B. abortus* 19 при разных схемах применения [Текст] / П.К. Аракелян, Е.Б. Барабанова, ... А.С. Димова [и др.]. // Ветеринария. – 2014. – № 8. – С. 23-24.

43. Аракелян, П.К. Эпизоотическая оценка стад крупного рогатого скота, иммунизированного живыми слабоагглютиногенными вакцинами, по бруцеллезу [Текст] / П.К. Аракелян, Г.В. Разницына, ... А.С. Димова [и др.]. // Ветеринария. – 2014. – № 1. – С. 23-27.

44. Аракелян, П.К. Агглютиногенные и протективные свойства разных вариантов адъювант-вакцин против бруцеллеза [Текст] / П.К. Аракелян, Е.Б. Барабанова, ... А.С. Димова [и др.]. // Ветеринария. – 2014. – № 4. – С. 24-27.

45. Аракелян, П.К. Патент 2518308 Российская Федерация, А61К 39/10. Способ дифференциальной эпизоотической оценки по бруцеллезу стад крупного рогатого скота, иммунизированного живыми вакцинами из диссоциированных штаммов бруцелл [Текст] / Аракелян П.К., Разницына Г.В., Барабанова Е.Б., Димов С.К., Димова А.С.; заявитель и патентообладатель Государственное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский институт бруцеллеза и туберкулеза животных. – № 2012139953/10; заявл. 18.09.2012; опубл. 10.06.2014, Бюл. № 16.

46. Аракелян, П.К. Роль R-антигенов в дифференциальной поствакцинальной диагностике бруцеллеза крупного рогатого скота, иммунизированного живыми слабоагглютиногенными вакцинами [Текст] / П.К. Аракелян, Г.В. Разницына, ... А.С. Димова [и др.]. // Достижения науки и техники АПК. – 2015. – № 4. – С. 63-66.

47. Аракелян, П.К. Конъюнктивная иммунизация мелкого рогатого скота живой вакциной из штамма *B. abortus 19* [Текст] / П.К. Аракелян, С.К. Димов, А.С. Димова [и др.]. // Ветеринария. – 2015. – № 3. – С. 17-21.

48. Аракелян, П.К. Особенности контроля эпизоотического процесса бруцеллеза на неблагополучных и угрожаемых территориях с круглогодичным пастбищным содержанием животных [Текст] / П.К. Аракелян, Е.Г. Бондарев, ... А.С. Димова [и др.]. // Современные проблемы пастбищного животноводства в аридной зоне центрально-азиатского региона: Материалы международн. научно-практич. конференции – Кызыл, 2015. – С. 40-44.

49. Аракелян, П.К. Рациональная схема купирования бруцеллезной инфекции у животных [Текст] / П.К. Аракелян, Е.Б. Барабанова, ... А.С. Димова [и др.]. // Методические положения – Омск, 2015. – 11 с.

50. Аракелян, П.К. Рациональная схема использования РИД с различными О-ПС антигенами в дифференциальной диагностике бруцеллеза животных [Текст] / П.К. Аракелян, Е.Г. Бондарев, ... А.С. Димова [и др.]. // Методические положения – Омск, 2015. – 23 с.

51. Аракелян, П.К. Диагностическая ценность РИД с разными О-ПС антигенами при бруцеллезе крупного рогатого скота [Текст] / П.К. Аракелян, Г.В. Разницына, ... А.С. Димова [и др.] // Ветеринария. – 2016. – № 7. – С. 25-29.

52. Аракелян, П.К. Поиск рациональных схем специфической профилактики бруцеллеза крупного рогатого скота [Текст] / П.К. Аракелян, Т.А. Янченко, ... А.С. Димова [и др.]. // Ветеринария. – 2016. – № 10. – С. 14-18.

53. Аракелян, П.К. Сравнительное изучение иммуногенных свойств живых вакцин из штаммов *B. abortus 19*, 82 и RB-51 в опыте на морских свинках [Текст] / П.К. Аракелян, Т.А. Янченко, ... А.С. Димова [и др.]. // Ветеринария. – 2017. – № 7. – С. 18-20.

54. Аракелян, П.К. Патент 2613901 Российская Федерация, А61К 39/10, А61К 39/395, А61Р 31/00. Способ получения бруцеллезной моноспецифической сыворотки anti-melitensis [Текст] / Аракелян П.К., Разницына Г.В., Димов С.К., Димова А.С.; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное

бюджетное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский институт бруцеллеза и туберкулеза животных. – № 2016101290; заявл. 18.01.2016; опубл. 21.03.2017, Бюл. № 9.

55. Аракелян, П.К. Патент 2639127 Российская Федерация, GO1N 33/48. Способ получения бруцеллезной моноспецифической сыворотки anti-abortus [Текст] / Аракелян П.К., Разницына А.В., Янченко Т.А., Димов С.К., Димова А.С.; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский институт бруцеллеза и туберкулеза животных. – № 2016115897; заявл. 22.04.2016; опубл. 19.12. 2017, Бюл. № 35.

56. Аракелян, П.К. Новые бруцеллезные антивидовые моноспецифические сыворотки anti-abortus и anti-melitensis [Текст] / П.К. Аракелян, Т.А. Янченко, ... А.С. Димова [и др.] // Достижения науки и техники АПК. – 2018. – № 1 – С. 43-47.

57. Аманжол, Р. Совершенствование профилактических и оздоровительных мероприятий против бруцеллеза сельскохозяйственных животных (с помощью антибактериальных препаратов и иммуностимулятора): автореф. дис. ... канд. ветеринар. наук: 16.00.03 / Аманжол Рафилбек. – Алматы, 2008. – 27 с.

58. Арзамбетов, Д.Е. Оптимизация дозы противобруцеллезных вакцин из штаммов *B.abortus* 19, 104М и *B.melitensis* Rev-1 для иммунизации коз: автореф. дис. ... канд. ветеринар. наук: 16.00.03 / Арзамбетов Даруш Ережепович. – А-Ата, 1990. – 24 с.

59. Аскерова, С.А. Получение, характеристика и применение поли-Б антигена из бруцелл для дифференциации поствакцинальных и постинфекционных антител: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.07 / Аксерова Севиль Акрам гызы. – Москва, 1988. – 22 с.

60. Аубекерова, Л.С. Технология получения флуоресцентной бруцеллезной сыворотки и ее диагностическая ценность: автореф. дис. ... канд. ветеринар. наук: 06.02.02 / Аубекерова Лаура Сатаквна. – Алматы, 2010. – 31 с.

61. Бажин, М.А. Особенности первичного и вторичного иммунных ответов в связи с возрастом телят и дозой бруцелл: автореф. дис. ... канд. ветеринар. наук:

16.00.03 / Бажин Михаил Аристоклевиц. – Троицк, 1974. – 21с.

62. Бакулов, И.А. Эпизоотический процесс: теоретические аспекты проблемы / И.А. Бакулов, В.В. Макаров // Вестник с.-х. науки. – 1986. – № 11. – С. 111-117.

63. Барамова, Ш.А. Эрнтроцитарные антительные диагностикумы для индикации S- и R-форм бруцелл: автореф. дис. ... канд. ветеринар. наук: 16.00.03 / Барамова Шолпан Аузаровна. – Новосибирск, 1988. – 23с.

64. Белобаб, В.И. Эффективность и реактогенность компонентной вакцины КазНИВИ против бруцеллеза животных в экспериментальных условиях / В.И. Белобаб, В.В. Тен, К.А. Кашкинбаев // Профлактика и ликвидация заболеваний с.-х. животных бруцеллезом и туберкулезом в Казахстане. – Алма-Ата. – 1989. – С.10-15.

65. Белобаб, В.И. Пути совершенствования диагностики и профилактики бруцеллеза у животных: автореф. дис. ... д-ра ветеринар. наук: 16.00.03 / Белобаб Виктор Иванович. – Алматы, 1998. – 52 с.

66. Белозерова, Г.А. Получение и испытание живой вакцины против бруцеллеза из штамма 82-ПЧ: автореф. дис. ... д-ра ветеринар. наук: 16.00.03 / Белозерова Галина Александровна. – Казань, 1993. – 38 с.

67. Бельченко, В.Б. Роз-бенгал проба при диагностике бруцеллеза у крупного рогатого скота / В.Б. Бельченко, С.Е. Сайдашева // Вестник с.-х. науки Казахстана. – 1981. – № 5. – С. 68.

68. Бельченко, В.Б. Итоги производственного испытания вакцины из штамма 82 в хозяйствах Карагандинской области / В.Б. Бельченко, Н.А. Рождественская // Совершенствование ветмероприятий в борьбе с инфекционными болезнями сельскохозяйственных животных в Казахстане. – Алма-Ата. – 1981 (1982). – С. 62-73.

69. Беляков, В.Д. Эпидемический процесс (теория и метод изучения) / В.Д. Беляков. – Л.: Медицина, 1964. – 244 с.

70. Беляков, В.Д. Проблема саморегуляции паразитарных систем и механизм развития эпидемического процесса / В.Д. Беляков // Вест. АМН СССР. –

1983. – № 5. – С. 3-9.

71. Беляков В.Д. Саморегуляция паразитарных систем (молекулярно-генетические механизмы) / В.Д. Беляков [и др.] – Москва, 1987. – 287 с.

72. Беляков, В.Д. Эпидемиология. / В.Д. Беляков, Р.Х. Яфаев. – М.: Медицина, 1989. – 416 с.

73. Блинкова, Д.Л. Бактериофагия в связи с изменчивостью бруцелл: автореф. дис. ... канд. ветеринар. наук: 16.00.03 / Блинкова Дора Леонидовна. – Новосибирск, 1989. – 17 с.

74. Бобылев, А.Н. Профилактическая и противоэпизоотическая эффективность адьювант-вакцины из штамма *Brucella abortus* КВ 17/100 против бруцеллеза крупного рогатого скота: дис. ... канд. ветеринар. наук: 16.00.03 / Бобылев Анатолий Николаевич. – Москва, 2001. – 156 с.

75. Бойко, А.А. Практика искоренения бруцеллеза в СССР / А.А. Бойко // Бруцеллез и туберкулез сельскохозяйственных животных: Материалы Международной конференции МЭБ (28 июня – 2 июля 1965 г.). – Москва. – 1967. – С. 18-27.

76. Бровик, Е.А. Реактогенность овец при различных способах иммунизации вакциной из штамма *V.melitensis* Rev-1 / Е.А. Бровик // Бюл. ВИЭВ. – 1990. – вып. 75. – С. 25-27.

77. Бровик, Е.А. Иммунологическая реактивность овец при различных методах введения вакцины из штамма *Brucella melitensis* Rev-1: автореф. дис. ... канд. ветеринар. наук: 16.00.03 / Бровик Елена Александровна. – Москва, 1991. – 23 с.

78. Бронников, В.С. Сравнительная оценка антигенных комплексов бруцелл / В.С. Бронников // Бруцеллез с.-х. животных: сб. науч. тр. ВАСХНИЛ. ВНИИБТЖ. – Омск. – 1989. – С. 12-16.

79. Бронников, В.С. Испытание химически модифицированных вакцин против бруцеллеза в эксперименте на крупном рогатом скоте / В.С. Бронников, М.И. Петрова // Пути совершенствования профилактики и диагностики бруцеллеза сельскохозяйственных животных: Сб. науч. тр. ВАСХНИЛ. ВНИИБТЖ. – Омск. – 1990. – С. 62-67.

80. Бронников, В.С. Зависимость иммуногенности антигенов от структуры липосом / В.С. Бронников // Пути совершенствования профилактики и диагностики бруцеллеза сельскохозяйственных животных: Сб. науч. тр. ВАСХНИЛ. ВНИИБТЖ. – Омск. – 1990. – С. 68-71.

81. Бронников, В.С. Получение липосомной противобруцеллезной вакцины / В.С. Бронников, Т.Р. Попова // Эпизоотология, диагностика и профилактика туберкулеза и бруцеллеза животных. – Новосибирск. – 1990. – С. 104-107.

82. Бронников, В.С. Изучение специфических иммуностимуляторов на разных видах животных при экспериментальное бруцеллезе / В.С. Бронников, А.А. Новицкий // Научное обеспечение мероприятия по профилактике и ликвидации туберкулеза и бруцеллеза с.-ж. животных. – Новосибирск. – 1991. – С. 94-98.

83. Бронников, В.С. Способ профилактики бруцеллеза крупного рогатого скота / В.С. Бронников [и др.] // Патент на изобретение RUS 2491091 11.01.2012. – 2012.

84. Вертелецкий, Л.Л. Ликвидация бруцеллеза крупного рогатого скота в областях, краях и автономных республиках Российской Федерации / Л.Л. Вертелецкий // Бруцеллез и туберкулез сельскохозяйственных животных: Материалы международной конференции МЭБ (28 июня – 2 июля 1965 г.). – Москва. – 1967. – С. 33-39.

85. Вершилова, П.А. Бруцеллез / П.А. Вершилова. – М.: Медицина, 1972. – 276 с.

86. Винокуров, Н.В. Особенности диагностической ценности реакции непрямой гемагглютинации при бруцеллезе северных оленей: автореф. дис. ... канд. ветеринар. наук: 06.02.02 / Винокуров Николай Васильевич. – Якутск, 2010. – 18 с.

87. Винокуров, Н.В. Особенности диагностической ценности реакции непрямой гемагглютинации при бруцеллезе северных оленей: дис. ... канд. ветеринар. наук: 06.02.02 / Винокуров Николай Васильевич. – Якутск, 2010. – 126 с.

88. Винокуров, Н.В. Реактогенные свойства и иммунологическая реактивность слабоагглютиногенных вакцин из штаммов *B.abortus* 75/79-AB и 82

для северных оленей / Н.В. Винокуров [и др.] // Известия Санкт-Петербургского государственного аграрного университета. – 2014. – № 36. – С. 79-81.

89. Винокуров, Н.В. К вопросу о бруцеллезе северных оленей в республике Саха (Якутия) / Н.В. Винокуров [и др.] // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2016. – № 1. – С. 54-58.

90. Винокуров, Н.В. Диагностика бруцеллеза северных оленей в условиях Крайнего Севера Российской Федерации: монография./ Н.В. Винокуров [и др.]. – Новосибирск: СибАК, 2017. – 184 с.

91. Виттоз, Р. Доклад Международного эпизоотического бюро об исследованиях по бруцеллезу животных, проведенных в научно-исследовательских учреждениях и ветеринарных лабораториях и принятых рекомендациях МЭБ по бруцеллезу и туберкулезу животных / Р. Виттоз // Бруцеллез и туберкулез сельскохозяйственных животных: Материалы междунар. конференции МЭБ (28 июня – 2 июля 1965 г.). – Москва. – 1967. – С. 9-17.

92. Вождаев, Н.С. Результаты испытания новых вакцин против бруцеллеза крупного рогатого скота в Киргизской ССР / Н.С. Вождаев, П.Ф. Бричук, А.И. Беляков // В сб.: Материалы Всесоюзной научной конференции. – Омск. – 1980. – С. 270-272.

93. Вольф, В.Т. Современные проблемы эпизоотологического зонирования [Текст] / В.Т. Вольф, С.К. Димов, А.С. Димова // Актуальные проблемы агропромышленного комплекса. Сборник трудов научно-практической конференции преподавателей, студентов, магистрантов и аспирантов, посвященный 80-летию Новосибирского ГАУ. Новосибирский государственный аграрный университет. 2016. – С. 307-309.

94. Воробьев, В.И. Опыт использования рациональных схем специфической профилактики и поствакцинальной диагностики бруцеллеза крупного рогатого скота в условиях хозяйств корпорации «Восток-Молоко» [Текст] / В.И. Воробьев, С.Ж. Сайлаубаев, ... А.С. Димова [и др.] // Интеграция науки и практики в обеспечении ветеринарного благополучия: Материалы междунардн. научно-

практич. конференции, посвященной 110-летию Казахского НИВИ – 2015. – С. 83-88.

95. Ворошилов, К.П. Изучение эпизоотического состояния, самовыздоровления и опыт ликвидации бруцеллезных изоляторов крупного рогатого скота в хозяйствах Новосибирской области: автореф. дис. ... канд. ветеринар. наук / Ворошилов Константин Порфильевич. – Фрунзе, 1965. – 19 с.

96. Вышелесский, С.Н. Частная эпизоотология / С.Н. Вышелесский. – М.: Сельхозгиг, 1948. – 616 с.

97. Вышелесский, С.Н. Итоги научно-исследовательских работ по бруцеллезу сельскохозяйственных животных в СССР за 30 лет / С.Н. Вышелесский // Избранные труды. – Москва. – 1977. – С. 165-182.

98. Габдуллина, Д.Н. Приготовление антительного диагностикума для выявления антигенемии у больных бруцеллезом / Д.Н. Габдуллина [и др.] // Стоматология. – 1988. – № 6. – С. 49-51.

99. Габдулдина, Д. Н. Патогенность циркулирующих иммунных комплексов у больных бруцеллезом / Д.Н. Габдулдина, Р.И. Розенсон, В.Л. Распопин // Здравеохранение Казахстана. – 1989. – № 7. – С. 48-50.

100. Гарин, Н.С. Некоторые методологические аспекты учения об эпидемическом процессе / Н.С. Гарин // ЖМЭИ. – 1987. – № 7. – С. 81-86.

101. Гарин, Н.С. Некоторые методологические аспекты теории саморегуляции паразитарных систем / Н.С. Гарин // ЖМЭИ. – 1988. – № 9. – С. 90-93.

102. Гафиятуллин, Н.К. Разработка и внедрение специальных ветеринарных мероприятий по профилактике и ликвидации бруцеллеза крупного рогатого скота на заключительном этапе оздоровления хозяйств (по материалам Самарской области): автореф. дис. ... канд. ветеринар. наук: 03.00.07, 16.00.03 / Гафиятуллин Наиль Карямович. – Казань, 2004. – 22 с.

103. Глотов, Г.Н. Значение ревакцинации и длительность иммунитета у овец привитых вакциной из штамма 19 / Г.Н. Глотов // Ветеринария. – 1969. – № 3. – С. 31-33.

104. Гордиенко, Л.Н. Биологические свойства L-вариантов *Brucella abortus*: дис. ... канд. ветеринар. наук: 16.00.03 / Гордиенко Любовь Николаевна. – Новосибирск, 1987. – 185 с.

105. Гордиенко, Л.Н. Свойства культур бруцелл, выделенных от крупного рогатого скота на территории Амурской области / Л.Н. Гордиенко, О.Г. Гертман // Област. науч.-практ. конф. «Ветеринария на службе производства». – Благовещенск. – 1988. – С. 17-20.

106. Гордиенко, Л.Н. Проявление инфекционного процесса у крупного рогатого скота, вызванного типичными и измененными формами бруцелл / Л.Н. Гордиенко // Достижения науки и техники АПК. – 2015. – Т.29. – № 3. – С. 56-58.

107. Гордиенко, Л.Н. Роль сибирских ученых в разработке и совершенствовании стратегии борьбы с бруцеллезом животных [Текст] / Л.Н. Гордиенко, П.К. Аракелян, ... А.С. Димова [и др.] // Ветеринария и кормление. – 2016. – № 2. – С. 34-37.

108. Гордиенко, Л.Н. Оптимизация системы противобруцеллезных мероприятий в северном оленеводстве на территории арктических регионов Российской Федерации / Л.Н. Гордиенко, Е.В. Куликова, Забродин В.А. // В сборнике: Проблемы и перспективы развития северного домашнего оленеводства и ее роль в сохранении традиционного образа жизни коренных малочисленных народов Севера, Сибири и Дальнего Востока Российской Федерации: материалы всероссийской научно-практической конференции в рамках мероприятий IV съезда оленеводов Российской Федерации. – Якутск. – 2017. – С. 128-132.

109. Гордиенко, Л.Н. Создание эпизоотического благополучия при разведении мясного скота калмыцкой породы / Л.Н. Гордиенко // В сборнике: Мясное скотоводство на засушливых территориях юга Средней Сибири: современное состояние и перспективы развития: материалы Межрегиональной научно-практической конференции с международным участием. ФГБНУ «Научно-исследовательский институт аграрных проблем Хакасии». – 2017. – С. 133-137.

110. Гордиенко, Л.Н. Сравнительная оценка способов оздоровления крупного рогатого скота от бруцеллеза / Л.Н. Гордиенко, Е.В. Куликова, А.Н. Новиков // В сборнике: Приоритетные направления развития образования и науки Сборник материалов II Международной научно-практической конференции. – 2017. – С. 89-92.

111. Гордиенко, Л.Н. Оценка иммунного статуса импортного крупного рогатого скота, оздоравливаемого от бруцеллеза / Л.Н. Гордиенко [и др.] // Ветеринария. – 2017. – № 2. – С. 19-22

112. Григорьева, Г.И. Инактивированные вакцины в профилактике бруцеллеза животных / Г.И. Григорьева, П.Е. Игнатов // Профилактика и лечение инфекционных и инвазионных заболеваний с.-х. животных в. Нечерноземье. – Горький. – 1988. – С. 16-21.

113. Григорьева, Г.И. Сравнительная иммуногенность бруцеллезной искусственной вакцины в условиях эксперимента / Г.И. Григорьева [и др.] // Достижения ветеринарной науки и передового опыта – животноводству Нечерноземной зоны РСФСР: Тез. докл. науч.-произв. конф. – Горький. – 1988. – С. 10-11.

114. Григорьева, Г.И. Изучение иммунных свойств бруцеллезной искусственной вакцины в условиях эксперимента. / Г.И. Григорьева [и др.] // Тез. докл. Всесоюз. конф. «Актуальные вопросы профилактики бруцеллеза и организация медицинской помощи больным» (Новосибирск, 24-25 октября, 1989). – Москва. – 1989. – С. 193-195.

115. Григорьева Г.И., Иммуноферментный анализ для обнаружения противобруцеллезных антител в сыворотке крови крупного рогатого скота / Г.И. Григорьева, А.А. Улицкая // Вест. с.-х. науки. – 1990. – № 2. – С. 86-91.

116. Григорьева, Г.И. Изучение иммуногенных свойств бруцеллезной искусственной вакцины в условиях эксперимента / Г.И. Григорьева [и др.] // В сб.: «Актуальные вопросы профилактики бруцеллеза и организации медицинской помощи больным» (г. Новосибирск, 24-25 октября, 1989). – Москва. – 1989. – С. 193-195.

117. Гринин, А.С. Иммунореакции, иммунитет и бруцеллоносительство у крупного рогатого скота, привитого вакциной из штамма 19: автореф. дис. ... канд. ветеринар. наук / Гринин Александр Сергеевич. – Омск, 1964. – 20 с.

118. Гринько, В.К. Изучение эффективности иммунизации крупного рогатого скота вакциной из штамма 19 в малой дозе / В.К. Гринько, Н.Х. Шевченко, К.В. Шумилов [и др.] // Тез. докл. Всесоюзн. конф. «Актуальные вопросы профилактики бруцеллеза и организация медицинской помощи больным» (г. Новосибирск, 24-25 октября, 1989). – 1989. – С. 169-170.

119. Гулюкин, М.И. Бруцеллез сельскохозяйственных животных в Российской Федерации / М.И. Гулюкин [и др.] // Ветеринария. – 2013. – № 6. – С. 23-28.

120. Гулюкин, М.И. Способ иммунизации животных против бруцеллеза / М.И. Гулюкин [и др.] // Патент на изобретение RUS 2554055 18.10.2013 – 2013.

121. Гулюкин, М.И. Способ снижения серопозитивности живых противобруцеллезных вакцин для сельскохозяйственных животных / М.И. Гулюкин [и др.] // Патент на изобретение RUS 2570630 24.07.2013 – 2013.

122. Гулюкин, М.И. Испытания слабоагглютиногенной вакцины против бруцеллеза сельскохозяйственных животных / М.И. Гулюкин [и др.] // Ветеринария. – 2014. – № 2. – С. 15-18.

123. Гулюкин, М.И. История вакцинопрофилактики бруцеллеза крупного рогатого скота в России / М.И. Гулюкин [и др.] // Ветеринария и кормление. – 2014. – № 5. – С. 50-52.

124. Гулюкин, М.И. Эффективность мероприятий, проводимых против бруцеллеза крупного рогатого скота, в Российской Федерации / М.И. Гулюкин [и др.] // Ветеринария. – 2016. – № 12. – С. 24-28.

125. Дарвишев, К.Д. Иммунобиологические особенности организма крупного рогатого скота, больного бруцеллезом и привитого вакциной из штамма *Brucella abortus bovis* № 19: автореф. дис. ... канд. ветеринар. наук / Дарвишев К.Д. – Самарканд, 1962. – 15 с.

126. Даулетьярова, А.С. Эффективные средства диагностики и профилактики бруцеллеза крупного рогатого скота: автореф. дис... канд. ветеринар. наук: 16.00.03 / Даулетьярова Айжан Сагитовна. – Алматы, 2008. – 29 с.

127. Девришов Д.А. Специфическая профилактика бруцеллеза мелкого рогатого скота/А.Д. Девришов [и др.]// Ветеринария. – 2009. - № 10. С.3-9.

128. Дегтяренко, Л.В. Совершенствование существующих и разработка новых средств, методов диагностики бруцеллеза животных и инфекционного эпидидимита баранов: автореф. дис. ... д-ра. ветеринар. наук: 16.00.03 / Дегтяренко Людмила Владимировна. – Новосибирск, 2005. – 40 с.

129. Дегтяренко, Л.В. Концептуальная схема оптимизации диагностики болезней, вызываемых у животных бруцеллами, и результаты ее практической реализации [Текст] / Л.В. Дегтяренко, В.Г. Ощепков, С.К. Димов, А.С. Димова // Сиб. вест. с.-х. науки. – 2005. – № 1. – С. 84-90.

130. Дегтяренко, Л.В. Дифференциальная экспресс-диагностика бруцеллеза крупного рогатого скота, иммунизированного вакциной из штамма В. abortus 82 / Л.В. Дегтяренко [и др.] // Инфекционная патология животных: мат. Междунар. научно-практ. конф., посв. 90-летию СибНИВИ-ВНИИБТЖ. – Омск. – 2011. – С. 36-40.

131. Дегтяренко, Л.В. Перспективность применения дифференциальных экспресс-тестов при диагностике бруцеллеза крупного рогатого скота / Л.В. Дегтяренко, О.Д. Складов // Достижения науки и техники АПК. – 2015. – Т.29. – № 4. – С. 58-60.

132. Дегтяренко, Л.В. Применение роз-бенгал пробы при дифференциальной поствакцинальной диагностике бруцеллеза крупного рогатого скота / Л.В. Дегтяренко, О.Д. Складов, И.Н. Каликин // Достижения науки и техники АПК. – 2015. – Т.29. – № 4. – С. 67-69.

133. Джупина, С.И. Методы эпизоотологического исследования и теория эпизоотического процесса / С.И. Джупина. – Новосибирск, 1991. – 138 с.

134. Джупина, С.И. Новые фундаментальные знания на службу профилактики инфекционных болезней животных / С.И. Джупина // Ветеринария. – 2006. – № 8. – С. 16-22.

135. Джупина, С.И. Эпизоотический процесс бруцеллёза КРС и перспективы девакации его возбудителя / С.И. Джупина // Ветеринарная патология. – 2013. – № 4 (46). – С. 97-105.

136. Джупина, С.И. Эпизоотический процесс бруцеллеза КРС и перспективы девакации возбудителя этой болезни / С.И. Джупина // Ветеринарная патология. – 2014. – № 4. – С. 97.

137. Джупина, С.И. Цикл развития *Brucella abortus* / С.И. Джупина // Инновации и продовольственная безопасность. – 2014. – № 3 (5). – С. 70-81.

138. Джупина, С.И. Экология – фундаментальная основа эпизоотического процесса / С.И. Джупина // Ветеринарная патология. – 2015. – № 2 (52). – С. 5-12.

139. Джупина, С.И. Роль L-формы бактерий в эпизоотическом процессе болезней продуктивных животных / С.И. Джупина // Ветеринарная патология. – 2016. – Т.3. – № 57. – С. 5-11.

140. Джупина, С.И. Цикл развития возбудителя бруцеллёза КРС / С.И. Джупина // Ветеринарная патология. – 2016. – Т.4. – № 58. – С. 5-9.

141. Димова, А.С. Проблемы эпизоотической оценки по бруцеллезу стад крупного рогатого скота, иммунизированного живыми слабоагглютиногенными вакцинами [Текст] / А.С. Димова, Н.И. Куренская, Г.М. Стеблева [и др.]. // Актуальные вопросы ветеринарной мкдицины: материалы одиннадцатой Сибирской ветеринарной конференции. – 2012. – С. 87-88.

142. Димова, А.С. Экспресс-метод массовой диагностики бруцеллеза животных на основе иммуноферментного анализа [Текст] / А.С. Димова, А.А. Сизов, С.К. Димов [и др.]. // Сиб. вест. с.-х. науки. – 2014. – № 4. – С. 84-90.

143. Димова, А.С. Эффективность диагностики бруцеллеза крупного рогатого скота в новой тест-системе ИФА [Текст] / А.С. Димова, С.К. Димов, А.А. Сизов [и др.]. // Ветеринария. – 2015. – № 8. – С. 18-20.

144. Димова, А.С. Эффективность диагностики бруцеллеза крупного рогатого скота в новой тест-системе ИФА [Текст] / А.С. Димова, С.К. Димов, А.А. Сизов [и др.] // Ветеринария. – 2015. – № 8. – С. 18-20.

145. Димова, А.С. Эффективность тест-системы ИФА IDEXX для серологической диагностики бруцеллеза КРС в невакцинированных против данной инфекции стадах [Текст] / А.С. Димова, Д.А. Сизов, А.В. Машнин, В.И. Воробьев // Ветеринария. – 2017. – №10. – С. 14-16.

146. Димов, К.С. Поствакцинальная диагностика бруцеллеза мелкого рогатого скота при различных схемах специфической профилактики: автореф. дис. ... канд. ветеринар. наук: 16.00.03 / Димов Константин Сергеевич. – Новосибирск, 2008. – 17 с.

147. Димов, С.К. Теория и практика управления эпизоотическим процессом бруцеллеза: дис. ... д-ра ветеринар. наук: 16.00.03 / Димов Сергей Константинович. – Новосибирск, 1993. – 330 с.

148. Димов, С.К. Проблема специфичности показаний РИД с О-ПС антигеном у животных, привитых противобруцеллезными вакцинами различных типов / С.К. Димов [и др.] // Зооантропонозные болезни, меры профилактики и борьбы: Материалы международной научно-практической конференции, г. Гродно 23-24 октября 1997 г. – Минск. – 1997. – С. 92-94.

149. Димов, С.К. Реализация концепции оптимизации противобруцеллезных мероприятий у крупного рогатого скота в Сибири [Текст] / С.К. Димов, В.Г. Ощепков, Л.В. Дегтяренко, А.С. Димова [и др.]. // В сб.: Современные проблемы эпизоотологии. Материалы Международной научной конференции. Новосибирск, 2004. – С. 66-69.

150. Димов, С.К. Практический опыт оптимизации системы противобруцеллезных мероприятий у мелкого рогатого скота в экстремальных эпизоотических, эпидемических и социально-экономических условиях [Текст] / С.К. Димов, П.К. Аракелян, ... А.С. Димова [и др.] // Вест. с.-х. науки Казахстана. – 2006. – № 6. – С. 40.

151. Димов, С.К. Итоги и перспективы научных исследований школы профессора Косилова И.А. по оптимизации системы контроля эпизоотического процесса бруцеллеза [Текст] / С.К. Димов, Г.М. Стеблева, А.С. Димова [и др.] // В сб.: Современные проблемы диагностики и профилактики хронических и зооантропонозных инфекций, материалы Всероссийской науч.-практ. конф., посвящ. памяти профессора И.А. Косилова. – Новосибирск, 2009. – С. 11-14.

152. Димов, С.К. Технологичность вакцин из штаммов *V. abortus* и *V. melitensis* Rev-1 при бруцеллезе овец [Текст] / С.К. Димов, А.С. Димова, Г.М. Стеблева [и др.] // В сб.: Актуальные вопросы ветеринарной медицины. Материалы II Сибирского ветеринарного конгресса. Новосибирский государственный аграрный университет, Институт ветеринарной медицины. – Новосибирск, 2010. – С. 325-326.

153. Димов, С.К. Историко-эволюционные аспекты оптимизации системы контроля эпизоотического процесса бруцеллеза в Сибири [Текст] / С.К. Димов, Н.И. Куренская, Г.М. Стеблева, А.С. Димова [и др.]. // В сб.: Актуальные вопросы ветеринарной медицины Сибири. Материалы Международной научно-практической конференции, посвященной 70-летию со дня основания Института экспериментальной ветеринарии Сибири и Дальнего Востока. – Новосибирск, 2010. – С. 13-27.

154. Димов, С.К. Современные проблемы контроля рисков возникновения и распространения эпизоотических очагов зооантропонозов [Текст] / С.К. Димов, А.С. Димова, Г.М. Стеблева [и др.] // Актуальные проблемы ветеринарной медицины: мат. X Сиб. ветеринарной конференции. – Новосибирск, 2011. – С. 23-24.

155. Димов, С.К. Оптимизация противобруцеллезных мероприятий у крупного рогатого скота в современных эпизоотических и социально-экономических условиях [Текст] / С.К. Димов, П.К. Аракелян, ... А.С. Димова [и др.] // Инфекционная патология животных: мат. Междунар. науч.-практ. конф., посвящ. 90-летию СибНИВИ-ВНИИБТЖ. – Омск, 2011. – С. 47-49.

156. Димов, С.К. Оптимизация противоэпизоотических и профилактических мероприятий при бруцеллезе крупного рогатого скота в современных условиях [Текст] / С.К. Димов, А.С. Димова, А.А. Сизов, П.К. Аракелян // Аграрная наука – сельскохозяйственному производству Сибири, Монголии, Казахстана и Болгарии: сб. науч. докладов XVII международн. научно-практич. конференции. – 2014. – С. 155-156.

157. Димов, С.К. Экспресс-диагностика бруцеллеза животных с использованием ИФА [Текст] /С.К. Димов, А.С. Димова, А.А. Сизов [и др.] // Методическое пособие – Новосибирск, 2014. – 21 с.

158. Димов, С.К. Современные проблемы специфической профилактики бруцеллеза животных [Текст] / С.К. Димов, А.С. Димова, В.И. Воробьев, П.К. Аракелян // Аграрная наука – сельскохозяйственному производству Сибири, Монголии, Казахстана, Белоруссии и Болгарии: сб. науч. докладов международн. научно-практич. конференции – 2015. – С. 236-238.

159. Димов, С.К. Современные проблемы управления эпизоотическим процессом бруцеллеза [Текст] / С.К. Димов, А.С. Димова, П.К. Аракелян // Актуальные вопросы ветеринарной медицины: Материалы XIV Сибирской ветеринарной конференции – 2015. – С. 28-31.

160. Димов, С.К. Современные проблемы управления эпизоотическим процессом бруцеллеза [Текст] / С.К. Димов, А.С. Димова, П.К. Аракелян // Актуальные вопросы ветеринарной медицины. Материалы XIV Сибирской ветеринарной конференции 3 апреля 2015 – Новосибирск, 2015. – С. 28-31.

161. Донченко, А.С. Современные проблемы эпизоотологического надзора при бруцеллезе в Сибири [Текст] / А.С. Донченко, С.К. Димов, ... А.С. Димова [и др.] // В сб.: Актуальные вопросы ветеринарной медицины. Материалы Сибирского Международного конгресса. Новосибирск, 2005. – С. 112.

162. Донченко, А.С. Концепция оптимизации системы научного обеспечения ветеринарного благополучия животноводства Сибири) [Текст] / А.С. Донченко, С.К. Димов, ... А.С. Димова [и др.] // В сб.: Актуальные проблемы

ветеринарного обеспечения животноводства Сибири. Сборник научных трудов ИЭВСиДВ. – Новосибирск, 2006. – С. 69-73.

163. Донченко, А.С. Эпизоотологическая диагностика – научно-методическая основа контроля эпизоотических процессов [Текст] / А.С. Донченко, С.К. Димов, ... А.С. Димова [и др.] // Методические рекомендации – Новосибирск, 2010. – 22 с.

164. Донченко, А.С. Основные принципы оптимизации противозпизоотических систем для современных эпизоотических и социальных условий [Текст] / А.С. Донченко, С.К. Димов, ... А.С. Димова [и др.] // Методические рекомендации – Новосибирск, 2010 – 22 с.

165. Донченко, А.С. Концепция контроля рисков возникновения и распространения эпизоотических очагов зооантропонозов [Текст] / А.С. Донченко, С.К. Димов, А.С. Димова [и др.] // Методические положения. – Новосибирск, 2011. – 21 с.

166. Достай, С.М. Противозпизоотическая эффективность конъюнктивального метода иммунизации мелкого рогатого скота против бруцеллеза вакциной из штамма 19 [Текст] / С.М. Достай, М.Ш. Арапчор, П.К. Аракелян, С.К. Димов, ... А.С. Димова [и др.] // В сб.: Эпизоотология, диагностика и профилактика хронических инфекционных заболеваний животных. Международная научная конференция, посвященная 175-летию аграрной науки Сибири. – Омск, 2003. – С. 235-239.

167. Достай, С.М. Технологичность живой вакцины из штамма V. abortus 19 овцах для иммунизации и реиммунизации в уменьшенной дозе при конъюнктивальном методе введения [Текст] / С.М. Достай, А.С. Димова, П.К. Аракелян, [и др.]. // В сб.: Аграрная наука Сибири, Монголии, Казахстана и Башкортостана – сельскому хозяйству. Труды 6-й международной научно-практической конференции. – Новосибирск, 2003. – С. 120-122.

168. Драновская, Е.А. Биологические свойства бруцелл и получение диагностического и профилактического антигена: автореф. дис. ... д-ра мед. наук: 03.00.07 / Драновская Елизавета Александровна. – Москва, 1976. – 46 с.

169. Драновская, Е.А. Изучение синтетических полимеров в качестве стимуляторов и пролонгаторов иммунного действия бруцеллезного протективного антигена / Е.А. Драновская, П.Е. Игнатов // Микробиология, эпидемиология и иммунобиология. – 1982. – № 3. – С. 69-73.

170. Драновская, Е.А. Экспериментальное изучение иммуногенности облученной бруцеллезной химической вакцины. / Е.А. Драновская, В.Е. Маликов, Н.А. Грекова // Разработка новых бактериальных вакцин. – М. – 1987. – С. 176-184.

171. Дроздов, В.Н. Социальное и биологическое в предмете эпидемиологии. / В.Н. Дроздов, М.Л. Лившиц, Е.Д. Логачев. – Кемерово, 1987. – 23 с.

172. Евграфов, Г.Г. Иммунологическая реактивность организма северных оленей при разных схемах реиммунизации слабоагглютиногенными вакцинами против бруцеллеза из штаммов *B. abortus* 82 и *B. abortus* 75/79-AB: автореф. дис. ... канд. ветеринар. наук: 06.02.02. / Евграфов Григорий Григорьевич. – Якутск, 2011. – 19 с.

173. Ельшина, Г.А. Оценка реактогенности и иммунологической эффективности экспериментально-производственной серий бруцеллезной химической вакцины / Г.А. Ельшина [и др.] // Тез. докл. Всесоюз. конф. «Актуальные вопросы профилактики бруцеллеза и организация медицинской помощи больным» (Новосибирск, 24-25 октября, 1989). – Москва. – 1989. – С. 145-147.

174. Есимова, Ж. Эпизоотология бруцеллеза верблюдов в Атырауской области: автореф. дис. ... канд. ветеринар. наук: 16.00.03 / Есимова Жумазия. – Алматы, 2008. – 25 с.

175. Жарова, Л.В. Эффективность конъюнктивального метода иммунизации овец против бруцеллеза вакциной из штамма 19: автореф. дис. ... канд. ветеринар. наук: 16.00.03. / Жарова Людмила Викторовна. – Новосибирск, 2002. – 20 с.

176. Жованик, П.Н. Бруцеллез / П.Н. Жованик, А.В. Демченко, Г.А. Божко – Киев: «Урожай», 1975. – 224 с.

177. Забродин, В.А. К вопросу о бруцеллезе диких животных Таймыра / В.А. Забродин // IX Междунар. конф. биологов охотоведов (1969): Тез. докл. –

Москва. – 1970. – С. 621-624.

178. Замурий, И.Р. О самовыздоровлении овец, пораженных бруцеллезом / И.Р. Замурий // Ветеринария. – 1949. – № 5. – С. 31-35.

179. Заседателява, Г.С. О возможности дифференциации вакцинированных против бруцеллеза животных от зараженных бруцеллезом / Г.С. Заседателява // тр. ВИЭВ. – Москва. – 1967. – Т. XXXIII. – С. 105-115.

180. Здродовский, П.Ф. Бруцеллез. / Здродовский П.Ф. – М.: Изд-во АМН СССР, 1948. – 232 с.

181. Иванов, А.А. Значение дозы и метода введения вакцины из штамма *B. melitensis* Rev-1 при иммунизации овец против бруцеллеза / А.А. Иванов // Современные методы борьбы с бруцеллезом и туберкулезом животных: сб. науч. трудов РАСХН Сиб. отд-ние. ВНИИБТЖ. – Новосибирск. – 1992. – С. 106-111.

182. Иванов, А.А. Сравнительная характеристика противозооотической эффективности некоторых противобруцеллезных вакцин в овцеводческих хозяйствах: автореф. дис. ... канд. ветеринар. наук: 16.00.03 / Иванов Алексей Александрович. – Омск, 1996. – 20 с.

183. Иванов, А.В. Состояние и перспективы специфической профилактики и ликвидации бруцеллеза крупного рогатого скота / А.В. Иванов, К.М. Салмаков, А.М. Фомин // Ветеринария. – 2013. – № 7. – С. 10-13.

184. Иванов, А.Д. Некоторые итоги и перспективы борьбы с бруцеллезом сельскохозяйственных животных в СССР / А.Д. Иванов // Тр. 34-го Пленума вет. секции. – Москва. – 1955. – С. 18-24.

185. Иванов, М.М. Диагностика бруцеллеза сельскохозяйственных животных и некоторые вопросы оценки бруцеллезных вакцин / Иванов М.М. // Бруцеллез и туберкулез сельскохозяйственных животных: Материалы Международной конференции МЭБ (28 июня – 2 июля 1965 г.). – Москва. – 1967. – С. 95-103.

186. Иванов, М.М. Диагностика и борьба с бруцеллезом / Иванов М.М. // По материалам 41 Ген. сессии МЭБ: тр. ГИКИ. – 1975. – Т.21. – С. 125-134.

187. Иванов, М.М. Итоги изучения вакцинных штаммов бруцелл / М.М. Иванов [и др.] // Сборник трудов ВГНКИ. – Москва. – 1977. – № 23. – С. 92-103.

188. Иванов, Н.П. Научные основы разработки диагностических препаратов из бруцелл: автореф. дис. ... д-ра ветеринар. наук: 16.00.03 / Иванов Николай Петрович. – Казань, 1984. – 43 с.

189. Игнатов, П.Е. Применение химической противобруцеллезной вакцины с целью профилактики заболевания, вызываемого *Br. ovis* / П.Е. Игнатов // Тр. ВИЭВ. – 1980. – Т.51. – С. 45-48.

190. Идрисов, Г.З. Патогенез и диагностика бруцеллеза сельскохозяйственных животных / Г.З. Идрисов, Л.И. Кудрякова // Диагностика, патоморфология, патогенез и профилактика болезней в промышленном животноводстве. – Саратов. – 1990. – Ч. 1. – С. 10-14.

191. Искандаров, М.И. Бруцеллез животных в России: эпизоотологические особенности и совершенствование специфической профилактики: автореф. дис. ... д-ра ветеринар. наук: 06.02.02 / Искандаров Марат Идрисович. – Москва, 2012. – 45 с.

192. Исхаков, О.З. Система мер борьбы с бруцеллезом животных в РСФСР и ее эффективность / О.З. Исхаков // Тез. докл. III Всесоюз. конф. по эпизоотологии. – Новосибирск. – 1991. – С. 17-19.

193. Исхаков, О.З. Роль и место вакцинации в системе противобруцеллезных мероприятий: автореф. дис. канд. ветеринар. наук: 16.00.03 / Исхаков Олег Зулиевич. – Ленинград, 1991. – 20 с.

194. Каликин, И.Н. Оценка диагностической эффективности РБП с S- и РА с R-бруцеллезными антигенами при бруцеллезе животных: автореф. дис. ... канд. ветеринар. наук: 06.02.02 / Каликин Игорь Николаевич. – Новосибирск, 2012. – 18 с.

195. Калинина, З.С. Изменение морфологии и тинкториальных свойств бруцелл в организме животных / З.С. Калинина, В.Г. Ощепков // Науч.-техн. бюл. ИЭВСиДВ. – 1978. – Вып. 12. – С. 11-15.

196. Канатбаев, С.Г. Бруцеллез коз (иммунобиологические показатели организма, диагностика и профилактика): автореф. дис. ... д-ра. ветеринар. наук: 16.00.03 / Канатбаев Серик Ганиевич. – Алматы, 2010. – 56 с.

197. Каракбаева, М.К. Диагностическая ценность некоторых современных методов диагностики бруцеллеза животных: автореф. дис. ... канд. ветеринар. наук: 16.00.03 / Каракбаева Маруерт Казыбаевна. – Алматы, 2010. – 31 с.

198. Каральник, Б.В. Бруцеллезный антительный эритроцитарный диагностикум из моноклональных антител / Б.В. Каральник [и др.] // ЖМЭИ – Москва. – 1991. – № 4. – С. 63-65.

199. Каркадиновская, И.А. Об экспериментальном бруцеллезе диких серых крыс / И. А. Каркадиновская // ЖМЭИ – Москва. – 1937. – Т.19. – Вып. 6. – С. 896-901.

200. Карлова, М.Ю. Разработка S- и R-бруцеллезных эритроцитарных диагностикумов, изучение их эффективности при бруцеллезе животных: автореф. дис. ... канд. ветеринар. наук: 06.02.02 / Карлова Мария Юрьевна. – Новосибирск, 2012. – 18 с.

201. Касымов, Т.К. Результаты сравнительного изучения реактогенных свойств противобруцеллезных вакцин из штаммов 53Н38, 45/20, 104М, и Rev-1 на баранах производителей / Т.К. Касымов // Методы и средства диагностики и лечения инфекционных болезней животных: Сб. науч. тр. ВГНКИ ветпрепаратов. – 1985. – С. 71-75.

202. Касымов, Т.К. Эпизоотология и оптимизация противобруцеллезных мероприятий в условиях Кыргызстана: автореф. дис. ... д-ра ветеринар. наук: 16.00.03 / Касымов Тойчубек Касымович. – Новосибирск, 2002. – 47 с.

203. Касьянов, И.А. Сравнительное изучение специфичности и чувствительности серологических методов диагностики бруцеллеза северных оленей: автореф. дис. ... канд. ветеринар. наук: 16.00.03 / Касьянов Игорь Алексеевич. – Москва, 1980. – 18 с.

204. Касьянова, Л.Ф. Результаты сравнительного изучения реактогенных и иммуногенных свойств адьювант-вакцин из штаммов B.abortus 45/20 и

B. melitensis 53Н38 на морских свинках и телках / Л.Ф. Касьянова // Сб. науч. тр. ВГНКИ. – Москва. – 1985. – С. 67-71.

205. Касьянова, Л.Ф. Антигенные, аллергенные и иммуногенные свойства адьювант-вакцин из штаммов *B. abortus* 45/20 и *B. melitensis* 53Н38 на морских свинках и телках / Л.Ф. Касьянова // Сб. науч. тр. ВГНКИ. – Москва. – 1985. – С. 24-26.

206. Ким, В.И. Эпизоотология бруцеллеза и усовершенствование мер борьбы с ним в условиях отгонного животноводства Кыргызстана: дис. ... д-ра ветеринар. наук (в форме научного доклада): 16.00.03 / Ким Владимир Ильич. – Новосибирск, 1991. – 47 с.

207. Кинжигитов, Е.К. Профилактика бруцеллеза мелкого рогатого скота: автореф. дис. ... д-ра ветеринар. наук: 16.00.03 / Кинжигитов Еркимбек Каныбекович. – Алматы, 2005. – 48 с.

208. Киселев, Е.А. Дифференциация вакцинированных и больных бруцеллезом животных с помощью О-полисахаридного антигена: автореф. дис. ... канд. вет. наук: 16.00.03 / Киселев Евгений Александрович. – Новосибирск, 1993. – 13 с.

209. Кисиль А.С. Результаты испытания иммунобиологических свойств противобруцеллезных вакцин из штаммов *B. abortus* RB 51 и *B. abortus* 82/А.С. Кисиль [и др.] // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2017. - № 4. – С. 26-29.

210. Клименко, В.А. Диагностическое значение кольцевой реакции при исследовании коров, иммунизированных вакциной из штамма 82 / В.А. Клименко // Инфекционные и незаразные болезни сельскохозяйственных животных в Казахстане: Сб. науч. трудов. – Алма-Ата. – 1983. – С. 66-70.

211. Кноп, А.Г. Научные и организационные основы эпидемиологического надзора за зоонозами: дис. ... д-ра мед. наук: 14.00.30 / Кноп Андрей Георгиевич. – Москва, 1990. – 287 с.

212. Колганова, О.А. Эффективность нового метода диагностики бруцеллеза животных / О.А. Колганова, А.И. Кабанцев // Эпизоотология, диагностика,

профилактика и меры борьбы с болезнями животных: Сб. науч. тр. РАСХН. Сиб. отд-ние. ИЭВСиДВ. – 1997. – С. 72-78.

213. Корж, Г.С. Особенности эпизоотологии и оптимизации специфической профилактики бруцеллеза крупного рогатого скота в Алтайском крае: автореф. дис. ... канд. ветеринар. наук: 16.00.03 / Корж Галина Сергеевна. – Барнаул, 2000. – 25 с.

214. Косарев, М.А. Изучение антигенных и иммуногенных свойств инактивированных радиовакцин из штаммов *B. abortus* 82 и 86 и живой вакцины из штамма 82 на овцах / М.А. Косарев [и др.] // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – 2010. – Т.201. – С. 51-56.

215. Косилов, И.А. Изучение эффективности иммунизации овец против бруцеллеза вакциной из штамма 19 в эксперименте и хозяйствах Омской области: автореф. дис. ... канд. ветеринар. наук / Косилов Игорь Андреевич. – Омск, 1963. – 13 с.

216. Косилов, И.А. Изменчивость бруцелл и ее значение в проблеме бруцеллеза сельскохозяйственных животных: автореф. дис. ... д-ра ветеринар. наук: 16.00.03 / Косилов Игорь Андреевич. – Фрунзе, 1975. – 40 с.

217. Косилов, И.А. К вопросу миграции бруцелл слабоагглютиногенного вакцинного штамма 82 / И.А. Косилов [и др.] // Научно-технический бюллетень ИЭВСиДВ. – Новосибирск – 1978. – № 2. – С. 7-12.

218. Косилов, И.А. Роль специфической профилактики в системе противобруцеллезных мероприятий / И.А. Косилов // Эпизоотология и меры борьбы с инфекционными болезнями животных. ВАСХНИЛ. Сиб. отд-ние. – Новосибирск. – 1985. – С. 30-34.

219. Косилов, И.А. Бруцеллез сельскохозяйственных животных: монография под ред. И.А. Косилова / И.А. Косилов [и др.] // – Новосибирск, 1999. – 344 с.

220. Красиков, А.П. Новые механизмы искусственной регуляции паразитозооценоза при бруцеллезе животных: автореф. дис. ... д-ра

ветеринар. наук: 16.00.03 / Красиков Александр Пантлеевич. – Новосибирск, 1996. – 42 с.

221. Крючков, Р.А. Иммунобиологические свойства стрептомицинрезистентного штамма 82-SR *B. abortus* и его применение при сочетанной защите животных от бруцеллеза: автореф. дис. ... канд. ветеринар. наук: 06.02.02 / Крючков Роман Александрович. – Казань, 2010. – 21 с.

222. Лазарев, П.С. О спонтанном выздоровлении крупного рогатого скота при бруцеллезе / П.С. Лазарев [и др.] // Современные данные о мероприятиях против бруцеллеза: Тез. докл.; под ред. С.Н. Вышелесский. – Москва. – 1950. – С. 1.

223. Лазарев, П.С. Влияние подкожных инъекций бруцеллизата на обострение латентных форм бруцеллеза у крупного рогатого скота / П.С. Лазарев, С.Х. Хасанова // Современные данные о мероприятиях против бруцеллеза: Тез. докл.; под ред. С.Н. Вышелесский. – Москва. – 1950. – С. 1.

224. Ламихов, К.Ф. Опыт иммунизации животных против бруцеллеза через неповрежденные слизистые оболочки / К.Ф. Ламихов // Сб. науч. работ. – Новосибирск. – 1958. – Вып. 1. – С. 17-30.

225. Лайшев, К.А. Определение оптимальной дозы вакцины из штамма *B. abortus* 19 для северных оленей: автореф. дис. ... канд. ветеринар. наук: 16.00.03 / Лайшев Касим Анверович. – Новосибирск, 1990. – 15 с.

226. Лим, А.А. Иммунологическая реактивность крупного рогатого скота при различных методах введения вакцин из штамма 104М: автореф. дис. ... канд. ветеринар. наук: 16.00.03 / Лим Арнольд Алексеевич. – Москва, 1987. – 22 с.

227. Литвин, В.Ю. Сапрофитическая фаза в экологии возбудителей инфекционных заболеваний / В.Ю. Литвин // ЖМЭИ. – 1985. – № 6. – С. 96-102.

228. Литвиненко, В.В. Сравнение методов выявления носителей бруцеллеза / В.В. Литвиненко // Ветеринария. – 1976. – № 6. – С. 50-51.

229. Логинов, Ф.С. К вопросу применения кольцевой реакции с цельным молоком для диагностики бруцеллеза крупного рогатого скота / Ф.С. Логинов // Ветеринария. – 1956. – № 2. – С. 37.

230. Логинов, Ф.С. Дифференциация вакцинного штамма *B. abortus* 19 от

полевых штаммов бруцелл / Ф.С. Логинов // Ветеринария. – 1959. – № 5. – С. 32.

231. Локтева, Ф.П. Дифференциация поствакцинальных серологических реакций у коров, привитых вакциной из штамма 19, методом исследования молока по РА / Ф.П. Локтева // Бруцеллез и туберкулез сельскохозяйственных животных: Материалы Международной конференции МЭБ (28 июня – 2 июля 1965 г.). – Москва. – 1967. – С. 108-112.

232. Локтева, Ф.П. Результаты широкого применения бруцеллезной вакцины из штамма 19 на крупном рогатом скоте в хозяйствах Ростовской области / Ф.П. Локтева // Сборник трудов Ростовской НИВС. – Ростов. – 1968. – № 13 (1). – С. 4-22.

233. Ломинейшвили, М.М. Изыскание оптимальных иммунизирующих доз вакцин из штамма 19 при вакцинации крупного рогатого скота против бруцеллеза: автореф. дис. ... канд. ветеринар. наук: 16.00.03 / Ломинейшвили М.М. – Тбилиси, 1985. – 20 с.

234. Макаров, В.В. Доказательная эпизоотология – новое направление ветеринарной медицины / В.В. Макаров // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. – 2016. – № 11. – С. 57-63.

235. Малышева, Л.А. Изучение прямого метода иммунофлюоресценции при бруцеллезе с.-х. животных: автореф. дис. ... канд. ветеринар. наук: 16.00.03 / Малышева Людмила Александровна. – Тбилиси, 1977. – 23 с.

236. Маматова, З.Б. Иммуноферментный метод при диагностике бруцеллеза: автореф. дис. ... канд. ветеринар. наук: 16.00.03 / Маматова Замира Баратовна. – Москва, 1986. – 142 с.

237. Маматова, З.Б. Иммуноферментный анализ для выявления бруцеллезных антигенов / З.Б. Маматова, М.И. Искандаров // Ветеринария. – 1987. – № 4. – С. 26-27.

238. Мангазеева, А.С. Вторичный иммунный ответ у крупного рогатого скота после применения некоторых противобруцеллезных вакцин: автореф. дис. ... канд. ветеринар. наук: 16.00.03 / Мангазеева Александра Сергеевна. – Фрунзе, 1976. – 21 с.

239. Меринов, С.П. Иммуноферментный метод обнаружения антигенов бруцелл и антител к ним. Современные аспекты профилактики зоонозных инфекций / С.П. Меринов, Т.Ю. Заноснина, Е.П. Голубицкий // Тез. докл. Всесоюзной науч. конф. – Иркутск. – 1984. – Т.2. – С. 11-13.

240. Меринов, С.П. Методические рекомендации по обнаружению возбудителя бруцеллеза иммуноферментным методом / С.П. Меринов [и др.] – Иркутск, 1984. – 8 с.

241. Минжасов, К.И. Иммунитет к бруцеллезу у животных, вакцинированных различными методами и дозами вакцины из штамма Бр. abortus 19: автореф. дис. ... канд. ветеринар. наук: 16.00.03 / Минжасов Канат Исмаилович. – Новосибирск, 1986. – 26 с.

242. Морозова, Н.А. Значение РИД с О-полисахаридным антигеном в поствакцинальной диагностике бруцеллеза овец: автореф. дис. ... канд. ветеринар. наук: 16.00.03 / Морозова Наталья Андреевна. – Новосибирск, 2002. – 24 с.

243. Морякова, О.И. Кольцевая реакция с молоком при диагностике бруцеллеза у коров / О.И. Морякова // Труды ВИЭВ. – Москва. – 1961. – С. 124.

244. Муминов, А.М. Результаты изучения конъюнктивального способа иммунизации морских свинок и крупного рогатого скота против бруцеллеза живой вакциной из штамма В. abortus 82 / А.М. Муминов // Тр. КазВИ. – Казань. – 1980. – Т.135. – С. 153-159.

245. Муратов, С.И. Материалы по испытанию кольцевой реакции для диагностики бруцеллеза у крупного рогатого скота / С.И. Муратов [и др.] // Ветеринария. – 1953. – № 9. – С. 9-14.

246. Мустафин, М.К. Эффективность противобруцеллезных мероприятий с применением антибактериальных препаратов и вакцин: автореф. дис. ... канд. ветеринар. наук: 16.00.03 / Мустафин Муафик Каметаевич. – Алма-Ата, 1993. – 21 с.

247. Мустафин, М.К. Специфическая профилактика бруцеллеза крупного рогатого скота: автореф. дис. ... д-ра ветеринар. наук: 16.00.03 / Мустафин Муафик Каметаевич. – Алматы, 2004. – 46 с.

248. Мустафин, Б.М. Диагностика и профилактика бруцеллеза крупного рогатого скота: автореф. дис. ... д-ра ветеринар. наук: 06.02.02 / Мустафин Батыржан Муафикович. – Алматы, 2010. – 58 с.

249. Назаренко, Е.Г. Эпизоотология бруцеллеза сельскохозяйственных животных в Иркутской области и усовершенствование противоэпизоотических мероприятий: автореф. дис. ... канд. ветеринар. наук: 16.00.03 / Назаренко Евгений Георгиевич. – Барнаул, 2009. – 21 с.

250. Никифоров, И.П. Живые слабоагглютиногенные выакцины в системе противобруцеллезных мероприятий: автореф. дис. ... в виде науч. доклада д-ра ветеринар. наук / Никифоров Иван Порфирьевич. – Барнаул, 1996. – 46 с.

251. Новицкий, А.А. Оптимизация специальных мероприятий против бруцеллеза крупного рогатого скота: дис. ... д-ра ветеринар. наук в форме научного доклада: 16.00.03 / Новицкий Алексей Алексеевич. – Казань, 1989. – 46 с.

252. Новицкий, А.А. Бронников В.С. Возможность создания противобруцеллезного иммунитета химически модифицированной вакциной / А.А. Новицкий, В.С. Бронников // Тез. докл. Всесоюз. конф. «Актуальные вопросы профилактики бруцеллеза и организация медицинской помощи больным» (Новосибирск, 24-25 октября, 1989). – Москва. – 1989. – С. 199-201.

253. Новицкий, А.А. Специфическая профилактика бруцеллеза крупного рогатого скота / А.А. Новицкий // Тез. докл. Всесоюз. конф. «Актуальные вопросы профилактики бруцеллеза и организация медицинской помощи больным» (Новосибирск, 24-25 октября, 1989). – Москва. – 1989. – С. 159-161.

254. Новицкий, А.А. Оптимизация специальных мероприятий против бруцеллеза крупного рогатого скота: автореф. дис. ... д-ра ветеринар. наук: 16.00.03 / Новицкий Алексей Алексеевич. – Казань, 1989. – 46 с.

255. Новицкий, А.А. Эффективность специфической профилактики бруцеллеза КРС / А.А. Новицкий, К.М. Салмаков // Матер. науч. сессии Россельхозакадемии: Состояние, проблемы и перспективы развития ветеринарной науки России. Том 1. Пленарное заседание секции. – Москва. – 1999. – С. 127-130.

256. Обгольц, А.А. Механизмы персистенции бактерий / А.А. Обгольц //

ЖМЭИ. – 1992. – № 4. – С. 70-72.

257. Обьедков, Г.А. Усовершенствование методов борьбы с бруцеллезом: дис. ... д-ра ветеринар. наук: 16.00.03 / Г.А. Обьедков. – Минск, 1989. – 473 с.

258. Орлов, Е.С. Изучение живой вакцины из штамма 19 / Е.С. Орлов [и др.] // Ветеринария. – 1946. – № 7. – С. 18-20.

259. Орлов, Е.С. Изучение формолквасцовой вакцины при бруцеллезе / Е.С. Орлов [и др.] // Ветеринария. – 1946. – № 7. – С. 29.

260. Орлов, Е.С. Диагностика и специфическая профилактика бруцеллеза в СССР // Бюл. ВИЭВ. – 1971. – Вып. 10. – С. 5-12.

261. Оспанов, Г.Х. Мероприятия против бруцеллеза крупного рогатого скота в Карагандинской области: автореф. дис. ... канд. ветеринар. наук: 16.00.03 / Оспанов Галым Хамиевич. – Алматы, 2010. – 31 с.

262. Ощепков, В.Г. R-, L-формы бруцелл и значение их в эпизоотологии и диагностике бруцеллеза животных: автореф. дис. ... д-ра ветеринар. наук: 16.00.03 / Ощепков Владимир Григорьевич – Ленинград, 1990. – 35 с.

263. Падалица, А.Г. Противозооотическая эффективность вакцины из штамма Br.abortus 82: автореф. дис. ... канд. ветеринар. наук: 16.00.03 / Падалица Алексей Григорьевич. – Новосибирск, 1983. – 21 с.

264. Пашаев, Р.М. Испытание противобруцеллезной убитой адьювант-вакцины на стельных коровах / Р.М. Пашаев // Тр. ин-та ДагНИВИ. – Т.12. – Махачкала. – 1981. – С. 26-28.

265. Петрова, М.И. Сравнительная характеристика иммуногенеза, вызванного инактивированными, химической и живой противобруцеллезными вакцинами: автореф. дис. ... канд. ветеринар. наук: 16.00.03, 16.00.02 / Петрова Марина Ивановна. – Омск. – 1998. – 19 с.

266. Пилипенко, В.Г. К вопросу о природной очаговости бруцеллезной инфекции / В.Г. Пилипенко [и др.] // ЖМЭИ. – 1955. – № 1. – С. 82-84.

267. Пинигин, А.Ф. Бруцеллез северных оленей / А.Ф. Пинигин. – Иркутск, 1971. – 198 с.

268. Плотникова, Э.М. Разработка методов и средств иммуномониторинга

бруцеллеза животных / Э.М. Плотникова, К.М. Салмаков // Ветеринария. – 2003. – № 12. – С. 26-31.

269. Подоляко, М.П. Иммуноферментный метод обнаружения бруцеллезных антител и антигена в сыворотке крови животноводов из неблагополучных по бруцеллезу хозяйств / М.П. Подоляко [и др.] // Микробиология. – 1995. – № 6. – С. 53-54.

270. Поздеева, К.А. Применение непрямого метода реакции гемагглютинации при диагностике бруцеллеза / К.А. Поздеева, О.А. Игнатъева // Уч. записки Казанского вет. института. – 1962. – Т.89. – С. 75-78.

271. Попова, Т.Г. Диагностическое значение методов исследования на бруцеллез молока коров, реиммунизированных противобруцеллезными вакцинами (шт. 19 и шт. 82): автореф. дис. ... канд. ветеринар. наук: 16.00.03 / Попова Тамара Гавриловна. – Новосибирск, 1990. – 16 с.

272. Попова, Т.Г. Купирование бруцеллеза в острых очагах инфекции с применением химической вакцины / Т.Г. Попова, А.А. Новицкий, В.С. Бронников // Достижения науки и техники АПК. – 2012. – № 11. – С. 55-57.

273. Попова, Т.Г. Сравнительное испытание бруцеллезных антигенов, используемых в ветеринарной практике / Т.Г. Попова [и др.] // В сборнике: Обеспечение ветеринарного благополучия в животноводстве и птицеводстве: материалы Международной научно-практической конференции, посвященная ветеранам ветеринарной науки. – 2013. – С. 37-42.

274. Попова, Т.Г. Диагностическое значение кольцевой реакции с молоком при бруцеллезе крупного рогатого скота [Текст] / Т.Г. Попова, П.К. Аракелян, ... А.С. Димова [и др.] // Достижения науки и техники АПК. – 2011. – № 9. – С. 61-64.

275. Прокудин, А.В. Использование прогностического моделирования для изучения эпизоотического процесса зоонозных инфекций на примере полуострова Таймыр / А.В. Прокудин [и др.] // Генетика и разведение животных. – 2016. – № 2. – С. 41-46.

276. Простяков, А.П. О возможности распространения бруцеллеза грызунами и дикими птицам / А.П. Простяков // Сб. работ Ленинград. вет. ин-та. – 1954. – Вып. 14. – С. 247-248.

277. Ременцова, М.М. Новые переносчики бруцеллеза – клещи надсемейства Ixodoidea / М.М. Ременцова // Тр. ин-та зоологии. – Алма-Ата. – 1953. – Т.1. – С. 75-83.

278. Ромахов, В.А. Разработка и усовершенствование средств, методов диагностики и системы мероприятий по борьбе с инфекционным эпидидимитом баранов и бруцеллезом животных: автореф. дис. ... д-ра ветеринар. наук (в форме научного доклада): 16.00.03 / Ромахов Вадим Александрович. – Москва, 1992. – 50 с.

279. Ростов, А.П. Усовершенствование иммунопрофилактики бруцеллеза крупного рогатого скота с применением живой вакцины из слабоагглютиногенного штамма Br. abortus 82 и оценка ее эффективности: автореф. дис. ... канд. ветеринар. наук: 16.00.03 / Ростов А.П. – Казань, 1987. – 21 с.

280. Ростов, А.П. Результаты длительных наблюдений при иммунизации крупного рогатого скота противобруцеллезной вакциной из штамма 82 / А.П. Ростов, Е.А. Суворов, В.В. Черкасов // Материалы Всесоюзной научной конференции. – Омск. – 1980. – С. 240-242.

281. Рукин, А.Т. Совершенствование методов иммунизации овец против бруцеллеза вакциной из штамма Br. abortus 19: автореф. дис. ... канд. ветеринар. наук: 16.00.03 / Рукин Андрей Тихонович. – Омск, 1998. – 20 с.

282. Русаков, Ю.В. Антигенность, иммуногенность и противоэпизоотическая эффективность агглютиногенных вакцин в разных дозах при бруцеллезе крупного рогатого скота: автореф. дис. ... канд. ветеринар. наук: 16.00.03 / Русаков Юрий Валентинович. – Новосибирск, 1991. – 16 с.

283. Рягузов, В.С. Новый вакцинный штамм бруцелл № 21 / В.С. Рягузов // Сборник научных трудов ДонСХИ: Ветеринария. – Ростов. – 1967. – № 3. – С. 5-17.

284. Садыков, С.Ж. Обнаружение бруцеллезного антигена в патологическом материале при помощи реакций нейтрализации антител (РНАТ) / С.Ж. Садыков // Тр. ВИЭВ. – 1976. – Т. 44. – С. 51-53.

285. Салмаков, К.М. Изыскание и испытание новых вакцинных штаммов бруцелл: автореф. дис. ... д-ра ветеринар. наук: 16.00.03 / Салмаков Константин Михайлович. – Казань, 1977. – 30 с.

286. Салмаков, К.М. Повышение иммунологической эффективности диссоциированных вакцинных штаммов бруцелл путем их пассирования через организм морских свинок и введения с различными адъювантами / К.М. Салмаков [и др.] // Ветеринарный врач. – 2009. – № 4. – С. 16-18.

287. Салмаков, К.М. Результаты изыскания более совершенных живых и инактивированных вакцин против бруцеллеза крупного и мелкого рогатого скота / К.М. Салмаков [и др.] // Ветеринарный врач. – 2010. – № 5. – С. 41-44.

288. Салмаков, К.М. Усовершенствованная система специфической профилактики и ликвидации бруцеллеза крупного рогатого скота с применением живых вакцин из штаммов слабоагглютиногенного *B. abortus* 82 и инагглютиногенного *B. abortus* r-1096 / К.М. Салмаков [и др.] // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана.– 2012. – Т.211. – С. 130-134.

289. Салмаков, К.М. Антигенные и иммуногенные свойства живых и гамма-инактивированных противобруцеллезных вакцин при вакцинации и ревакцинации морских свинок / К.М. Салмаков [и др.] // Ветеринарный врач. – 2012. – № 5. – С. 11-14.

290. Салмаков, К.М. Сравнительное изучение иммуногенных свойств живых и инактивированных противобруцеллезных вакцин при ревакцинации овец / К.М. Салмаков [и др.] // Ветеринарный врач. – 2013. – № 4. – С. 5-8.

291. Салмаков, К.М. Разработка и производственные испытания специальных мероприятий по профилактике и ликвидации бруцеллеза крупного рогатого скота / К.М. Салмаков [и др.] // Ветеринарная медицина. – 2013. – № 97. – С. 227-228.

292. Сарманов, А.М. Усовершенствование диагностики бруцеллеза животных: автореф. дис ... канд. ветеринар. наук: 06.02.02 / Сурманов Абдумурат Мамырбекович. – Алматы, 2010. – 30 с.

293. Сайлаубаев, С.Ж. Результаты разработки и внедрения оптимальных противобруцеллезных мероприятий у крупного рогатого скота молочного направления в условиях хозяйств корпорации «Восток-Молоко» / С.Ж. Сайлаубаев, В.И. Воробьев, А.С. Димова [и др.] // Ветеринария (Казахстан). – 2015. – № 1(41). – С. 26-32.

294. Сайлаубаев С.Ж. Эффективные в условиях Казахстана противобруцеллезные мероприятия у крупного рогатого скота [Текст] / С.Ж. Сайлаубаев, В.И. Воробьев, А.С. Димова [и др.] // Методические рекомендации – Усть-Каменогорск, 2016. – 19 с.

295. Сизов А.А. Патент 2635515 Российская Федерация, GON 33/53. Способ дифференциальной экспресс-диагностики бруцеллеза крупного рогатого скота [Текст] / Сизов А.А., Сизов Д.А., Димов С.К., Димова А.С., Аракелян П.К., Чекишев В.М.; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский федеральный научный центр агробιοтехнологий Российской академии наук. – № 2016146863; заявл. 29.11.2016; опубл. 13.11.2017, Бюл. № 32.

296. Сизов, А.А. Эффективность использования О-ПС антигена в ИФА для дифференциальной диагностики бруцеллеза крупного рогатого скота [Текст] / А.А. Сизов, А.С. Димова, С.К. Димов [и др.] // Ветеринария. – 2018. – № 1 – С. 9-14.

297. Сайченко, В.И. Эпизоотологический мониторинг при бруцеллезе крупного рогатого скота на территории с широким применением вакцин: автореф. дис. ... канд. ветеринар. наук: 16.00.03 / Сайченко Виктор Иванович. – Новосибирск, 1995. – 22 с.

298. Сафина, Г.М. Разработка, испытание и эффективность различных средств и способов профилактики и ликвидации бруцеллеза крупного рогатого скота / Г.М. Сафина, А.М. Фомин // Ветеринарный врач. – 2016. – № 1. – С. 17-21.

299. Сафина, Г.М. Апробация новой системы специальных противобруцеллезных мероприятий на заключительном этапе оздоровления хозяйств от бруцеллеза крупного рогатого скота / Г.М. Сафина, А.М. Фомин, М.А. Косарев // Ветеринарный врач. – 2016. – № 4. – С. 12-15.

300. Селиванов, А.В. К вопросу иммунизации морских свинок через

неповрежденную конъюнктиву живой бруцеллезной вакциной НИИЭГ / А.В. Селиванов // Сб. науч. работ СибНИВИ. – Омск. – 1956. – Вып. 6. – С. 129-138.

301. Селиванов, А.В. Опыт иммунизации овец через неповрежденную конъюнктиву живой бруцеллезной вакциной / А.В. Селиванов // Сб. науч. работ СибНИВИ. – 1956. – Вып.6. – С. 139-144.

302. Селиванов, А.В. Испытание в производственных условиях конъюнктивального метода вакцинации овец против бруцеллеза вакциной из штамма 19 / А.В. Селиванов, А.Т. Кравец, И.А. Косилов // Сб. науч. работ СибНИВИ. – 1959. – Вып. 8. – С. 71-75.

303. Селиванов, А.В. О поствакцинальных реакциях при бруцеллезе овец / А.В. Селиванов, И.А. Косилов // Ветеринария. – 1959. – № 12. – С. 29-32.

304. Селиванов, А.В. Вакцинальная реакция и иммунитет у овец при разных методах введения бруцеллезной вакцины из штамма 19 / А.В. Селиванов, С.Д. Кошуков // Ветеринария. – 1959. – № 5 – С. 29-30.

305. Слепцов, Е.С. Бруцеллез северных оленей и меры борьбы с ним в условиях крайнего севера Российской Федерации / Е.С. Слепцов – Новосибирск, 2017. – 126 с.

306. Сочнев, В.В. Эпизоотология бруцеллеза крупного рогатого скота в условиях концентрации поголовья: автореф. дис. ... д-ра ветеринар. наук: 16.00.03 / Сочнев Василий Васильевич. – Ленинград, 1989. – 34 с.

307. Сочнев, В.В. Система контроля за качеством противоэпизоотических мероприятий при бруцеллезе / В.В. Сочнев [и др.] // Тез. докл. III Всесоюз. конф. по эпизоотологии. – Новосибирск. – 1991. – С. 49-50.

308. Стеблева, Г.М. Роль РИД с О-ПС антигеном в дифференциальной поствакцинальной диагностике бруцеллеза крупного рогатого скота / Г.М. Стеблева // Основные научные исследования по проблеме туберкулеза и бруцеллеза с.-х. животных, профилактики и организации мероприятий по ликвидации болезней в регионе. Тез. докл. науч.-практич. конф. – Новосибирск. – 1995. – С. 89-90.

309. Стеблева, Г.М. Усовершенствование дифференциальной поствакцинальной диагностики бруцеллеза крупного рогатого скота: автореф. дис. ... канд. ветеринар. наук: 16.00.03 / Стеблева Галина Михайловна. – Новосибирск, 1998. – 23 с.

310. Студенцов, К.П. Бруцеллез животных. / К.П. Студенцов – Алма-Ата: Кайнар, 1975. – 234 с.

311. Султанов, А.А. Динамика поствакцинальных антител у овцематок, ревакцинированных разными дозами вакцины из штамма *B. melitensis* Rev-1 / А.А. Султанов // Меры борьбы с инфекционными, паразитарными и незаразными болезнями сельскохозяйственных животных в Казахстане. Сб. науч. тр. – Алма-Ата. – 1985. – С. 33-39.

312. Султанов, А.А. Оптимизация специальных противобруцеллезных мероприятий в овцеводстве: автореф. дис. ... д-ра ветеринар. наук: 16.00.03 / Султанов Ахметжан Акиевич. – Новосибирск, 1992. – 40 с.

313. Сумароков, А.А. Сравнительное изучение безвредности, реактогенности, антигенности бруцеллезной химической и живой вакцин в условиях контролируемого эпидемиологического опыта / А.А. Сумароков [и др.] // ЖМЭИ. – 1984. – № 2. – С. 58-63.

314. Суспицын, А.В. Усовершенствованная схема эпизоотической оценки по бруцеллезу стад крупного рогатого скота, привитого вакциной из штамма *B. abortus* 82: автореф. дис. ... канд. ветеринар. наук: 16.00.03 / Суспицын Алексей Васильевич. – Новосибирск, 2005. – 26 с.

315. Сюзюмова, Л.М. Грызуны как разносчики бруцеллеза с.-х. животных / Л.М. Сюзюмова // Тр. Свердл. н.-и. вет. станция. – 1954. – Вып. 4. – С. 117-121.

316. Таран, И.Ф. О роли дикой фауны / И.Ф. Таран // Вест. АМН СССР. – 1960. – № 3. – С. 70-77.

317. Таран, И.Ф. Значение дикой фауны в решении проблемы ликвидации бруцеллеза в Советском Союзе/ И.Ф. Таран //ЖМЭИ. – 1960. – № 12. – С. 65-71.

318. Тарасов, И.А. Экспериментальное заражение овец бруцеллезом через кожные и слизистые покровы / И.А. Тарасов // Тр. экспед ВИЭМ. – Москва. –

1937. – С. 45-68.

319. Триленко, П.А. Характеристика вакцин из инагглютинабельных минус-вариантов бруцеллезных штаммов бруцелл (МВБ) / П.А. Триленко // Бруцеллез и туберкулез сельскохозяйственных животных: Материалы Международной конференции МЭБ (23 июня – 2 июля 1965 г.). – Москва. – 1967. – С. 180-187.

320. Триленко, П.А. Бруцеллез с.-х. животных / П.А. Триленко. – Л.: Колос, Ленинград. отд-ние, 1976. – 280 с.

321. Тэн, В.Б. Методологические основы изготовления и совершенствования профилактических противобруцеллезных препаратов и диагностических средств: автореф. дис. ... д-ра ветеринар. наук: 16.00.03 / Тэн Виктор Борисович. – Алматы, 1996. – 45 с.

322. Тяпин, В.В. Совершенствование схем специфической профилактики бруцеллеза маралов с использованием живой слабоагглютиногенной вакцины из штамма *Brucella abortus* 75/79-AB: автореф. дис ... канд. ветеринар. наук: 16.00.03 / Тяпин Владимир Валерьевич. – Барнаул, 2005. – 22 с.

323. Уалиев, Л.Ж. Эффективность специальных ветеринарных мероприятий против бруцеллеза животных в хозяйствах Западно-Казахстанской области: автореф. дис ... канд. ветеринар. наук: 16.00.03 / Уалиев Лауаз Женисович. – Алматы, 2009. – 30 с.

324. Узбекова, Б.Р. Особенности эпидемиология и пути профилактики бруцеллеза в Казахстане / Б.Р. Узбекова // АМН СССР: Тез. докл. Всесоюз. науч.-практ. конф. по бруцеллезу. – Алма-Ата. – 1978. – С. 19-21.

325. Уласевич, П.С. Иммунизация овец вакциной из штамма *B. melitensis* Rev-1 / П.С. Уласевич, А.А. Аливердиев, О.Ю. Юсупов // Ветеринария. – 1975. – № 12. – С. 57-59.

326. Урбан, В.П. Эпизоотология хронических инфекций (туберкулез, бруцеллез) / В.П. Урбан // Тез. докл. III Всесоюз. конф. по эпизоотологии. – Новосибирск. – 1991. – С. 58-61.

327. Урбан, В.П. Эпизоотология как наука и ее содержание / В.П. Урбан // Эпизоотической и инфекционный процессы (теоретические и практические

аспекты): Сб. науч. тр. РАСХН Сиб. отд-ние, ИЭВСиДВ. – Новосибирск. – 1992. – С. 3-8.

328. Устаев, В.М. Бруцеллез крупного рогатого скота в Астраханской области: эпизоотологический мониторинг и совершенствование противобруцеллезных мероприятий: автореф. дис. ... канд. ветеринар. наук: 06.02.02 / Устаев Вахид Магомедович. – Москва, 2010. – 27 с.

329. Файзрахманов, Ш.Р. РИД с О-ПС антигеном у экспериментально вакцинированных и зараженных бруцеллезом животных (опыты на телках и коровах) / Ш.Р. Файзрахманов, Е.А. Киселев, А.Г. Хлыстунов [и др.] // Диагностика инфекционных болезней животных: Сб. науч. тр. – Новосибирск. – 1993. – С. 119-124.

330. Фомин, А.М. Использование набора препаратов ВНИВИ для дифференциальной серологической диагностики бруцеллеза крупного рогатого скота, привитого вакциной из штамма 82 / А.М. Фомин // Республ. науч.-произв. конф. «Животноводству – комплексную программу развития» (24-26 мая 1990): Тез. докл. – Казань. – 1990. – С. 56.

331. Фомин, А.М. Роль дифференциальной серологической диагностики в общей системе противобруцеллезных мероприятий / А.М. Фомин, К.М. Салмаков // Тез. докл. III Всесоюз. конф. по эпизоотологии. – Новосибирск. – 1991. – С. 185-186.

332. Фомин, А.М. Разработка и совершенствование средств и методов диагностики и специфической профилактики при бруцеллезе крупного рогатого скота: автореф. дис. ... д-ра ветеринар. наук: 03.00.07, 16.00.03 / Фомин Алексей Максимович. – Казань, 2001. – 36 с.

333. Фомин, А.М. Сравнительное изучение антигенных и иммуногенных свойств живых и гамма-инактивированных противобруцеллезных вакцин при вакцинации морских свинок / А.М. Фомин [и др.] // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – 2012. – Т.211. – С. 170-175.

334. Фомин, А.М. Изыскание высокоэффективных живой и гамма-инактивированной вакцин для защиты животных от бруцеллеза / А.М. Фомин

[и др.] // В сб. «Актуальные проблемы сельскохозяйственных наук в России и за рубежом». Сборник научных трудов по итогам международной научно-практической конференции. – 2015. – С. 24-27.

335. Хаиров, С.Г. Антиген бруцеллезный эритроцитарный для реакции непрямой гемагглютинации: дис. ... д-ра ветеринар. наук: 16.00.03 / Хаиров Сайгидтага Гаджиевич. – Махачкала, 2001. – 198 с.

336. Хаиров, С.Г. Экспресс-метод диагностики бруцеллеза овец и коз в реакции непрямой гемагглютинации (РНГА) для исследования молока / Патент на изобретение RUS 2571560 21.05.2014. – 2014.

337. Хамзин, К.А. Обнаружение антигена Бруцелла abortus с использованием моноклональных антител / К.А. Хамзин // Республ. науч.-произв. конф. «Животноводству – комплексную программу развития» (24-26 мая 1990): Тез. докл. – Казань. – 1990. – С. 58.

338. Хамзин, К.А. Иммуноферментный метод для серологической диагностики бруцеллеза / К.А. Хамзин, К.М. Салмаков, З.М. Плотников // Республ. науч.-произв. конф. «Животноводству – комплексную программу развития» (24-26 мая 1990): Тез. докл. – Казань. – 1990. – С. 59.

339. Харченко, А.А. Бруцеллез крупного рогатого скота в центральной части степной зоны Северного Кавказа (эпизоотология, совершенствование мер борьбы): дис. ... канд. ветеринар. наук: 16.00.03 / Харченко Анатолий Анатольевич. – Новосибирск, 1990. – 146 с.

340. Хасанов, Н.Х. Испытание вакцины из бруцелл штамма 82 на крупном рогатом скоте Таджикской ССР / Н.Х. Хасанов, В.В. Кириллин // Материалы Всесоюзной научной конференции. – Омск. – 1980. – С. 243-246.

341. Хасенов, Е.С. Провокация латентных форм бруцеллеза крупного рогатого скота вакциной из штамма *Brucella abortus* 82: автореф. дис. ... канд. ветеринар. наук: 16.00.03 / Хасенов Ердаулет Сатыбалдинович. – Алма-Ата, 1991. – 23 с.

342. Хасенов, Е.С. Совершенствование специальных мероприятий против бруцеллеза и туберкулеза крупного рогатого скота в новых условиях

хозяйствования Костанайской области: автореф. дис. ... д-ра ветеринар. наук: 16.00.03 / Хасенов Ердаулет Сатыбалдинович. – Алматы, 2006. – 49 с.

343. Хлыстунов, А.Г. Противозооотическая эффективность вакцины из штамма Бруцелла абортус 104М в уменьшенных дозах для ревакцинации коров / А.Г. Хлыстунов, К.В. Шумилов // Тезисы докладов научно-практической конференции «Основные научные исследования по проблеме туберкулеза и бруцеллеза сельскохозяйственных животных, профилактика и организация мероприятий по ликвидации болезней в регионе Сибири». – Новосибирск. – 1995. – С. 45.

344. Цветков, Н.Е. Сравнительное значение реакции Райта и реакции связывания комплемента для борьбы с бруцеллезом / Н.Е. Цветков // Бруцеллез сельскохозяйственных животных. – 1940. – С. 55-64.

345. Цион, Р.А. Проблема выздоровления при бруцеллезе сельскохозяйственных животных / Р.А. Цион, С.М. Овчинников // Ветеринария. – 1943. – № 12. – С. 17-28.

346. Цирельсон, Л.Е. Эпидемические проявления бруцеллеза в различных эпизоотических очагах / Л.Е. Цирельсон // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2012. – № 4 (65). – С. 18-22.

347. Чекишев, В.М. Способ получения антигена для дифференциальной диагностики вакцинированных и больных бруцеллезных животных / Патент РФ № 132501. – 1993.

348. Чекишев, В.М. Чувствительность и специфичность серологических реакций в сравнении с РИД при диагностике бруцеллеза животных (крупный рогатый скот) / В.М. Чекишев [и др.] // Диагностика инфекционных болезней животных: Сб. науч. тр. – Новосибирск. – 1993. – С. 68-73.

349. Чекишев, В.М. Новый метод диагностики бруцеллеза животных / В.М. Чекишев // Актуальные проблемы ветеринарии. Материалы Международ. конф. – Барнаул. – 1995. – С. 105-107.

350. Чекишев, В.М. Новый способ серологической диагностики бактериальных инфекций / В.М. Чекишев // Основные научные исследования по

проблеме туберкулеза и бруцеллеза с.-х животных, профилактика и организация мероприятий по ликвидации болезней в регионе: Тез. докл. науч.-практич. конф. – Новосибирск. – 1995. – С. 32-33.

351. Чекишев, В.М. Тест-система для дифференциальной диагностики вакцинированных и больных животных бруцеллезом животных / В.М. Чекишев // Зооантропонозные болезни, меры профилактики и борьбы: Материалы Международ. науч.-практ. конф. – Минск. – 1997. – С. 107-108.

352. Чекишев, В.М. Антигенная структура бруцелл / В.М. Чекишев, А.И. Кабанцев // Проблемы адаптации с.-х. животных: материалы науч.-практ. конф., посвящ. 65-летию Иркутской НИВС. – Иркутск. – 1997. – С. 104-105.

353. Чекишев, В.М. Сравнительный анализ различных методов диагностики бруцеллеза крупного рогатого скота / В.М. Чекишев, О.Д. Склярков // Эпизоотология, диагностика, профилактика и меры борьбы с болезнями животных: Сб. науч. тр. РАСХН. Сиб. Отд-ние. ИЭВСиДВ. – 1997. – С. 55-61.

354. Чекишев, В.М. Проблемы серологической диагностики бруцеллеза животных / В.М. Чекишев // Актуальные проблемы ветеринарной медицины в России: Сб. науч. тр., посв. 100-летию ветеринар. науки в России и 30 летию СО РАСХН. Сиб. отд-ние. – Новосибирск. – 1998. – С. 273-282.

355. Черемисин, Г.Г. Состояние иммунитета у овец, привитых многократно вакциной из штамма 19 / Г.Г. Черемисин, Л.Г. Иванова, О.И. Расторгуева // Ветеринария. – 1969. – № 3. – С. 34-35.

356. Черкасский, Б.Л. Эпидемический процесс как система: Сообщ. 1. / Б.Л. Черкасский // Структура эпидемического процесса. – ЖМЭИ – 1985. – № 3. – С. 45-51.

357. Черкасский, Б.Л. Функциональная схема эпидемического процесса / Б.Л. Черкасский // ЖМЭИ. – 1985. – № 11. – С. 50-56.

358. Черкасский, Б.Л. Эпидемический процесс как система. Функционально-морфологическая структура эпидемического процесса / Б.Л. Черкасский // ЖМЭИ. – 1986. – № 5. – С. 83-88.

359. Черкасский, Б.Л. Системный подход в эпидемиологии /

Б.Л. Черкасский. – М.: Медицина, 1988. – 286 с.

360. Черкасский, Б.Л. Эпидемиологический диагноз / Б.Л. Черкасский. – М.: Медицина, 1990. – 205 с.

361. Черкасский, Б.Л. Современная интерпретация основных категорий эпидемиологии / Б.Л. Черкасский // ЖМЭИ. – 1991. – № 2. – С. 75-78.

362. Чернышева, М.И. Новые методы диагностики зоонозных инфекций / М.И. Чернышева [и др.] – Минск: Ураджай, 1982. – 126 с.

363. Чубов, П.П. Метод провокации, при оздоровлении хозяйств от бруцеллеза животных / П.П. Чубов, А.И. Денисова // Ветеринария. – 1963. – № 9. – С. 16-17.

364. Шаймерденов, С.А. Эпизоотология и профилактика бруцеллеза мелкого рогатого скота: автореф. дис ... канд. ветеринар. наук: 16.00.03 / Шаймерденов Султанмахмуд Адеханович. – Алматы, 2008. – 29 с.

365. Шкиль, Н.А. Закономерности проявления эпизоотического процесса туберкулеза в свете теории саморегуляции паразитарных систем / Н.А. Шкиль // Эпизоотический и инфекционный процессы (теоретические и практические аспекты): Сб. науч. тр. РАСХН. Сиб. отд-ние, ИЭВСиДВ. – Новосибирск. – 1992. – С. 48-52.

366. Шумилов, К.В. Изучение вакцинных штаммов Br. abortus 104-М, Br. melitensis Rev-1 и Br. abortus 82 на крупном рогатом скоте / К.В. Шумилов, А.В. Акулов // Тр. ВИЭВ. – 1977. – Т.45. – С. 29-36.

367. Шумилов, К.В. Оптимальные иммунизирующие дозы вакцинных штаммов бруцелл / К.В. Шумилов // Ветеринария. – 1979. – № 8. – С. 31-34.

368. Шумилов, К.В. Результаты изучения вакцины из штамма Br. абортус 104-М в экспериментальных условиях / К.В. Шумилов [и др.] // Состояние и перспективы научных исследований по диагностике и профилактике туберкулеза и бруцеллеза и мерам борьбы с этими заболеваниями с.-х. животных. – Омск. – 1980. – С. 273-276.

369. Шумилов, К.В. Результаты изучения иммуногенных свойств убитых противобруцеллезных адъювант-вакцин на крупном рогатом скоте / К.В. Шумилов [и

др.] // Сб. науч. трудов СКЗНВИ «Бактериальные и вирусные болезни сельскохозяйственных животных и птиц в хозяйствах Северного Кавказа». – Новочеркасск. – 1983. – С. 49-53.

370. Шумилов, К.В. Результаты изучения вакцины из штамма 104-М / К.В. Шумилов, А.К. Касьянов – Материалы к заданию ТС МСХ СССР. – М., 1984. – 16 с.

371. Шумилов, К.В. Результаты изучения вакцинного штамма *B. abortus* 104М / К.В. Шумилов, А.Н. Касьянов, В.А. Ромахов // Сборник трудов ВИЭВ. – Москва. – 1984. – № 61. – С. 10-21.

372. Шумилов, К.В. Результаты изучения адъювант-вакцины из штаммов *B. abortus* KB 45/20 и *B. melitensis* 53H38 / К.В. Шумилов [и др.] // Тез. докл. Всесоюзной конференции «Актуальные вопросы профилактики бруцеллеза и организация медицинской помощи больным». – Новосибирск. – 1989. – С. 186-187.

373. Шумилов, К.В. Адъювант-вакцины против бруцеллеза крупного рогатого скота / К.В. Шумилов, В.В. Калмыков // Науч.-практич. конф. «Основные научные исследования по проблеме туберкулеза и бруцеллеза сельскохозяйственных животных, профилактика и организация мероприятий по ликвидации болезней в регионе Сибири». – Новосибирск. – 1995. – С. 97-98.

374. Шумилов, К.В. Адъювант-вакцины против бруцеллеза крупного рогатого скота из штамма KB17/100 *B. abortus* / К.В. Шумилов [и др.] // Ветеринария. – 1999. – № 8. – С. 17-24.

375. Шумилов, К.В. Результаты испытаний адъювант-вакцины из штамма *B. abortus* KB17/100 / К.В. Шумилов [и др.] // Актуальные вопросы диагностики, профилактики и борьбы с болезнями сельскохозяйственных животных (Международная научно-практическая конференция, посвященная 70-летию Ставропольской НИВС). – Ставрополь. – 1999. – С. 158-161.

376. Шумилов, К.В. Разработка средств специфической профилактики бруцеллеза КРС / К.В. Шумилов, В.В. Калмыков, И.П. Никифоров // Состояние, проблемы и перспективы развития ветеринарной науки России: Мат. науч. сессии Россельхозакадемии. Том 1. Россельхозакадемия. – 1999. – С. 118-123

377. Юсковец, М.К. Бруцеллез сельскохозяйственных животных / М.К. Юсковец. – Москва, 1960. – 141 с.
378. Юсупов, О.Ю. Иммунологическая реактивность ягнят различного возраста при вакцинации против бруцеллеза / О.Ю. Юсупов // Бюл. ВИЭВ. – 1971. – Вып. 10. – С. 176-181.
379. Юсупов, О.Ю. Достижения отечественной науки и практики в борьбе с бруцеллезом овец и коз. Эффективность противобруцеллезной вакцины из штамма *B. melitensis* REV-1 / О.Ю. Юсупов // Тр. ДагНИВИ. – 1981. – Т.12. – С. 3-9.
380. Юсупов, О.Ю. Опыт борьбы с бруцеллезом овец / О.Ю. Юсупов // Ветеринария. – 1983. – № 6. – С. 15-16.
381. Юсупов, О.Ю. Результаты испытания вакцины из штамма *B. melitensis* REV-1 для иммунизации овцематок и ярок / О.Ю. Юсупов, Л.В. Малушко, С.Г. Хаитов // Тр. ДагНИВИ. – 1984. – С. 7-9
382. Юсупов, О.Ю. Иммунизация овцематок вакциной из штамма *B. melitensis* Rev-1 / О.Ю. Юсупов // Профилактика и лечение болезней с.-х. животных и птиц в Дагестане. – Новочеркасск. – 1986. – С. 5-14.
383. Юсупов, О.Ю. Система мер борьбы с бруцеллезом овец в условиях отгонного животноводства / О.Ю. Юсупов // Сб. материалов науч. сессии РАСХН. – Москва. – 1999. – С. 176-177.
384. Юсупов, О.Ю. Эффективность РНГА при бруцеллезе крупного рогатого скота, овец и коз / О.Ю. Юсупов [и др.] // Ветеринария. – 2015. – № 11. С. – 22-25.
385. Юсупов, О.Ю. Вакцина из штамма *B. melitensis* REV-1 для профилактики бруцеллеза овец и коз / О.Ю. Юсупов [и др.]. // Ветеринария. – 2016. – № 11. – С. 21-24.
386. Ягудин, Р.Г. Конъюнктивный метод иммунизации крупного рогатого скота вакциной из штамма 19 / Р.Г. Ягудин [и др.] // Тез. докл. науч.-практ. конф. «Основные научные исследования по проблеме туберкулеза и бруцеллеза с.-х. животных, профилактика и организация мероприятий по ликвидации болезней в регионе Сибири». – Новосибирск. – 1995. – С. 102-103.

387. Яникова, Э.А. Экспресс-метод выявления противобруцеллезных антител в сыворотке крови и молоке / Э.А. Яникова [и др.] // Ветеринарный врач. – 2016. – № 5. – С. 16-20.

388. Ярославцев, В.П. Эпизоотология бруцеллеза крупного рогатого скота в условиях Среднего Урала: автореф. дис. ... канд. ветеринар. наук: 16.00.03 / Ярославцев Валентин Петрович. – Новосибирск, 1990. – 17 с.

389. Almeida, V.S. Simple mathematical modelling of brucellosis in Portuguese dairy herds / V.S. Almeida, A.C. Louza // Acta veter. scand. Suppl. – 1984. – N 84. – P. 477-479.

390. Alton, G.G. Brucella melitensis REV-1 and Brucella abortus 45/20 vaccines in coats immunity / G.G. Alton, J.M. Jones, C. Garcia-Carrillo et al. // Am. Vet. Rec. – 1972. – Vol. 29. – № 9. – P. 1741-1750.

391. Alton, G.G. Brucellosis summit in Geneva / G.G. Alton, M. Plommet // Report of a meeting of the FAO/WHO Expert Committee on Brucellosis, 12-19 November, 1985. WHO chronicle. – 1985. – V. 40. – N 1. – P. 19-21.

392. Alton, G.G. The role of the differential complement fixation test using rough and smooth brucella antigens in the anamnestic test / G.G. Alton, L.A. Corner, P. Plackett // Austral. Vet. J. – 1986. – № 1. – P. 4-6.

393. Beh, K.J. Immunoglobulin class specificity of non-agglutinating antibody produced in cattle following Brucella abortus 45/20 vaccination / K.J. Beh // Austral. Vet. J. – 1975. – Vol. 51 (10). – P. 481-493.

394. Berthelon, M. Experimentation d'un nouveau vaccin antibrucellique / M. Berthelon, L. Royal, D. Rampin // Rev. Med. Vet. – 1962. – Vol. 113 (11). – P. 1-9.

395. Bosseray, N. Theoretical, practical and statistical basis for a general control method of activity for anti-Brucella vaccines / N. Bosseray, A.M. Plommet, M. Plommet // Developments in Biological Standardization. – Base 1. – 1984. – V.56. – P. 257-270.

396. Burki, F. Standardising der Komplementbindungs reaktion auf brucellose / F. Burki // Zbl. Bact. – 1. – Abt. Orig. – 1961. – V. 183. – N. 2. – P. 225.

397. Butler, T.E. Glass and subclass antibody response of *Brucella abortus* strain 19 / T.E. Butler, G.I. Senright, P.L. Mc'Gilvern et al. // Ruminant Immune Sust Proc. Int. Symp. Plymouth, 7-10 July. – 1980. – New York, London. – 1981. – P. 790-791.

398. Carrere, L. Hemagglutination passive d hematies sensibilisees par antigenes brucellinques selibies stesifiques / L. Carrere, J. Roux // Ann. Inst. Past. – 1952. – V. 83. – N. 6. – P. 810-813.

399. Chervonogrodzky, J.W. *Brucella abortus* 1119-3 O-chain polysaccharide to differentiate sera from *B. abortus* S-19-vaccinated and field-strain-infected cattle by agar gel immunodiffusion / J.W. Chervonogrodzky, K.H. Nielsen // J. Clin Microbiol. – 1988. – Vol. 26. – N. 6. – P. 1120-1123.

400. Chukwu, C.C. Humoral and cell-mediated immune responses in Cattle after Vaccination and Revaccination with *Brucella abortus* killed strain 45/20 adjuvant vaccines / C.C. Chukwu, B. Cunnlghum // Irish Vet. J. – 1996. – 40 (4). – P. 62-71.

401. Chung, J.S. Immunoglobulin classes in serum antibody reactions in cattle following vaccination №1 the *Brucella abortus* strain 19 and Killed 45/20 vaccines / J.S. Chung, W.T.K. Hall, G.C. Simmonse // Austral. Vet. J. – 1980. – Vol. 56 (9). – P. 413-416.

402. Cocks, E. *Brucella abortus* strain 19 vaccine: potency tests in cattle / E. Cocks, G. Davies // J. Biol. – Standartiz. – 1973. – V. 1. – N 2. – P. 171-178.

403. Confer, A.W. Effects of shallence dose on the clinical and immune responses of cattle vaccinated with reduced doses of *Bructlla abortus* strain 19 / A.W. Confer, S.M. Hall, C.B. Faulkner, B.H. Espe // Vet. Microbiol. – 1985. – V. 10. – N 6. – P. 561-575.

404. Corbell, M.J. The serological to rough and smooth *Brucella* antigens vaccinated with *Brucella abortus* strain 45/20 adjuvant vaccine / M.J. Corbell, C.D. Bracewell // Internet Symp. on Bruc. (II) Rabat, 1975. – Develop. biol. Stand. – V. 31. – S. Karger. – Basel. – 1976. – P. 351-357.

405. Corner, L.A. Persistence of *Brucella abortus* strain 19 infection in adult cattle vaccinated with reduced doses / L.A. Corner, G.G. Alton // Res. Vet. Sci. – 1981. – V. 31. – N 3. – P. 342-344.

406. Cotrina, N. Experiencia de la vacunacion con dosis reducida en ganado

adulte lechero en un fece de brucellosis bovina / N. Cotrina, R. Martinez // Rev. Cub. cieno. Vet. – 1084. – V. 15. – N 1. – P. 25-81.

407. Cunningham, B. The Effect of immaturity of the Calf on immunological B1 responses strain 19 and killed 45/20 adjuvant vaccines / B. Cunningham // Vet. Rec. – 1977. – Vol. 101 (14). – P. 283-285.

408. Desmettre, Ph. Vaccin antibrucellique a bacteries vivantes prepare a partir de la acuche Brucella abortus in 19 adminis the par voice conjunctivale. Principe, caracteristiques et indications / Ph. Desmettre, B. Ioubert, L. Valette // Bull. Soc. Sci. Vet. et Med comparec. – 1981. – Vol. 83 – № 1. – P. 17-24.

409. Diaz, R. The diffusion method for identification of cattle vaccination with Brucella abortus strain 45/20 / R. Diaz // Vet. Rec. – 1973. – 93. – P. 300-302.

410. Doyce, B. Effect of reduced dosages of Br. abortus strain 19 in cattle vaccinated as yearling / B. Doyce // Ann. meeting proceed. – 1979. – V. 83. – P. 92-104.

411. Ediffhill, Roba M.A. Somportamiento de distintas tecnicas serologicas en el diagnostico de la brucellosis en bovinos adultos vacunados con la cepa 19 / Roba M. A. Ediffhill // Cienc. y teen. agr. Vet. – 1987. – V. 9. – N 2. – P. 47-59.

412. Fania, J.E. Vacinacao de bovinos com sybdose de vacina amostra B – 19 pela via subcutanea / J.E. Fania, R.M. Barbosa, B.P. Dariz // Arg. Bras. Med. Vet. e zotech. – 1985. – V. 37. – N 6. – P. 569-579.

413. Fensterbank, R. Comparison between subcutaneous and conjunctival route of vaccination with Rev.1 strain against Brucella melitensis infection in ewes / R. Fensterbank, P. Pardon, J. Marly // J. Ann. Rech. Vet. – 1982. – Vol. 13. – № 4. – P. 295-301.

414. Fensterbank, R. Vaccination of ewes by a single conjunctival administration of Brusella melitensis Rev-1 vaccine / R. Fensterbank, P. Pardon, J. Marly // J. Ann. Rec. Vet. – 1985. – № 1. – P. 351-356.

415. Fensterbank, R. Conjunctival vaccination of young goats with Brucella melitensis Rev-1 / R. Fensterbank, J.M. Verger, G. Maggyr // J. Ann. Rech. Vet. – 1987. – Vol. 18. – № 4. – P. 397-403.

416. Fensterbank, R. Vaccination against bovine brucellosis with a low dose of

strain 19 administered by the conjunctival route 1V Comparison between two methods of vaccination / R. Fensterbank, M. Plommet // J. Ann. Rech. Vet. – 1987. – Vol. 18. – № 4. – P. 421-428.

417. Fluchauer, O. Die Abortus – Bang – Ringprobe (ABR) zur Ferststellyng von Bang Verdachtigen Vollmilch probe / O. Fluchauer // Bert. Tierartl. Wochensechr. – 1937. – N. 53. – P. 527.

418. Garcia-Carrillo, C. La brucellosis de los en America y su relacion syn la infection humana / C. Garcia-Carrillo // Office intern. des epizooties. – Paris. – 1987.

419. Geborieau, R. Essai de prophylaxie de brucellose dans une exploitation infectes par IP vaccination avec la souche tuse "Brucella abortus" et avec la souche designer soua le nom de B.19 / R. Geborieau // Bull. Mensuel. Vet. Prat. Fr. – 1970. – Vol. 54 (6). – P. 310-319.

420. Graumont, R. Immunisation de la chevre primapare contre l'infection experimentale a B.melitensis comparison des vaccins Rev.1 et H38 / R. Graumont, L. Dhennin, D. Trap // Developments in Biological Standardization. – Basel. – 1984. – Vol. 56. – P. 629-642.

421. Herzberg, M. Immunisation against Brucella infection. III. Response of mice and guinea pigs to infection of B. melitensis / M. Herzberg, S.S. Elberg // J. Bact. – 1955. – Vol. 69. – P. 432-435.

422. Jack, E. Transmission of the bovine brucellosis from dam to offerpring / E. Jack, E. Cullin, J. Sheeham // J. Am. Vet. Med. Ass. – 1986. – V. 188. – N 8. – P. 867-889.

423. Jezic, J. Sistem samoprociscavanja i predobrane protiv tuberkuloze i bruceloze goveda uklopljen u opcenito prinvat-ljivi postupak stocarenja / J. Jezic // Veterinaria (Jugosl.). – 1955. – V. 4 – N 2/3. – P. 229-230.

424. Jiminez de Bagues, M.R. Responses of ewes to B.melitensis Rev-1 vaccine administered by subcutaneous or conjunctival routes at different stadies of pregnancy / M.R. Jiminez de Bagues, C.M. Marin, M. Barberan et al. // J. Ann. Rech. Vet. – 1989. – Vol. 20. – № 2. – P. 205-213.

425. Joubert, L. La vaccin antibrucellique inactive H 38 dans la prophylaxie de la brucellose des ruminants / L. Joubert, H. Jacotot, L. Vallee // Bull. Soc. Sc. Veter. Med. Comp. Lyon. – 1969. – Vol. 71 (1). – P. 65-92.

426. Mc. Even, A.D. A. Brucella abortus: Heat Stable protective Antigen Revealed by Adjuvant and Present in "Roug" Variant Strain 45/20: Immunisation Experiments on Guinea-Pigs 7 / A.D. Even, J. Samuel // Vet. Rec. – 1955. – Vol. 67 (29). – P. 546-548.

427. McKeown, G. Brucellosis control in Canada / G. McKeown // Canada Agriculture. – 1975. – V. 20. – N 3. – P. 11-12.

428. Nicoletti, P. Vaccination of cattle against brucellosis / P. Nicoletti // J. of the Am. Vet. Med. Ass. – 1978. – V. 168. – N 3. – P. 184-185.

429. Nicoletti, P. Comparison of the subcutaneous and conjunctival route of vaccination the Brucella abortus strain 19 vaccine in adult cattle / P. Nicoletti, L.M. Jons, D.T. Berman // J.Am.Med. Assoc. – 1978. – Vol. 179. – № 11. – P. 445-449.

430. Plackett, P. La vaccination antibrucellique administree par voie conjctivale. Efficace de asinge dose a Brucella abortus strain 19 vaccine to protect cattle when given early in calthood / P. Plackett, G.O. Allton, P. Darter et al. // Austral. Vet. Journ. – 1980. – Vol. 56. – № 9. – P. 409-412.

431. Plommet, M. Transmission congenitale de la brucellose bovine d'une generation a l'autre / M. Plommet, G. Renoux, A. Philippon et al. // Bull. Acad. vet. France. – 1971. – V. 44. – N 1. – P. 53-56.

432. Plommet, M. Vaccination against bovine brucellosis with a low dose of strain 19 administered by the conjunctival route. 2. Determination of the minimum dose leading to colonisation of the regional lymph nodes of cattle / M. Plommet, A. Plommet // J. Ann. Rech. Vet. – 1976. – Vol. 1. – P. 1-8.

433. Plommet, M. La vaccination conjunctivale par la sève Br. abortus 19 contre la brucellose bovine Principe et indications / M. Plommet // Bull. Neosical. de la Societo Veterinare Pratique de France. – 1980. – Vol. 64. – № 10. – P. 813-823.

434. Plommet, M. La vaccination conjonctivale par la vaccination conjonctivale

par la souche B. abortus 19: Principe et indications / M. Plommet // Bull. Soc. Vet. Prat. France. – 1981. – Vol. 65. – № 4. – P. 257-262.

435. Plommet, M. Les dermeres etapes de la prophylaxie de la brucellose bovine en France / M. Plommet // Dull. Soc. Vet. Prat. France. – 1985. – V. 89 – N 7. – P. 425-430.

436. Reid, M.R. The use of Brucella Abortus 45/20 adjuvant vaccine as a diagnostic air in the Bpucellosis eradication Campaign in Papua New Guinea / M.R. Reid, F.R. Harvey // Austral. Vet. J. – 1972. – Vol. 46 (9). – P. 495-499.

437. Roerink, J.H.G. Experience on the safety and Effectivenese of 45/20 Vaccine under field Conditions / J.H.G. Roerink // Vet. Rec. – 1969. – Vol. 85 (12). – P. 269-270.

438. Sting, R. Erfahrunggen mit ein facken ELISA-Testsystemen fuer die Brucellose Serologic bei Rind, Schaf und Ziege / R. Sting, G. Ostmann // Berl u munch. Tierarztl. Wschr. – 2000. – Sg. 113. – № 1. – S. 22-28.

439. Valette, L. Prophylaxie medicaid de la brucellose animale / L. Valette // Rev. Elevage Med. veter. – 1987. – V. 4. – P. 351-864.

440. Valette, L. La reaction ELISA dans le diagnostic de la brucellose animale / L. Valette // Rev. Elevade Med. Veter. – 1987. – V. 40. – № 4. – P. 341-345.

441. Verger, J.M. La brucellose bovine a Brucella melitensis en France / J.M. Verger et al. // Arm. Rech. veter. – 1989. – V. 20. – N 1. – P. 93-102.

442. Viana, F.C. Vaccinacio contra brucellose bovine com dose reduzida (Amostra B – 19) por dose redusude por via subsutaneae / F.C. Viana, J.A. Silva // Arq. Esoola. Vet. Univ. Fed. Minas Gerais. – 1982. – V. 34. – N 2. – P. 270-287.

443. Viana, F.C. Vaccinacio Br. bovinos cdulfos contra brucellose (Amostra B – 19) com dose reduzide por via subsutaneae / F.C. Viana, J.A. Silva // Arq. br. Med. Vet. Zootech. – 1986. – V. 38. – N 3. – P. 331-841.

444. Waghela, S. Serological response in cattle, sheep and goats in Kenya vaccinated with Killed Brucella melitensis strain H38 adjuvant vaccine / S. Waghela // Vet. Rec. – 1983. – Vol. 112 (20). – P. 476-479.

445. Waghela, S. Serological Response of Cattle in Kenya Vaccinated with a Killed B. abortus strain 45/20 adjuvant Vaccine / S. Waghela, M. Philpott // Vet. Rec. – 1976. – Vol. 99 (25-26). – P. 505-507.

446. Woodard, L.P. Comparative efficacy of an experimental S 45/20 bacterin and a reduced dose of strain 19 vaccine against bovine brucellosis / L.P. Woodard, R.L. Jasman // Amer. J. Vet. Res. – 1983. – Vol. 44. – № 5. – P. 907-910.

7. ПРИЛОЖЕНИЯ

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2501567

СПОСОБ ПРОФИЛАКТИКИ БРУЦЕЛЛЕЗА ЖИВОТНЫХ

Патентообладатель(ли): *Государственное научное учреждение
Всероссийский научно-исследовательский институт бруцеллеза и
туберкулеза животных Российской академии сельскохозяйственных
наук (ГНУ ВНИИБТЖ Россельхозакадемии) (RU)*

Автор(ы): *см. на обороте*

Заявка № 2012142934

Приоритет изобретения 08 октября 2012 г.

Зарегистрировано в Государственном реестре
изобретений Российской Федерации 20 декабря 2013 г.

Срок действия патента истекает 08 октября 2032 г.

Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

Б.П. Симонов



РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(19) **RU** (11) **2 501 567** (13) **C1**(51) МПК
A61K 39/10 (2006.01)**(12) ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

(21)(22) Заявка: 2012142934/15, 08.10.2012

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
08.10.2012

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 08.10.2012

(45) Опубликовано: 20.12.2013 Бюл. № 35

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: ТЕН В.Б. Методологические основы изготовления и совершенствования профилактических противобруцеллезных препаратов и диагностических средств: Автореф. дис. док. вет. наук. - Алматы, 1996, с.45. RU 0002230572 C1, 20.06.2004. RU 0002238759 C2, 27.10.2004. Наставление по применению вакцины живой сухой против бруцеллеза сельскохозяйственных животных из (см. прод.)

Адрес для переписки:

644001, г.Омск, ул. Лермонтова, 93, ГНУ
ВНИИ бруцеллеза и туберкулеза животных
Российской академии сельскохозяйственных
наук (ГНУ ВНИИБТЖ Россельхозакадемии),
патентный отдел

(72) Автор(ы):

Аракелян Петрос Карапетович (RU),
Бондарева Ольга Викторовна (RU),
Барабанова Елена Борисовна (RU),
Димов Сергей Константинович (RU),
Димова Алеся Сергеевна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Государственное научное учреждение
Всероссийский научно-исследовательский
институт бруцеллеза и туберкулеза
животных Российской академии
сельскохозяйственных наук (ГНУ
ВНИИБТЖ Россельхозакадемии) (RU)

(54) СПОСОБ ПРОФИЛАКТИКИ БРУЦЕЛЛЕЗА ЖИВОТНЫХ**(57) Формула изобретения**

Способ профилактики бруцеллеза животных, включающий внутримышечное введение антибактериального препарата с последующим введением вакцины, отличающийся тем, что в качестве антибактериального препарата используют Нитокс 200 в дозе 20 мг/кг однократно, а в качестве вакцины используют через 8 суток конъюнктивально вакцину из штамма V.abortus 19 в дозе 1/10 от общепринятой при подкожном введении.

(56) (продолжение):

штамма бруцелла abortus 19: Утверждено Департаментом ветеринарии Минсельхозпрода России 26.02.96 г., №13-3-2/539. WO 2011016043 A2, 10.02.2011. US 20070037776 A1, 15.02.2007.

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2518308

**СПОСОБ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ЭПИЗОТИЧЕСКОЙ
ОЦЕНКИ НА БРУЦЕЛЛЕЗ СТАД КРУПНОГО РОГАТОГО
СКОТА, ИММУНИЗИРОВАННОГО ЖИВЫМИ
ВАКЦИНАМИ ИЗ ДИССОЦИИРОВАННЫХ ШТАММОВ
БРУЦЕЛЛ**

Патентообладатель(ли): *Государственное научное учреждение
Всероссийский научно-исследовательский институт бруцеллеза и
туберкулеза животных Российской академии сельскохозяйственных
наук (ГНУ ВНИИБТЖ Россельхозакадемии) (RU)*

Автор(ы): *см. на обороте*

Заявка № 2012139953

Приоритет изобретения **18 сентября 2012 г.**

Зарегистрировано в Государственном реестре
изобретений Российской Федерации **08 апреля 2014 г.**

Срок действия патента истекает **18 сентября 2032 г.**

*Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности*

Б.П. Симонов



РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(19) **RU** ⁽¹¹⁾ **2 518 308** ⁽¹³⁾ **C2**(51) МПК
A61K 39/10 (2006.01)**(12) ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

(21)(22) Заявка: 2012139953/10, 18.09.2012

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
18.09.2012

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 18.09.2012

(43) Дата публикации заявки: 27.03.2014 Бюл. № 9

(45) Опубликовано: 10.06.2014 Бюл. № 16

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: **ДЕГТЯРЕНКО Л.В. и др.**
Дифференциальная диагностика бруцеллеза крупного рогатого скота, привитого вакциной из штамма 82, журнал Ветеринария, 1, 2002г., с.18-20. KZ 26152 A4 14.09.2012. RU 2203499 C1 27.04.2003

Адрес для переписки:

644001, г.Омск, ул. Лермонтова, 93, ГНУ ВНИИ бруцеллеза и туберкулеза животных Российской академии сельскохозяйственных наук (ГНУ ВНИИБТЖ Россельхозакадемии), Патентный отдел

(72) Автор(ы):

**Аракелян Петрос Карпетович (RU),
Разницына Галина Васильевна (RU),
Барабанова Елена Борисовна (RU),
Димов Сергей Константинович (RU),
Димова Алеся Сергеевна (RU)**

(73) Патентообладатель(и):

**Государственное научное учреждение
Всероссийский научно-исследовательский
институт бруцеллеза и туберкулеза
животных Российской академии
сельскохозяйственных наук (ГНУ
ВНИИБТЖ Россельхозакадемии) (RU)****(54) СПОСОБ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ЭПИЗООТИЧЕСКОЙ ОЦЕНКИ НА БРУЦЕЛЛЕЗ СТАД КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА, ИММУНИЗИРОВАННОГО ЖИВЫМИ ВАКЦИНАМИ ИЗ ДИССОЦИИРОВАННЫХ ШТАММОВ БРУЦЕЛЛ****(57) Формула изобретения**

Способ дифференциальной эпизоотической оценки на бруцеллез стад крупного рогатого скота, иммунизированного живыми вакцинами из диссоциированных штаммов бруцелл, включающий исследование сыворотки крови в реакции агглютинации, реакции связывания комплемента с единым бруцеллезным антигеном, реакции иммунной диффузии с О-ПС антигеном и дополнительное исследование положительно реагирующих проб в реакции связывания комплемента с R-антигеном, отличающийся тем, что в качестве R-антигена используют овисный антиген, отрицательный результат реакции связывания комплемента с овисным антигеном подтверждает, что животное больно бруцеллезом, а положительный результат - здорово.

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2613901

Способ получения бруцеллёзной моноспецифической сыворотки anti-melitensis

Патентообладатель: *Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Всероссийский научно-исследовательский институт бруцеллеза и туберкулеза животных" (ФГБНУ ВНИИБТЖ) (RU)*

Авторы: *Аракелян Петрос Карапетович (RU), Разницына Галина Васильевна (RU), Димов Сергей Константинович (RU), Димова Алеся Сергеевна (RU)*

Заявка № 2016101290

Приоритет изобретения 18 января 2016 г.

Дата государственной регистрации в

Государственном реестре изобретений

Российской Федерации 21 марта 2017 г.

Срок действия исключительного права

на изобретение истекает 18 января 2036 г.

Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

Г.П. Ивлиев Г.П. Ивлиев



РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

(19) **RU**⁽¹¹⁾ **2 613 901**⁽¹³⁾ **C1**

(51) МПК

A61K 39/10 (2006.01)

A61K 39/395 (2006.01)

A61P 31/00 (2006.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ(12) **ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

(21)(22) Заявка: 2016101290, 18.01.2016

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
18.01.2016

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 18.01.2016

(45) Опубликовано: 21.03.2017 Бюл. № 9

Адрес для переписки:

644001, Омск, ул. Лермонтова, 93, ФГБНУ
ВНИИБТЖ, патентный отдел

(72) Автор(ы):

Аракелян Петрос Карапетович (RU),

Разницына Галина Васильевна (RU),

Димов Сергей Константинович (RU),

Димова Алесья Сергеевна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное бюджетное
научное учреждение "Всероссийский научно-
исследовательский институт бруцеллеза и
туберкулеза животных" (ФГБНУ
ВНИИБТЖ) (RU)

(56) Список документов, цитированных в отчете

о поиске: RU 2549434 C2, 10.02.2015. RU

2104031 C1, 10.02.1998. CN 101592661

A, 02.12.2009. KZ 20774 A4, 16.02.2009. UA

22013 U, 15.04.2007.

(54) Способ получения бруцеллезной моноспецифической сыворотки anti-melitensis

(57) Формула изобретения

Способ получения бруцеллезной моноспецифической сыворотки anti-melitensis, включающий иммунизацию кроликов разовой дозой штамма *B. melitensis*, получение сыворотки, ее инактивацию при 60-65°C в течение 1-1,5 часа, перекрестную адсорбцию бактериологической массой штамма *B. abortus* 544, полученной путем выращивания культуры в течение 70-72 ч, центрифугирования, охлаждения осадка в течение 24-26 часов и добавления к осадку физиологического раствора для получения бактериальной массы в количестве $3,5-3,7 \times 10^9$ КОЕ на 10 мл сыворотки, с последующей ее инкубацией при 37°C в течение 2 часов, восстановление сыворотки путем центрифугирования, консервирование и фасовка, отличающийся тем, что иммунизацию кроликов проводят подкожно в область подгрудка суспензией в объеме 1 мл, представляющую собой смесь: 200 млн. м.к. инактивированной культурой штамма *B. melitensis* 16М с адьювантом MONTANIDE™ ISA 61 VG, для перекрестной адсорбции используют инактивированный штамм *B. abortus* 544, на 14-16 день проводят пробное кровозъятие, а на 21-45 дни осуществляют трехкратное взятие крови и на 60 день обескровливают.

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2635515

**Способ дифференциальной экспресс-диагностики
бруцеллеза крупного рогатого скота**

Патентообладатель: *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский федеральный научный центр агrobiотехнологий Российской академии наук (СФНЦА РАН) (RU)*

Авторы: *Сизов Александр Анатольевич (RU), Сизов Дмитрий Александрович (RU), Димов Сергей Константинович (RU), Димова Алеся Сергеевна (RU), Аракелян Петрос Каранетович (RU), Чекишев Валерий Николаевич (RU)*

Заявка № 2016146863

Приоритет изобретения 29 ноября 2016 г.

Дата государственной регистрации в

Государственном реестре изобретений

Российской Федерации 13 ноября 2017 г.

Срок действия исключительного права

на изобретение истекает 29 ноября 2036 г.

Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

Г.П. Ивлиев



РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

**ПАТЕНТ**

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2639127

Способ получения бруцеллёзной моноспецифической сыворотки anti-abortus

Патентообладатель: *Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Всероссийский научно-исследовательский институт бруцеллеза и туберкулеза животных" (ФГБНУ ВНИИБТЖ) (RU)*

Авторы: *Аракелян Петрос Карпетович (RU), Разницына Галина Васильевна (RU), Янченко Татьяна Александровна (RU), Димов Сергей Константинович (RU), Димова Алеся Сергеевна (RU)*

Заявка № 2016115897

Приоритет изобретения 22 апреля 2016 г.

Дата государственной регистрации в

Государственном реестре изобретений

Российской Федерации 19 декабря 2017 г.

Срок действия исключительного права

на изобретение истекает 22 апреля 2036 г.

Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

Г.П. Ивлиев Г.П. Ивлиев



РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

(19) **RU** (31) **2 639 127** (13) **C2**(51) МПК
G01N 33/45 (2006.01)ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ**(12) ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

(21)(22) Заявка: 2016115897, 22.04.2016

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
22.04.2016

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 22.04.2016

(43) Дата публикации заявки: 26.10.2017 Бюл. № 30

(45) Опубликовано: 19.12.2017 Бюл. № 35

Адрес для переписки:

644001, Омск, ул. Лермонтова, 93, ФГБНУ
ВНИИБТЖ, патентный отдел

(72) Автор(ы):

Аракелян Петрос Карапетович (RU),
Разницына Галина Васильевна (RU),
Янченко Татьяна Александровна (RU),
Димов Сергей Константинович (RU),
Димова Алеся Сергеевна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное бюджетное
научное учреждение "Всероссийский научно-
исследовательский институт бруцеллеза и
туберкулеза животных" (ФГБНУ
ВНИИБТЖ) (RU)(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: RU 2375074 C1, 10.12.2009. RU
2549434 C2, 27.04.2015. KULAKOV Lu. K., et
al., Increased production of the protein
antigen of *Brucella melitensis* in *Escherichia*
coli K-12 cells [Article in Russian]. *Mol Gen*
Mikrobiol Virusol. 1999; (4): 15-9. TABYNOV
K., et al., An influenza viral vector *Brucella*
abortus vaccine induces good cross-protection
against *Brucella melitensis* infection in
pregnant heifers. *Vaccine.* 2015 Jul 17; 33(31):
3619-23. doi: 10.1016/j.vaccine.2015.06.045.
Epub 2015 Jun 17.

(54) Способ получения бруцеллезной моноспецифической сыворотки anti-abortus

(57) Формула изобретения

Способ получения бруцеллезной моноспецифической сыворотки anti-abortus, включающий иммунизацию кроликов разовой дозой штамма *B. abortus* 19, обескровливание животных, перекрестную абсорбцию сыворотки бактериальной массой гетерологического вида бруцелл с последующей ее инкубацией при 37°C в течение 2 ч, концентрирование сыворотки путем центрифугирования, консервирование и фасовку, отличающийся тем, что иммунизацию кроликов проводят подкожно в область подгрудка суспензией в объеме 1 мл, представляющей собой смесь 200 млн м.к. культуры штамма *B. abortus* 19, обеззараженной кипячением в течение 60 мин, с адьювантом MONTANIDE™ ISA 61 VG, на 14-16 день проводят пробное крововзятие, а на 21-45 дни осуществляют трехкратное взятие крови и на 60 день обескровливают, в качестве гетерологического вида бруцелл для адсорбции используют штамм *B. melitensis* 565, обеззараженный кипячением в течение 60 мин.

**МИНИСТЕРСТВО
СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
(Минсельхоз России)**

**Департамент ветеринарии
(Депветеринария)**

Орликов пер., 1/11, Москва, 107139
Для телеграмм: Москва 84
Минроссельхоз
телефон/факс: (499) 975 51 05; (495) 607 84 67
E-mail: info@vet.mcx.ru
http://www.mcx.ru

Директору ГНУ ВНИИБТЖ
Россельхозакадемии
Л.Н. Гордиенко

Директору ГНУ ИЭВСиДВ
Россельхозакадемии
Н.А. Донченко

13 МАЯ 2013 № 251148

На № 90-01 от 08.04.2013

Департамент ветеринарии Минсельхоза России подтверждает, что научные результаты исследований по совершенствованию диагностики и специфической профилактики бруцеллеза в различных системах ведения отраслей животноводства, полученные сотрудниками Всероссийского научно-исследовательского института бруцеллеза и туберкулеза животных (ГНУ ВНИИБТЖ Россельхозакадемии) д.в.н., профессором Аракелянцем П.К., кандидатами в.н. Бондаревой О.В., Барабановой Е.Б., а также сотрудниками Института экспериментальной ветеринарии Сибири и Дальнего Востока (ГНУ ИЭВСиДВ Россельхозакадемии) д.в.н., профессором Димовым С.К., кандидатами в.н. Димовой А.С. и Стеблевой Г.М., представлены в виде проекта Концепции по оптимизации противобруцеллезных мероприятий у мелкого и крупного рогатого скота.

Материалы этого проекта будут использованы при разработке Системы профилактики и ликвидации бруцеллеза сельскохозяйственных животных на территории Российской Федерации.

И.о. директора



С.Г. Дресвянникова

Кленова (495) 607 62 35

**МИНИСТЕРСТВО
СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
(Минсельхоз России)**

**Департамент ветеринарии
(Депветеринария)**

Орликов пер., 1/11, Москва, 107139
Для телеграмм: Москва 84
Минроссельхоз
телефон/факс: (495) 975 51 05/607 84 67
E-mail: info@vet.mcx.ru
http://www.mcx.ru

Директору ФГБНУ ВНИИБТЖ
Л.Н. Гордиенко

Директору ФГБНУ ИЭВСиДВ
Н.А. Донченко

23.11.2015 № 25/3377

На № 263-01 от 05.11.2015

Уважаемая Любовь Николаевна!
Уважаемый Николай Александрович!

Департамент ветеринарии Минсельхоза России подтверждает, что предложения ФГБНУ ВНИИБТЖ и ФГБНУ ИЭВСиДВ, подготовленные по результатам многолетних научных исследований сотрудников указанных институтов (Аракелян П.К., Разницына Г.В., Янченко Т.А., Димов С.К., Димова А.С.), представлены в Департамент ветеринарии в виде Проекта стратегии борьбы с бруцеллезом животных.

Данные предложения будут использованы при подготовке нормативного правового акта, регламентирующего проведение противобруцеллезных мероприятий в современных условиях на территории Российской Федерации.

Директор

С уважением, 

В.Н. Боровой

СПРАВКА

об использовании научных результатов, полученных соискателем Димовой А.С., в практическом осуществлении противобруцеллезных мероприятий у животных в масштабах Новосибирской области

Димова Алеся Сергеевна, работая в лаборатории оптимизации противозoonотических систем Института экспериментальной ветеринарии Сибири и Дальнего Востока (ИЭВСиДВ) Сибирского федерального научного центра агроботехнологии Российской академии наук (ранее – Сибирского отделения Россельхозакадемии) с 1999 по 2016 год на различных должностях (в том числе в последнее время – зав. лабораторией), весь этот период активно сотрудничала с ветеринарной службой области.

На базе хозяйств области в студенческие годы (при совмещении учебы с работой в лаборатории) ею выполнена и успешно защищена дипломная работа (2000 г.), а затем – кандидатская диссертация (2003 г.), имевшие, наряду с научным, практическое значение, в том числе для Новосибирской области.

Затем комплексные научные исследования, связанные с проблемой технологичности различных методов и средств специфической профилактики и диагностики бруцеллеза с.-х. животных, и их практическое внедрение были продолжены. В рамках докторской диссертации была разработана концепция оптимизации специфической профилактики и поствакцинальной диагностики бруцеллеза животных, которая в настоящее время широко используется при осуществлении противобруцеллезных мероприятий у животных в масштабах области.

С ее участием разработаны и внедрены в масштабах области рациональные схемы диагностики, обеспечивающей не только максимальное выявление эпизоотически опасных животных, но и объективную оценку эпизоотического статуса по бруцеллезу как стада (отары) в целом, так и каждого животного.

В течение многих лет с ее участием осуществлялась комплексная оценка эпизоотической ситуации по бруцеллезу в Новосибирской области, в том числе в районах, где отмечалось реагирование крупного рогатого скота на бруцеллез в условиях использования с профилактической целью живой вакцины из слабоагглютиногенного штамма В. abortus 82. Комплексная дифференциальная поствакцинальная диагностика бруцеллеза путем серологических исследований сывороток крови от реагирующих на бруцеллез животных, выявленных по результатам районных ветлабораторий, проводилась на базе ИЭВСиДВ.

Разрабатывались индивидуальные программы дальнейшего проведения противобруцеллезных мероприятий в таких хозяйствах, а также рекомендации по использованию рациональной схемы дифференциально-диагностической эпизоотической оценки по бруцеллезу стад крупного рогатого скота, иммунизированного против бруцеллеза живыми

слабоагглютиногенными вакцинами из штаммов *V. abortus* 82 и 75/79 –АВ, в масштабах Новосибирской области.

Димовой А.С. осуществлялись многочисленные научно-методические консультации по различным вопросам повышения эффективности проводимых противобруцеллезных мероприятий как для специалистов хозяйств и госветслужбы, так и для специалистов ветеринарных лабораторий.

В настоящее время Новосибирская область благополучна по бруцеллезу. Единичные вспышки болезни, возникавшие среди неиммунных животных в связи с несанкционированным завозом поголовья из неблагополучных территорий, оперативно купировались, в том числе за счет своевременного принятых противоэпизоотических и профилактических мер благодаря объективным результатам проведенных на базе ИЭВСиДВ комплексных дифференциально-диагностических исследований.

Интерпретация результатов исследований, проведенных с участием Димовой А.С., с учетом эпизоотологических данных, позволяла сделать заключение об эпизоотическом благополучии хозяйств по бруцеллезу, что давало возможность предотвратить необоснованную сдачу значительного числа реагирующих животных на бруцеллез и недопустить объявление неблагополучными по бруцеллезу тех хозяйств, где была доказана вакцинная природа реагирования на бруцеллез.

Таким образом, использование во внедряемых в масштабах Новосибирской области системах противобруцеллезных мероприятий у животных научных результатов, полученных соискателем Димовой А.С., позволило обеспечить значительный противоэпизоотический, профилактический и экономический эффект.

Начальник управления ветеринарии
Новосибирской области, кандидат
ветеринарных наук



О.А. Рожков

СОГЛАСОВАНО
 Зам. директора СФНЦА РАН
 И.А. Довченко
 «15» сентября 2016 г.

СОГЛАСОВАНО
 Директор ТОО «КазНИВИ»
 А.А. Султанов
 «17» сентября 2016 г.

УТВЕРЖДАЮ:
 И.о. председателя РКБКИ МСХ
 Республики Казахстан
 Сакиев Т. Кадулланов
 «16» 2016 г.

КОНЦЕПЦИЯ

обеспечения эпизоотического благополучия по бруцеллезу животноводческих хозяйств, входящих в корпорацию «Восток-Молоко» Восточно-Казахстанской области Республики Казахстан на основе использования в комплексе противобруцеллезных мероприятий у крупного рогатого скота рациональных схем специфической профилактики на долгосрочный период.

В 2012 году Институтом экспериментальной ветеринарии Сибири и Дальнего Востока (ИЭВСидВ), входящим в настоящее время в состав Сибирского федерального научного центра агробиотехнологий Российской академии наук (СФНЦА РАН), совместно с корпорацией «Восток-Молоко» Восточно-Казахстанской области (Республика Казахстан) для входящих в нее хозяйств (ТОО «Бобровка+», КХ «Украинка» - участки Донское, Украинка, Шемонаиха), с учетом конкретных эпизоотических и других местных условий, была разработана и согласована с Комитетом ветеринарного контроля и надзора МСХ РК система противобруцеллезных мероприятий у крупного рогатого скота.

В разработанной системе ведущая роль принадлежит схемам специфической профилактики с использованием вакцин из шт.19, 75/79 и 82 и поствакцинальной диагностики с дифференцирующими возможностями (РА и РСК с S-антигеном и РСК с R- антигеном до предельных титров; РИД с О-ПС антигеном).

В процессе внедрения разработанной оптимальной системы противобруцеллезных мероприятий большое внимание уделялось необходимости осуществления, наряду со специальными, и общих организационно-хозяйственных и ветеринарно-санитарных мероприятий, а также систематического контроля эпизоотической ситуации.

Во всех гуртах за счет рациональных схем вакцинации обеспечивался надежный групповой противобруцеллезный иммунитет. Сдача на убой выявляемых эпизоотически опасных животных повышала надежность проводимых противоэпизоотических мер.

По состоянию на сентябрь 2016 г. современную эпизоотическую ситуацию по бруцеллезу на всех участках корпорации есть все основания признать благоприятной.

Единичное реагирование на бруцеллез у животных, по результатам комплексных дифференциальных исследований, в большинстве случаев носит поствакцинальный характер.

Результаты анализа всех возможных факторов риска, способных отрицательно повлиять на эпизоотическую ситуацию и эффективность проводимых противобруцеллезных мероприятий, диктуют необходимость обратить особое внимание на:

- качество очистки помещений и территорий от навоза, соблюдение дезинфекционного и дератизационного режимов;
- обеспечение однородности стад в отношении иммунного и эпизоотического статусов за счет только рациональных перегруппировок и перемещений животных по согласованию с ветспециалистами;
- выполнение мер групповой и личной профилактики для работников животноводства;
- изолированное выращивание телок и формирование из нетелей отдельных групп и гуртов;
- выполнение других общих ветеринарно-санитарных, зоотехнических и организационно-хозяйственных мероприятий, предусмотренных

официальными действующими положениями, в целях предупреждения возникновения и распространения бруцеллеза животных.

Кроме рисков, связанных с возможностью рецидивов, остаются риски, связанные с возможностью попадания на участки корпорации возбудителя бруцеллеза извне.

Таким образом, несмотря на благоприятную эпизоотическую ситуацию по бруцеллезу на всех участках корпорации, необходимость продолжать использование рациональных схем вакцинации против указанной болезни на длительный период времени в целях обеспечения стойкого эпизоотического благополучия является очевидной.

Стабильно высокий долгосрочный иммунитет у крупного рогатого скота в новых эпизоотических, эпидемических и социально-экономических условиях особенно необходим.

Однако в настоящее время в хозяйствах корпорации стали возникать технологические сложности, связанные с формированием полных гуртов молодняка КРС(150-180 гол), однородных в половозрастном, эпизоотическом и иммунном отношении. В этой связи использование живых вакцин из штаммов V.abortus 82 и 75/79-AB, обладающих нестабильными антигенными свойствами, может в ряде случаев отрицательно отражаться на количественном и качественном реагировании вакцинного происхождения, требующем дифференциации, что сопровождается затратами времени и средств. Иными словами, в современных условиях используемые схемы вакцинации стали терять свою технологичность.

В этой связи практический интерес представляет вакцина мирового уровня из штамма V.abortus 19 при ее использовании конъюнктивальным методом в уменьшенной дозе.

Эффективность специфической профилактики бруцеллеза мелкого рогатого скота, основанной на конъюнктивальном методе введения вакцины из штамма 19 в дозе 4 млрд. м.к., доказана научными исследованиями, проведенными во ВНИИБТЖ (г.Омск) и ИЭВСиДВ (г.Новосибирск): высокая иммуногенность,

угасание у иммунизированных и реиммунизированных животных диагностических серологических реакций (РА, РСК и РИД с О-ПС антигеном) уже через 3-4 месяца, в том числе при многократном использовании животным по выше указанной схеме. Противоэпизоотическая и профилактическая эффективность использования вакцины из штамма *V.abortus 19* на мелком рогатом скоте конъюнктивальным методом в дозе 4 млрд. м.к. в сочетании с рациональной поствакцинальной диагностикой была доказана в ряде регионов РФ.

Конъюнктивальный метод иммунизации мелкого рогатого скота против бруцеллеза вакциной из штамма *V.abortus 19* успешно внедрен в хозяйстве корпорации «Восток-Молоко» ВКО РК.

Контролируемые опыты провели в условиях благополучных по бруцеллезу хозяйств РФ и РК на здоровом крупном рогатом скоте, подвергая животных конъюнктивальной иммунизации против бруцеллеза вакциной из штамма *V.abortus 19* в дозе 8 млрд. м.к. (1/10 подкожной дозы для крупного рогатого скота в объеме 0,1 мл физ. р-ра).

При конъюнктивальной иммунизации здорового крупного рогатого скота вакциной из штамма 19 поствакцинальные реакции в виде РА и РСК угасли полностью к 60 дню у быков, к 85 дню – у животных других половозрастных групп. РИД с О-ПС антигеном была отрицательной во все сроки исследований, начиная с 15 дней. РА и РСК в высоких титрах (200 МЕ и 1:20 и выше соответственно) проявились только в группе здоровых телок старше года (6,6 % из числа исследованных через 15 дней после конъюнктивальной вакцинации).

Конъюнктивальная иммунизация крупного рогатого скота одного из неблагополучных по бруцеллезу хозяйств РК обеспечила противоэпизоотический эффект, способствуя выявлению через 1,5 месяца после введения вакцины из штамма 19 конъюнктивальным методом за счет ее провоцирующих свойств 32,3 % скрытых бруцеллоносителей, которые были сданы на убой. При последующем исследовании (через 15 дней после

предыдущего) животных этого гурта, количество выявленных эпизоотически опасных животных сократилось более чем в 5 раз.

С учетом выше изложенного, предлагаемая концепция обеспечения эпизоотического благополучия хозяйств по бруцеллезу крупного рогатого скота предусматривает совершенствование используемых схем специфической профилактики и поствакцинальной диагностики. Ею суть в поэтапной замене использования живых вакцин из штаммов *B.abortus* 82 и 75/79-AB, обладающих нестабильными антигенными свойствами, на использование вакцины из штамма *B.abortus* 19. Она стабильна в антигенном отношении, высоко иммуногенна и при конъюнктивальном методе введения в уменьшенной дозе обеспечивает возможность беспрепятственной поствакцинальной диагностики бруцеллеза в значительно ранние сроки.

Этапы реализации концепции

Первый этап: 2017-2018 годы

А -Переход на первичную конъюнктивальную иммунизацию вакциной из штамма 19 взрослого ранее неиммунизированного против бруцеллеза поголовья КРС (завозимого для племенных целей) в дозе, содержащей 1/10 часть подкожной дозы вакцинных бруцелл, при отказе от использования неабортгенной вакцины из штамма 75/79-AB.

Б -Переход на первичную конъюнктивальную иммунизацию вакциной из штамма 19 телят, достигших 2-5 месячного возраста в благополучных по бруцеллезу фермах вакциной из штамма 19 в дозе, содержащей 1/10 часть подкожной дозы вакцинных бруцелл, при отказе от использования вакцины из штамма 82 и вакцины из штамма 19 подкожно в полной дозе.

По эпизоотологическим показаниям возможно ее однократное применение подкожно в дозе, рекомендованной Наставлением, что позволяет на неблагополучных фермах выявлять толерантных животных (не способных отвечать на введение вакцины через 15-дней после вакцинации из-за паралича

иммунной системы в результате заражения полевыми бруцеллами внутриутробно или с молоком матери) и не допускать их до воспроизводства. К моменту исследования телок после вакцинации перед осеменением поствакцинальные реакции исчезают полностью.

В -Переход на конъюнктивальную реиммунизацию вакциной из штамма 19 телок перед осеменением в дозе, содержащей 1/10 часть подкожной дозы вакцинных бруцелл на фоне первичной иммунизации в 2-5 мес.возрасте вакциной из штамма 82 или вакциной из штамма 19, при отказе от использования для реиммунизации вакцины из штамма 82.

Г -Переход на конъюнктивальную реиммунизацию вакциной из штамма 19 коров и нетелей в дозе, содержащей 1/10 часть подкожной дозы вакцинных бруцелл на фоне ранее проведенных вакцинаций и ревакцинаций, при отказе от использования для реиммунизации вакцины из штамма 82, ориентируясь на то, чтобы после последней иммунизации животных вакциной из штамма 82 прошло не менее 2 лет.

Второй этап: 2019-2020 и последующие годы

Использование для иммунизации и реиммунизации крупного рогатого скота против бруцеллеза только конъюнктивального метода иммунизации вакциной из штамма 19 при полном отказе от применения вакцин из штаммов 82 и 75/79-АВ. Оптимальным интервалом между ревакцинациями взрослого поголовья считать 1 год.

Примечание: При осуществлении диагностики бруцеллеза после иммунизации и реиммунизации крупного рогатого скота против бруцеллеза вакциной из штамма 19 в дозе 1/10 от общепринятой подкожной (8 млрд. м.к) в благополучных фермах минимальным сроком начала исследований с использованием РИД с О-ПС антигеном считать 1,5 месяца, с использованием РА и РСК – 3 месяца.

Животных, у которых зарегистрирована положительная РИД, считать эпизоотически опасными, подвергать изоляции и убою.

Критерии определения эпизоотического статуса животных, реагирующих в РА и РСК, будут определены дополнительно.

В этих целях предусмотрено изучение на здоровом поголовье сроков угасания поствакцинальных реакций, особенно на фоне предыдущих иммунизаций, в том числе взрослого маточного поголовья вакцинами из штаммов 82 и 75/79-АВ.

Объективная оценка эпизоотического статуса животных, подвергающихся вакцинации против бруцеллеза, принципиально зависит от сроков комплексного исследования на бруцеллез животных, которым на фоне введения противобруцеллезных вакцин вводили различные гетерогенные биопрепараты, прежде всего вакцины, и особенно адъювант – вакцины (в частности, против ящура). В этой связи исследование на бруцеллез животных следует проводить до применения гетерогенных препаратов или не ранее чем 3-4 месяца после него.

В процессе внедрения новых схем специфической профилактики бруцеллеза крупного рогатого скота возможны внесения в указанную концепцию соответствующих дополнений и изменений.

Доктор ветеринарных наук, профессор,
ИЭВСиДВ СФНЦА РАН



Димов С.К.

Доктор ветеринарных наук, профессор,
академик НАН РК

Н.П. Иванов Н.П. Иванов

Кандидат ветеринарных наук, доцент,
ИЭВСиДВ СФНЦА РАН



А.С. Димова

Ген.директор корпорации «Восток-Молоко»,
член НТС по ветеринарии
МСХ РК



С.Ж. Сайлаубаев

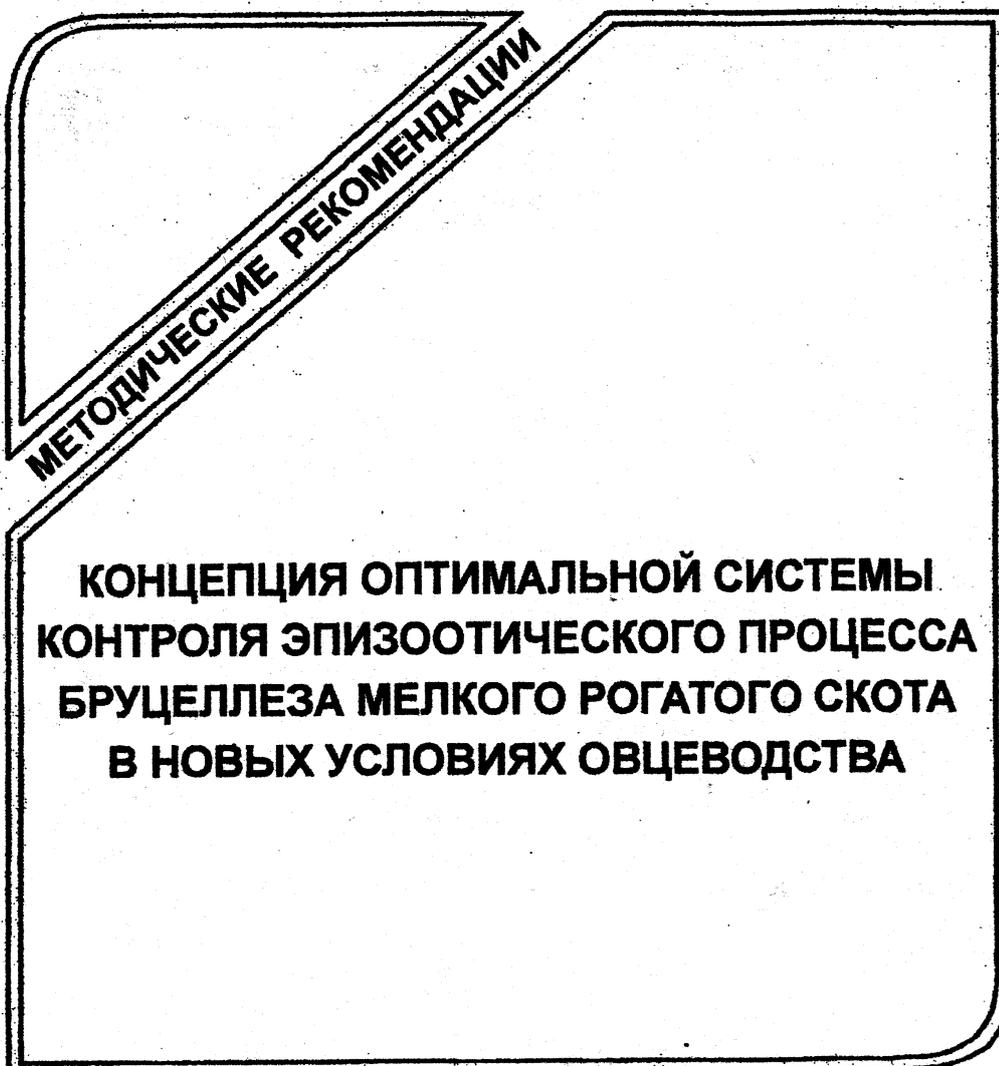
Зам. гендиректора корпорации
«Восток-Молоко» по сельскому хозяйству,
ветврач эпизоотолог



В.И. Воробьев



**Российская академия сельскохозяйственных наук
Сибирское отделение (СО Россельхозакадемии)
Государственное научное учреждение
Всероссийский научно-исследовательский институт
бруцеллеза и туберкулеза животных (ГНУ ВНИИБТЖ)
Государственное научное учреждение
Институт экспериментальной ветеринарии Сибири
и Дальнего Востока (ГНУ ИЗВСиДВ)**



Омск-2007 г.

УДК: 619:616.981.42:636.32/38

Концепция оптимальной системы контроля эпизоотического процесса бруцеллеза мелкого рогатого скота в новых условиях овцеводства: Метод. рекомендации / СО Россельхозакадемии. ВНИИБТЖ-Омск, ГНУ ИЭВСиДВ-Новосибирск. – 2007.

В рекомендациях на основе новых экспериментальных и практических данных изложена концептуальная модель оптимальной системы контроля эпизоотического процесса бруцеллеза мелкого рогатого скота для благополучных, неблагополучных и угрожаемых по этой болезни зон.

Методические рекомендации предназначены для практических ветеринарных специалистов, научных сотрудников, преподавателей и студентов ветеринарных ВУЗов.

Методические рекомендации подготовили:

П.К. Аракелян, В.Г. Ощепков, О.В. Бондарева, Е.Б. Барабанова, М.В. Тимохина, С.К. Димов, А.С. Донченко, С.М. Достай, М.Ш. Арапчор, К.С. Димов, А.С. Димова

Утверждены подсекцией «Инфекционная патология животных в регионе Сибири и Дальнего Востока» секции инфекционной патологии отделения ветеринарной медицины Россельхозакадемии, протокол № 3 от 14 сентября 2006 г.

Рецензент:

А.А. Самоловов, доктор ветеринарных наук, профессор

© Сибирское отделение Россельхозакадемии, 2007 г.

**Концепция оптимальной системы контроля эпизоотического
процесса бруцеллеза мелкого рогатого скота в новых условиях
овцеводства**

Методические рекомендации

Подписано к печати 04.07.2007. Формат бумаги 60x84 1/16.
Печать оперативная. Гарнитура Times New Roman
Усл. печ. л. 1,00. Тираж 100 экз.

Издательство «Вариант-Омск»
644043, г. Омск, ул. Коммунистическая, 45. Тел./факс: 251-434

**ЭПИЗООТОЛОГИЧЕСКАЯ
ДИАГНОСТИКА –
НАУЧНО-МЕТОДИЧЕСКАЯ ОСНОВА
КОНТРОЛЯ ЭПИЗООТИЧЕСКИХ
ПРОЦЕССОВ**

Методические рекомендации

НОВОСИБИРСК • 2010

УДК 619:616.9-036.22-07(083.132)
ББК 48.613Я8
Э71

Рецензент:

доктор ветеринарных наук, профессор *А.А. Самоловов*

Методические рекомендации подготовили:

А.С. Донченко, С.К. Димов, Ю.Г. Юшков, Г.М. Стеблева, Н.И. Куренская,
В.Т. Вольф, П.К. Аракелян, А.С. Димова, К.С. Димов, Г.П. Чукавин

Материалы рассмотрены и утверждены ученым советом ГНУ ИЭВСиДВ Россельхозакадемии (протокол № 3 от 19 мая 2010 г.) и подсекцией «Инфекционная патология животных в регионе Сибири и Дальнего Востока» Отделения ветеринарной медицины Россельхозакадемии (протокол № 3 от 19 мая 2010 г.).

Э71 **Эпизоотологическая диагностика — научно-методическая основа контроля эпизоотических процессов: метод. рекомендации / Рос. акад. с.-х. наук, ГНУ ИЭВСиДВ, ГНУ ВНИИБТЖ; ФГОУ ВПО НГАУ (ИВМ). — Новосибирск, 2010. — 22 с.**

В методических рекомендациях приведены материалы по обоснованию отдельного направления в эпизоотологии — эпизоотологической диагностики и ее роли в контроле эпизоотических процессов в целях повышения уровня эффективности мероприятий по профилактике и ликвидации инфекционных болезней животных.

Рекомендации рассчитаны на научных и практических ветеринарных специалистов — эпизоотологов, а также студентов ветеринарных вузов.

УДК 619:616.9-36.22-07(083.132)
ББК 48.613Я8

© СО Россельхозакадемии, 2010

**ЭПИЗООТОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА –
НАУЧНО-МЕТОДИЧЕСКАЯ ОСНОВА КОНТРОЛЯ
ЭПИЗООТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ**

Методические рекомендации

Подписано в печать 16.09.2010 г. Формат 60×84¹/₁₆.
Усл.-печ. л. 1,5. Уч.-изд. л. 1,5 Тираж 100. Заказ № 106.

Отпечатано в ИИЦ ГНУ СибНСХБ Россельхозакадемии
630501, Новосибирская обл., пос. Краснообск

**КОНЦЕПЦИЯ ОБЕСПЕЧЕНИЯ
ЭПИЗОТИЧЕСКОГО БЛАГОПОЛУЧИЯ
ЖИВОТНОВОДСТВА СИБИРИ
В СОВРЕМЕННЫХ
СОЦИАЛЬНО-ЭКОНОМИЧЕСКИХ
И ПРИРОДНО-ХОЗЯЙСТВЕННЫХ
УСЛОВИЯХ**

Методические рекомендации

НОВОСИБИРСК • 2010

УДК 619:616.9-036.22-084(571.1/5)
ББК 48.23(253)Я8
К64

Рецензент

доктор ветеринарных наук, профессор *А.А. Самоловов*

Методические рекомендации подготовили:

А.С. Донченко, С.К. Димов, Н.А. Шкиль, Ю.Г. Юшков, Н.А. Донченко,
В.В. Храмцов, П.К. Аракелян, К.А. Лайшев, В.Т. Вольф, М.А. Амироков,
В.В. Табакаев, А.П. Свинцов

Материалы рассмотрены и утверждены ученым советом ГНУ ИЭВСиДВ Россельхозакадемии (протокол № 3 от 19 мая 2010 г.) и подсекцией «Инфекционная патология животных в регионе Сибири и Дальнего Востока» Отделения ветеринарной медицины Россельхозакадемии (протокол № 3 от 19 мая 2010 г.).

К64 **Концепция обеспечения эпизоотического благополучия животноводства Сибири в современных социально-экономических и природно-хозяйственных условиях: метод. рекомендации / Россельхозакадемия. ГНУ ИЭВСиДВ ГНУ ВНИИБТЖ, ГНУ НИИСХ КС, ФГОУ ВПО НГАУ (ИВМ). – Новосибирск, 2010. – 22 с.**

В рекомендациях изложена концепция обеспечения эпизоотического благополучия животноводства Сибири в современных социально-экономических и природно-хозяйственных условиях.

Методические рекомендации предназначены для практических ветеринарных специалистов, научных сотрудников, преподавателей и студентов ветеринарных вузов.

УДК619:616.9-036.22-084(571.1/5)
ББК 48.23(253)Я8

© СО Россельхозакадемии, 2010

СОДЕРЖАНИЕ

Введение	3
Теоретическая концепция обеспечения эпизоотического благополучия животноводства	5
Практическая реализация концепции обеспечения эпизоотического благополучия животноводства в современных эпизоотических и социально-экономических условиях Сибири	10
Заключение	19
Библиографический список	21

**КОНЦЕПЦИЯ ОБЕСПЕЧЕНИЯ
ЭПИЗОТИЧЕСКОГО БЛАГОПОЛУЧИЯ ЖИВОТНОВОДСТВА
СИБИРИ В СОВРЕМЕННЫХ СОЦИАЛЬНО-ЭКОНОМИЧЕСКИХ
И ПРИРОДНО-ХОЗЯЙСТВЕННЫХ УСЛОВИЯХ**

Методические рекомендации

Подписано в печать 16.09.2010 г. Формат 60×84¹/₁₆.
Усл.-печ. л. 1,5. Уч.-изд. л. 1,5. Тираж 100. Заказ № 105.

Отпечатано в ИИЦ ГНУ СибНСХБ Россельхозакадемии
630501, Новосибирская обл., пос. Краснообск

**СИСТЕМА КОНТРОЛЯ
ЭПИЗООТИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА
БРУЦЕЛЛЕЗА МЕЛКОГО
РОГАТОГО СКОТА**

Методические рекомендации

Новосибирск 2010

УДК 619:616.98:579.841.93–036.22 (083.132) (571.1/5)
ББК 48731.214 (253) я8
С40

Утверждены секцией инфекционной патологии отделения ветеринарной медицины Россельхозакадемии, протокол № 1 от 21 апреля 2009 г.

Методические рекомендации подготовили:

П.К. Аракелян, В.Г. Ощепков, О.В. Бондарева, Е.Б. Барабанова,
С.К. Димов, А.С. Донченко, К.С. Димов, А.С. Димова, А.П. Свинцов

**Система контроля эпизоотического процесса бруцеллеза
С40 мелкого рогатого скота: Метод. рекомендации / Рос. акад. с.-х. наук.**
Сиб. регион. отд-ние, Всерос. науч.-исслед. ин-т бруцеллеза и
туберкулеза животных, Ин-т эксперим. ветеринарии Сибири и
Дальнего Востока. – Новосибирск, 2010. – 16 с.
ISBN 978–5–904424–48–0

В рекомендациях изложена обоснованная новыми научными данными система контроля эпизоотического процесса бруцеллеза мелкого рогатого скота для благополучных, неблагополучных и угрожаемых по этой болезни зон.

Методические рекомендации предназначены для практических ветеринарных специалистов, научных сотрудников, преподавателей и студентов ветеринарных вузов.

УДК 619:616.98:579.841.93–036.22 (083.132) (571.1/5)
ББК 48.731.214 (253) я8

**СИСТЕМА КОНТРОЛЯ
ЭПИЗООТИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА БРУЦЕЛЛЕЗА
МЕЛКОГО РОГАТОГО СКОТА**

Методические рекомендации

Подписано в печать 10.03.2010 г. Формат 60 × 84 1/16
Усл.-печ. л. 1,0. Тираж 200 экз. Заказ № 28.

Отпечатано ИИЦ ГНУ ЦНСХБ СО Россельхозакадемии
630501, Новосибирская обл., пос. Краснообск

**ОСНОВНЫЕ ПРИНЦИПЫ
ОПТИМИЗАЦИИ
ПРОТИВОЭПИЗООТИЧЕСКИХ СИСТЕМ
ДЛЯ СОВРЕМЕННЫХ
ЭПИЗООТИЧЕСКИХ
И СОЦИАЛЬНЫХ УСЛОВИЙ**

Методические рекомендации

НОВОСИБИРСК • 2010

УДК 619:616.9-036.22-084(083.132)
ББК 48.23Я8
О-75

Рецензент

доктор ветеринарных наук, профессор *А.А. Самоловов*

Методические рекомендации подготовили:

А.С. Донченко, С.К. Димов, Ю.Г. Юшков, П.К. Аракелян, Г.М. Стеблева,
Н.И. Куренская, А.С. Димова, К.С. Димов, В.Т. Вольф, И.В. Пяткина,
Е.А. Суспицына

Методические рекомендации рассмотрены и утверждены ученым советом ГНУ ИЭВСиДВ Россельхозакадемии (протокол №3 от 19 мая 2010 г.) и подсекцией «Инфекционная патология животных в регионе Сибири и Дальнего Востока» Отделения ветеринарной медицины Россельхозакадемии (протокол №3 от 19 мая 2010 г.)

Основные принципы оптимизации противоэпизоотических систем для современных эпизоотических и социальных условий: метод. рекомендации / Россельхозакадемия. ГНУ ИЭВСиДВ ГНУ ВНИИБТЖ, ФГОУ ВПО НГАУ (ИВМ).— Новосибирск, 2010. — 22 с.

В рекомендациях изложены современные теоретические и практические принципы оптимизации противоэпизоотических систем в современных эпизоотических и социальных условиях.

Методические рекомендации предназначены для практических ветеринарных специалистов, научных сотрудников, преподавателей и студентов ветеринарных вузов.

УДК 619:616.9-036.22-084(083.132)
ББК 48.23Я8

© СО Россельхозакадемии, 2010

**ОСНОВНЫЕ ПРИНЦИПЫ ОПТИМИЗАЦИИ
ПРОТИВОЭПИЗООТИЧЕСКИХ СИСТЕМ
ДЛЯ СОВРЕМЕННЫХ ЭПИЗООТИЧЕСКИХ
И СОЦИАЛЬНЫХ УСЛОВИЙ**

Методические рекомендации

Подписано в печать 16.09.2010 г. Формат 60×84¹/₁₆.
Усл.-печ. л. 1,5. Уч.-изд. л. 1,5. Тираж 100. Заказ № 107.

Отпечатано в ИИЦ ГНУ СибНСХБ Россельхозакадемии
630501, Новосибирская обл., пос. Краснообск

**КОНЦЕПЦИЯ КОНТРОЛЯ РИСКОВ
ВОЗНИКНОВЕНИЯ И РАСПРОСТРАНЕНИЯ
ЭПИЗОТИЧЕСКИХ ОЧАГОВ
ЗООАНТРОПОНОЗОВ**

Методические положения

Новосибирск 2011

УДК 619:616-022.39:616-036.22(083.97)
ББК 48.73-8+48.2я82
К 65

Методические положения подготовили:

*А.С. Донченко, С.К. Димов, А.С. Димова, Г.М. Стеблева,
Н.И. Куренская, Ю.Г. Юшков, В.В. Табакаев, В.Т. Вольф,
П.К. Аракелян, Е.Б. Барабанова, О.В. Бондарева,
Е.Г. Бондарев, Т.Г. Попова*

Рецензент

доктор ветеринарных наук, профессор *А.А. Самоловов*

Материалы рассмотрены и утверждены ученым советом ГНУ ИЭВСиДВ Россельхозакадемии (протокол № 2 от 29 апреля 2011 г.) и подсекцией «Инфекционная патология животных в регионе Сибири и Дальнего Востока» Отделения ветеринарной медицины Россельхозакадемии (протокол № 2 от 29 апреля 2011 г.).

К 65 Концепция контроля рисков возникновения и распространения эпизоотических очагов зооантропонозов: методические положения / Рос. акад. с.-х. наук. ГНУ ИЭВСиДВ. ГНУ ВНИИБТЖ. ФГОУ ВПО НГАУ (Факультет ветеринарной медицины). – Новосибирск, 2011.– 21 с.

В методических положениях приведены материалы, теоретически, экспериментально и практически обосновывающие концепцию контроля рисков возникновения и распространения эпизоотических очагов зооантропонозов, реализация которой в ветеринарной практике позволит повысить уровень противозооотической, противозидемической и экономической эффективности мероприятий по профилактике и ликвидации инфекционных болезней, опасных для животных и людей.

Методические положения рассчитаны на научных и практических ветеринарных специалистов-эпизоотологов, а также студентов ветеринарных вузов.

УДК 619:616-022.39:616-036.22(083.97)
ББК 48.73-8+48.2я82

**КОНЦЕПЦИЯ КОНТРОЛЯ РИСКОВ
ВОЗНИКНОВЕНИЯ И РАСПРОСТРАНЕНИЯ
ЭПИЗООТИЧЕСКИХ ОЧАГОВ
ЗООАНТРОПОНОЗОВ**

Методические положения

Подписано в печать 26.05.2011 г. Формат 60×84 1/16.
Объем печ. л. 1,25. Тираж 100 экз. Заказ № 39

Отпечатано в ИЦ СибНСХБ Россельхозакадемии
630501, Новосибирская обл., пос. Краснообск

**КОНЦЕПЦИЯ НОВЫХ МЕТОДОВ ДИАГНОСТИКИ И
СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ПРОФИЛАКТИКИ
БРУЦЕЛЛЕЗА ЖИВОТНЫХ**

Методические положения

Омск - 2012

УДК: 619:616-084

Концепция новых методов диагностики и специфической профилактики бруцеллеза животных: Методические положения / Рос. акад. с.-х. наук, ГНУ ВНИИБТЖ; ГНУ ИЭВСидВ - Новосибирск, - 2012. - 16 с.

Материалы рассмотрены и утверждены ученым советом ГНУ ИЭВ-СидВ Россельхозакадемии (протокол № 4 от 21 сентября 2011 г.) и подсекцией "Инфекционная патология животных в регионе Сибири и Дальнего Востока" Отделения ветеринарной медицины Россельхозакадемии (протокол № 3 от 21 августа 2011 г.).

Методические положения подготовили: П.К. Аракелян, С.К. Димов, Е.Б. Барабанова, О.В. Бондарева, Е.Г. Бондарев, В.С. Бронников, Т.Г. Попова, А.С. Димова.

В методических положениях приведены материалы, теоретически, экспериментально и практически обосновывающие концепцию новых методов диагностики и специфической профилактики бруцеллеза животных, реализация которой в ветеринарной практике позволит повысить уровень противозoonотической, противозoonотической и экономической эффективности мероприятий по профилактике и ликвидации этой зооантропонозной болезни.

Методические положения рассчитаны на научных сотрудников и практических ветеринарных специалистов-эпизоотологов, а также студентов ветеринарных ВУЗов.

Рецензент: доктор ветеринарных наук, профессор В.В. Храмцов

**ИНСТИТУТ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ВЕТЕРИНАРИИ СИБИРИ
И ДАЛЬНЕГО ВОСТОКА
(ИЭВСиДВ)**

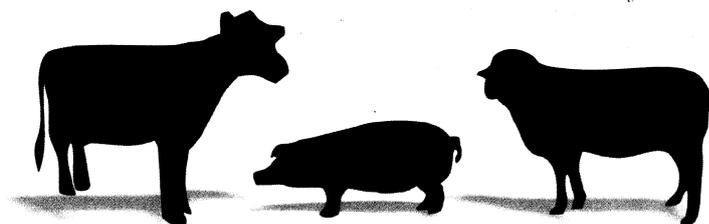
**ВСЕРОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ИНСТИТУТ БРУЦЕЛЛЕЗА И ТУБЕРКУЛЕЗА ЖИВОТНЫХ
ВНИИБТЖ)**

ООО «Сиббиотест»

ООО «Сибитек»

**ЭКСПРЕСС-ДИАГНОСТИКА
БРУЦЕЛЛЕЗА ЖИВОТНЫХ
С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ИФА**

МЕТОДИЧЕСКОЕ ПОСОБИЕ



Новосибирск – 2014

УДК: УДК 619:616.981:42

Экспресс-диагностика бруцеллеза животных с использованием ИФА: Метод. пособие / ИЭВСиДВ, ВНИИБТЖ, ООО «Сиббиотест», ООО «Сибитек» – Новосибирск. – 2014. – 21 с.

Приведены материалы по теоретическому, экспериментальному и практическому обоснованию массового применения экспресс-диагностики бруцеллеза животных с использованием ИФА, методика постановки ИФА с новой диагностической тест-системой, разработанной ИЭВСиДВ и ГНУ ВНИИБТЖ совместно с ООО «Сиббиотест», результаты ее испытания.

Методическое пособие рассчитано на научных и практических ветеринарных специалистов в области животноводства, эпизоотологов, специалистов ветеринарных лабораторий, а также студентов ветеринарных ВУЗов.

Методическое пособие подготовили: Димов С.К., Димова А.С., Сизов А.А., Стеблева Г.М., Куренская Н.И., Мельников Д.П., Сизов Д.А., Аракелян П.К.

Материалы рассмотрены и утверждены ученым советом ИЭВСиДВ (протокол № 4 от 19 ноября 2014 г.) и подсекцией «Инфекционная патология животных в регионе Сибири и Дальнего Востока» Отделения ветеринарной медицины Россельхозакадемии (протокол № 3 от 19 ноября 2014г.)

Рецензент:

доктор ветеринарных наук, профессор В.В. Храмцов

СОДЕРЖАНИЕ

	Стр.
1. ТЕОРЕТИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ЭКСПРЕСС- ДИАГНОСТИКИ БРУЦЕЛЛЕЗА ЖИВОТНЫХ С ИСПОЛЬ- ЗОВАНИЕМ ИФА	4
2. РАЗРАБОТКА НОВОЙ ДИАГНОСТИЧЕСКОЙ ТЕСТ- СИСТЕМЫ ИФА, ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ И ПРАКТИ- ЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ЕЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИ БРУЦЕЛЛЕЗЕ ЖИВОТНЫХ	4-8
3. МЕТОДИКА ПОСТАНОВКИ ИФА С НОВОЙ ДИАГНО- СТИЧЕСКОЙ ТЕСТ-СИСТЕМОЙ, РАЗРАБОТАННОЙ ГНУ ИЭВС _и ДВ И ГНУ ВНИИБТЖ СОВМЕСТНО С ООО «СИББИОТЕСТ»	8-12
4. ВОЗМОЖНЫЕ ОШИБКИ ПРИ ПОСТАНОВКЕ ИФА И ПУТИ ИХ НЕДОПУЩЕНИЯ	12-19
5. ЗАКЛЮЧЕНИЕ	19
6. СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	20

**РАЦИОНАЛЬНАЯ СХЕМА КУПИРОВАНИЯ
БРУЦЕЛЛЕЗНОЙ ИНФЕКЦИИ У ЖИВОТНЫХ**

Методические положения

Омск 2015

УДК 619:616.981.42:616.9 – 022.1+636

Р 12

Методические положения подготовили:

Аракелян П.К., Барабанова Е.Б., Разницына Г.В., Янченко Т.А., Головачева О.О., Трегубов А.Н., Руденко А.В., Димов С.К., Димова А.С.

Рецензенты:

— доктор ветеринарных наук, профессор *М.А. Бажин*;
— доктор ветеринарных наук, профессор *Самоловов А.А.*

Материалы рассмотрены и утверждены ученым советом ГНУ ВНИИБТЖ Россельхозакадемии (протокол №5 от 09.09. 2014 г.) и подсекцией «Инфекционная патология животных в регионе Сибири и Дальнего Востока» Отделения ветеринарной медицины Россельхозакадемии (протокол № 3 от 19 ноября 2014г.).

Р 12 Рациональная схема купирования бруцеллезной инфекции у животных: методические положения /ФГБНУ ВНИИБТЖ, ФГБНУ ИЭВСиДВ – Омск, 2015. - 11 с.

В методических положениях приведены материалы, теоретически, экспериментально и практически обосновывающие рациональную схему купирования бруцеллезной инфекции у животных, реализация которых позволит в значительной степени повысить эффективность противобруцеллезных мероприятий.

Методические положения рассчитаны на научных и практических ветеринарных специалистов в области животноводства, эпизоотологов, а также студентов ветеринарных ВУЗов.

УДК 619:616.981.42:616.9 – 022.1+636

**РАЦИОНАЛЬНАЯ СХЕМА КУПИРОВАНИЯ
БРУЦЕЛЛЕЗНОЙ ИНФЕКЦИИ У ЖИВОТНЫХ**

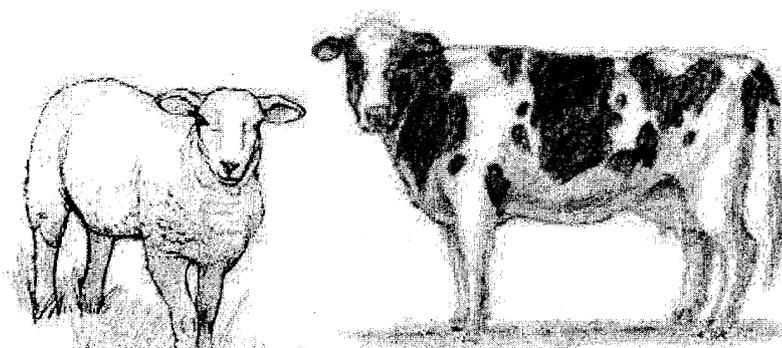
Методические положения

Подписано в печать 27.04.2015. Формат 60×84¹/₁₆.
Плоская печать. Бумага офсетная. Тираж 50 экз. Заказ № 06/04.15

Издательство «Lprint» 644010, г. Омск, пр. Маркса, 18 / 6, 2 эт.
Тел./факс: (3812) 48-50-27, e-mail: Lprint-omsk@mail.ru

**РАЦИОНАЛЬНАЯ СХЕМА ИСПОЛЬЗОВАНИЯ РИД
С РАЗЛИЧНЫМИ О-ПС АНТИГЕНАМИ
В ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКЕ
БРУЦЕЛЛЕЗА ЖИВОТНЫХ**

МЕТОДИЧЕСКИЕ ПОЛОЖЕНИЯ



Омск – 2015

УДК: 619:616.981:42

Рациональная схема использования РИД с различными О-ПС антигенами в дифференциальной диагностике бруцеллеза животных: Метод. положения / ФАНО России, ФГБНУ ВНИИБТЖ, ФГБНУ ИЭВСидВ - Омск. – 2015.- 23 с.

Приведены материалы по теоретическому, экспериментальному и практическому обоснованию методических положений, связанных с рациональной схемой использования РИД с различными О-ПС антигенами в дифференциальной диагностике бруцеллеза животных, реализация которых позволит в значительной степени повысить эффективность противобруцеллезных мероприятий.

Методические положения рассчитаны на научных и практических ветеринарных специалистов, эпизоотологов, а также студентов ветеринарных ВУЗов.

Методические положения подготовили:

Аракелян П.К., Бондарев Е. Г., Разницына Г.В., Янченко Т.А., Чекишев В.М., Димов С.К., Димова А.С., Воробьев В.И., Стеблева Г.М.

Материалы рассмотрены и утверждены ученым советом ФГБНУ ВНИИБТЖ (протокол № 5 от 07.09.2015 г.) и подсекцией «Инфекционная патология животных в регионе Сибири и Дальнего Востока» отделения сельскохозяйственных наук РАН (протокол № 2 от 14.10.2015 г.).

Рецензенты:

доктор ветеринарных наук, профессор М.А. Бажин;
доктор ветеринарных наук, профессор В.В. Храмцов

УДК: 619:616.981:42

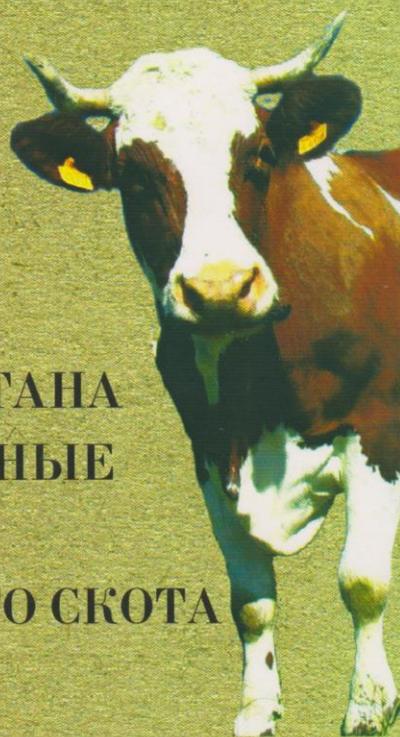
**РАЦИОНАЛЬНАЯ СХЕМА ИСПОЛЬЗОВАНИЯ РИД
С РАЗЛИЧНЫМИ О-ПС АНТИГЕНАМИ
В ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКЕ
БРУЦЕЛЛЕЗА ЖИВОТНЫХ**

МЕТОДИЧЕСКИЕ ПОЛОЖЕНИЯ

Подписано к печати 3.11.2015 Формат бумаги 60x84 1/16
Плоская печать. Бумага 80гр. Тираж 100 экз.
Издательство ООО «Панда»
644043, г. Омск, ул.Красный путь,63
т. 24-85-65



КОРПОРАЦИЯ «ВОСТОК-МОЛОКО»
Республика Казахстан
г. Усть-Каменогорск



**ЭФФЕКТИВНЫЕ
В УСЛОВИЯХ КАЗАХСТАНА
ПРОТИВОБРУЦЕЛЛЕЗНЫЕ
МЕРОПРИЯТИЯ
У КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА**

Методические рекомендации



УДК 619
ББК 48
Э-94

Методические рекомендации подготовили:

С.Ж. Сайлаубаев, В.И. Воробьев

(Корпорация «Восток-Молоко», г. Усть-Каменогорск – Казахстан);

А.С. Димова, С.К. Димов, Н.И. Куренская

(ФГБНУ ИЭВСиДВ, г. Новосибирск - Россия);

П.К. Аракелян (ФГБНУ ВНИИБТЖ, г.Омск-Россия).

Э-94 Эффективные в условиях Казахстана противобруцеллезные мероприятия у крупного рогатого скота: Методические рекомендации / Корпорация «Восток-Молоко» – Усть-Каменогорск, Шығыс ақпарат, 2016.- 19 с.

ISBN 978-601-7473-19-0

В методических рекомендациях приведены материалы, комплексно обосновывающие необходимость широкого использования в современных условиях Республики Казахстан оптимальных противобруцеллезных мероприятий, предложенных ФГБНУ ИЭВСиДВ (г.Новосибирск – Россия) на основе обеспечения в стадах крупного рогатого скота «перманентного» иммунитета с помощью живых вакцин из штаммов В. abortus 19, 82 и 75/79-AB и рациональной поствакцинальной диагностики в сочетании с общими ветеринарно-санитарными мероприятиями, в том числе подтверждаемые результатами их внедрения в течение 2012-2016 годов в хозяйствах, входящих в корпорацию «Восток-Молоко».

Методические рекомендации рассчитаны на практических и научных ветеринарных специалистов всех уровней, руководителей и специалистов животноводческих хозяйств.

УДК 619

ББК 48

Контакты: телефоны, эл. почта

Сайлаубаев С.Ж – 8 777 228 42 36, эл. почта vostok-moloko@mail.ru

Воробьев В.И – 8 777 623 00 98, эл. почта vihager@mail.ru

Материалы, изложенные в методических рекомендациях, и отражающие трехлетний положительный опыт осуществления в хозяйствах, входящих в корпорацию «Восток-Молоко», оптимальных противобруцеллезных мероприятий у крупного рогатого скота, одобрены в качестве пилотного проекта на Международной научно-практической конференции «Научные и практические основы борьбы с бруцеллёзом животных» прошедшей с участием руководителей МСХ Республики 12-13 .02.2014 года в городе Алматы и рекомендованы для широкого внедрения в Республике Казахстан.

ISBN

© Корпорация «Восток-Молоко», 2016

© Шығыс ақпарат, 2016

КОРПОРАЦИЯ «ВОСТОК-МОЛОКО»
Республика Казахстан, г. Усть-Каменогорск

**ЭФФЕКТИВНЫЕ
В УСЛОВИЯХ КАЗАХСТАНА
ПРОТИВОБРУЦЕЛЛЕЗНЫЕ
МЕРОПРИЯТИЯ
У КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА**

Методические рекомендации

ISBN 978-601-7473-19-0

Подписано в печать 29.03.16 г.
2 усл. печ. лист. 1,86 уч. изд. лист. Формат 60x84/16.
Тираж 200 экз. Заказ № 8290. Печать офсетная.



Отпечатано в типографии
ТОО «Шыгыс ақпарат»
070003, г. Усть-Каменогорск,
ул. Космическая, 6/3.
Тел. 75-44-78