

Прикаспийский зональный научно-исследовательский ветеринарный институт – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный аграрный научный центр Республики Дагестан»

*на правах рукописи*



**ХАЛИКОВ АХМЕД АЛИАСХАБОВИЧ**

**ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ РНГА С СЫВОРОТКОЙ  
КРОВИ И МОЛОКОМ ПРИ БРУЦЕЛЛЕЗЕ ОВЕЦ И КОЗ**

06.02.02 Ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология,  
микология с микотоксикологией и иммунология

**ДИССЕРТАЦИЯ**

на соискание ученой степени  
кандидата ветеринарных наук

**Научный руководитель:**

доктор ветеринарных наук, профессор

О.Ю. Юсупов

Махачкала – 2022

## ОГЛАВЛЕНИЕ

<b>ВВЕДЕНИЕ</b> .....	4
<b>1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ</b> .....	12
1.1 Общая характеристика и особенности течения бруцеллеза у овец и коз...	12
1.2 Диагностика бруцеллеза овец и коз.....	23
1.2.1 Бактериологическая диагностика.....	24
1.2.2 Серологические методы диагностики.....	26
1.2.2.1 Реакция агглютинации (РА).....	26
1.2.2.2 Реакция связывания комплемента (РСК).....	28
1.2.2.3 Пластинчатая реакция агглютинации с бруцеллезным роз бенгал антигеном или роз бенгал проба (РБП).....	30
1.2.2.4 Реакция иммунодиффузии (РИД) с О-полисахаридным антигеном (О-ПС антиген).....	32
1.2.2.5 Реакция непрямой гемагглютинации (РНГА).....	34
<b>2 СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ</b> .....	39
2.1 Материалы и методы исследований.....	39
2.2 Результаты исследований по разработке способа изготовления бруцеллезного эритроцитарного диагностикума для РНГА.....	40
2.3 Результаты контрольных испытаний вновь изготовленного эритроцитарного диагностикума для РНГА, в сравнении с эритроцитарным диагностикумом, изготовленным по известному способу .....	51
2.4 Результаты изучения диагностического значения РНГА с сывороткой крови и молоком при бруцеллезе овец и коз.....	53
2.4.1 Испытание эффективности РНГА с сывороткой крови, в сравнении с РА и РСК, для диагностики бруцеллеза овец и коз.....	53
2.4.2 Результаты испытания РНГА с сывороткой крови для диагностики бруцеллеза овец и коз. в сравнении с Роз бенгал пробой (РБП).....	61
2.4.3 Испытание РНГА с сывороткой крови для диагностики бруцеллеза овец и коз, в сравнении с РИД с О-ПС антигеном.....	72

2.4.4	Диагностическое значение РНГА с сывороткой крови при бруцеллезе овец и коз, в сравнении с ИФА.....	76
2.4.5	Диагностическое значение нового экспресс-метода диагностики бруцеллеза у лактирующих овец и коз с применением РНГА с молоком.....	80
<b>3.</b>	<b>ВЫВОДЫ.....</b>	<b>88</b>
<b>4.</b>	<b>ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ.....</b>	<b>91</b>
<b>5.</b>	<b>СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....</b>	<b>93</b>
<b>6.</b>	<b>ПРИЛОЖЕНИЕ.....</b>	<b>114</b>

## ВВЕДЕНИЕ

**Актуальность работы.** Бруцеллез овец и коз, имея широкое распространение во многих странах мира и в ряде регионов России, особенно в Южном и Северо-Кавказском федеральных округах, в том числе, в Республике Дагестан, наносит большой экономический ущерб и представляет серьезную опасность здоровью людей. Ликвидация его – нелегкая медико-ветеринарная проблема.

В настоящее время установлено, что одним из важных звеньев, определяющих эффективность мероприятий по профилактике и ликвидации его, является своевременная и точная диагностика.

По мнению академика С.Н. Вышелесского и многих других крупных ученых, бруцеллез относится к числу заболеваний, борьба с которым строится исключительно на диагностических методах выявления носителей инфекции, в связи с чем способы диагностики должны быть особенно точными и высокочувствительными [26, 77, 81, 55, 17].

Отечественными и зарубежными исследователями проведена большая работа по изучению бруцеллеза и усовершенствованию диагностики этой болезни [8, 11, 24, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 34, 45, 57, 58, 81, 83, 95, 97, 98, 103, 105, 122, 123, 142]. Однако, несмотря на проведенную большую работу и разработанный большой арсенал средств и методов диагностики бруцеллеза, такие патогенетические особенности его как длительное хроническое проявление болезни и латентное течение инфекции у значительного процента животных со скрытым и продолжительным бруцеллоносительством, при котором в сыворотке крови отсутствуют специфические антитела или они содержатся в незначительных количествах, неулавливаемых с помощью применяемых в практике традиционных диагностических тестов (РА, РСК, РБП), создают большие трудности в постановке своевременного диагноза и проведении мероприятий по профилактике и ликвидации этой болезни.

Особенно большие трудности возникают при диагностике и проведении мер борьбы с бруцеллезом овец.

По мнению G. Kolar, для исследования овец и коз на бруцеллез обычно применяются те же диагностические тесты, какие используются для диагностики бруцеллеза у крупного рогатого скота, но эффективность их в отношении мелкого рогатого скота значительно ниже. При этом часто не удается выявить всех зараженных овец, особенно коз [165].

R. Festerbank по линии Международного эпизоотического бюро (МЭБ) проанализировал отчеты о результатах испытания и применения в различных странах разных методов диагностики бруцеллеза овец и коз. На основании проведенного анализа и результатов собственных исследований он пришел к заключению, что применяемый в практике комплекс диагностических тестов не позволяет идентифицировать более 70% инфицированных бруцеллезом овец и коз [156].

Орлов Е.С. объясняет недостаточную эффективность традиционных методов диагностики бруцеллеза овец и коз (РА, РСК) слабой серологической активностью специфических антител у животных данного вида. К такому же выводу пришел П.А. Триленко, который установил, что иммунные бруцеллезные сыворотки и молоко у бруцеллезных овец отличаются по свойству агглютинировать гомологичный антиген, то есть проявляют разную иммунную активность. По мнению автора, видимо, по этой причине очень часто многократные исследования в РА, даже в сочетании с РСК, не приводят к очистке стада от больных бруцеллезом животных [78, 102].

Отличительной особенностью бруцеллеза овец и коз является также низкое содержание в сыворотке крови и молоке специфических антител, что затрудняет диагностику болезни.

По мнению известного испанского ученого В. Szyfres, основная трудность при осуществлении профилактики бруцеллеза у мелких жвачных животных состоит в отсутствии точных диагностических средств для

обнаружения и удаления из стад зараженных животных, в связи с чем ученые должны стремиться к совершенствованию диагностических методов выявления бруцеллеза у животных данного вида [181].

Анализ имеющихся литературных данных свидетельствует о целесообразности применения для диагностики бруцеллеза овец и коз РНГА с использованием специфичного и высокочувствительного эритроцитарного антигена.

По вопросу применения для диагностики бруцеллеза у овец и коз РНГА имеются сообщения отдельных исследователей, которые установили специфичность, более высокую чувствительность этой реакции, по сравнению с другими серологическими реакциями (РА, РСК), а также пригодность применения её для диагностики бруцеллеза у животных данного вида [10, 35, 99, 112, 113].

Однако, специальные исследования по изучению диагностического значения РНГА при бруцеллезе овец и коз, в сравнении с другими серологическими реакциями, с подробным и глубоким анализом их результатов еще не проведены и на основании сравнительных исследований не получили надлежащую оценку диагностического значения отдельных официально принятых серологических реакций, таких как РА и РИД с О-ПС антигеном и они, не имея достаточных оснований, широко применяются в ветеринарной практике.

Что касается применения РНГА с молоком для диагностики бруцеллеза овец и коз, то до наших исследований этот вопрос оставался неизученным и эта работа проведена нами впервые. Учитывая изложенное, нами выполнены специальные исследования по испытанию РНГА с применением высокочувствительного эритроцитарного диагностикума для исследования сывороток крови и молока при бруцеллезе овец и коз.

**Степень разработанности проблемы.** Рост народонаселения на планете и растущие потребности в высокоценных продуктах питания животного происхождения, в частности, мясе, молоке диктуют

необходимость дальнейшего развития животноводства и ставят перед ветеринарной наукой и практикой сложные задачи совершенствования системы ветеринарно-санитарных мероприятий с целью снижения потерь от заболеваемости и падежа животных от опасных инфекционных и других болезней и улучшения качества продуктов питания.

В этом отношении важное значение имеют профилактика и ликвидация бруцеллеза животных, поскольку это заболевание причиняет большой экономический ущерб животноводству и представляет серьезную опасность здоровью людей. Однако, искоренение бруцеллеза – нелегкая проблема, которая в значительной степени зависит от эффективности применяемых в практике мер борьбы, в частности, методов диагностики.

Исследования по усовершенствованию и разработке новых методов диагностики бруцеллеза проводились зарубежными учеными и в нашей стране на протяжении всего периода после открытия возбудителя болезни и продолжаются до сих пор [132, 140, 167, 155].

В результате проведенных исследований в настоящее время установлено, что в комплексе противобруцеллезных мероприятий, при осуществлении контроля за благополучием животных по этой болезни, охране людей от заболевания бруцеллезом, предупреждении заноса возбудителя этой болезни в благополучные по ней области и страны, при ведении международной торговли животными и в ряде других случаев своевременная и точная диагностика бруцеллеза имеет исключительно важное значение. Тем не менее, применяемые в настоящее время методы для массовой диагностики бруцеллеза животных, особенно овец и коз, не во всех случаях достаточно эффективны и требуют дальнейшего усовершенствования.

**Цель и задачи исследований.** Основная цель наших исследований заключалась в разработке способа изготовления высокоэффективного бруцеллезного эритроцитарного диагностикума для РНГА и изучении диагностического значения применения его для исследования сыворотки

крови и молока овец и коз в РНГА, в сравнении с другими широко применяемыми в практике серологическими реакциями (РА, РСК, РБП и др.).

Для её реализации ставились следующие задачи:

- разработать способ изготовления высокоэффективного бруцеллезного эритроцитарного диагностикума для РНГА;
- провести контрольную проверку вновь изготовленного бруцеллезного эритроцитарного диагностикума для РНГА, в сравнении с эритроцитарным диагностикумом, изготовленным по известному способу Прикаспийского зонального НИВИ, ВГНКИ и ВНИИБТЖ, для диагностики бруцеллеза овец и коз;
- провести испытание эффективности РНГА с сывороткой крови, в сравнении с РА и РСК, для диагностики бруцеллеза овец и коз;
- изучить диагностическое значение РНГА с сывороткой крови при исследовании овец и коз на бруцеллез, в сравнении с Роз-бенгал пробой;
- испытать РНГА с сывороткой крови для диагностики бруцеллеза овец и коз, в сравнении с РИД с О-ПС антигеном;
- изучить диагностическое значение РНГА с сывороткой крови при бруцеллезе овец и коз, в сравнении с методом ИФА;
- определить диагностическое значение нового экспресс-метода диагностики бруцеллеза у лактирующих овец и коз с применением РНГА с молоком.

**Основные положения, выносимые на защиту:**

- разработка способа изготовления высокоэффективного эритроцитарного диагностикума для РНГА;
- изучение диагностической ценности РНГА для исследования овец и коз на бруцеллез, в сравнении с РА, РСК, РБП, РИД с О-ПС антигеном, ИФА;
- разработать новый экспресс-метод диагностики бруцеллеза у лактирующих овец и коз с применением РНГА с молоком.

**Научная новизна.** Впервые разработан высокоспецифичный и высокоактивный бруцеллезный эритроцитарный диагностикум для РНГА. На



способ получения бруцеллезного эритроцитарного диагностикума для реакции непрямой гемагглютинации (РНГА) получен патент на изобретение (RU 2667121 от 31.10.2016).

Впервые изучена диагностическая эффективность РНГА с новым эритроцитарным диагностикумом и доказаны её значительные преимущества, по сравнению с РА, РСК, РБП, РИД с О-ПС антигеном и ИФА, для диагностики бруцеллеза мелкого рогатого скота.

Разработан новый экспресс-метод диагностики с применением РНГА с молоком для диагностики бруцеллеза у лактирующих овец и коз.

**Теоретическая и практическая значимость работы.** Проведенными исследованиями автором установлено, что при бруцеллезе овец и коз РНГА с испытуемым диагностикумом является наиболее чувствительной диагностической реакцией, которая позволяет выявить всех животных как с положительными, так и сомнительными показаниями РА, РСК, РБП и РИД с О-ПС антигеном и в более ранние сроки после заражения бруцеллезом.

Материалы диссертационной работы использованы при составлении:

- «Ветеринарные правила осуществления профилактических, диагностических, ограничительных и иных мероприятий, установления и отмены карантина и иных ограничений, направленных на предотвращение распространения и ликвидацию очагов бруцеллеза (включая инфекционный эпидидимит баранов)», утвержденных приказом министерства сельского хозяйства РФ № 533, 08.09.2020 г.;

- методических рекомендаций «Диагностика бруцеллеза овец и коз с применением реакции непрямой гемагглютинации (РНГА)», / утвержденных Ученым советом Прикаспийского зонального НИВИ – филиал ФГБНУ «ФАНЦ РД» (протокол № 4 от 31 июля 2019 г.);

- Методических рекомендаций «Применение РНГА с усовершенствованным антигеном в Наборе для серологической диагностики бруцеллеза крупного и мелкого рогатого скота в реакции непрямой гемагглютинации (РНГА)» / рассмотренных и одобренных Ученым советом

СКЗНИВИ – филиал ФГБНУ ФРАНЦ (протокол № 2 от 24 марта 2020 г.) и утвержденных Управлением ветеринарии Ростовской области от 8 апреля 2020 г.).

### **Степень достоверности и апробация результатов исследований**

Достоверность полученных результатов подтверждается использованием большого объема фактического материала и современных методик исследований, в необходимых случаях – проведением повторных исследований.

Основные положения диссертационной работы доложены и обсуждены на: заседаниях Ученого совета Прикаспийского зонального НИВИ – филиал «ФАНЦ РД» и научных конференциях:

- международной юбилейной научно-практической конференции, посвященной 50-летию ФГБНУ Прикаспийского зонального НИВИ «Успехи современной ветеринарной медицины в установлении благополучия региона по заболеваниям сельскохозяйственных животных» (Махачкала 6-7 сентября 2017 г.);
- региональной научно-практической конференции «Проблемы ветеринарной науки и пути их решения» (Махачкала 4-5 сентября 2019 г.);
- международной научно-практической конференции «Современные тенденции и успехи в борьбе с зооантропонозами сельскохозяйственных животных и птиц» (Махачкала 3-4 декабря 2020 г.).

### **Научные публикации**

Материалы диссертации отражены в научных трудах: 15 статьях, 10 из которых – в изданиях ВАК Минобрнауки РФ, 2-х методических рекомендациях. Новизна полученных данных подтверждена 1 Патентом РФ.

**Личный вклад соискателя.** Автором проведен глубокий анализ научной литературы и подробное обоснование темы диссертации, что дало основание наметить цель и задачи исследований.

Проведен большой объем поисковой и экспериментальной работы. На основании результатов проведенных исследований соискатель пришел к

заклучению и выводам, имеющим большое научное и практическое значение.

Большинство экспериментов, анализ результатов исследований, обобщение и оформление диссертационных материалов сделаны автором лично.

Часть исследований по испытанию РНГА с молоком при бруцеллезе овец и коз проведена при участии научных сотрудников лаборатории Э.А. Яниковой, М.М. Микаилова. Исследования сывороток крови овец и коз на бруцеллез в ИФА проведены на базе ГБУ «Кропоткинская краевая ветеринарная лаборатория» Краснодарского края, совместно с её сотрудниками, при участии диссертанта.

**Внедрение результатов исследований.** Результаты исследований внедрены в производство. Предприятие ООО «Ветмедсервис», созданное на базе Прикаспийского зонального НИВИ, освоило производство и готовит по заявкам ветеринарных служб субъектов Российской Федерации бруцеллезный эритроцитарный диагностикум для РНГА по разработанному диссертантом способу для практического применения.

#### **Структура диссертации.**

Диссертация изложена на 121 страницах компьютерного текста и состоит из введения, обзора литературы, собственных исследований, заключения, выводов, списка литературы и приложений. Работа иллюстрирована 20 таблицами.

Список литературы включает 186 источников, в том числе 56 – иностранных авторов.

## 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1 Общая характеристика и особенности бруцеллеза овец и коз

Болезнь, которую теперь называют бруцеллезом, по мнению ряда исследователей, была известна ещё с древних времен [124]. По имеющимся литературным данным в 18 столетии это заболевание отмечалось среди людей, главным образом, в районе Средиземного моря, на островах и побережье которого имелись очаги бруцеллеза [136, 46, 124, 24, 25, 101, ].

Вторая половина 19 века является началом систематического изучения бруцеллеза у людей и животных. В этот период на о. Мальта работала экспедиция английских ученых, направленная правительством Англии с задачей выяснить этиологию и предложить меры профилактики болезни, имевшей в то время широкое распространение среди военнослужащих английского гарнизона.

В 1861 г. Marston, один из членов экспедиции, опубликовал доклад, где описал данное заболевание под названием «Средиземноморская или гастрическая ремиттирующая лихорадка» [24]. Но этиология болезни оставалась не изученной. Только в 1886 г. английский врач D. Bruce впервые под микроскопом обнаружил в мазках селезенки человека, заболевшего мальтийской лихорадкой, большое количество мелких микроорганизмов [136]. Через год D. Bruce выделил возбудителя уже в чистой культуре и дал ему название *Micrococcus melitensis* – Мальтийский микрококк (от Melita – старого названия острова Мальта). В 1897 г. датские ученые Bang и Stribolt выделили от коровы возбудителя инфекционного аборта и назвали его *Bact. abortus bovis* (Bang). Находку Bang и Stribolt вскоре подтвердили и другие исследователи.

В 1914 г. Traum, спустя 2 года Could и Smith, выделили возбудителя инфекционного аборта свиней, названного ими *Bac. abortus suis*.

Среди мелкого рогатого скота впервые заболевание бруцеллезом в естественных условиях было установлено у коз в 1904 году на о. Мальта одним из членов английской экспедиции Т. Zammit [186]. Он же вместе с другими английскими исследователями в 1904-1906 гг., определив идентичность возбудителя бруцеллеза у коз с *Micrococcus melitensis*, выделенного еще в 1886 г. D. Bruce от человека, показал прямую связь высокой заболеваемости войск английского гарнизона и местного населения о. Мальта с болезнью коз, которые в значительном проценте случаев оказались зараженными *B.melitensis*. По заключению комиссии, козы на острове заражались *M.melitensis* и выделяли последних с молоком и мочой. Заражение людей происходило вследствие употребления сырого козьего молока.

Спустя 2 года после обнаружения бруцеллеза у коз Т. Zammit и почти одновременно с ним Garcia и Iscara диагностировали бруцеллез у овец и установили восприимчивость их к этой инфекции в естественных условиях. Эти данные вскоре были подтверждены исследователями французских авторов в Тунисе (Nicolle, Burnet и др.), итальянских (Gabbi) на о. Сицилия и др. [136].

В 1910 году заболевание овец бруцеллезом на юге Франции установил M. Dubois и доказал эпидемиологическую роль этого вида животных как источника возбудителя инфекции для человека [136]. В последующие годы бруцеллез овец и коз был зарегистрирован во многих странах мира, преимущественно расположенных в бассейне Средиземного моря и Южном поясе [159, 177, 178, 179, 182].

В дореволюционной России данные по бруцеллезу овец и коз скудны, но судя по сообщениям отдельных исследователей, это заболевание существовало в южных и юго-восточных областях страны с давних времен [3].

Началом современной истории бруцеллеза в нашей стране следует считать 1922 год, когда А.Н. Крюков и В.А. Смирнов – в Ташкенте, П.Ф.

Здродовский – Азербайджане, А.И. Исаакян – Ереване, П.В. Тавельский – Казахстане и др. установили эпидемиологические случаи бруцеллеза у людей, связанные с выявленной в очагах заражения аналогичной инфекцией у коз и овец [46].

В Дагестане первые случаи заболевания овец и коз бруцеллезом диагностированы в 1936-1937 гг. и в эти же годы выяснилось, что им поражены хозяйства ряда районов [3]. Однако, имеется основание считать, что это заболевание в отдельных районах республики регистрировалось раньше, о чем свидетельствуют эпидемические вспышки бруцеллеза среди людей [3].

По сообщениям отдельных исследователей и имеющимся другим данным, возникновение бруцеллеза овец и коз и его распространение в хозяйствах Дагестана связано, в основном, с завозом для племенных целей из Германии и других стран меринсовых вьюртембергских овец, прекосов, линкольнов, гемпширов, баранов породы рамбулье, который начался в 1926-1928 гг., так как первые очаги этой болезни установлены в хозяйствах тех районов, куда завозили овец указанных пород [3].

Осложнилась эпизоотическая ситуация по бруцеллезу овец и коз в нашей стране, в том числе, и в Дагестане, в период Великой Отечественной войны и послевоенные годы. Вынужденные массовые передвижения животных, необходимость ускоренного восстановления хозяйств и пополнения стад животными, завезенными из различных областей, краев и республик, послужили причиной заноса болезни в новые, благополучные до этого по бруцеллезу овец районы [3, 24].

Наиболее широкое распространение бруцеллез овец и коз получил в районах интенсивного овцеводства: в южных и ряде центральных областей России, Северном Кавказе, включая Дагестан, Крыму, Среднем и Нижнем Поволжье, Урале, Западной и Восточной Сибири и др. [75].

Основная причина широкого распространения бруцеллеза овец и коз заключалась в отсутствии полных сведений о степени его распространения

среди овец в различных зонах страны, а также недостаточной изученности вопросов эпизоотологии, патогенеза и иммуногенеза болезни и отсутствии эффективных методов диагностики и средств специфической профилактики [78]. Сложившаяся ситуация по бруцеллезу настоятельно требовала всестороннего изучения данной болезни и разработку мер борьбы с ней.

Плановая работа по выявлению очагов бруцеллеза овец и коз и всестороннему изучению этого заболевания и его возбудителя в нашей стране проводится с 1932 г.

На первом этапе в эту работу включились Московский НИВИ и ВИЭВ (С.Н. Вышелесский, Е.С. Орлов, М.Е. Аввакумов, Д.К. Бессонов), Новочеркасский зоотехническо-ветеринарный институт имени Первой конной армии (Б.М. Гуревич и др.), Саратовский НИВИ (Ф.Д. Киселев, А.П. Новиков и Л.А. Яковлев), ВИЭМ (П.Ф. Здродовский, Б.В. Воскресенский, Ф.П. Вершилова, Х.С. Котлярова, В.А. Штритер, И.А. Тарасов и др.), ВГНКИ (Е.К. Волик), Омский НИВИ (А.Ю. Биксе, А.И. Кочурин) и др.

В дальнейшем изучение бруцеллеза проводилось и во многих других научно-исследовательских институтах и опытных станциях.

Следует отметить, что значительная работа по изучению бруцеллеза проведена и учеными многих зарубежных стран [176, 149, 150, 134, 147, 139, 146, 137]. Однако, как видно из опубликованных литературных работ, за рубежом исследователей интересовал преимущественно бруцеллез коз и крупного рогатого скота.

Советские ученые внесли большой вклад в изучение бруцеллеза овец и коз. С полным основанием можно утверждать, что основные вопросы бруцеллеза овец и коз, в частности, этиологии, биологии возбудителя, патогенеза и иммуногенеза этой инфекции, диагностики и специфической профилактики получили полное освещение благодаря обстоятельным исследованиям видных отечественных ученых: С.Н. Вышелесского, П.Ф. Здродовского, П.А. Вершиловой, Е.С. Орлова, Б.М. Гуревич, И.А. Тарасова, П.С. Уласевича, Х.С. Котляровой, М.И. Чернышовой, П.А. Триленко, А.Н.

Касьянова и др., тем самым были созданы научные предпосылки для разработки мероприятий по борьбе с этой болезнью [25, 27, 46, 54, 59, 77, 81, 104, 106, 107].

Исследованиями, проведенными в нашей стране и за рубежом установлено, что возбудители бруцеллеза разных видов животных имеют близкие между собой культурально-морфологические, антигенные, биологические свойства. На этом основании, по мнению ведущих специалистов разных стран, они отнесены к самостоятельному роду *Brucella* [149].

Согласно принятой в настоящее время классификации род *Brucella* по признаку патогенности бруцелл для основных типовых хозяев и по другим отличительным особенностям (антигенные свойства, ферментативная активность, чувствительность к фагу и др.) подразделен на 9 видов:

*B.melitensis* – возбудитель бруцеллеза мелкого рогатого скота;

*B.abortus* – возбудитель бруцеллеза крупного рогатого скота, вызывает у человека обычно спорадические, чаще всего бессимптомные, реже – клинически выраженные формы болезни;

*B.suis* – возбудитель бруцеллеза свиней, патогенен для людей;

*B.ovis* – возбудитель инфекционного эпидидимита баранов, является патогенным не только для баранов, но и овцематок;

*B.neotome* – выделен от пустынных кустарниковых крыс (США);

*B.canis* – вызывает бруцеллез у собак. Заболевание обычно протекает бессимптомно, особенно у неполовозрелых нещенных собак, опасен для людей и является сравнительно новым инфекционным заболеванием для нашей страны.

Три вида – *B.citi*, *B.pinnipedialis*, *B.microti* (Corbel M.J.,1997; Osterman B.,2006; Geoffrey F.,2007; Holger C.,2008) включены в состав рода *Brucella* в 2008 году. Установлено, что *B.citi* и *pinnipedialis* обладают патогенностью для человека (McDonald W.L., 2006) [95].



*B.melitensis*, *B.abortus*, *B.suis* подразделены на биовары (Альтон), в частности, *B.melitensis* подразделяется на 3 биотипа. На территории нашей страны от больных животных и людей выделены все 3 биотипа *B.melitensis*, но чаще всего – первый и третий. Бруцеллы второго биотипа встречаются значительно реже [117, 20, 149, 150].

Бруцеллы – мелкие бактерии, слегка удлинённые, размером в среднем от 0,3-0,5 до 0,5-1,5 м. Они неподвижны, спор не образуют, окрашиваются всеми анилиновыми красками, по Граму – отрицательно [78, 24, 158].

При идентификации бруцелл широко пользуются методами специфической окраски по Козловскому и Ф.С. Шуляку и Ю.Т. Шину, в зарубежных странах – методом Кестера (Альтон) [78].

В результате длительной биологической адаптации возбудители бруцеллеза приспособились к определенному виду животных. Однако, каждый вид бруцелл не всегда является облигатным паразитом только для тех животных, к которым он приспособился, он может мигрировать и на животных других видов, поскольку увеличиваются возможности заражения наиболее опасным для человека эпидемическим бруцеллезом [78, 24].

*B.melitensis* проникает в организм животного через слизистые оболочки пищеварительного тракта, половых, дыхательных путей, конъюнктиву, а также через кожные покровы. Инкубационный период продолжается от 15 дней до 3 – х месяцев и более [78, 24].

Возбудитель бруцеллеза овец и коз – *B.melitensis*, контагиозен и наиболее опасен для человека. В очагах бруцеллеза мелкого рогатого скота инфекция иногда принимает эпидемическое распространение, вызывая у людей тяжелые заболевания, нередко приводящие к длительной инвалидности [46, 24, 78, 135, 138, 171].

В благополучное хозяйство инфекция обычно заносится с вводом в него больных бруцеллезом животных или при пастьбе овец на инфицированных пастбищах. В свежих случаях инфекции, когда возбудитель заносится в благополучное хозяйство, болезнь протекает остро и быстро

распространяется в отаре, поражая значительное количество животных. Особенно широкие размеры энзоотия бруцеллеза принимает в маточных отарах, причем, заболевание протекает с массовыми абортами у овцематок, рождением мертвых, нежизнеспособных и недоношенных слабых ягнят и козлят. У абортировавших маток обычно развивается своеобразный послеабортный синдром, характеризующийся целым рядом выраженных признаков: температурной реакцией, эндометритами, маститами, артритами и пр., которые в большинстве случаев постепенно утрачиваются. В последствии это ведет к значительной яловости маточного поголовья [60, 81].

В эпидемиологическом и эпизоотическом отношении наибольшую опасность представляет период аборт и ягнения овец в неблагополучной по этому заболеванию отаре, т.к. вместе с плацентой, плодовыми оболочками и околоплодной жидкостью во внешнюю среду выделяется масса возбудителя бруцеллеза. Больные бруцеллезом овцы продолжают выделять возбудителя длительное время и после аборта, а в ряде случаев и после нормального ягнения с истечениями из родовых путей, мочой и молоком, что ведет к заражению пастбищ, водоисточников, кормушек и подстилки в тепляках, кошарах и базах. В связи с этим, создаются наиболее благоприятные условия для массового перезаражения овец и коз и широкого распространения бруцеллеза. Перезаражение овец возможно и в период случной компании как через сперму латентно больных баранов-производителей, так и путем механического переноса инфекции баранами от больных овец к здоровым при вольной и ручной случке [81].

По мнению исследователей (Е.С Орлов, П.А. Вершилова и др.), овцы, так же как и козы, проявляют высокую восприимчивость к заражению *B.melitensis*, особенно в период беременности, что является характерной особенностью бруцеллеза мелкого рогатого скота [24, 81]. Заражение в этом периоде, как правило, вызывает аборт. У баранов при этой инфекции часто наблюдаются орхиты, эпидидимиты [78].

Изучая динамику аборт бруцеллезной этиологии у овец, П.А. Вершилова и И.А. Тарасов установили, что аборты начинаются со второго месяца беременности и нарастают к 3 – 4 месяцам, достигая 72,2% [24].

В естественных условиях единичные аборты, начавшиеся в первые месяцы, влекут за собой заражение суягных овец и новую волну массовых аборт. Аборты принимают массовый характер, достигая иногда 70% к маточному поголовью отары [24]. Такие же наблюдения имеются у О.П. Сакидибирова, П.А. Вершиловой, которые установили, что аборты у суягных овец при заражении в ранние сроки беременности приобретают массовый характер – абортируют 20 – 60% маток [90, 91, 24]. По данным И.А. Косилова, П.К. Аракеляна, В.А. Агольцова, П.Н. Жованника, аборты регистрируются у 30 – 40% беременных свежезараженных маток [57, 15, 5, 45].

Массовые аборты обычно регистрируются в первые 1-2 года после заражения стада бруцеллезом, затем они наблюдаются, главным образом, среди молодых овец первого – второго окота. Повторно в результате бруцеллеза абортирует только 5 – 10% овец [78].

Аборты усугубляют опасность бруцеллезных овец, ввиду интенсивности поступления бруцелл во внешнюю среду с нормальными и патологическими выделениями, а также длительного выделения возбудителя при постабортных осложнениях [78, 24].

В эпизоотологии и эпидемиологии овечьего бруцеллеза имеют значение, с одной стороны, аборты, с другой, скрытая инфекция с бессимптомным и латентным течением, когда при отсутствии каких – либо клинических проявлений животное является бациллоносителем и может играть роль источника инфекции.

У зараженных овец проявляется выраженная тенденция к прогрессивному угасанию инфекции, заканчивающаяся в большинстве случаев в конце второго года заболевания самоизлечением [80, 46, 27]. В то же время у части бруцеллезных овец заболевание протекает длительно с

образованием стойких локальных очагов инфекции в молочной железе при специфическом мастите и тестикулах при развитии бруцеллезного орхита [24, 46, 78, 81].

Согласно экспериментальным данным П.А. Вершиловой, подобный специфический мастит с очень стойким и длительным наличием возбудителя, обнаруживающегося в высевах из пунктатов молочной железы с большим постоянством через 6 месяцев после заражения, может развиваться и при суперинфекции беременных овец, несмотря на нормальное ягнение [24].

Переход бруцеллезной инфекции у значительной части животных в латентное состояние со скрытым бруцеллоносительством является одной из характерных особенностей бруцеллеза овец и коз. Под влиянием различных факторов, снижающих резистентность организма, «дремлющая» инфекция может активизироваться, в таких случаях латентно больные овцы могут стать опасным источником инфекции. Обострению инфекции у овец в отдаленные сроки после заражения могут способствовать беременность, истощение, интеркуррентные инфекции, бурные аллергические реакции [46, 81, 24].

Больные бруцеллезом овцы и козы являются резервуаром возбудителя и основным источником инфекции для окружающих здоровых животных и людей, причем, бруцеллезные овцы и козы выделяют бруцелл во внешнюю среду длительное время.

Длительность бактерионосительства и выделения бруцелл больными овцами изучали многие исследователи.

Экспедицией ВИЭМ было доказано, что в высевах из органов и лимфатических узлов экспериментально зараженных или естественно инфицированных и абортировавших овец культуры бруцелл обнаруживаются в течение первого месяца с большим постоянством, в период от 45 дней до 3 – х месяцев - нерегулярно, примерно, в 50% случаев. В более поздние сроки, спустя 4 месяца и больше, при исследовании 54 экспериментально и 35 естественно зараженных овец бруцеллы не были выделены [24, 59].

У суягных овец возбудитель бруцеллеза был выделен в период от 5 до 7 месяцев после заражения [24].

По данным Е.С. Орлова, нахождение бруцелл в организме овец может быть очень длительным. В опытах автора культуры бруцелл выделялись от овец в 45% случаев через 1,5-2 года после естественного заражения и 5-8 месяцев спустя после аборта или окота (пределный срок наблюдения) [81].

Зараженные бруцеллезом овцы и козы выделяют *B.melitensis* с молоком, мочой и вагинальным секретом.

Часто и регулярно возбудитель бруцеллеза выделяется с молоком у больных овец в ранние сроки лактации. Затем частота и интенсивность выделения его постепенно уменьшаются. В отдельных случаях выделение бруцелл может быть очень длительным, в частности, до 7-8 месяцев после заражения. Отмечено, что овцы с давностью инфекции в 12 месяцев, зараженные в период суягности, выделяли бруцелл в 41% случаев [24, 59, 80, 81].

А.А. Волкова и С.П. Ильинов находили бруцелл в молоке бруцеллезных овец, полученном методом пункции молочной цистерны, до 3-х месяцев после аборта – 20% и до 4-х месяцев – 13,3% случаев [81].

Наиболее подробно этот вопрос, ввиду его большого эпизоотологического и эпидемиологического значения, изучен Е.С. Орловым [78]. По данным автора, бацилловыделение с молоком у бруцеллезных овец наблюдается как массовое явление и у большинства продолжается на протяжении всего периода лактации. После аборта у 80% бруцеллезных овец возбудитель локализуется в молочной железе и при последующих окотах в таком же проценте выделяется с молоком.

Отмечено длительное выделение бруцелл с мочой и вагинальным секретом [24, 59, 81]. В частности, в опытах провокации латентного бруцеллеза истощением и специфическим аллергеном (бруцеллизатом) Х.С. Котлярова доказала возможность генерализации инфекции у баранов при

давности её до 26 месяцев, с развитием у них орхитов и выделением бруцелл из мочи.

Эпизоотическое и эпидемиологическое значение имеют и такие особенности патогенеза бруцеллеза мелкого и крупного рогатого скота и, по видимому, других видов животных, заключающиеся в длительном инкубационном периоде и продолжительном скрытом носительстве бруцелл новорожденными ягнятами или телятами, а также молодняком более старшего возраста [98, 160, 164].

По наблюдениям Е.С. Орлова и ряда других исследователей, бруцеллезные овцематки в большинстве случаев рожают здоровых ягнят и, несмотря на контакт с больными бруцеллезом матками в течение всего подсосного периода, в силу естественной возрастной устойчивости, практически не заражаются бруцеллезом, что определяет перспективность формирования здорового стада из молодняка, полученного от неблагополучных по бруцеллезу овец и воспитанного после отъема в изолированных условиях [81].

В то же время в специальной литературе описаны случаи внутриутробного заражения приплода, у которого после рождения в течение длительного периода времени до достижения половой зрелости и наступления беременности, не только не проявляются признаки болезни, но и не обнаруживаются специфические антитела в сыворотке крови. Заболевание проявляется в период первой беременности в виде аборта и других признаков бруцеллеза (рождение недоношенных или нежизнеспособных ягнят, телят, задержание последа и др.). Нередко такие животные становятся причиной появления новых вспышек бруцеллеза или новых неблагополучных пунктов в хозяйствах, оздоровленных от этой болезни [81].

Из приведенных в настоящем разделе литературных данных видно, что отечественными и зарубежными исследователями проведена огромная работа по изучению бруцеллеза овец, коз и других животных. Результаты проведенных исследований свидетельствуют о том, что борьба с этой

инфекцией приобретает характер проблемы мирового значения, требующей безотлагательного решения, поскольку эта болезнь продолжает иметь широкое распространение и наносить значительный экономический ущерб животноводству. Во многих регионах высокой остается заболеваемость людей бруцеллезом. Такие особенности бруцеллеза овец и коз, как длительное течение болезни, продолжительное бруцеллоносительство и бруцелловыделение, скрытое течение инфекции у значительного процента бруцеллезных животных, а также отсутствие метода, позволяющего надежно выявить латентно больных овец, создают большие трудности в проведении противобруцеллезных мероприятий, в связи с чем возникает необходимость усовершенствования мер борьбы с бруцеллезом, особенно средств и методов диагностики болезни.

### **1.2 Диагностика бруцеллеза у овец и коз**

Бруцеллез у овец и коз, так же как у животных других видов, протекает длительно и часто бессимптомно. Поэтому своевременная постановка диагноза при этой болезни приобретает важное значение, так как без нее невысказаны сколько – нибудь эффективные меры борьбы с заболеванием [26, 17, 78, 55, 168, 174, 183].

При несвоевременном установлении диагноза, особенно в начальный период энзоотии, после заноса возбудителя инфекции в благополучное хозяйство заболевание принимает широкое распространение, протекает с массовыми абортами в маточных отарах, в связи с чем возникают большие трудности в оздоровлении пораженных стад. Поэтому необходимо принимать меры для своевременного установления диагноза еще в начале вспышки энзоотии до наступления массовых аборт, поскольку при несвоевременной постановке диагноза невозможно эффективно проводить противобруцеллезные мероприятия и заболевание получает широкое распространение среди овец и коз, увеличивается опасность заболевания людей [24, 45, 81, 124].

Диагноз на бруцеллез у овец и коз ставят на основании результатов бактериологического, серологического, молекулярно – генетического и аллергического исследований, с учетом эпизоотических данных, клинических признаков и требований других утвержденных инструкций по диагностике данной болезни.

Из серологических методов для диагностики бруцеллеза овец и коз, согласно действующим ветеринарным правилам, утвержденным Департаментом ветеринарии Минсельхозпрода РФ, применяют РА, РСК (РДСК), РНГА, РБП, РИД с О-ПС антигеном. Применение аллергического метода в этих правилах не предусмотрено.

### **1.2.1 Бактериологическая диагностика**

Бактериологическую диагностику проводят в случае аборта или появления у животных признаков, вызывающих подозрение на бруцеллез (рождение недоношенного плода, задержание последа, бурситы, орхиты, эпидидимиты и др.).

Хорошие результаты дает бактериологическое исследование содержимого желудка плода и вымени абортировавших и обьягнившихся овец, взятого методом пункции молочной цистерны [78]. Но в то же время необходимо иметь в виду, что различные материалы, взятые для бактериологического исследования, имеют неодинаковую ценность в отношении возможности получения положительного результата (П.Н. Жованник с соавт. 1975). Кроме того, результаты бактериологических исследований во многом зависят от питательных сред, используемых для проведения посевов, так как бруцеллы, по сравнению с многими другими микробами, обладают высокой требовательностью к качеству питательных сред (П.Н. Жованник).

Для прижизненной бактериологической диагностики бруцеллеза наиболее надежным является исследование абортированного плода, молока, содержимого абсцессов и гигром, реже удается выделить культуру бруцелл из мочи и крови [45, 78, 24, 162].



Для первичного выделения бруцелл с целью диагностики бруцеллеза и их культивирования используют мясные или печеночные среды, картофельный агар, эритрит агар. Второе заседание Комитета экспертов Всемирной Организации Здравоохранения рекомендовало применять для выращивания бруцелл агар, бульон Albimí и триптозо-соевый агар, которые, по данным большинства исследователей, дают наилучшие результаты.

**Бактериологическое исследование** на бруцеллез включает бактериоскопию, выделение культуры бруцелл на питательных средах и биологическую пробу на морских свинках или белых мышах.

**Бактериоскопическое исследование** проводят для установления предварительного диагноза на бруцеллез. Мазки окрашиваются по Гимза, Граму или методами дифференциальной окраски [78]. Однако, по мнению отдельных исследователей, бактериоскопия не всегда дает удовлетворительные результаты и может служить только ориентировочным методом диагностики [45].

**Биологический метод исследования** является надежным способом выделения культур бруцелл из материалов, а также при малой концентрации их в исследуемом материале. Биопробу ставят на морских свинках или белых мышах, поскольку они из лабораторных животных наиболее восприимчивы к бруцеллезу. Предпочтительно заражать морских свинок, так как при попадании в организм 3 – 10 клеток бруцелл у них воспроизводится активный бруцеллезный процесс [104].

Идентифицировать бруцелл в материалах, содержащих большое количество сопутствующих микробов, позволяет и метод иммунофлюоресценции (В.С. Уралева, 1961; М.И. Ченышева с соавт. 1966; Л.А. Малышева 1977 и др.).

Возможность выявления и идентификации бруцелл при исследовании патологического материала и объектов внешней среды с помощью флюоресцирующих антител была показана в работах многих авторов [1, 64, 65, 121, 152]. Результаты исследования патологического материала с

помощью метода иммунофлюоресценции могут быть получены через 1-2 часа [121, 64]. Этот метод также может быть использован и для исследования патологического материала, находящегося в состоянии загнивания, когда невозможно бактериологическое исследование.

Молекулярно-генетическое исследование (ПЦР) проводят в случае аборта и при появлении у животных других клинических признаков, вызывающих подозрение на бруцеллез, а также для подтверждения положительных и сомнительных результатов серологических исследований на бруцеллез животных, неиммунизированных противобруцеллезными вакцинами, из хозяйств, благополучных по данному заболеванию [73, 44, 96, 163, 166, 169].

## **1.2.2 Серологические методы диагностики**

### **1.2.2.1 Реакция агглютинации (РА)**

РА, предложенная для диагностики бруцеллеза у людей, Wright и Semple в 1897 г. и диагностики бруцеллеза у коз – Zammit в 1905 г., получила широкое распространение для диагностики бруцеллеза у людей и всех видов сельскохозяйственных животных [186]. Важным достоинством этой реакции является простота постановки и то, что дает положительные результаты в ранний период после заражения. Однако, при последующем течении инфекции показания её оказались подвержены значительным колебаниям вплоть до полного выпадения реакции на различные сроки [78, 60, 26].

Вплоть до 1938 г. данная реакция оставалась в нашей стране основным методом массовой диагностики бруцеллеза овец.

В связи с широким применением в целях оздоровления овцепоголовья, изучение диагностической ценности РА привлекло внимание большого количества исследователей.

Все авторы, изучавшие РА или применявшие её при санации неблагополучных по бруцеллезу отар, пришли к заключению, что эта реакция как самостоятельный метод диагностики является недостаточной для отбора здорового поголовья в неблагополучной по бруцеллезу отаре, но она

может быть использована в качестве подсобного средства в комплексе с другими методами исследования [26, 60, 24, 77]. По данным большинства исследователей, заведомо бруцеллезные овцы нередко не реагируют в РА, поэтому показания её могут считаться достоверными только в положительных случаях. Получение отрицательного результата, особенно в отарах, неблагополучных по бруцеллезу, не исключает полностью наличие этого заболевания у животного, что снижает её диагностическую ценность.

Наряду с этим, установлено, что РА может давать положительные или сомнительные результаты с бруцеллезным антигеном при исследовании животных благополучных по бруцеллезу стад за счет нормальных агглютининов.

Широкое распространение получили в нашей стране бруцеллизат ВИЭМ и бруцеллогидролизат [119, 61].

Бруцеллизат был внедрен в практику в 1938 г., бруцеллогидролизат – 1949 для диагностики бруцеллеза овец и коз [46, 77, 24, 119].

Авторы указанных аллергенов и многие исследователи (П.Ф. Здродовский, П.А. Вершилова, Х.С. Котлярова, И.А. Тарасов, Д.А. Цуверкалов, В.М. Красов и др.) возлагали на аллергический метод исследования большие надежды и считали, что с его помощью проблема массовой диагностики бруцеллеза овец будет решена. Однако, широкое применение бруцеллизата или бруцеллогидролизата не дало ожидаемых результатов.

По заключению большинства исследователей, путем выделения овец, реагирующих на внутрикожную пробу, в крупных хозяйствах и отарах с активным течением инфекции, с помощью аллергического метода диагностики полное оздоровление овцепоголовья, как правило, не достигалось даже при многократном его применении и удовлетворительном выполнении закрепительных мероприятий [26, 27, 80, 81, 105]. При этом, в стадах оставались больные бруцеллезом овцы – бациллоносители, которые поддерживали инфекцию.

В 1968 г. был внедрен в ветеринарную практику более совершенный аллерген – бруцеллин ВИЭВ, предназначенный для пальпебрального применения [65].

Результаты испытания бруцеллина ВИЭВ для исследования овец пальпебральным методом, проведенные в различных областях, краях и республиках на большом количестве животных, свидетельствовали о том, что применение его повышает эффективность аллергической диагностики и значительно облегчает исследование овец на бруцеллез.

Пальпебральную пробу бруцеллином ВИЭВ широко применяли в комплексе с РСК и РА для диагностики бруцеллеза у мелкого рогатого скота вплоть до 1996 г., до утверждения новых ветеринарных правил. Однако, дальнейший опыт борьбы с бруцеллезом показал, что при проведении комплексных серологических исследований отпадает необходимость исследования овец аллергическим методом.

#### **1.2.2.2 Реакция связывания комплемента (РСК)**

РСК применяется в нашей стране в ветеринарной практике с 1955 года.

По всеобщему признанию многих авторов, изучавших РСК, эта реакция является ценным диагностическим методом исследования овец, который по чувствительности, постоянству и четкости результатов превосходит РА [70, 77, 81, 92, 98, 152, 142, 143, 184, 165]. В отарах овец, особенно с давней инфекцией, РСК, по сравнению с РА, а некоторых случаях и аллергической пробой, выявляет больше зараженных животных, что позволило рекомендовать применение её во всех случаях оздоровления овцеводческих хозяйств в комплексе с РА.

Использование РСК в сочетании с другими диагностическими реакциями в сравнительно короткий срок (5-6 месяцев) позволило оздоровить большинство отар в овцеводческих хозяйствах с активно протекавшим бруцеллезом, тогда как при помощи одного аллергического метода в этих хозяйствах оздоровления не могли достигнуть на протяжении ряда лет [81].

Большое внимание в нашей стране было уделено изучению РДСК. Исследования показали, что эта реакция более чувствительна, чем РСК [105, 78, 104]. Высокая чувствительность РДСК была особенно выражена в случае свежей инфекции в стаде. В то же время было установлено, что у зараженных бруцеллезом животных не только РА, но и РСК или РДСК, нередко могут быть отрицательными. Полное выявление зараженных бруцеллезом животных и в короткие сроки, по данным большинства авторов, может быть достигнуто применением комплекса серологических методов (РА, РСК).

По данным Kolar, РСК характеризуется относительно высокой чувствительностью и специфичностью, позволяет лучше любого серологического теста обнаруживать при бруцеллезе активную инфекцию [165]. Эта реакция выявляет, в основном, антитела Jg G, которые присутствуют как при острой, так и хронической стадии бруцеллеза. Такое же мнение в отношении диагностической ценности РСК высказывает L. Vallette, который считает, что эта реакция является наиболее надежной и в ветеринарии и медицине [184]. Она восполняет большинство недостатков сероагглютинации и Jg G, связывающие комплемент, являются надежным свидетелем инфекции.

РСК – оригинальная, ценная в диагностическом отношении реакция, особенно при бруцеллезе овец и коз, была предложена еще в 1901 г. Борде и Жангу и применяется при многих инфекционных болезнях, в том числе, бруцеллезе.

В то же время нельзя не отметить, что диагностическая чувствительность РСК, по данным отдельных исследователей, зависит от определенных режимов её постановки. На её конечный результат в значительной мере влияет количество вносимого комплемента и, как показали исследования авторов, полнота инактивации исследуемых сывороток, что зависит от температуры и времени их прогревания.

Кроме того, РСК относится к сложным непрямым двухсистемным пятикомпонентным реакциям, требующим наличия лабораторных приборов

и опытных лаборантов, которых не хватает во многих странах, где проявляется бруцеллез овец и коз [165]. На результатах этой реакции могут также отрицательно сказаться не соблюдение точных или оптимальных количественных соотношений ингредиентов, применяемых для постановки реакции, их различия в активности и стандартности. Отрицательные результаты серологических реакций, в том числе РСК, не дают право считать нереагирующих животных неблагополучного стада свободными от бруцеллеза. Многочисленными исследованиями доказано, что при применении этой реакции, даже в комплексе с другими серологическими тестами, не удастся выявить всех больных бруцеллезом животных, особенно на ранних стадиях после заражения бруцеллезом. В связи с этим, необходимо изыскать более чувствительные методы диагностики для выявления бруцеллезных животных в первые дни после заражения их возбудителем бруцеллеза [82, 156].

### **1.2.2.3 Пластинчатая реакция агглютинации с бруцеллезным роз бенгал антигеном или роз бенгал проба (РБП)**

РБП является модификацией card – test – пластинчатой реакции агглютинации с плазмой крови и кислым забуференным (РН 3,6) окрашенным бенгальской розовой антигеном, разработанным в США (D. E. Piets P. Nicoletti, 1967) для исследования животных на бруцеллез.

Английский исследователь В. Morgan W.J. предложил пластинчатую реакцию агглютинации с использованием цветного антигена для исследования на бруцеллез сывороток крови животных, неиммунизированных противобруцеллезными вакцинами [142, 143].

По данным Р. Nicoletti, эта реакция является чувствительным и быстрым методом выявления бруцеллеза у животных. Положительные результаты этой реакции, по сообщению автора, в большинстве случаев совпадают, как правило, с результатами бактериологических исследований [171, 172].

Карточный тест применялся в полевых условиях в Монголии, Ливане, Бирме и показал высокую специфичность и практичность при выявлении инфицированных стад овец и коз. Тем не менее, от 12 до 23% инфицированных овец и коз не были идентифицированы этим тестом [165].

В нашей стране А.Н. Касьянов, Т.И. Малахова, А.И. Климанов разработали промышленную технологию изготовления, стандартизации и контроля отечественного антигена для роз-бенгал пробы, которая была освоена и внедрена на Херсонской биофабрике [55].

Под методическим руководством и при участии П.С. Уласевича, А.Н. Касьянова, Т.И. Малаховой и других научных сотрудников РБП была испытана в широком производственном опыте на 43,5 тыс. сывороток крови, в сравнении с общепринятыми методами (РА, РСК), для диагностики бруцеллеза у животных разных видов [107]. Одновременно эта реакция была всесторонне изучена в ВИЭВе, ВГНКИ ветпрепаратов, Карагандинской НИВС и сотрудниками других научно – исследовательских учреждений.

Зарубежные и отечественные исследователи сообщают, что РБП является специфичным и высокочувствительным методом диагностики бруцеллеза [55, 50, 106, 157, 184, 151]. По данным авторов, у большинства бруцеллезных животных РБП появлялась раньше и улавливала специфические антитела более длительное время, чем другие серологические реакции. На этом основании М.М. Иванов и Т.И. Малахова считают, что РБП может быть использована как один из основных методов серологической диагностики бруцеллеза [50].

По данным исследователей, РБП отличается быстротой получения результатов, а также простотой техники постановки и меньшими затратами труда и времени. В связи с этим, РБП в 1978 г. была принята к внедрению в ветеринарную практику.

Изучение возможности применения этой реакции для диагностики бруцеллеза продолжалось и после внедрения в практику [36, 86].

С.А. Расулов, Д.М. Мирзоев, М.И. Искандаров и др. в результате изучения диагностической ценности этой реакции на протяжении 6 лет установили, что она является более чувствительным методом диагностики бруцеллеза мелкого рогатого скота, чем РА и РСК, но менее специфичным и чувствительным, по сравнению с С-Elisa [86].

РБП относится к методам экспресс – диагностики бруцеллеза, но она не пригодна для исследования на бруцеллез животных, иммунизированных агглютиногенными противобруцеллезными вакцинами, с её помощью невозможно определить количественное содержание антител [36]. В связи с этим применение её предусмотрено для предварительного исследования сывороток крови животных всех видов, в дальнейшем для определения титра агглютининов и комплементсвязывающих антител исследованию подвергаются только те сыворотки, с которыми получена положительная РБП [55, 73].

#### **1.2.2.4 Реакция иммунодиффузии (РИД) с О-полисахаридным антигеном (О-ПС антиген)**

РИД с О-ПС антигеном основана на выявлении специфических преципитирующих антител, синтезирующихся в организме животных, инфицированных возбудителем бруцеллеза.

РИД в агаровом геле с применением поли В антигена была предложена в 1988 г. Cherwonogradsky с соавторами для дифференциации больных бруцеллезом животных от здоровых вакцинированных [19].

В.М. Чекишев с соавторами для применения в этих целях получил из В. abortus 19 высокоочищенный О-ПС антиген [120].

Большинство исследователей и практических ветеринарных специалистов, испытавших или применявших РИД с О-ПС антигеном, пришли к заключению о недостаточной чувствительности этой реакции при использовании её для поствакцинальной диагностики бруцеллеза крупного рогатого скота, привитого агглютиногенными противобруцеллезными вакцинами [74, 75, 7, 120, 35, 14, 9].



На основании результатов испытания РИД с О-ПС антигеном на крупном рогатом скоте, Л.В. Дегтяренко, М.Ю. Карлова, Г.В. Разницына установили, что применяемая в ветеринарной практике РИД с О-ПС антигеном обладает недостаточной чувствительностью, следовательно, не может быть надежным методом дифференциальной диагностики, из-за неполного выявления больных животных [35]. Тем не менее, эту реакцию продолжают применять в широкой практике, расходуя на приобретение антигена немалые финансовые средства, не говоря о больших убытках, связанных с недостаточной эффективностью этой реакции и антигена.

Эффективность применения РИД с О-ПС антигеном для дифференциальной диагностики бруцеллеза овец, иммунизированных агглютиногенными противобруцеллезными вакцинами, испытывал ряд исследователей [120, 9, 13, 15, 68, 19].

Отмечая высокую специфичность и целесообразность применения РИД с О-ПС антигеном для выявления опасных источников инфекции, многие авторы установили недостаточную эффективность использования этой реакции с О-ПС антигеном для дифференциальной диагностики бруцеллеза овец, привитых агглютиногенными противобруцеллезными вакцинами [69, 13, 14, 19]. Так, в опытах В.М. Чекишева, Ш.Р. Файзрахманова, Е.А. Киселева и др. РИД с О-ПС антигеном оказалась отрицательной у 14 животных (60%) из подвергнутых исследованию 23, с бактериологически доказанным бруцеллезом [120].

Наиболее обстоятельные исследования по изучению диагностического значения РИД с О-ПС антигеном при бруцеллезе овец, иммунизированных агглютиногенными противобруцеллезными вакцинами, в виду большого практического значения этого вопроса, проведены П.К. Аракеяном [7, 8, 13, 14, 15].

В результате проведенных исследований автор пришел к выводу о том, что по чувствительности РИД с О-ПС антигеном уступает комплексу РА и

РСК, как в естественном очаге бруцеллеза, так и при использовании её для диагностики бруцеллеза у искусственно зараженных овец.

Для повышения эффективности РИД отдельные исследователи рекомендуют применять для постановки этой реакции О-ПС М-антиген, изготовленный из вакцинного штамма *B.melitensis* Rev – 1, который выявлял больных бруцеллезом овец в 1,4-3,4 раза больше, по сравнению с РИД с официально принятым О-ПС А антигеном, изготовленным из аттенуированного вакцинного штамма *B.abortus* 19 [15, 19, 68].

Несмотря на то, что в утвержденном Департаментом ветеринарии Наставлении по диагностике бруцеллеза животных РИД с О-ПС антигеном отводится важное место в системе мероприятий по диагностике бруцеллеза, эта реакция не относится к числу основных методов диагностики и, по данным большинства авторов, является малопригодной для массовых исследований животных на бруцеллез, особенно овец и коз.

#### **1.2.2.5 Реакция непрямой гемагглютинации (РНГА)**

Учитывая актуальность проблемы усовершенствования диагностики бруцеллеза, исследователями многих стран большое внимание уделяется разработке и внедрению в практику простых, доступных и в то же время высокочувствительных и ускоренных методов диагностики этой болезни. Одним из таких экспресс – методов признана РНГА.

При бруцеллезе животных и людей РНГА изучали зарубежные исследователи Л. Христофоров, П.Сора, L. Valette, и др. и в нашей стране – в Институте эпидемиологии и микробиологии (ИЭМ) имени Н.Ф. Гамалеи (П.А. Вершилова, М.И. Чернышева, И.И. Дубровская, М.И. Чернышева), - ВИЭВ имени Я.Р. Коваленко и К.И. Скрябина (С.Ж. Садыков), - МВА (Е.И. Скаршевская) - Казахском НИВИ (Н.П. Иванов, В.Б. Бельченко, К.А. Поздеев, О.А. Игнатьева) - Прикаспийском зональном НИВИ (С.Г. Хаиров, О.Ю. Юсупов), - Ставропольском противочумном институте (Б.П. Цыбин, И.Ф. Таран), - Азербайджанском НИВИ (Э.А. Алиев) и некоторых других научно – исследовательских учреждениях [4, 19, 21, 22, 51, 52, 89, 94, 99, 109,

111, 112, 113, 114, 119, 145, 164, 184]. Для её постановки были предложены различные эритроцитарные диагностикумы, отличающиеся как по способу извлечения антигена из бруцелл, так и методам стабилизации и сенсibilизации эритроцитов.

Эритроцитарный диагностикум для РНГА в Прикаспийском зональном НИВИ в первоначальный период получали по методике Ставропольского противочумного института [109]. В дальнейшем, в способ изготовления диагностикума вносились существенные дополнения и изменения, которые позволили повысить чувствительность и специфичность и усовершенствовать его, но основная суть способа изготовления сохранилась, осталась прежней.

Следует отметить, что многие эритроцитарные диагностикумы для РНГА не вышли за рамки лабораторных испытаний и не получили широкого практического применения. Только в Прикаспийском зональном НИВИ, совместно с ФГБУ «ВГНКИ» (К.В. Шумилов, А.И. Климанов, О.Д. Складов) и ВНИИБТЖ (В.Г. Ощепков, Л.В. Дегтяренко), работа по усовершенствованию диагностикума, стандартизации и разработке нормативной документации продолжалась длительное время, более 30 лет. В экспериментальных и производственных условиях с непосредственным участием авторов был выполнен большой объем работ по изучению специфичности, активности и диагностической ценности эритроцитарного диагностикума для РНГА.

Многолетние исследования были завершены разработкой высокоэффективного стандартного и стабильного эритроцитарного антигена для РНГА и внедрением его в ветеринарную практику.

Основанием для внедрения служили не только многолетние исследования, проведенные авторами по изучению диагностикума, но и результаты пятилетнего широкого производственного испытания его в 17 субъектах РФ и апробации в ФГБНУ «ВГНКИ».

На основании указанных материалов Россельхознадзор принял решение о государственной регистрации бруцеллезного эритроцитарного диагностикума для РНГА в РФ в виде «Набора для серологической диагностики бруцеллеза крупного и мелкого рогатого скота в реакции непрямой гемагглютинации (РНГА)».

Диагностическая ценность диагностикума для РНГА при бруцеллезе животных была признана не только ветеринарными лабораториями, испытывавшими его, но и ведущими научно – исследовательскими учреждениями страны и Отделением ветеринарной медицины Россельхозакадемии.

Результаты многолетних исследований по разработке эритроцитарного диагностикума для РНГА, экспериментального изучения и широкого производственного испытания и практического применения в системе противобруцеллезных мероприятий, выполненных в соответствии с Программой фундаментальных и приоритетных прикладных исследований, завершенных разработкой и внедрением в ветеринарную практику нового высокоэффективного диагностического препарата были одобрены Бюро Отделения ветеринарной медицины Россельхозакадемии, которое рекомендовало Департаменту ветеринарии Минсельхоза РФ и Россельхознадзору принять меры, обеспечивающие широкое применение данного препарата в системе мер борьбы с бруцеллезом животных.

Предприятие ООО «Ветмедсервис» - производитель эритроцитарного диагностикума – ежегодно допускалось к участию в открытых Всероссийских аукционах по закупке наборов для диагностики бруцеллеза в РНГА, выходило победителем в тендерах и получало Госзаказ от ФГУ «Центр ветеринарии» на производство и поставку наборов ветеринарным лабораториям субъектов РФ. Только за 2007 – 2010 гг. предприятием ООО «Ветмедсервис» было произведено и отгружено, согласно разнарядкам ФГУ «Центр ветеринарии», 6756 наборов для РНГА. Препарат получал все большее признание ветеринарных служб различных регионов РФ. Так,

например, если в 2007 г в «Центр ветеринарии» поступило заявок на 1000 Наборов от 37 субъектов России, 2008 – 1538 от 53 субъектов, то в 2009 – 2010 заявки подали Управления ветеринарии 54 и 60 субъектов на более, чем 2000 Наборов. Примерно на такое же количество было подано заявок и в 2011 – 2012 гг. Однако, несмотря на наличие заявок, Департамент ветеринарии России, по непонятным причинам в последующие годы не стал объявлять аукцион по закупке Наборов для РНГА и ветеринарные лаборатории вынуждены были покупать их за свой счет, тогда как менее эффективные тест – системы для РА и РСК они получают бесплатно, т.е. за счет средств, выделяемых из Федерального бюджета на проведение противоэпизоотических мероприятий.

Высокая эффективность РНГА при диагностике бруцеллеза животных была подтверждена и многими другими исследователями и практическими ветеринарными специалистами, испытавшими эту реакцию [88, 75, 56, 40].

Результаты анализа опубликованных научных работ по испытанию РНГА свидетельствуют о том, что большинство исследователей интересовало изучение диагностического значения этой реакции при бруцеллезе крупного рогатого скота. Вместе с тем, имеется ряд сообщений и по испытанию РНГА для исследования на бруцеллез мелкого рогатого скота (С.Г. Хаиров, И.Ф. Таран, Б.П. Цыбин, К.М. Евстрафиади, П.К. Аракелян, С.К. Дымов, Н.И. Куренская), которые подтверждают специфичность, высокую чувствительность и пригодность применения РНГА для диагностики бруцеллеза овец [112, 113, 99, 10]. Однако, специальные исследования по глубокому изучению диагностического значения РНГА при бруцеллезе овец и коз, в сравнении с другими серологическими реакциями, с тщательным анализом результатов исследований еще не были проведены. Недостаточно изученным оставалась также диагностическая ценность традиционных методов диагностики (РА, РСК, РБП, РИД и др.), в сравнении с таким высокочувствительным методом, каким является РНГА.

Кроме того, по мнению таких крупных ученых как С.Н. Вышелесский, Е.С. Орлов, G. Kolar, R. Festerbank и др., существующие методы серологической диагностики бруцеллеза (пробирочная РА, пластинчатая РА, РСК и др.) обладают недостаточной чувствительностью, особенно при бруцеллезе овец и коз [26, 78, 79, 81, 165, 156]. Из указанных методов наиболее пригодной для диагностики бруцеллеза овец является РСК, которая по чувствительности, постоянству и четкости результатов превосходит другие диагностические тесты [81, 70, 118, 184, 165]. Тем не менее, все эти методы даже при комплексном их применении не позволяют идентифицировать более 70% инфицированных бруцеллезом животных. Этим объясняются, по мнению R. Festerbank, трудности, которые возникают в искоренении этой болезни у овец и коз [156].

На основании результатов проведенных исследований Е.С. Орлов и К.В. Шумилов пришли к заключению, что большим недостатком серологических методов диагностики бруцеллеза (РА, РСК) является то, что в свежих случаях инфекции значительная часть крупного рогатого скота и овец дает отрицательные результаты при исследовании в РА, РСК и других реакциях, тогда как именно в этих случаях особенно важно своевременное и полное их выявление. В связи с этим возникает необходимость изыскания более чувствительных методов диагностики для выявления животных в первые дни после заражения возбудителем бруцеллеза [82].

По имеющимся данным, недостаточная эффективность широко применяемых в практике методов серологической диагностики бруцеллеза овец и коз связана, с одной стороны, с тем, что специфические антитела у них являются менее активными в серологическом отношении, чем у крупного рогатого скота и, с другой – недостаточной чувствительностью самих диагностических тестов, в связи с чем, значительное количество бруцеллезных овец остается невыявленным при диагностических исследованиях [81, 82].

Поэтому, учитывая особенности патогенеза бруцеллеза, высокую заразительность и патогенность *B.melitensis* для человека и недостаточную эффективность широко применяемых в системе противобруцеллезных мероприятий методов диагностики бруцеллеза (РА, РСК, РБП, РИД), изыскание специфичного и высокочувствительного метода диагностики бруцеллеза овец и коз имеет большое научное и практическое значение.

## **2 СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ**

### **2.1 Материалы и методы исследования**

Исследования проводились с 2015 по 2021 годы в лаборатории инфекционной патологии сельскохозяйственных животных Прикаспийского зонального НИВИ – филиал ФГБНУ «ФАНЦ РД», согласно утвержденному тематическому плану НИР и овцеводческих хозяйствах Республики Дагестан.

Для изготовления бруцеллезного эритроцитарного диагностикума для РНГА сенситин для нагрузки (сенсibilизации) стабилизированных эритроцитов извлекали из суспензии (бакмассы) бруцелл слабовирулентного высокоантигенного штамма *B.abortus* 19, выращенных на плотной питательной среде – мясо – пептонном печеночно – глюкозоглицериновом агаре (МППГА) методом солевого извлечения.

Формалинизацию эритроцитов барана проводили по методу Weinbach в модификации Прикаспийского зонального НИВИ [116].

Исследования сывороток крови в РА, РСК, РБП проводили по общепринятым методикам, используя биофабричные антигены. РНГА ставили с применением эритроцитарного диагностикума, изготовленного в лабораторных условиях института или на предприятии ООО «Ветмедсервис». При исследовании молока овец и коз в РНГА пользовались методикой, предложенной Л.В. Дегтяренко для исследования коровьего молока в РНГА на бруцеллез.

ИФА ставили с применением тест системы производства фирмы ООО «Сиббиотест» на базе ГБУ «Кропоткинская краевая ветеринарная лаборатория» Краснодарского края с участием соискателя.

Для изучения специфичности и диагностического значения РНГА с испытуемым эритроцитарным диагностикумом исследовали сыворотки крови 5648 овец и коз разного возраста благополучных и неблагополучных по бруцеллезу хозяйств с различным течением инфекции и 41 сыворотку



крови племенных баранов, положительно реагирующих в РДСК на инфекционный эпидидимит, а также с целью испытания преимущества РНГА для установления этиологии абортос и выявления свежеинфицированных животных – сыворотки крови 17 абортосовавших и 56 содержащихся с ними в очагах инфекции в одних и тех же отарах нормально обьягнившихся овцекозематок.

С целью разработки экспресс-метода диагностики бруцеллеза овец и коз с применением РНГА с молоком с использованием разработанного нами эритроцитарного антигена исследовали молоко и сыворотку крови от 1076 овец и коз из хозяйств с различной эпизоотической ситуацией по бруцеллезу, а также от 11 абортосовавших и 5 свежеинфицированных овец и коз.

Исследования биоматериала от овец и коз в ПЦР, при испытании РНГА с молоком, проводили на базе Республиканской ветеринарной лаборатории РД, с участием соискателя и её сотрудников.

## **2.2 Результаты исследований по разработке способа изготовления бруцеллезного эритроцитарного диагностикума для РНГА**

Применяемый в нашей стране в ветеринарной практике эритроцитарный диагностикум для РНГА разработан в результате многолетних исследований, проведенных авторским коллективом: О.Ю. Юсуповым, С.Г. Хаировым (Прикаспийский зональный НИВИ), К.В. Шумиловым, О.Д. Складоровым, А.И. Климановым (ФГБУ «ВГНКИ»), В.Г. Ощепковым, Л.В. Дегтяренко (ВНИИБТЖ).

Результаты проведенной большой работы по испытанию эритроцитарного диагностикума для РНГА показали специфичность, высокую чувствительность и диагностическую эффективность её при бруцеллезе крупного и мелкого рогатого скота, по сравнению с другими традиционными методами диагностики (РА, РСК).

На основании большого фактического материала по изучению диагностического значения, проведенного в экспериментальных условиях, широкого производственного испытания и результатов экспертизы и

апробацию в ФГБУ «ВГНКИ» при участии Центральной научно-методической ветеринарной лаборатории, диагностикум был внедрен в ветеринарную практику.

Бруцеллезный эритроцитарный диагностикум (антиген) представляет собой стабилизированные эритроциты барана, сенсibilизированные бруцеллезным антигеном. При изготовлении диагностикума по способу Прикаспийского зонального НИВИ ВГНКИ и ВНИИБТЖ для нагрузки (сенсibilизации) эритроцитов извлекают из суспензии бруцелл высокоантигенного слабовирулентного вакцинного штамма *B.abortus* 19, выращенных на плотной питательной среде – мясопептонном печеночно-глюкозоглицериновом агаре (МППГА).

Необходимым условием для получения высокоактивного диагностикума для РНГА, при изготовлении его по указанному способу является обработка суспензии бруцелл в процессе производства антигена детергентом – поверхностно-активным средством «Прогресс», выпускавшим Новочеркасским заводом синтетических продуктов (НЗСП), так как при этом улучшается экстрагирование антигенных комплексов из бруцелл и повышаются адсорбционные свойства эритроцитов, что позволяет получить высокоактивный диагностикум для РНГА. Однако, вскоре после развала Советского Союза НЗСП, единственное в стране предприятие – производитель препарата «Прогресс», был закрыт из-за банкротства и производство препарата «Прогресс» было прекращено.

В связи с отсутствием в продаже указанного препарата для его замены мы испытали целый ряд поверхностно-активных средств, в частности, моющие средства «Золушка» и «Прогресс» (производитель ООО «АМС Медиа» (г. Лосино-Петровский Московской области), сильно концентрированное моющее средство «Прогресс» - Московской фирмы «Селена», препарат додецилсульфат натрия и др. Обнадеживающие результаты были получены при использовании универсального моющего средства «Прогресс» - производства ООО «АМС Медиа» и препарата

додецилсульфат натрия. Однако, диагностикумы, изготовленные с применением указанных препаратов, не обладали достаточно высокой активностью. Титры гемагглютининов с диагностикумами, изготовленными с использованием этих поверхностно активных средств, при исследовании в РНГА стандартного образца бруцеллезной сыворотки антибруцелла абортус, не превышали 1:800, тогда как в соответствии с нормативными документами (регламент по изготовлению антигена, инструкция по изготовлению, ТУ) он должен быть не ниже 1:1600 с оценкой в четыре или три креста (таблицы 1 и 2).

Таблица 1 – Результаты проверки активности и специфичности эритроцитарного диагностикума для РНГА, изготовленного с применением для обработки суспензии *V.abortus* 19 концентрированного универсального поверхностно-активного моющего средства «Прогресс» - производства ООО «АМС Медиа» (г. Лосино-Петровский Московской области)

Количество антигена	Титры РНГА							
	со стандартным образцом сыворотки антибруцелла абортус					с негативной сывороткой		
	1:200	1:400	1:800	1:1600	1:3200	1:50	1:100	1:200
1,0	++++	+++	++	-	-	-	-	-
1,5	++++	++++	+++	+	-	-	-	-
2,0	++++	++++	+++	+	-	-	-	-
2,5	++++	++++	++++	+	-	-	-	-
3,0	++++	++++	++++	+	-	-	-	-

Таблица 2 – Результаты проверки активности и специфичности эритроцитарного диагностикума для РНГА, изготовленного с применением для обработки суспензии *V.abortus* 19 препарата додецилсульфата натрия

Количество антигена	Титры РНГА							
	со стандартным образцом сыворотки антибруцелла абортус					с негативной сывороткой		
	1:200	1:400	1:800	1:1600	1:3200	1:50	1:100	1:200
1,0	++++	++++	++	-	-	-	-	-
1,5	++++	++++	+++	-	-	-	-	-
2,0	++++	++++	+++	+	-	-	-	-
2,5	++++	++++	++++	++	-	-	-	-
3,0	++++	++++	++++	++	-	-	-	-

Как видно из приведенных в таблицах 1 и 2 данных, диагностикумы, изготовленные путем сенсибилизации формализированных эритроцитов бруцеллезными антигенами (сенситинами), обработанными указанными поверхностно-активными средствами (детергентами), титр РНГА не превышал 1:800.

Дальнейшими нашими исследованиями было подтверждено, что с помощью одного додецилсульфата натрия при его использовании в более высоких концентрациях по известному способу (патент на изобретение № , авторы О.Ю. Юсупов, С.Г. Хаиров и др.) удастся изготовить диагностикум, обладающий достаточно высокой активностью. Однако, при сенсибилизации эритроцитов сенситином, полученным с применением в качестве детергента одного додецилсульфата натрия, диагностикум приобретал темно – коричневый цвет, что является нежелательным при учете результатов реакции. Проведенные нами исследования показали, что этот недостаток удастся устранить при сочетанном применении обоих детергентов. То есть, при добавлении к композиции, состоящей из суспензии бруцелл и препарата – додецилсульфат натрия, поверхностно-активного средства «Прогресс» производства ООО «АМС Медиа» (г. Лосино-Петровск Московской области) повышалась активность получаемого диагностикума и он приобретал ярко-красный цвет эритроцитов, то есть цвет крови.

Путем испытания различных сочетаний и концентраций обоих детергентов для обработки суспензии бруцелл нами были определены оптимальные их соотношения и концентрации, позволяющие при сочетанном применении получить диагностикум, имеющий активность в РНГА со стандартным образцом сыворотки антибруцелла абортус-титр 1:1600 оценкой в четыре или три креста (таблица 3).

Таблица 3 – Результаты проверки активности и специфичности нового диагностикума, изготовленного путем обработки суспензии бруцелл концентрированным поверхностно-активным универсальным моющим средством «Прогресс» - производства ООО «АМС Медиа» (г. Лосино-Петровский Московской области), в сочетании с препаратом додецилсульфат натрия

Количество антигена	Титры РНГА							
	Со стандартным образцом сыворотки антибруцелла абортус					С негативной сывороткой		
	1:200	1:400	1:800	1:1600	1:3200	1:50	1:100	1:200
1,0	++++	++++	+++	++	-	-	-	-
1,5	++++	++++	++++	+++	-	-	-	-
2,0	++++	++++	++++	++++	+	-	-	-
2,5	++++	++++	++++	++++	++	-	-	-
3,0	++++	++++	++++	++++	++	-	-	-

Как видно из данных, приведенных в таблице 3, вновь изготовленный бруцеллезный эритроцитарный диагностикум для РНГА с сочетанным применением новых детергентов для обработки бакмассы бруцелл, т.е. для получения сенситина, обладал специфичностью и такой же активностью, как и диагностикум, получаемый по известному способу, то есть установлена возможность замены поверхностно-активного средства «Прогресс» НЗСП другими детергентами (при сочетанном их применении), выпускаемыми в нашей стране.

После установления возможности замены поверхностно-активного средства «Прогресс», ранее выпускаемого Новочеркасским заводом синтетических продуктов (НЗСП) другими новыми отечественными детергентами нами была изготовлена в лабораторных условиях института опытная серия бруцеллезного эритроцитарного диагностикума для РНГА.

Диагностикум готовили по методу Прикаспийского зонального НИВИ с той лишь разницей, что вместо поверхностно активного средства «Прогресс» НЗСП, при его изготовлении в качестве детергентов использовали концентрированное поверхностно-активное средство

«Прогресс» фирмы ООО «АМС Медиа» и препарат додецилсульфат натрия, при сочетанном их применении.

В связи с этим, в процессе изготовления диагностикума нужно было найти новые технические решения ряда вопросов, связанных с применением указанных детергентов и имеющих значение для получения специфичного, высокоактивного, стабильного и стандартного эритроцитарного диагностикума для РНГА.

В первую очередь, необходимо было установить оптимальный режим, позволяющий максимально извлечь из бруцелл активный в антигенном отношении сенситин, определить оптимальные концентрации новых детергентов, обеспечивающие полное экстрагирование из бруцелл антигенных комплексов и повышение адсорбционных свойств эритроцитов, а также оптимальные параметры сенсibilизации эритроцитов с применением новых детергентов. Все эти вопросы нами были изучены опытным путем в процессе изготовления серии диагностикума.

Опытную серию диагностикума готовили по методу Прикаспийского зонального НИВИ из высокоантигенного слабовирулентного штамма *V.abortus* 19 в S - форме. Бакмассу получали путем выращивания бруцелл штамма 19 на мясопептонном печеночно-глюкозоглицериновом агаре в матровых колбах в течение трех суток, после чего выросшую культуру смывали с поверхности агара 12%-ным стерильным раствором хлористого натрия.

Для получения сенситина взвесь бруцелл в гипертоническом 12%-ном растворе хлористого натрия, имеющем концентрацию 70-80 млрд м.к. в 1 мл, автоклавировали при температуре 120-122° С и РН – 8,0-9,0, в течение 20-30 минут, что обеспечивало лучшее экстрагирование антигенных комплексов из бруцелл и позволяло получить активный в антигенном отношении сенситин.

Проведенные нами исследования показали, что для максимального извлечения из бруцелл активного в антигенном отношении сенситина и, следовательно, получения высокочувствительного диагностикума одного

автоклавирования суспензии бруцелл в гипертоническом растворе хлористого натрия недостаточно. Необходимым условием для полного извлечения из бруцелл антигенных комплексов с широким антигенным спектром и полного насыщения ими эритроцитов является обработка суспензии бруцелл после автоклавирования указанными детергентами, при сочетанном их применении в оптимальных сочетаниях и концентрациях.

С.Г. Хаиров и А.А. Шахбанов изучали механизм действия и значение применения поверхностно-активного препарата «Прогресс» Новочеркасского завода синтетических продуктов, при изготовлении эритроцитарного диагностикума для РНГА [108]. С помощью электронно-микроскопического метода исследования авторами было доказано, что под воздействием этого детергента происходит разрыхление внешнего слоя клеточной стенки бруцелл и улучшается экстрагирование из микробных клеток белково-липополисахаридного комплекса (сенситин), что позволяет получить высокоактивный эритроцитарный антиген для РНГА.

Но этим не ограничивается значение детергента. В процессе изготовления эритроцитарного диагностикума для РНГА нами было установлено, что при добавлении к суспензии бруцелл детергентов – поверхностно-активного средства «Прогресс», препарата додецилсульфат натрия и последующей сенсibilизации этой композицией формализированных эритроцитов не только происходит улучшение экстрагирования из бруцелл антигенных комплексов, но и улучшаются адсорбционные свойства эритроцитов, в связи с чем происходит полное насыщение рецепторов эритроцитов антигенными комплексами бруцелл, т.е. улучшается сенсibilизация эритроцитов, в результате чего повышается активность диагностикума. Наряду с этим, было установлено важное значение концентрации детергентов, используемых для обработки бакмассы с целью получения сенситина.

При изготовлении опытной серии эритроцитарного диагностикума для РНГА, так же как по способу Прикаспийского зонального НИВИ, с

целью максимального экстрагирования из бруцелл активного в антигенном отношении сенситина, содержащего широкий спектр антигенных комплексов, мы пользовались методом солевого извлечения из микробных клеток бруцеллезного сенситина, позволяющим получить активный диагностикум, по сравнению с диагностикками, изготовленными методами, предложенными другими научно – исследовательскими учреждениями. Это было подтверждено результатами комиссионного сравнительного испытания пяти бруцеллезных эритроцитарных диагностикумов, предложенных ветеринарными и медицинскими научно – исследовательскими институтами (ВИЭВ, Прикаспийский зональный НИВИ, Казахский НИВИ, Институт эпидемиологии и микробиологии имени Н.Ф. Гамалеи, Ставропольский противочумный институт), проведенного с участием крупных ученых нашей страны при Всероссийском государственном научно-контрольном институте ветбиопрепаратов по распоряжению Главного управления ветеринарии Минсельхоза СССР.

В результате комиссионного сравнительного испытания было установлено, что наиболее активным является диагностикум Прикаспийского зонального НИВИ, который готовился методом солевого извлечения из микробных клеток сенситина путем автоклавирования суспензии бруцелл в гипертоническом 12%-ном растворе хлористого натрия с последующей обработкой бакмассы детергентом – поверхностно активным средством «Прогресс» производства Новочеркасского завода синтетических продуктов. Этот диагностикум выявил при исследовании в РНГА наибольшее количество положительно реагирующих на бруцеллез овец.

После установления возможности получения высокоактивного в антигенном отношении сенситина путем автоклавирования суспензии бруцелл в гипертоническом 12%-ном растворе хлористого натрия с последующей обработкой детергентами нами были проведены исследования по определению оптимальных параметров применения детергентов и режимов сенсibilизации эритроцитов, обеспечивающие получение



высокоактивного, специфичного и стандартного эритроцитарного диагностикума для РНГА. Результаты наших исследований показали, что они заключаются в сочетанном применении обоих детергентов для обработки бакмассы в оптимальных концентрациях.

Определение оптимальных концентраций детергентов, требующихся для максимального извлечения из бруцелл штамма *B.abortus* 19 антигенных комплексов, проводили путем обработки суспензии бруцелл в различных режимах возрастающими дозами этих препаратов в различных сочетаниях и проверки в РНГА для исследования стандартного образца сыворотки антибруцелла абортус и негативной сыворотки эритроцитарных диагностикумов, изготовленных с применением различных режимов и концентраций указанных детергентов.

Проведенными исследованиями было установлено, что оптимальными концентрациями являются: для средства «Прогресс» - 4,0-4,5%, додецилсульфата натрия – 0,2-0,25% к объему 70-80 миллиардной (в 1 мл) взвеси бруцелл в 12%-ном гипертоническом растворе хлористого натрия. Следует подчеркнуть, что применение детергентов в оптимальных концентрациях имело важное значение для получения активного и специфичного диагностикума для РНГА, поскольку при обработке бакмассы детергентами в меньших концентрациях снижалась активность получаемого эритроцитарного диагностикума, тогда как диагностикумы, изготовленные с использованием высоких концентраций детергентов, при исследовании сывороток крови здоровых животных давали неспецифические реакции, без применения детергентов готовить диагностикумы не удавалось.

В процессе работы по изготовлению диагностикума мы убедились, что наиболее простым, позволяющим получить высокоактивный препарат, пригодный для серийного производства, является метод формализации эритроцитов, предложенный Вайнбах в модификации Прикаспийского зонального НИВИ [116].

Что касается режима сенсibilизации эритроцитов, то наши исследования показали, что адсорбция антигена (сенситина) формализованными эритроцитами происходит интенсивно при более высокой температуре (45-50° С), что позволяет уменьшить время сенсibilизации эритроцитов с 16-18 до 2-х часов. Причем, уменьшение времени сенсibilизации эритроцитов при высокой температуре не приводило к снижению активности эритроцитарного диагностикума. Это имеет важное практическое значение, поскольку позволяет сократить технологический цикл производства диагностикума при серийном изготовлении, особенно в промышленных масштабах.

Немаловажное значение для получения высокоактивного и стандартного эритроцитарного диагностикума имело также применение сенситина для сенсibilизации эритроцитов в оптимальной дозе.

Таким образом, в результате проведенных исследований нами были определены основные технологические решения, необходимые для изготовления эритроцитарного диагностикума для РНГА с применением новых поверхностно-активных средств.

Первое и главное техническое решение состояло в том, что нами установлена возможность получения высокоактивного эритроцитарного диагностикума путем сочетанного применения для обработки суспензии бруцелл после автоклавирования двух новых, указанных выше поверхностно-активных препаратов.

Второе техническое решение заключается в определении оптимальных параметров применения детергентов для обработки бакмассы бруцелл и оптимальных концентраций, позволяющих получить высоко активный и специфичный эритроцитарный диагностикум.

Далее нами было установлено, что детергенты, содержащиеся в смеси с бакмассой бруцелл, в процессе сенсibilизации улучшают адсорбционные свойства эритроцитов, в связи с чем происходит полное насыщение

эритроцитарных рецепторов антигенными комплексами бруцелл, в результате чего повышается активность диагностикума.

Наряду с этим, наши исследования показали, что сенсibilизацию эритроцитов следует проводить при более высокой температуре (45 – 50° С), так как при этом интенсивно происходит адсорбция антигена (сенситина) формализированными эритроцитами, вследствие чего повышается активность диагностикума. Кроме того, это позволяет уменьшить время сенсibilизации эритроцитов, что имеет немаловажное значение при изготовлении и серийном выпуске диагностикума.

После того как были найдены основные технические решения по всем указанным вопросам, с соблюдением результатов проведенных исследований мы изготовили опытную серию диагностикума и провели её испытание, в сравнении с эритроцитарным антигеном, изготовленным по известному способу с применением поверхностно активного средства «Прогресс», выпускаемого НЗСП, действующим веществом которого являются вторичные алкилсульфаты натрия.

Основная суть разработанного нами нового способа изготовления диагностикума для РНГА заключается в сенсibilизации стабилизированных формалином (по методу Вайнбаха в модификации Прикаспийского зонального НИВИ) эритроцитов сенситином, содержащим широкий спектр антигенных комплексов бруцелл, отличающегося тем, что для улучшения экстрагирования из микробных клеток антигенных комплексов и расширения антигенного спектра, взвесь бруцелл из штамма 19 подвергают автоклавированию при температуре 120-122 ° С и рН – 8,0-9,0. Затем с этой же целью, а также для повышения адсорбционных свойств и лучшей сенсibilизации формализированных эритроцитов и, следовательно, активности диагностикума, перед сенсibilизацией бакмассу (взвесь бруцелл) обрабатывают при температуре 45 – 50° С в течение 45 минут, сочетанным применением новых детергентов в оптимальных концентрациях.

Способ позволяет изготовить такой же специфичный и высокоактивный, стандартный и стабильный эритроцитарный диагностикум, как получаемый известным способом.

Применение этого диагностикума для исследования на бруцеллез сывороток крови овец, коз в РНГА позволяет выявить широкий спектр специфических бруцеллезных антител, обладающих агглютинирующей, комплементсвязывающей и преципитирующей активностью, то есть установить диагноз на бруцеллез у животных, реагирующих в РА, РСК, РБП и РИД.

Принимая во внимание существенные отличия данного способа изготовления диагностикума, в 2018 г. ФИПС признал его изобретением с выдачей патента (№2667121).

### **2.3 Результаты контрольных испытаний вновь изготовленного эритроцитарного диагностикума для РНГА, в сравнении с эритроцитарным диагностикумом, изготовленным по известному способу**

Результаты испытания показали, что эритроцитарный диагностикум для РНГА, изготовленный по новому способу с сочетанным применением новых детергентов в оптимальных концентрациях, не отличается по активности, специфичности и другим параметрам от ранее выпускавшего Прикаспийским зональным НИВИ эритроцитарного антигена для РНГА с использованием препарата «Прогресс» НЗСП, действующим веществом которого являются вторичные алкилсульфаты натрия. Активность обоих диагностикумов была одинаковой и – 1:1600 в четыре креста.

С обоими диагностикумами получена отрицательная РНГА с негативной сывороткой, что свидетельствует об их специфичности.

При этом с ними были получены одинаковые результаты РНГА при испытании их исследования на бруцеллез сывороток крови овец и коз неблагополучных по бруцеллезу хозяйств. Испытуемый новый диагностикум, так же как изготовленный по известному способу с

применением поверхностно-активного средства «Прогресс» НЗСП, при исследовании в РНГА с применением сывороток крови 52 овец и коз неблагополучной по бруцеллезу отары, выявил всех животных, положительно реагирующих на бруцеллез в применяемых в практике серологических реакциях. Результаты исследований свидетельствовали о том, что РНГА с испытуемым эритроцитарным диагностикумом, изготовленным по новому способу, так же как с применением эритроцитарного диагностикума, изготовленного по способу, разработанному С.Г. Хаировым, О.Ю. Юсуповым, обладает высокой чувствительностью, что, видимо, связано с тем, что РНГА с применением нового эритроцитарного диагностикума выявляет широкий спектр бруцеллезных антител (агглютинины, комплементсвязывающие антитела, преципитины и др.) [109].

Использование в совокупности всех полученных новых технических решений, как показали проведенные нами исследования, позволило получить высокоэффективный эритроцитарный диагностикум для РНГА, не отличающийся по активности, специфичности и другим свойствам от эритроцитарного диагностикума Прикаспийского зонального НИВИ, изготовленного по известному способу с применением поверхностно-активного средства «Прогресс» НЗСП.

При контрольной проверке нового эритроцитарного диагностикума было установлено, что он отвечает всем требованиям, предъявляемым утвержденными техническими условиями (ТУ 9388-001-73917611-2005).

Таким образом, на основании результатов проведенных исследований нами разработан новый способ изготовления и контроля специфичного и высокочувствительного бруцеллезного эритроцитарного диагностикума для реакции непрямой гемагглютинации (РНГА)».

С применением нового способа предприятие ООО «Ветмедсервис» изготовило в 2017 – 2018 гг. 1480 «Наборов для серологической диагностики бруцеллеза крупного и мелкого рогатого скота в реакции непрямой

гемагглютинации (РНГА)». Результаты контроля их качества были одобрены Отделом сертификации ФГБНУ «ВГНКИ» с выдачей Декларации о соответствии, что дает право для их реализации и практического применения (копии Деклараций прилагаются). Все Наборы были использованы ветеринарными лабораториями Республики Дагестан и некоторых других субъектов РФ и рекламации на них не поступало.

Результаты проведенных исследований послужили основанием для получения патента на изобретение.

## **2.4 Результаты изучения диагностического значения РНГА с сывороткой крови и молоком при бруцеллезе овец и коз**

### **2.4.1 Испытание эффективности РНГА с сывороткой крови, в сравнении с РА и РСК, для диагностики бруцеллеза овец и коз**

Располагая специфичным и эритроцитарным диагностикумом, мы провели испытания РНГА, в сравнении с общепринятыми и широко применяемыми в практике методами диагностики бруцеллеза – РА и РСК, на овцах благополучных и неблагополучных по бруцеллезу хозяйств с различным течением болезни.

При постановке РНГА использовали эритроцитарный диагностикум, изготовленный в Прикаспийском зональном НИВИ и научно-производственном предприятии ООО «Ветмедсервис», с нашим участием, по усовершенствованному способу.

Изучение диагностического значения РНГА с применением нового эритроцитарного диагностикума было проведено на сыворотках крови овец благополучных и неблагополучных по бруцеллезу хозяйств с различным течением инфекции и абортировавших овце-, козематок.

В одном овцеводческом хозяйстве со свежезанесенной бруцеллезной инфекцией в РНГА, РА и РСК были исследованы сыворотки крови 6 абортировавших и содержащихся с ними в одной отаре 24 нормально обьягнвившихся овцематок. Результаты исследований даны в таблице 4.

Таблица 4 – Результаты испытания РНГА в свежем очаге инфекции для установления этиологии аборт у овцематок

№ п/п	Результат ягнения	РНГА	РА, М.Е.	РСК
1	Аборт	1:800+++	200 +++	1:10 #
2	Аборт	1:800+++	50 ++	1:10 #
3	Аборт	-	-	-
4	Аборт	1:200+++	25 +++	1:5 #
5	Аборт	1:800+++	200 #	1:10 #
6	Аборт	1:800 #	200 #	1:10#
7	Норм ягн.	1:100+++	25 +++	-
8	Норм ягн.	1:100+++	25 ++	1:5 +
Положит.		7	4	5
Сомнит.		-	3	1
Отрицат.		1	1	2

Примечание: у остальных 22 нормально обьягнвившихся маток по всем реакциям получены отрицательные результаты.

Как видно из таблицы 4, у 5 овец из 6 абортировавших и 2-х – из 24 нормально обьягнвившихся, содержащихся с ними в одной отаре, получена положительная РНГА в титрах 1:100 – 1:800. Из указанных 7 овец, выявленных с помощью РНГА, положительная РСК отмечена у 5, РА – 4-х, сомнительная – соответственно, одной и 3-х маток. Не реагировали в РСК – 2, РА – одна. С сывороткой крови одной абортировавшей овцематки по всем реакциям получены отрицательные результаты. Приведенные данные свидетельствуют о преимуществе РНГА перед другими серологическими реакциями (РА, РСК) для выявления зараженных бруцеллезом овец в свежем очаге инфекции и установления этиологии абортов.

После этого мы исследовали на бруцеллез, с целью испытания РНГА, всех остальных овцематок данного хозяйства, в количестве 1722 головы, содержащихся в двух отарах (таблица 5).

Таблица 5 – Результаты испытания РНГА для исследования овцематок неблагополучных по бруцеллезу отар со свежезанесенной и остро протекающей инфекцией

Исследовано овец	Результаты исследования							
	РНГА		РА		РСК		Комплекс РА+РСК	
	пол.	сом.	пол.	сом.	пол.	сом.	пол.	сом.
1722	198	33	57	30	91	16	114	42
%	11,4		3,3		5,2		6,6	

Как видно из приведенных в таблице 5 данных, в неблагополучных по бруцеллезу отарах со свежезанесенной и остро протекающей инфекцией РНГА выявила на 84 положительно реагирующих на бруцеллез овец больше, чем диагностический комплекс РА+РСК, что составляет 4,87% к общему количеству животных, подвергнутых исследованию.

Если сравнить с РНГА отдельные серологические реакции, то РА не выявила, по сравнению с ней, 141 (8,1%), РСК – 107 (6,2%) бруцеллезных овец. Эти данные свидетельствуют о том, что РНГА является при исследовании овец из хозяйств с остро протекающей инфекцией более чувствительной реакцией, по сравнению с РА и РСК.

Высокий процент сомнительных результатов реакции не является характерным для РНГА. В подавляющем большинстве она, как правило, дает четкие результаты и обычно титры выражены в 2-2,5 раза выше, чем титры агглютининов. Тем не менее, при исследовании сывороток крови 1722 овцематок в 33-х случаях получена сомнительная РНГА.

Это связано с тем, что бруцеллезная инфекция была занесена в данное хозяйство (отару) недавно и овцы, которые реагировали в РНГА сомнительно или в невысоких титрах, заразились возбудителем бруцеллеза несколько недель тому назад, так как у большинства таких животных при повторном исследовании, проведенном спустя 3 недели, были отмечены повышение



титров гемагглютининов и появление других серологических реакций (РА, РСК).

С целью тщательной оценки диагностической ценности РНГА, результаты исследования на бруцеллез сывороток крови овцематок одной отары (946 гол.), из общего количества 1722 овец, были подвергнуты сравнительному анализу (таблица 6).

Таблица 6 – Результаты сравнительной оценки показаний РНГА и других серологических реакций

РА, МЕ	РСК	К - во	Титры РНГА							
			-	1:25	1:50	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600
-	-	886	853	5	3	11	12	-	-	-
25	-	11	1	-	6	1	3	-	-	-
25	+	7	-	-	1	3	3	-	-	-
50	+	5	-	-	-	2	2	1	-	-
100	+	7	-	-	-	-	2	2	2	1
200	+	4	-	-	-	-	-	-	1	3
200	-	1	-	-	-	-	1	-	-	-
-	+	22	-	-	-	-	10	10	1	1
-	с	3	-	-	-	2	1	-	-	-
Итого:		946	856	5	10	19	34	13	4	5

Как видно из таблицы 6, результаты исследования свидетельствуют о более высокой диагностической эффективности РНГА, по сравнению с другими серологическими реакциями. Она выявила дополнительно к РА и РСК 39 положительно реагирующих на бруцеллез овец, что составляет 4,1% к общему числу животных, подвергнутых исследованию.

При исследовании в РА на бруцеллез реагировало в диагностических титрах всего 35 овец, из них 17 – положительно и 18 – сомнительно. Данная реакция оказалась менее чувствительной из всех испытанных методов серологической диагностики. По сравнению с РНГА, она не выявила 68

больных бруцеллезом овец, что составляет 7,1% к числу животных, подвергнутых исследованию.

Если в РА в диагностических титрах реагировало на бруцеллез всего 35 овец, то с применением этой реакции, из-за недостаточной чувствительности не удалось выявить специфические бруцеллезные антитела в сыворотке крови у 68 больных бруцеллезом овцематок и ни в одном случае с помощью РА, дополнительно к РНГА, у овец не был установлен бруцеллез.

Аналогичные результаты получены при испытании РНГА и РА для выявления бруцеллеза среди 776 овце-, козематок другой отары с остро протекающей бруцеллезной инфекцией.

С применением одной РА положительный диагноз на бруцеллез был установлен только у 40 особей и ни в одном случае с помощью этой реакции не удалось выявить, дополнительно к РНГА, больных бруцеллезом животных.

Отрицательной стороной РА является не только недостаточная чувствительность, но и то, что при исследовании сывороток крови обычно выделяется больше сомнительно реагирующих животных, чем по другим серологическим реакциям, особенно при исследовании овец и коз на стадии угасания инфекции и в некотором проценте случаев среди переболевших бруцеллезом овец. Это ограничивает применение РА при бруцеллезе мелкого рогатого скота и затрудняет интерпретацию её результатов.

Что касается достоверности показаний РНГА, то у 59 овцематок из числа положительно реагировавших в РНГА 85 (69,4%), показания этой реакции были подтверждены результатами других официально принятых серологических реакций (РА, РСК).

Сыворотки крови остальных овцематок, реагировавших только в РНГА положительно (26 голов) и сомнительно (5 голов), при отрицательных РА и РСК, спустя 3 недели были исследованы повторно в РНГА, РА и РСК (таблица 7).

Таблица 7 – Результаты повторного исследования сывороток крови овцематок на бруцеллез

РНГА						РА					
титр		к-во		рез.		титр		к-во		рез.	
отр.	-	отр.	31	отр.	31	отр.	-	отр.	11	отр.	12
1:25	5	25	-	сом.	-	1:25	1	25	10	сом.	10
1:50	3	50	-	пол.	-	1:50	6	50	7	пол.	9
1:100	11	100	-			1:100	7	100	2		
1:200	12	200	-			1:200	13	200	1		
1:400	-	400	-			1:400	4	400	-		

Как видно из приведенных в таблице 7 данных, у преобладающего большинства овец при повторном исследовании повысились титры РНГА, 20 овцематок из 31-ой, отмечено появление в сыворотке крови агглютининов и 19 – комплементсвязывающих антител в диагностических титрах, что свидетельствует о достоверности показаний РНГА.

Эритроцитарный диагностикум был испытан также при изучении диагностического значения РНГА для выявления бруцеллеза у естественно инфицированных овец и коз в стадах с хроническим течением этой болезни.

С этой целью в РНГА и других широко применяемых в практике серологических реакциях (РА, РСК) исследовали сыворотки крови 950 овце-, козематок из отары стационарно неблагополучного по бруцеллезу хозяйства, где у большинства овец и коз заболевание протекало в хронической форме. Результаты исследований приведены в таблице 8.

Таблица 8 – Результаты исследования на бруцеллез сывороток крови овец и коз из отары со стационарным хроническим течением инфекции

Исследовано овец и коз	РНГА		РСК		РА		РА+РСК	
	Пол.	Сом.	Пол.	Сом.	Пол.	Сом.	Пол.	Сом.
950	56	3	42	-	20	23	43	23
%	5,8		4,4		2,1		4,5	

Как видно из данных, приведенных в таблице 8, в стационарно неблагополучных по бруцеллезу отарах с хроническим течением инфекции, у большинства овец и коз в РНГА положительно на бруцеллез реагировало наибольшее количество животных (56 гол.). Комплекс РА+РСК выявил 43 положительно реагирующих на бруцеллез овец и коз или 4,5% к общему количеству животных, подвергнутых исследованию.

Исследования показали, что менее чувствительной диагностической реакцией при исследовании на бруцеллез овец и коз является РА, которая выявила лишь 2,1% положительно реагирующих животных. Примерно у такого же количества овец и коз получена сомнительная РА, что затрудняет интерпретацию результатов исследования. Кроме того, следует отметить, что у преобладающего большинства положительно реагировавших в РА овец и коз титры не превышали 1:50 – 1:100, в то время как в РНГА были получены четкие результаты с более высокими титрами гемагглютининов (1:100 – 1:200). Эти данные свидетельствуют о том, что пробирочная РА медленной сероагглютинации является недостаточно чувствительной и малопригодной диагностической реакцией при бруцеллезе овец и коз. Они совпадают с результатами исследований Е.С. Орлова, который при многократных исследованиях овец, выделявших бруцелл с молоком или абортировавших на почве бруцеллеза, установил, что стабильная положительная РА отмечается только у 22,7%, колебание титра агглютининов, т.е. переход этой реакции из положительной в сомнительную или отрицательную и обратно - 55,3%, 22% овец неизменно давали отрицательные реакции, в связи с чем применение

РА, как диагностического метода при оздоровлении неблагополучных по бруцеллезу отар, в 1932-1938гг. не дало желаемого результата [78]. Аналогичное мнение в отношении диагностического значения РА высказывают и другие авторы - С.Н. Вышелесский, Х.С. Котлярова, Е.С. Орлов и др., которые на основании результатов своих исследований пришли к заключению, что РА очень часто не обеспечивает отбора здорового поголовья в неблагополучном по бруцеллезу стаде [26, 60, 78]. Кроме того, по мнению С.Н. Вышелесского пробирочный метод РА является малопригодным для исследования овец на бруцеллез. Видимо, по этой причине в Наземном кодексе не предусмотрено исследование в РА экспортируемых и импортируемых овец, то есть при ведении международной торговли.

С целью проверки специфичности испытанного нами эритроцитарного диагностикума в РНГА были исследованы сыворотки крови 617 здоровых овец различных половозрастных групп из благополучных по бруцеллезу хозяйств и 14 проб сывороток крови племенных баранов, положительно реагирующих в РДСК на инфекционный эпидидимит (таблица 9).

Таблица 9 – Результаты проверки специфичности эритроцитарного диагностикума для РНГА

№ п/п	Хозяйство	Группа животных	Исследовано животных	РА, МЕ		РСК		РНГА	
				25	50	1:5	1:10	1:25	1:50
1	Агрофирма «Согратль»	Овцематки	323	-	-	-	-	-	-
2	СПК «Кегер»	Ярки	165	-	-	-	-	-	-
3	Агрофирма «им. Даниялова»	Плембараны	129	-	-	-	-	-	-
4	Агрофирма «Согратль»	Плембараны реаг. на инф. эпидидимит	14	-	-	-	-	-	-

Как видно из приведенных в таблице 9 данных, при исследовании в РНГА сывороток крови овец разных половозрастных групп благополучных по бруцеллезу хозяйств и сывороток крови племенных баранов, положительно реагирующих в РДСК с антигеном из *B. ovis* на инфекционный эпидидимит, с отрицательными показаниями РА и РСК на бруцеллез, ни в одном случае положительно или сомнительно реагирующих в РНГА на бруцеллез животных не выявлено, что свидетельствует о специфичности РНГА с применением испытуемого изготовленного нами эритроцитарного диагностикума.

#### **2.4.2 Результаты испытания РНГА с сывороткой крови для диагностики бруцеллеза овец и коз, в сравнении с Роз-бенгал пробой (РБП)**

Пластинчатая реакция агглютинации с бруцеллезным Роз бенгал антигеном, Роз бенгал тест (РБТ) или Роз бенгал проба (РБП) в нашей стране принята к внедрению в ветеринарную практику в 1978 году, странах Европейского экономического общества она применяется для исследования животных с 1977 года. Реакцию также применяют в США, Австралии, Новой Зеландии и других странах.

По данным зарубежных и отечественных исследователей, РБП высокоспецифична и у большинства больных бруцеллезом животных появляется раньше и улавливает специфические антитела (Jg M, Jg G и Jg A) более длительное время, чем другие серологические реакции [142, 154, 152, 50,].

С.А. Расулов, Д.М. Мирзоев, М.И. Искандеров и др. установили, что среди традиционных серологических методов (РА, РСК, РБП) при бруцеллезе овец наиболее чувствительной реакцией является Роз бенгал проба. Но, по данным авторов, она является менее специфичной и чувствительной, по сравнению с иммуноферментным методом С-Elisa [86].

Кроме высокой чувствительности и специфичности, связанной со способностью роз бенгал антигена ингибировать проявление

неспецифических реакций, РБП отличается и быстротой получения результатов исследований, а также простотой техники постановки, в связи с чем она широко применяется в ветеринарной практике, особенно для проведения массовых диагностических исследований овец и коз на бруцеллез. Наряду с этим, сыворотки крови, поступающие в лабораторию, вначале исследуют Роз-бенгал пробой, затем для установления титра агглютининов и комплементсвязывающих антител исследованию подвергаются только те сыворотки, с которыми получена положительная РБП. В связи с этим, значительно облегчается проведение диагностических исследований, уменьшаются расходы на приобретение антигена, комплемента и пробирок, которые необходимы при исследовании сывороток крови в РСК.

Реакция непрямой гемагглютинации (РНГА) с применением эритроцитарного диагностикума, изготовленного по способу, разработанному авторским коллективом: О.Ю. Юсуповым, С.Г. Хаировым (Прикаспийский зональный НИВИ), К.В. Шумилов, А.И. Климанов и О.Д. Складов (ФГУ «ВГНКИ»), В.Г. Ощепковым и Л.В. Дегтяренко (ВНИИБТЖ), внедрена в ветеринарную практику. Большой фактический материал изучения диагностического значения РНГА для исследования на бруцеллез сывороток крови крупного и мелкого рогатого скота, широкого производственного испытания и апробации её в ВГНКИ, а также практического применения показал высокую диагностическую эффективность этой реакции и целесообразность применения в широкой практике.

Поскольку по результатам своих исследований многие авторы считают РБП, по сравнению с традиционными серологическими тестами, более эффективным методом диагностики бруцеллеза, представляет интерес изучение диагностической ценности этой реакции, в сравнении с РНГА, особенно в следующих случаях:

- при установлении этиологии абортос у овце- и козematок;

- для более раннего выявления инфицированных бруцеллезом овец и коз в свежих очагах инфекции;
- при исследовании молодняка овец и коз (ярок и козочек), подлежащего иммунизации противобруцеллезными вакцинами;
- для более полного выявления бруцеллезных овец и коз в стационарно неблагополучных по бруцеллезу хозяйствах или чабанских бригадах и в некоторых других случаях.

Проведенный нами анализ доступных литературных источников по диагностике бруцеллеза животных и опыт практической работы позволяют следующим образом охарактеризовать указанные реакции.

Роз-бенгал тест является качественной пробой, который не позволяет определить количество антител, т.е. титр антител. Для определения титра агглютининов или комплементсвязывающих антител переисследованию в РА и РСК подвергают только сыворотки крови животных, положительно реагировавших в РБП. Однако, необходимость в переисследовании возникает только в случаях получения положительных результатов у овец благополучных по бруцеллезу хозяйств для уточнения диагноза или высоко ценных племенных животных.

Переисследование в РА и РСК овец и коз благополучных по бруцеллезу хозяйств, положительно реагировавших только в РБП, в Инструкции по диагностике бруцеллеза животных не предусмотрено и это является оправданным, так как, во-первых, только в РБП при отрицательных результатах других серологических реакций реагирует небольшое количество овец и коз и, во-вторых, при вынужденном их убое, мясо полученное от таких овец и коз, после выдержки в остывочных помещениях, разрешается употреблять в пищу.

Приступая к работе по изучению диагностического значения РНГА и РБП, эти реакции с испытуемыми диагностикумами были проверены на специфичность (таблица 10).



Таблица 10 – Результаты испытания специфичности РНГА и РБП

Группы животных	Количество	РНГА	РБП	РА	РСК
Овцематки	210	отр.	отр.	отр.	отр.
Ярки	165	отр.	отр.	отр.	отр.
Плембараны	129	отр.	отр.	отр.	отр.
Плембараны больные инф. эпидид.	27	отр.	отр.	отр.	отр.

Как видно из таблицы 10. со всеми сыворотками получены отрицательные результаты РНГА, РА и РСК, что свидетельствует о специфичности испытанных реакций.

Поскольку РБП, по данным многих отечественных и зарубежных исследователей, улавливает в сыворотке крови животных специфические антитела в большинстве случаев в более ранние сроки после заражения бруцеллезом, чем традиционные серологические реакции (РА, РСК), нами впервые была испытана эта реакция, в сравнении с РНГА с применением изготовленного предприятием ООО «Ветмедсервис» с нашим участием эритроцитарного диагностикума, РА и РСК для установления этиологии аборт и выявления свежеинфицированных бруцеллезом овец и коз [36, 48, 50, 55, 66, 86, 87, 106, 107, 142, 143, 148, 151, 152, 154, 157, 165, 171, 183, 184].

С этой целью в РНГА, РБП, РА и РСК на бруцеллез были исследованы сыворотки крови абортировавших 8 овцематок, 3-х коз и 32 нормально обьягнвившихся овце-, козематок, содержащихся с ними в одной отаре, с остропротекающей инфекцией и высокой зараженностью овец и коз бруцеллезом (таблица 11).

Таблица 11 – Результаты испытания РНГА, в сравнении с РБП и другими серологическими методами диагностики, для исследования на бруцеллез овец и коз в свежем очаге инфекции

№	Вид животного	Результат ягнения	РНГА, титр	РБП	РА, МЕ	РСК
1.	Овцематка	Аборт.	1:400	пол.	200	1:20
2.	--/--	--/--	1:200	пол.	-	1:10
3.	--/--	--/--	1:400	пол.	100	1:20
4.	--/--	--/--	1:800	пол.	200	1:40
5.	--/--	--/--	1:800	пол.	50	1:20
6.	--/--	--/--	1:1600	пол.	200	1:40
7.	--/--	--/--	1:100	-	-	-
8.	--/--	--/--	1:200	пол.	-	1:20
9.	Коза	--/--	1:200	пол.	25	1:20
10..	Коза	--/--	1:100	-	-	-
11.	Коза	--/--	1:400	пол.	100	1:20
12.	Овцематка	Норм.ягн.	1:100	пол.	25	1:10
13.	Овцематка	--/--	1:50	-	-	-
14.	Овцематка	--/--	1:200	пол.	25	1:5
15.	Коза	--/--	1:100	-	50	1:5
Всего реагировало на бруцеллез:						
в том числе, полож.			15	11	7	10
сомнительно			-	-	3	2
отрицательно			-	4	5	3

Примечание: отрицательные результаты, полученные по всем реакциям, при исследовании на бруцеллез сывороток крови овец и коз 28 нормально обьягнвившихся не включены в таблицу.

Как видно из приведенных в таблице 11 данных, РНГА выявила специфические бруцеллезные антитела у всех абортировавших и 4-х

нормально обьягнвившихся из 32-х овец и коз. То есть, эта реакция позволила установить этиологию абортотв у всех абортотвровавших и выявить 4-х свежеинфицированных овец и коз из числа 32 нормально обьягнвившихся овец и коз. Причём, у овец и коз, выявленных с помощью РНГА, получены более высокие титры гемагглютининов и четкие результаты реакции с интенсивностью в 4 или 3 креста.

Второе место по количеству выявленных бруцеллезных животных среди абортотвровавших и нормально обьягнвившихся овец и коз в свежем очаге инфекции занимает РБП, третье – РСК.

В неблагополучном по бруцеллезу хозяйстве, где была зарегистрирована острая вспышка бруцеллеза мелкого рогатого скота, сопровождавшаяся массовыми абортотвами и большим числом выделения больных бруцеллезом животных, с целью изучения диагностического значения РНГА, в сравнении с РБП и другими серологическими реакциями (РА, РСК), были исследованы сыворотки крови 580 овцематок (таблица 12).

Таблица 12 – Результаты испытания РНГА для диагностики бруцеллеза овец, в сравнении с РБП и другими серологическими реакциями, в остром очаге бруцеллезной инфекции

РНГА		РБП	РА,МЕ					РСК					Комплекс РА+РСК
титр	кол.		25	50	100	200	всего	1:5	1:10	1:20	1:40	всего	
1:25	26	24						5	2			7	7
1:50	52	40	1	5	1		7	12	6	4	6	28	28
1:100	21	14		7	1		8	2	4	3	9	18	18
1:200	18	12	2	6	4	6	18	2	2	4	10	18	18
1:400	27	20		7	11	7	25			2	19	21	25
1:800	11	8		2	5	4	11				10	10	11
1:1600	6	3				6	6				6	6	6
Итого:	161	121	3	27	22	23	75	21	14	13	60	108	114
В т.ч., полож.	135	121					72					108	114
%	23,2	20,8					12,4					18,6	19,6
сомнит.	26		3				3						3
отриц.	419	459					505					472	463
Всего:	580	580					580					580	580

Проведенный сравнительный анализ результатов исследований показал, что из подвергнутых исследованию 580 овцематок положительная РНГА получена с сыворотками крови у 135 (23,2%), РБП – 121 (20,8%), РА – 72 (12,4%), РСК – 108 (18,6%) , комплекс РА+РСК – 114 (19,6%) овцематок.

Наиболее чувствительной диагностической реакцией оказалась РНГА, которая выявила 23,2% больных бруцеллезом овец, тогда как с помощью РБП диагноз на бруцеллез был установлен у 20,8 % животных, подвергнутых исследованию.

По сравнению с другими реакциями, РНГА выявила дополнительно к РБП – 14 (2,4%), РА+РСК – 21 (3,7%) положительно реагирующих на бруцеллез овец. Из 26 овцематок, реагировавших в РНГА сомнительно в титре 1:25, эта реакция в 24-х случаях совпала с результатами РБП.

С помощью Роз бенгал пробы бруцеллез был установлен у 121 (20,8%) овцематки. По количеству выявленных больных животных эта реакция уступила только реакции непрямой гемагглютинации. Исследования подтвердили специфичность, высокую чувствительность РБП и пригодность для диагностики бруцеллеза мелкого рогатого скота.

Накопленный к настоящему времени опыт борьбы с бруцеллезом свидетельствует о том, что оздоровление от этой болезни пораженных бруцеллезом отар взрослых овец стационарно неблагополучных по этой болезни хозяйств методом систематических диагностических исследований и сдачи на убой положительно реагирующих животных практически невозможно.

Оздоровить от бруцеллеза методом выявления и убоя положительно реагирующих овец и коз удастся только отары с незначительной пораженностью поголовья путем неоднократных диагностических исследований с одновременным проведением комплекса ветеринарно – санитарных мероприятий. Причем, результаты оздоровительных мероприятий и сроки ликвидации бруцеллеза во многом зависят от эффективности применяемых методов диагностики.

К настоящему времени общепризнано, что наиболее эффективным методом оздоровления овец и коз от бруцеллеза является поотарная замена неблагополучного по бруцеллезу взрослого поголовья изолированным выращенным здоровым молодняком. Причем, эффективность данного метода повышается, если изолированно выращенный молодняк (ярки) подвергается иммунизации с применением высокоиммуногенной противобруцеллезной вакцины, в частности, вакцины из штамма *B.melitensis* Rev-1. При этом важное значение имеет максимальная очистка подвергаемого иммунизации молодняка от инфицированных или латентно больных бруцеллезных особей, чтобы в вакцинированных отарах не осталось бруцеллезных животных, что достигается исследованием подвергаемого иммунизации молодняка (ярок) наиболее чувствительными эффективными диагностическими тестами.

С целью определения эффективного метода диагностики бруцеллеза нами были исследованы с применением РНГА, РБП, РА и РСК сыворотки крови 245 ярок неблагополучного по бруцеллезу овцеводческого хозяйства. При этом установлено, что для исследования молодняка овец на бруцеллез следует рекомендовать РНГА, так как эта реакция является наиболее чувствительной, по сравнению со всеми другими методами серологической диагностики.

Что касается эффективности РБП при бруцеллезе овец и коз, то согласно результатам исследований А.Н. Касьянова, М.М. Иванова, Т.И. Малаховой, П.С. Уласевича и ряда других авторов, РБП имеет преимущество перед РА и РСК по способности выявлять специфические антитела у животных в ранние сроки после заражения бруцеллезом [50, 55, 106].

Такие же результаты испытания РБП на овцах получили С.А. Расулов и Д.М. Мирзоев, которые установили, что среди традиционных методов диагностики (РА, РСК) эта реакция является наиболее чувствительным методом диагностики бруцеллеза овец, хотя она менее специфична, по сравнению с ними [86].

Учитывая вышеизложенное, изучение диагностической эффективности РБП и РНГА для выявления хронического бруцеллеза у взрослых овец и коз стационарно неблагополучных по бруцеллезу отар представляет интерес в научном и практическом отношении.

С целью изучения диагностической эффективности РНГА и РБП для выявления больных бруцеллезом овец в одной отаре с хроническим течением инфекции были исследованы сыворотки крови от 650 овец и коз (таблица 13). Таблица 13 – Результаты изучения диагностической эффективности РНГА и РБП для выявления больных бруцеллезом овец в одной отаре с хроническим течением инфекции

Исследовано овец	РНГА		РБП		РА		РСК	
	Пол.	Сом.	Пол.	Сом.	Пол.	Сом.	Пол.	Сом.
650	48	2	42	-	30	4	33	1
%	7,4		6,5		4,6		5,1	

Как видно из таблицы 13, количество овец, положительно реагирующих в РНГА, было больше, по сравнению с другими официально принятыми методами (РБП, РА, РСК). В частности, из 650 овцематок положительная РНГА получена у 48 (7,4%), тогда как с помощью РБП диагноз на бруцеллез был установлен у 42 (6,5%), РА – 30, РСК – 33 особей (4,6%). Из них у преобладающего большинства положительные результаты РНГА были подтверждены аналогичными в РБП, РА и РСК.

Таким образом, результаты проведенных исследований по изучению диагностического значения РНГА с применением изготовленного нами эритроцитарного диагностикума показали, что эта реакция является более чувствительным методом диагностики бруцеллеза овец и коз, по сравнению со всеми испытанными диагностическими тестами (РБП, РА, РСК).

### **2.4.3 Испытание РНГА с сывороткой крови для диагностики бруцеллеза овец и коз, в сравнении с РИД с О-ПС антигеном**

Применение РИД с О-полисахаридным антигеном официально предусмотрено при плановых исследованиях животных одновременно в РА, для раннего и более полного выявления инфицированных бруцеллезом в вакцинированных стадах для дифференциальной поствакцинальной диагностики бруцеллеза животных, иммунизированных бруцеллезными агглютиногенными вакцинами, а также при снятии ограничений с неблагополучных хозяйств одновременно с РА, РСК и другими реакциями, утвержденными в установленном порядке и в ряде других случаев.

Как видно из этого перечня, в Наставлении важное значение придается применению РИД с О-ПС антигеном в системе мероприятий по диагностике бруцеллеза животных. В то же время, по сообщениям ряда исследователей, применяющаяся в ветеринарной практике РИД с О-ПС антигеном ИЭВС и ДВ, ВГНКИ обладает недостаточной чувствительностью, следовательно, не может быть надежным методом дифференциальной диагностики бруцеллеза животных [34, 75, 119, 19, 74].

По мнению П.К. Аракеляна, О.В. Бондарева, С.К. Димова, по своей чувствительности РИД уступает комплексу РА и РСК, как в естественном очаге бруцеллеза, так и при исследовании искусственно зараженных овец, но учитывая, что у привитых животных положительные титры РА и РСК длительно сохраняются и не могут служить показателем их инфицированности, РИД можно использовать, как групповой показатель инфицированности отары [9].

К такому же выводу пришли П.К. Аракелян, И.А. Косилов, К.С. Димов, В.М. Чекишев и др. [14]. По данным исследователей РИД с О-ПС А антигеном недостаточно чувствительна для диагностики инфекций *V.melitensis* и *V.abortus* у мелкого рогатого скота, а также бруцеллеза крупного рогатого скота. В опытах авторов О-ПС М антиген, изготовленный из вакцинного штамма *V. melitensis* Rev-1, проявил в РИД более высокую



диагностическую эффективность. Исследования, проведенные авторами, показали, что у крупного рогатого скота при остром течении инфекции, вызванной *B. abortus*, обнаруживаются преципитины к О-ПС А антигену, при заболевании, обусловленном *B. melitensis* – преципитины к О-ПС М антигену. Однако, оба варианта РИД по чувствительности значительно уступали комплексу РА и РСК. Но вместе с тем, применение их предоставляет возможность дифференцировать вакцинированных животных от естественно инфицированных, а также оценивать эпизоотическую опасность стад.

Несмотря на то, что многие исследователи, изучавшие РИД с О-ПС антигеном, считают её недостаточно чувствительной не только для диагностики, но и поствакцинальной дифференциальной диагностики бруцеллеза мелкого и крупного рогатого скота, ветеринарные лаборатории продолжают широко применять в своей работе, при дифференциальной диагностике бруцеллеза животных, иммунизированных агглютиногенными противобруцеллезными вакцинами.

Учитывая, что объективная оценка широко применяемых в ветеринарии методов диагностики бруцеллеза имеет большое научное и практическое значение, нами проведены специальные исследования по изучению диагностического значения РИД с О-ПС антигеном, в сравнении с РНГА и другими официально принятыми серологическими реакциями, при бруцеллезе мелкого рогатого скота.

С этой целью исследованию были подвергнуты сыворотки крови 600 овцематок неблагополучной по бруцеллезу отары – ЛПХ Ногайского района, где была зарегистрирована острая вспышка бруцеллеза (таблица 14).

Таблица 14 – Результаты испытания РНГА для диагностики бруцеллеза овец и коз, в сравнении с РИД и другими серологическими реакциями, в остром очаге бруцеллезной инфекции

РНГА		РИД	РА,МЕ						РСК					Комплекс РА+РСК	
титр	кол-во		25	50	100	200	400	всего	1:5	1:10	1:20	1:40	всего		
1:25	26	1							5	2			7	7	
1:50	62	3	1	5	1			7	12	6	4	6	28	33	
1:100	26	1		7	1			8	3	5	3	9	20	20	
1:200	23	2	2	6	4	7		19	2	2	4	10	18	23	
1:400	27	11		7	11	6	1	25			2	21	23	26	
1:800	11	8		2	5	3	1	11				10	10	11	
1:1600	6	4				2	4	6				6	6	6	
Итого:	225	30	3	27	22	18	6	76	22	15	13	62	112	126	
В т.ч., положит.	155	30		73				73	112					112	126
%	25,8	5,0						12,0					18,7	21,5	
сомнит.	26							3						3	
отриц.	419	570						524					488	471	
Всего:	600	600						600					600	600	

Проведенный сравнительный анализ результатов исследований показал, что наиболее чувствительной диагностической реакцией является РНГА, которая выявила 25,8% больных бруцеллезом овец, тогда как с помощью официально применяемой в практике РИД с О-ПС антигеном, диагноз на бруцеллез установлен лишь у 5,0% исследованных животных.

Эта реакция выявила дополнительно к РИД 125 (20,8), РА+РСК – 29 (4,8%) положительно реагирующих на бруцеллез овец.

РИД с О-ПС антигеном, по сравнению с РНГА, недоявила 125 больных бруцеллезом овец. Причем, отрицательные результаты РИД с О-ПС антигеном получены с сыворотками крови 17 овец, реагировавших в РНГА в титрах 1:400-1:1600 и одновременно в РСК – 1:40 и 23-х овец, реагировавших в РНГА – 1:200 и РСК в высоких титрах (1:20 – 1:40), т.е. даже в тех случаях, когда животные заболели острым бруцеллезом в генерализованной форме и инфицированность организма возбудителем не вызывает сомнений.

В результате проведенных исследований установлено, что преобладающее большинство овец (23 гол. из 30), в сыворотке крови которых с помощью РИД с О-ПС антигеном выявлены преципитины, которые, по мнению авторов данного препарата, синтезируются в организме животных, инфицированных возбудителем бруцеллеза и являются наиболее опасными источниками инфекции, реагировало в РНГА в титре 1:400 и РСК – 1:40 (22 гол.), 1:20 (1 гол.), остальные (7 голов) реагировали в РНГА и РСК в диагностических титрах.

Таким образом, проведенные исследования показали, что из всех испытанных серологических реакций при бруцеллезе овец РНГА является наиболее эффективной диагностической реакцией, которая позволяет выявить в остром очаге инфекции максимальное количество зараженных бруцеллезом животных.

Все овцы, в сыворотке крови которых содержатся преципитины, обнаруживаемые с помощью РИД с О-ПС антигеном, реагировали и в РНГА в диагностических титрах, из них преобладающее большинство овец (23 гол.

из 30) имело высокие титры (1:400 и выше, РНГА). Вместе с тем, отрицательные результаты РИД с О-ПС антигеном получены еще у 21 овцематки, имевших РНГА в высоких титрах (1:400-1:1600) и такого же количества животных с титром 1:200, а также 25 голов – 1:100, считающихся диагностически положительными.

При сравнительном анализе результатов РИД и РСК – 1:40 – установлено, что при полном совпадении показаний обеих реакций (РИД с О-ПС антигеном и РСК – 1:40) дополнительно РСК в титре 1:40 получена с сыворотками крови 33 овцематок, не считая результатов РСК – 1:20 и РА в высоких титрах (200-400 МЕ). Отрицательные результаты РИД с О-ПС антигеном, полученные при исследовании сывороток крови у значительного количества овец с высокими титрами РНГА и РСК, свидетельствуют о непригодности использования РИД с О-ПС антигеном в качестве метода диагностики бруцеллеза овец.

Наряду с изучением диагностического значения РНГА, в сравнении с РИД с О-ПС антигеном, эти реакции были испытаны также для поствакцинальной дифференциальной диагностики бруцеллеза овец, привитых агглютиногенной противобруцеллезной вакциной из штамма *V.melitensis* Rev-1. Исследованию подвергли 352 овцематок (благополучных по бруцеллезу хозяйств), привитых в возрасте 5-6 месяцев вакциной из штамма *V.melitensis* Rev-1, спустя 12 и 13 месяцев после иммунизации (таблица 15).

Таблица 15 – Результаты испытания РНГА для поствакцинальной диагностики бруцеллеза овец

Наименование хозяйства	Исследовано сывороток					Примечание
		РНГА	РИД	РА	РСК	
СПК им. С.Курбанова Акушинского р-на	155	отр.	отр.	отр.	отр.	Спустя 13 мес. после иммунизации
с. Гели (частный сектор) Карабудахкентского р-на	197	отр.	отр.	отр.	отр.	Спустя 12 мес. после иммунизации
Всего:	352					

Как видно из приведенных в таблице 15 данных, при исследовании на бруцеллез со всеми сыворотками получены отрицательные результаты РНГА, РИД с О-ПС антигеном, РА и РСК.

Результаты исследований свидетельствуют о том, что у овец, иммунизированных в молодом возрасте (5-6 мес.) вакциной из штамма *V.melitensis* Rev-1, через год после прививки угасают поствакцинальные серологические реакции (РНГА, РИД с О-ПС антигеном, РА, РСК). Следовательно, таких овец можно исследовать на бруцеллез с диагностической целью с применением указанных реакций.

#### **2.4.4 Диагностическое значение РНГА с сывороткой крови при бруцеллезе овец и коз, в сравнении с ИФА**

В последние годы во многих зарубежных странах и ряде областей и краев нашей страны для исследования на бруцеллез животных применяется способ диагностики бруцеллеза на основе различных вариантов иммуноферментного анализа (ИФА).

По данным зарубежных и отечественных исследователей, ИФА является современным высокочувствительным методом диагностики,

позволяющим проводить автоматизированную постановку и учет способом диагностики бруцеллеза [85, 41, 42, 43, 93, 161, 175].

А.С. Димова, А.А. Сизов, С.К. Димов, и др. (ИЭВС и ДВ), П.К. Аракелян (ВНИИБТЖ) и др. разработали и испытали для диагностики бруцеллеза животных, в том числе овец и коз, новый тест – систему ИФА [41]. Авторы считают, что разработанная тест – система ИФА не уступает по чувствительности классическому диагностическому комплексу РА+РСК и РНГА. Она пригодна для применения в качестве скрининговой, при массовых исследованиях на бруцеллез, обеспечивая возможность классического метода исследования – РА и РСК – лишь при переисследовании проб сывороток крови животных с положительными и сомнительными результатами ИФА.

При испытании предложенной авторами тест-системы на мелком рогатом скоте установлено её преимущество в специфичности показаний, в сравнении с тест-системой производства Курской биофабрики. Данная тест-система принята в ветеринарную практику для диагностики бруцеллеза у крупного и мелкого рогатого скота.

Учитывая высокую диагностическую эффективность ИФА и РНГА при бруцеллезе, нами проведены специальные исследования по испытанию этих диагностических тестов при бруцеллезе овец и коз.

РНГА ставили с бруцеллезным эритроцитарным диагностикумом, изготовленным с нашим участием на предприятии ООО «Ветмедсервис», (Республика Дагестан, г. Махачкала), ИФА – с применением тест-системы производства «Сиббиотест» на базе ГБУ «Кропоткинская краевая ветеринарная лаборатория» Краснодарского края, с участием автора настоящей диссертации.

Для изучения специфичности эритроцитарного диагностикума РНГА и тест – системы ИФА были исследованы сыворотки крови 50 овец и коз из благополучного по бруцеллезу хозяйства (таблица 16).

Таблица 16 – Результаты испытания специфичности эритроцитарного диагностикума для РНГА и тест – системы ИФА

Кол-во проб	РНГА		ИФА фирмы ООО НПФ «Сиббио- тест»		РА, МЕ		РСК		РБП		РИД	
	пол	отр	пол	отр	пол	отр	пол	отр	пол	отр	пол	отр
50	-	50	-	50	-	50	-	50	-	50	-	50

Как видно из приведенных в таблице 16 данных, результаты исследований свидетельствует о специфичности РНГА и метода ИФА при исследовании овец на бруцеллез с применением указанной тест-системы ИФА и эритроцитарного диагностикума для РНГА.

С целью изучения диагностического значения РНГА и ИФА были исследованы на бруцеллез сыворотки крови 54 голов мелкого рогатого скота одного неблагополучного по бруцеллезу фермерского хозяйства. Результаты исследований представлены в таблице 17.

Таблица 17 – Результаты испытания РНГА и ИФА для исследования на бруцеллез сывороток крови мелкого рогатого скота неблагополучного по бруцеллезу хозяйства

П/П №	К-во овец	Результат исследования					
		РНГА, титры	ИФА	РА, МЕ	РСК	РБП	РИД
1.	1	1:200+++	сом.	отр.	1:5	пол.	отр.
2.	1	1:100+++	сом.	отр.	1:5	отр.	отр.
3.	1	1:100+++	сом.	отр.	1:20	пол.	отр.
4.	1	1:400#	сом.	200	1:40	пол.	пол.
5.	1	1:25+++	отр.	отр.	отр.	отр.	отр.
6.	1	1:50#	отр.	отр.	отр.	отр.	отр.
7.	1	1:100+++	сом.	отр.	1:20	отр.	отр.

Продолжение							
П/П №	К-во овец	Результаты исследования					
		РНГА, титры	ИФА	РА, МЕ	РСК	РБП	РИД
8.	1	отр.	отр.	отр.	1:20	отр.	отр.
9.	1	1:100+++	сом.	25	1:5	пол.	отр.
10.	1	1:25+++	сом.	отр.	1:5	отр.	отр.
11.	1	1:400#	пол.	отр.	1:40	пол.	отр.
12.	1	1:50+++	сом.	50	отр.	отр.	отр.
13.	1	1:400+++	пол.	отр.	1:20	пол.	отр.
14.	41	отр.	отр.	отр.	отр.	отр.	отр.
Итого:	пол.	10	2	2	7	6	1
	сомн.	2	8	1	3	-	-
	отр.	42	44	51	44	48	53

Как видно из приведенных в таблице 17 данных, при исследовании на бруцеллез сывороток крови 54 овец и коз, положительная РНГА в титрах 1:50 – 1:400 получена у 10 (18,5%), сомнительная – 2-х (3,7%), положительная ИФА – 2-х (3,7%), сомнительная – 8 (14,8%) овец. Из остальных серологических реакций положительный диагноз на бруцеллез был установлен с помощью РСК – 7 (13%), РА – 2-х (3,7%), РБП – 6 (11,1%) и РИД с О-ПС антигеном – одной головы (1,9%).

Всего в РНГА реагировали 12, ИФА – 10 овец и коз. Причем, из реагировавших в РНГА 12 животных, 3 имели высокий титр гемагглютининов – 1:400, одна – 1:200, три – 1:100, тогда как из общего количества реагировавших в ИФА 10 овец в 8 случаях был сомнительный результат.

Таким образом, проведенные исследования показали, что РНГА по диагностической эффективности значительно превосходит все остальные



тесты, в том числе и ИФА. Однако, несмотря на полученные результаты, мы не делаем окончательных выводов о том, что РНГА, по сравнению с ИФА, при бруцеллезе овец и коз обладает более высокой чувствительностью. Для изучения этого вопроса требуется проведение дальнейших специальных исследований на большом количестве животных, с применением других тест – систем ИФА.

#### **2.4.5 Диагностическое значение нового экспресс-метода диагностики бруцеллеза у лактирующих овец и коз с применением РНГА с молоком**

В связи с тем, что при бруцеллезе овец и коз возбудитель часто локализуется в вымени и длительное время сохраняется в нем, изыскание метода выявления специфических антител в молоке для диагностики бруцеллеза заслуживает большего внимания.

В нашей стране и за рубежом для диагностики бруцеллеза у коров официально применяется кольцевая реакция с молоком (КР с молоком) [102, 70, 71, 101, 63, 34, 38, 180, 184].

Однако, у исследователей нет единого мнения о пригодности этой реакции для исследования на бруцеллез молока овец и коз. Большинство авторов считает, что КР с молоком менее эффективна для диагностики бруцеллеза мелкого рогатого скота, по этой причине не входит в число официально принятых методов диагностики и не используется в практике [53, 101, 153, 165].

Одним из существенных недостатков КР с молоком овец и коз является то, что с её помощью не всегда удастся обнаружить специфические антитела из-за низкого содержания их в молоке и слабой серологической активности, по сравнению с антителами, содержащимися в коровьем молоке [103, 165]. В связи с этим, для их выявления возникает необходимость в применении более чувствительного метода диагностики. С этой целью нами была испытана РНГА с применением эритроцитарного диагностикума, изготовленного с нашим участием в ООО «Ветмедсервис».

При исследовании в РНГА молока – овец и коз благополучных по бруцеллезу хозяйств (615 проб), не реагирующих в РНГА, РА и РСК с сывороткой крови, во всех случаях получены отрицательные результаты, т.е. неспецифические реакции не получены.

Результаты испытания РНГА с молоком – овец и коз неблагополучных по бруцеллезу хозяйств (443 пробы) приведены в таблице 18.

Таблица 18 – Результаты испытания РНГА для исследования молока овец и коз неблагополучных по бруцеллезу хозяйств

Исследовано овец и коз	Реагировали положительно в			
	РНГА с молоком	КР с молоком	РНГА с сывороткой крови	РА+РСК
443	32	12	32	25
100%	7,2%	2,7%	7,2%	5,6%

Как видно из приведенных в таблице 18 данных, дополнительно к КР с молоком, РНГА с молоком выявила 16 больных бруцеллезом овец и коз, что составляет 4,5% к числу исследованных животных.

Высокая чувствительность РНГА с молоком была установлена также при исследовании молока от абортировавших на почве бруцеллеза 8 коз и 3 овцематок.

В результате проведенных исследований было установлено, что инфицированные бруцеллезом овцы и козы с положительными или сомнительными показаниями РНГА с сывороткой крови во всех случаях реагировали в РНГА с молоком в титрах 1:16 и выше, с оценкой в четыре или три креста, тогда как у 5 животных результаты КР с молоком были отрицательными, 3-х положительно реагировавших по КР с молоком – не образовалось синее кольцо и агглютинат в виде зонтика выпадал на дно пробирок. РНГА с молоком позволила установить диагноз на бруцеллез, дополнительно к РА и РСК, у 6-ти из 11 абортировавших овец и коз, дополнительно к КР с молоком – 3 коз и 2 овцематок.

Проведенными исследованиями установлена более высокая чувствительность РНГА с молоком, по сравнению с КР с молоком, РА и РСК с сывороткой крови и целесообразность применения – для выявления бруцеллеза у абортировавших животных в более ранний период после инфицирования – бруцеллами.

Интересные данные были получены при 3-х кратном исследовании в РНГА молока, в сравнении с КР с молоком, РНГА, РА и РСК с сывороткой крови от 3-х коз, принадлежащих частным владельцам, проживающим в одном дачном обществе г. Махачкалы.

При первом исследовании сывороток крови и молока от 2-х коз по всем реакциям были получены отрицательные результаты, третья коза реагировала только в РНГА с молоком в титре 1:8, с оценкой в три креста, при отрицательных результатах РНГА с сывороткой крови и КР с молоком.

При повторном исследовании, проведенном спустя 4 месяца и 5 дней, титр гемагглютининов в молоке у одной козы, ранее реагировавшей в РНГА в разведении молока 1:8 +++, повысился до 1:64 +++, у остальных двух коз сохранились отрицательные результаты РНГА с молоком и сывороткой крови, при отрицательных показаниях КР с молоком и других серологических реакций.

Хозяину коз было предложено по прошествии месяца от всех 3-х коз повторно брать для исследования молоко из обеих долей вымени. Результаты исследования молока этих коз в РНГА приведены в таблице 19.

Таблица 19 – Результаты повторного исследования молока 3-х коз в РНГА с молоком, в сравнении с КР с молоком и РНГА с сывороткой крови

№ п/п	Молоко	РНГА с молоком							КР с молоком	РНГА с сыв. крови	ПЦР с мол.
		1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128			
1.	Правая доля	#	#	#	#	#	#	+	отр.	отр.	пол.
	Левая доля	-	-	-	-	-	-	-	отр.		
2.	Правая	#	#	#	#	#	#	+	отр.	отр.	пол.
	Левая	+++	++	-	-	-	-	-	отр.		
3.	Правая	++	+	-	-	-	-	-	отр.	отр.	отр.
	Левая	++	+	-	-	-	-	-	отр.		

При третьем исследовании было установлено, что у положительно реагировавшей в РНГА с молоком (в титре 1:64) козы (№ 1) гемагглютинины в диагностическом титре содержались только в молоке из правой доли, при отрицательных результатах КР с молоком и РНГА с сывороткой крови.

Положительная РНГА с молоком появилась и у второй козы (№ 2) в титре 1:64, что свидетельствует о заражении – бруцеллезом, несмотря на то, что КР с молоком, РНГА и другие серологические реакции были отрицательными. Причем, у этой козы положительная РНГА установлена с молоком только одной (правой) доли, тогда как с молоком из другой доли РНГА была в титре 1:2.

При исследовании проб молока от этих коз в полимеразной цепной реакции (ПЦР) и антительным эритроцитарным бруцеллезным диагностикумом для РНГА, разработанным Прикаспийским ЗНИВИ, с молоком от обеих положительно реагировавших в РНГА коз получены

положительные результаты. Результаты ПЦР и РНГА с антительным диагностикумом с молоком третьей козы, не реагирующей в РНГА с молоком, были отрицательными. Наряду с пробами молока этих коз исследованию были подвергнуты также молоко и кровь от двух коз, принадлежащих другому хозяину, проживающему на том же дачном участке. Исследования проводились в связи с тем, что эти козы при пастьбе имели контакт с козами, зараженными бруцеллезом. При этом получены следующие результаты:

	Разведение молока			
	1:2	1:4	1:8	1:16
РНГА с молоком из правой доли вымени	#	#	+++	+
РНГА с молоком из левой доли вымени	+++	+++	++	+

При третьем исследовании молока этой козы, проведенном через один месяц после предыдущего исследования, титры РНГА повысились на одно разведение (2 раза):

Результаты РНГА с молоком					
	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32
из правой доли вымени	#	#	#	+++	++
из левой доли вымени	#	#	+++	+	-

С молоком из правой доли вымени получен также положительный результат РНГА с антительным диагностикумом и ПЦР.

Результаты КР с молоком, РА и РСК с сывороткой крови у данной козы были отрицательными. При повторном исследовании в РНГА с сывороткой крови у этой козы получена сомнительная реакция:

РНГА с сывороткой крови

1:25	1:50	1:100	1:200
+++	+	-	-

Проведенные исследования показали, что в начальный период после заражения бруцеллезом РНГА с молоком является наиболее чувствительной диагностической реакцией. Затем по мере развития инфекции титр гемагглютининов в молоке повышается.

При исследовании в ПЦР и РНГА с антительным диагностикумом молока у обеих коз была подтверждена бруцеллезная инфекция, что свидетельствует о достоверности показаний РНГА с молоком при бруцеллезе и более высокой чувствительности, по сравнению с другими серологическими реакциями.

Наряду с этим, было подвергнуто исследованию в РНГА молоко от 2х коз, принадлежащих частным владельцам из города Хасавюрт и сел. Новый Параул, реагирующих положительно в РНГА с сывороткой крови. В обоих случаях с молоком этих коз получена положительная РНГА.

При этом выяснено, что владельцы животных (4 человека), употреблявшие козье молоко, заболели бруцеллезом в острой форме.

В молоке обеих коз при исследовании в РНГА с антительным диагностикумом, разработанным Прикаспийским ЗНИВИ и ПЦР был выявлен бруцеллезный антиген, что подтверждает эпизоотическую и эпидемиологическую опасность коз, реагирующих в РНГА с молоком, для людей и животных, которые по нашему предложению были прирезаны хозяевами.

Проведенные исследования показали, что при диагностике бруцеллеза у коз, РНГА с применением изготовленного нами эритроцитарного диагностикума для исследования молока имеет преимущество перед РНГА, РА, РСК с сывороткой крови и другими серологическими реакциями.

Аналогичные результаты, свидетельствующие о более высокой чувствительности РНГА с молоком, были получены и при исследовании молока и сывороток крови 18 овцематок из неблагополучной по бруцеллезу

отары, принадлежащих подсобному хозяйству Духовного управления мусульман РД (таблица 20).

Таблица 20 – Результаты испытания РНГА с молоком овцематок для диагностики бруцеллеза

№	Молоко		Сыворотка крови		
	РНГА	Кольцевая реакция	РНГА	РА	РСК
1.	1:8 +++	-	1:100 +++	-	-
2.	1:16 #	полож.	1:100 +++	-	-
3.	1:4 +++	-	1:100 +++	-	-
4.	1:64 #	-	1:200 #	-	-
5.	1:16 +++	сомн.	1:100 +++	-	1:10++
6.	1:4 +++	-	-	-	-
7.	1:16 +++	сомн.	1:200 #	-	-
8.	1:32 +++	-	1:50 +++	-	-
9.	1:64 +++	полож.	1:200 +++	-	-
10.	1:4 +++	-	1:200 +++	-	-
11.	1:8 +++	-	1:200 +++	-	-
12.	-	-	1:50 +++	-	-
13.	-	-	1:25 #	-	-
14.	1:128 #	полож.	1:200 +++	-	-
15.	-	-	-	-	-
16.	-	-	1:25 +++	-	-
17.	-	-	-	-	-
18.	1:4 +++	полож.	1:25 +++	-	-

Таким образом, при испытании РНГА для исследования молока у овец и коз установлена более высокая чувствительность, по сравнению с КР с молоком, РА и РСК с сывороткой крови и прямая корреляция результатов

этой реакции с показаниями РНГА с сывороткой крови, что свидетельствует о достоверности показаний и пригодности для исследования лактирующих овцематок на бруцеллез в качестве экспресс-метода диагностики.



### 3. ВЫВОДЫ

1. Анализ имеющихся литературных источников по изучению особенностей течения бруцеллеза овец и коз, разработке и испытанию различных методов диагностики свидетельствует о необходимости изыскания для исследования на бруцеллез животных данного вида эффективных методов и средств диагностики и целесообразность испытания для этой цели реакции непрямой гемагглютинации (РНГА) с применением высокоактивного эритроцитарного диагностикума.

2. Разработан новый способ изготовления специфичного и высокочувствительного бруцеллезного эритроцитарного диагностикума для РНГА, с применением в качестве детергентов поверхностно-активного средства «Прогресс» производства ООО «АМС Медиа» (г. Лосино-Петровский Московской области), в сочетании с поверхностно-активным препаратом – додецилсульфатом натрия. На способ изготовления диагностикума получен патент на изобретение (RU 2667121).

3. Экспериментально доказано что новый способ позволяет изготовить такой же высокоактивный, специфичный, стандартный и стабильный бруцеллезный эритроцитарный диагностикум для РНГА, получаемого по известному способу предложенному Прикаспийским зональным НИВИ, ВГНКИ и ВНИИБТЖ, имеющий такой же титр (1:1600 с оценкой в четыре или три креста) со стандартным образцом сыворотки антибруцелла абортус.

Оба диагностикума были равноценны по диагностической эффективности и выявляли в неблагополучном по бруцеллезу стаде одинаковое количество больных бруцеллезом овец и коз.

4. На большом фактическом материале установлено, что РНГА с применением нового диагностикума является наиболее эффективным диагностическим тестом, по сравнению с применяемыми в практике методами серологической диагностики бруцеллеза (РА, РСК, РБП, РИД),

заслуживающим широкого применения в качестве самостоятельного метода диагностики для исследования сывороток крови овец и коз на бруцеллез в системе профилактических и оздоровительных противобруцеллезных мероприятий и пригодным для массовых исследований животных с целью осуществления эпизоотического контроля за благополучием отар по бруцеллезу.

5. В результате сравнительных исследований на бруцеллез сывороток крови овец и коз разными диагностическими тестами доказано, что РНГА практически во всех случаях полностью поглощает показания РА, РСК, РБП и РИД, в связи с чем одна эта реакция может заменить все широко применяемые для диагностики бруцеллеза серологические методы.

6. Установлено большое преимущество РНГА с применением сконструированного нами нового эритроцитарного диагностикума, которое заключается в том, что она выявляет зараженных бруцеллезом овец и коз в более ранние сроки, чем РА, РСК и РБП, после инфицирования *V. melitensis*, что имеет важное практическое значение.

7. Предложен новый экспресс-метод диагностики бруцеллеза у лактирующих овце-, козематок с применением РНГА со сконструированным нами эритроцитарным диагностикумом для исследования овечьего и козьего молока. Установлена специфичность и более высокая чувствительность его по сравнению с КР с молоком и широко применяемыми в практике традиционными серологическими реакциями (РА, РСК с сывороткой крови) при диагностике бруцеллеза.

8. Определены диагностические титры РНГА с молоком овец и коз, с использованием для постановки этой реакции нового бруцеллезного эритроцитарного диагностикума.

Доказано, что наличие титра РНГА в разведениях молока 1:8 и выше, с оценкой в четыре или три креста, является достоверным показателем бруцеллезной инфекции у овце-, козематок. РНГА с оценкой в четыре или

три креста с цельным молоком и разведениями молока – 1:2-1:4 следует считать сомнительным результатом.

9. РНГА с молоком с использованием нового эритроцитарного диагностикума выявляет больных бруцеллезом овец и коз в более ранние сроки после заражения, чем кольцевая реакция с молоком (КР) и РА и РСК с сывороткой крови, что дает основание рекомендовать применение её для исследования абортировавших и свежеинфицированных маток и контроля благополучия отар по бруцеллезу.

#### 4. ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

Результаты наших исследований дают основание широко применять разработанный нами эритроцитарный диагностикум для массового исследования овец и коз в РНГА в качестве самостоятельного экспресс – метода диагностики бруцеллеза, в системе профилактических и оздоровительных противобруцеллезных мероприятий и для эпизоотического контроля благополучия овцеводческих хозяйств по этой болезни.

Результаты испытания РНГА с молоком для диагностики бруцеллеза у лактирующих овец и коз, дают основание рекомендовать применение этой реакции для раннего выявления инфицированных бруцеллезом овец и коз и при осуществлении контроля за благополучием хозяйств по бруцеллезу.

Предложен «Способ получения бруцеллезного эритроцитарного диагностикума для реакции непрямой гемагглютинации» (патент на изобретение № 2667121 от 31.10.2016 г.).

Результаты испытания диагностикума для исследования овец и коз на бруцеллез в РНГА вошли в:

- «Ветеринарные правила осуществления профилактических, диагностических, ограничительных и иных мероприятий, установления и отмены карантина и иных ограничений, направленных на предотвращение распространения и ликвидацию очагов бруцеллеза (включая инфекционный эпидидимит баранов)», утвержденные приказом министерства сельского хозяйства РФ № 533, 08.09.2020 г.;

- методические рекомендации «Диагностика бруцеллеза овец и коз с применением реакции непрямой гемагглютинации (РНГА)», утвержденные Ученым советом Прикаспийского зонального НИВИ – филиал ФГБНУ «ФАНЦ РД» 31.07.2019 г.;

- методические рекомендации «Применение РНГА с усовершенствованным антигеном в «Наборе для серологической диагностики

бруцеллеза крупного и мелкого рогатого скота в РНГА», утвержденные  
Управлением ветеринарии Ростовской области 08.04.2020 г.

## 5 СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абдулатипов А.А. Изучение диагностической ценности реакции иммунофлюоресценции при бруцеллезе животных / А.А. Абдулатипов // Автореферат дисс... канд... вет... наук. – Алма – Ата. – 1983. – 21 С.
2. Авилов В.М. Эпизоотический процесс бруцеллеза крупного рогатого скота и перспективы девакации возбудителя этой инфекции / В.М. Авилов, С.И. Джупина, С.К. Салмаков // Ветеринарный врач. - 2012. - № 5. – С. 2 – 4.
3. Аливердиев А.А. Проблема бруцеллеза в Дагестане / А.А. Аливердиев // Монография. – Махачкала. – 1963. – 192 С.
4. Алиев Э.А. РНГА при диагностике бруцеллеза буйволов и крупного рогатого скота / Э.А. Алиев // Сб. науч. тр. АЗНИВИ. – Баку. – 1984. – С. 12 – 17.
5. Агольцов В.А. Бруцеллез / В.А. Агольцов, О.М. Попова, С.Ю. Веселовский, А.А. Частов // Учебные пособия для студентов высших аграрных учебных заведений, обучающихся по специальности и направлениям подготовки «Ветеринария» и «Зоотехния», Саратов. - 2018. – 182 с.
6. Альбертян М.П. Иммунобиологические свойства бруцеллезного антиген полимерного конъюгата / М.П. Альбертян, М.И. Искандаров, А.И. Федоров // Ветеринарная патология. - 2004. - №4. – С. 36 – 46.
7. Аракелян П.К. Значение РИД при диагностике бруцеллеза овец / П.К. Аракелян, И.А. Косилов, С.К. Димов и др. // Ветеринария. - 2004. - №8. – С. 20 – 24.
8. Аракелян П.К. Усовершенствование диагностики бруцеллеза овец / П.К. Аракелян, К.С. Димов, С.К. Димов, О.В. Бондарева // В Сб. «Состояние и перспект. развития производства вет. препаратов». Спец. вып. Мат. 3 международ. конф. - 2006. – С. 124 – 126.

9. Аракелян П.К. Эффективность различных О – ПС антигенов в РИД при бруцеллезе / П.К. Аракелян, О.В. Бондарева, Е.Б. Барабанова, С.К. Димов // Ветеринария. - 2011. - №7. – С. 21 – 24.

10. Аракелян П.К. РНГА в массовой экспресс – диагностике бруцеллеза мелкого рогатого скота / П.К. Аракелян, О.В. Бондарева, Е.Б. Барабанова, Е.Г. Бондарев и др. // Ветеринария. – 2011. - №11. – С. 26 – 30.

11. Аракелян П.К. Система контроля эпизоотического процесса бруцеллеза мелкого рогатого скота / П.К. Аракелян, С.К. Димов, В.Г. Ощепков, А.С. Донченко // Ветеринария. - 2008. - №2. – С. 20 – 22.

12. Аракелян П.К. Современные проблемы контроля эпизоотического процесса бруцеллеза мелкого рогатого скота / П.К. Аракелян, В.Г. Ощепков, С.К. Димов, А.С. Донченко // Ветеринарный врач. - 2010. - №6. – С. 22 – 25.

13. Аракелян П.К. Показания РИД с О – ПС антигеном после иммунизации овец против бруцеллеза / Аракелян П.К., Косилов И.А., Барабанова Е.Б., Морозова Н.А., // Ветеринария. – 2000. - № 1. – С.29 – 30.

14. Аракелян П.К. РИД с О – ПС антигеном из *B. melitensis* для диагностики бруцеллеза у овец / П.К. Аракелян, И.А. Косилов, К.С. Димов, В.М. Чекишев, О.В. Бондарева // Ветеринария. – 2007. - № 3. – С. 23 – 25.

15. Аракелян П.К. Оценка активности очагов бруцеллеза мелкого рогатого скота с помощью РИД / П.К. Аракелян, О.В. Бондарева, С.К. Димов, А.С. Димова, К.С. Димов, В.М. Чекишев // Ветеринария. – 2013. - № 2. – С. 19 – 20.

16. Аракелян П.К. Оптимизация мероприятий при бруцеллезе сельскохозяйственных животных в современных условиях / П.К. Аракелян, С.К. Димов // Ветеринария. – 2013. - № 4. – С.23 – 27.

17. Баландин Г.А. Ранняя диагностика бруцеллеза у сельскохозяйственных животных – основа успешной борьбы с этой инфекцией среди животных и людей / Г.А. Баландин, А.Д. Тришина // Бруцеллез с.-х. животных Тр. 34 плен. вет. секции: сельхозгиз. – 1955. – С. 114 – 119.

18. Бельченко В.Б. РНГА для диагностики бруцеллеза телят / В.Б. Бельченко, Н.П. Иванов // Ветеринария. - № 1. - 1973. - С. 109 – 112.
19. Бондарев Е.Г. Сравнительное изучение диагностической эффективности О – ПС антигенов, изготовленных из штаммов различных видов бруцелл, в РИД при бруцеллезе животных / Е. Г. Бондарев // Диссертация к.в.н. Омск. – 2017. – 139 с.
20. Вершилова П.А. Обобщенные материалы по изучению бруцелл, выделенных в Советском Союзе / П.А. Вершилова, Е.И. Кайтмазова, Н.Н. Островская, Д.Е. Кудрина // Микроб. – 1967. – № 7. – 82 С.
21. Вершилова П.А. Диагностическая оценка реакции непрямой гемагглютинации при бруцеллезе / П.А. Вершилова, М.И. Чернышева, Р.Г. Асланян // Бюлл. ВИЭВ. – Выпуск 11. – Москва. – 1971. – С. 29 – 32.
22. Вершилова П.А. Диагностическая оценка реакции непрямой гемагглютинации при бруцеллезе / П.А. Вершилова, М.И. Чернышева, Р.Г. Асланян // Бюлл. ВИЭВ. – Выпуск 10. – 1971. – С. 18 – 22.
23. Вершилова П.А. Характеристика иммуноглобулинов при бруцеллезной инфекции и вакцинации / П.А. Вершилова, М.И. Чернышева, Э.Н. Князева // Микробиология. – 1970. – № 4. – С. 100 – 105.
24. Вершилова П.А. Бруцеллез / А.А. Голубева, Е.И. Кайтмазова, Н.И. Островская, Ш.Х. Ходжаев, М.И. Чернышева // Монография. – М. – 1972. – 440 С.
25. Вершилова П.А. Патогенез и иммунология бруцеллеза / П.А. Вершилова, М.И. Чернышова, Э.Н. Князева // М. – Медицина. – 1974. – 272 С.
26. Вышелесский С.Н. Научная оценка современных мер борьбы с бруцеллезом с.-х. животных / С.Н. Вышелесский // Бруцеллез сельскохозяйственных животных. – М. – 1955. – С. 5 – 17.
27. Вышелесский С.Н. Частная эпизоотология / С.Н. Вышелесский // М. – «Колос». – 1954. – 624 С.



28. Гордиенко Л.Н. Роль сибирских ученых в разработке и совершенствовании стратегии борьбы с бруцеллезом животных / Л.Н. Гордиенко, П.К. Аракелян, Т.А. Янченко, Г.В. Разницына и др. // Ветеринария и кормление. – 2016. – № 2. – С. 34 – 37.

29. Гулюкин М.И. Бруцеллез сельскохозяйственных животных в РФ / М.И. Гулюкин, М.П. Альбертян, М.И. Искандаров, А.И. Федоров, С.А. Коломыцев // Ветеринария. – 2013. – № 6. – С. 23 – 28.

30. Гулюкин М.И. Эффективность мероприятий против бруцеллеза сельскохозяйственных животных / М.И. Гулюкин, А.Д. Забережный, М.И. Искандаров и др. // Ветеринария. – 2019. – № 11. – С. 20 – 24.

31. Девришев Д.А. Результаты эпизоотического анализа по бруцеллезу животных / Д.А. Девришев, А.А. Янышев // Ветеринария. – 2007. - № 6. С. 12 – 13.

32. Дегтяренко Л.В. Диагностическое значение РНГА при обнаружении бруцеллезных антител в молоке крупного рогатого скота / Л.В. Дегтяренко, Г.В. Разницына, П.К. Аракелян // Бруцеллез с.-х. животных: Сб. науч. тр. / Со ВАСХНИЛ, ВНИИБТЖ. – Омск. – 1989. – С. 45 – 52.

33. Дегтяренко Л.В. РНГА с молоком для диагностики бруцеллеза у коров / Л.В. Дегтяренко, Г.В. Разницына, П.К. Аракелян // Пути соверш. проф. и диагн. бруц. с.-х. животных: Сб. науч. тр. / Со ВАСХНИЛ, ВНИИБТЖ. – Омск. – 1990. – С. 42 – 49.

34. Дегтяренко Л.В. Совершенствование существующих и разработка новых средств, методов диагностики бруцеллеза животных и инфекционного эпидидимита баранов: диссертация д-ра. ветеринар. наук: 16.00.03 / Л.В. Дегтяренко. – Новосибирск. – 2005. – 464 С.

35. Дегтяренко Л.В. Сравнительная оценка диагностической эффективности серологических тестов при бруцеллезе животных / Л.В. Дегтяренко, М.Ю. Карлова, Г.В. Разницына // В сборнике: Актуальные проблемы инфекционных и незаразных патологий животных. – Сборник материалов Международной научно-практической конференции,

посвященной памяти выдающегося организатора Сибирской ветеринарной науки А.В. Копырина. – 2010. – С. 64 – 68.

36. Дегтяренко Л.В. Способ получения бруцеллезного антигена для роз-бенгал пробы (РБП) / Л.В. Дегтяренко, И.Н. Каликин, О.Д. Складов // Патент на изобретение RU 2488119 С2, 20.07.2013. - Заявка № 2011140308/10 от 04.10.2011.

37. Дегтяренко Л.В. Результаты испытания дифференциальных экспресс-тестов с молоком при диагностике бруцеллеза крупного рогатого скота / Л. В. Дегтяренко, И.Н. Каликин // В сборнике: научные проблемы и современные тенденции развития отечественного животноводства в условиях ВТО. - Материалы Всероссийской научно-практической конференции. Редакционная коллегия: А.И. Клименко (главный редактор), А.В. Коваленко (заместитель главного редактора и ответственный за выпуск), Т.И. Лапина. - 2013. - С. 18 – 23.

38. Дегтяренко Л.В. Диагностическая ценность экспресс-тестов с молоком при бруцеллезе крупного рогатого скота / Л.В. Дегтяренко, И.Н. Каликин // Ветеринарная медицина. – 2013. - №. 97. - С. 28 – 29.

39. Дегтяренко Л.В. Испытание РНГА с молоком при дифференциальной поствакцинальной диагностике бруцеллеза крупного рогатого скота / Л.В. Дегтяренко, М.Ю. Карлова, О.Д. Складов, Н.Ф. Хатько // Достижения науки и техники АПК. – 2011. - № 9. – С. 64 – 67.

40. Джамбулатов З.М. Результаты широкого производственного испытания РНГА для диагностики бруцеллеза крупного рогатого скота и овец в Дагестане / З.М. Джамбулатов, Н.И. Магомаев, Н.Т. Карсаков и др. // Тезисы докладов республиканской научно – практической конференции посвященной 100 – летию со дня рождения заслуженного деятеля науки РД, д.в.н., профессора В.В. Спасского: Актуальные проблемы ветеринарной медицины. – Махачкала. – 2002. – С. 44 – 46.

41. Димова А.С. Экспресс – метод массовой диагностики бруцеллеза животных на основе иммуноферментного анализа / А.С. Димова, А.А. Сизов,

С.К. Димов, Г.М. Стеблева, Н.И. Куренская, Д.А. Сизов, Д.Н. Мельников, П.К. Аракелян и др. // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. – 2014. – № 4 (239). – С. 84 – 90.

42. Димова А.С. Эффективность диагностики бруцеллеза крупного рогатого скота в новой тест – системе ИФА / А.С. Димова, С.К. Димов, А.А. Сизов, Д.А. Сизов // Ветеринария. – 2015. – № 8. – С. 18 – 20.

43. Димова А.С. Эффективность тест – системы ИФА – IDEXX для серологической диагностики бруцеллеза в не вакцинированных против данной инфекции стадах / А.С. Димова, Д.А. Сизов, А.В. Машнин, В.И. Воробьев // Ветеринария. – 2017. – № 10. – С. 14 – 17.

44. Желудков М.М. ПЦР в диагностике бруцеллеза / М.М. Желудков, Ю.Н. Кулаков, Н.В. Алексеева, Т.А. Голмачева // Клиническая лабораторная диагностика. – 2005. – № 9. – С. 58 – 59.

45. Жованник П.Н. Бруцеллез / П.Н. Жованник, А.В. Демченко, Г.К. Божко, А.С. Коротич // Монография. – изд. «Урожай». – 1975. – 224 С.

46. Здродовский П.Ф. Бруцеллез сельскохозяйственных животных / П.Ф. Здродовский // Изд. АМН СССР. – 1972. – 210 С.

47. Зарубкинский В.С. Сравнительная оценка методов диагностики у овец / В.С. Зарубкинский // Бруцеллез сельскохозяйственных животных. Работы 12 пленума ветеринарной секции. – Сельхозгид. – 1940. – С. 75 – 94.

48. Ильин Б.С. Изучение реакции агглютинации со свежей каплей крови для диагностики бруцеллеза овец / Б.С. Ильин // Бруцеллез сельскохозяйственных животных: Труды 34 пленума ветеринарной секции. – Сельхозгид. – 1955. – С. 81 – 85.

49. Искандаров М.И. Профилактика бруцеллеза мелкого рогатого скота / М.И. Искандаров, М.П. Альбертян, А.И. Федоров // Ветеринария и кормление. – 2011. - № 2. – С. 20 – 22.

50. Иванов М.М. Испытание Роз – бенгал антигена при диагностике бруцеллеза у животных / М.М. Иванов, Т.И. Малахова и др. // Ветеринария. – 1976. - № 9. – С. 87 – 89.

51. Иванов Н.П. Способ получения бруцеллезного эритроцитарного диагностикума / Н.П. Иванов, В.Б. Бельченко // Авторское свидетельство № 7848879. – 1980.

52. Кабардиев С.Ш. Научные достижения и основные результаты исследований Прикаспийского зонального НИВИ по проблеме бруцеллеза / С.Ш. Кабардиев, О.Ю. Юсупов // Ветеринария и кормление. – 2018. – № 2. – С. 47 – 50.

53. Касымов Т.К. Изучение кольцевой реакции с молоком при бруцеллезе овец и коз / Т.К. Касымов, З. Кельдибекова, Ж.Б. Касымбеков, В.И. Ким // Сб. научных статей, посвящ. 120 – летию со дня рождения К.И. Скрябина. – Бишкек. – 1999. – С. 225 – 228.

54. Касьянов А.Н. Аллергический метод диагностики бруцеллеза сельскохозяйственных животных / А.Н. Касьянов // Труды ВИЭВ. – 1979. – Т. 49. – С. 114 – 122.

55. Касьянов А.Н. Аллергическая и серологическая диагностика и профилактика бруцеллеза животных / А.Н. Касьянов // Дисс. на соиск. уч. ст. доктора вет. наук в форме науч. докл. – Москва. – 1987. – 41 С.

56. Карлова М.Ю. Разработка S- и R-бруцеллезных эритроцитарных диагностикумов, изучение их эффективности при бруцеллезе животных / М.Ю. Карлова // Автореф. дисс... к.в.н. – Новосибирск. – 2010. – 19 С.

57. Косилов И.А. Бруцеллез сельскохозяйственных животных / И.А. Косилов, П.К. Аракелян, С.К. Димов, А.Г. Хлыстунов // Монография. – Новосибирск. – 1999. – 344 С.

58. Косилов И.А. Оптимизация противобруцеллезных мероприятий при бруцеллезе мелкого рогатого скота / И.А. Косилов, П.К. Аракелян // Ветеринария. – 2001. – № 6. – С. 12 – 15.

59. Котлярова Х.С. Бруцеллез / Х.С. Котлярова // М. Медгиз. – 1947. – 232 С.

60. Котлярова Х.С. Серодиагностика бруцеллеза у овец при естественном и экспериментальном заражении / Х.С. Котлярова // Труды экспедиции ВИЭМ. – 1971. – № 10. – С.5 – 12

61. Красов В.М. Применение бруцеллогидролизата для диагностики бруцеллеза / В.М. Красов // Бруцеллез сельскохозяйственных животных: Работы пленума ветеринарной секции. – Сельхозгид. – 1940. – С. 37 – 42.

62. Куренская Н.И. Роль рациональных схем специфической профилактики и поствакцинальной диагностики в системе противобруцеллезных мероприятий у крупного рогатого скота / Н.И. Куренская // Автореф. дис... канд. вет. наук. – Барнаул. – 1998. - 25 С.

63. Лазарев Н.П. Кольцевая реакция с молоком и с сывороткой крови для диагностики бруцеллеза / Н.П. Лазарев // Ветеринария. – 1968. - № 4. – С. 98 – 99.

64. Малышева Л.А. Прямой метод иммунофлюоресценции при бруцеллезе сельскохозяйственных животных / Л.А. Малышева // Автореф. дисс... к.в.н. – Тбилиси. – 1977. – 25 С.

65. Малышева Л.А. Прямой метод иммунофлюоресценции для диагностики сельскохозяйственных животных / Л.А. Малышева // Утв. НТС Ростовского облисполкома. – Новочеркасск. – 1979. – 3 С.

66. Мирзоев Д.М. Диагностика бруцеллеза мелкого рогатого скота / Д.М. Мирзоев, С.А. Расулов // Доклады Таджикской академии сельскохозяйственных наук. – 2012. – № 2 (32). – С. 58 – 60.

67. Мицаев Ш.Ш. О диагностике инфекционных заболеваний животных / Ш.Ш. Мицаев // Вестник ветеринарии. – 2004. – № 4 (31). – С. 22 – 39.

68. Морозова Н.А. Значение РИД с О – Полисахаридным антигеном при поствакцинальной диагностике бруцеллеза / Н.А. Морозова // Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук. – Институт экспериментальной ветеринарии Сибири и Дальнего Востока Со РАСХН. – Новосибирск. – 2002. – 21 с.

69. Морякова О.И. Кольцевая реакция с молоком для диагностики бруцеллеза у коров / О.И. Морякова // Труды ВИЭВ вып. 24. – 1961. – С. 124.

70. Морякова О.И. Серологические реакции при диагностике бруцеллеза у овец / О.И. Морякова // Бруцеллез сельскохозяйственных животных: Работы 12 пленума ветеринарной секции. Сельхозгиз. – 1940. – С. 113 – 116.

71. Мурзалиев И. Бруцеллез овец. Как не допустить инфекции / И. Мурзалиев // Белорусское сельское хозяйство. – 2018. – № 3. – С. 54 – 55.

73. Наставление по диагностике бруцеллеза животных / Утв. МСХ РФ 2003 г. – М. – 2004. – 62 С.

74. Нурлыгаянова Г.А. Диагностическая ценность и разрешающая способность иммунодиффузии в агаровом геле (РИД) при бруцеллезе крупного рогатого скота / Г.А. Нурлыгаянова // Ветеринарная патология. – 2013. – № 2 (44). – С. 27 – 30.

75. Нурлыгаянова Г.А. Многолетняя динамика заболеваемости и специфическая иммунопрофилактика бруцеллеза крупного рогатого скота в Карачаево Черкесской Республике / Г.А. Нурлыгаянова // Ветеринарная патология. – 2013. – № 2 (44). – С. 97 – 100.

77. Орлов Е.С. Диагностика и специфическая профилактика бруцеллеза в СССР / Е.С. Орлов // Бюлл. ВИЭВ. – 1971. – № 10. – С. 5 – 12.

78. Орлов Е.С. Бруцеллез / Е.С. Орлов // Книга «Болезни овец». – М. – 1963. – С. 52 – 72.

79. Орлов Е.С. Опыт оздоровления бруцеллезного овцесовхоза / Е.С. Орлов // Бруцеллез сельскохозяйственных животных: Работа 12 пленума ветеринарной секции. – Сельхозгиз. – 1940. – С. 212 – 213.

80. Орлов Е.С. Бактериологические и иммунологические исследования овец в бруцеллезном стаде / Е.С. Орлов // Бруцеллез сельскохозяйственных животных: Работа 12 пленума ветеринарной секции. Сельхозгиз. – 1940 – С. 144 – 158.

81. Орлов Е.С. Бруцеллез овец / Е.С. Орлов // Дисс.... доктора ветеринарных наук. – ВИЭВ. – М. – 1954. – 375 с.

82. Орлов Е.С. Показания серологических реакций и бактериологических исследований животных, зараженных культурами бруцелл различной вирулентности / Е.С. Орлов, К.В. Шумилов // Бюлл. ВИЭВ. – Выпуск 10. – 1971. – С. 173 – 175.

83. Ощепков В.Г. Система усовершенствованной диагностики и профилактики бруцеллеза овец и коз / В.Г. Ощепков, П.К. Аракелян, В.М. Чекишев, О.В. Бондарева // Актуальные проблемы инновационного развития ветеринарной науки и практики: Сборник трудов, посвященный 105 – летию института. – Алматы. – 2010. – С. 269 – 273.

84. Ощепков В.Г. L – Трансформация бруцелл – значение в эпизоотическом процессе и эволюция рода *Brucella* / В.Г. Ощепков, Л.Н. Гордиенко // Ветеринарная патология. – 2004. – № 4. – С. 36 – 46.

85. Плотникова Э.М. Диагностика бруцеллеза методом иммуноферментного анализа / Э.М. Плотникова // Ветеринарный врач. – 2009. – № 5. – С.30 – 33

86. Расулов С.А. Преимущества применения полимеразной цепной реакции для диагностики бруцеллеза мелкого рогатого скота / С.А. Расулов, Д.М. Мирзоев, М.И. Искандаров, А.И. Федоров, С.С. Искандарова, И.В. Полякова, М. П. Альбертян // Ветеринария и кормление. – 2018. – № 1. – С. 24 – 25.

87. Расулов С.А. Диагностическая ценность современных и традиционных методов исследований при бруцеллезе мелкого рогатого скота / С.А. Расулов, М.И. Мирзоев, М.И. Искандаров [и др]. // Ветеринария и кормление. – 2017. – № 2. – С. 45 – 46.

88. Ромахов Б.Н. Испытание РНГА с эритроцитарным антигеном для диагностики бруцеллеза крупного рогатого скота и овец / Б.Н. Ромахов, Л.А. Малышева, В.П. Руденко // Ветеринарная патология. – 2008. – № 1. – С. 73 – 76.

89. Садыков С.Ж. Диагностическая эффективность реакции непрямой гемагглютинации (РГНА) и реакции нейтрализации антител (РНАт) при бруцеллезе / С.Ж. Садыков // Ветеринария. – 1975. - № 9. – С. 110 – 112.

90. Сакидибиров О.П. Опыт борьбы с бруцеллезом / О.П. Сакидибиров // Ветеринария. – 2003. – № 4. – С. 16 – 17.

91. Сакидибиров О.П. Бруцеллез крупного рогатого скота в Республике Дагестан / О.П. Сакидибиров // Автореферат диссертации кандидата ветеринарных наук. – Ставрополь. – 2006. – 23 с.

92. Сарминский Н.Е. Изготовление бруцеллезного антигена для РСК из инактивированных и высушенных бруцелл, проверка его активности и специфичности / Н.Е. Сарминский // Бруцеллез сельскохозяйственных животных. – Труды 34 пленума ветеринарной секции. – Сельхозгид. – 1955. – С. 106 – 110.

93. Сизов А.А. Эффективность использования О – ПС антигена в ИФА для дифференциальной экспресс – диагностики бруцеллеза крупного рогатого скота / А.А. Сизов, А.С. Димова, С.К. Димов, Д.А. Сизов, П.К. Аракелян, В.М. Чекишев // Ветеринария. – 2018. – № 1. – С. 9 – 14.

94. Скрашевская Е.И. Изучение специфичности и чувствительности РНГА и иммунофлюоресценции при серологической диагностике бруцеллеза крупного рогатого скота / Е.И. Скрашевская // Автореф. дисс... к.в.н. – М. – 1971. – 45 С.

95. Скляр О.Д. Пути решения проблем, обуславливающих актуальность бруцеллеза / О.Д. Скляр, А.И. Климанов, К.В. Шумилов, А.А. Зинова, Н.К. Букова, И.А. Логинов // Ветеринария. – 2011. – № 1. – С. 34 – 38.

96. Скляр О.Д. Экспресс – диагностика бруцеллеза методом ПЦР / О.Д. Скляр, С.Б. Яцышина, К.В. Шумилов, И.Л. Обухов, М.Б. Брюсова, Л.П. Мельниченко, В.В. Терещенко // Ветеринария. – 2004. – № 9. – С. 18 – 21.



97. Скляр О.Д. Бруцеллез животных в России и его специфическая профилактика / О.Д. Скляр, К.В. Шумилов // Сборник научных трудов ВГНКИ. – Москва. – 2005. – С. 150 – 182.

98. Тавамайшвили М.Е. Бруцеллез у коз и совершенствование серологической диагностики бруцеллеза животных / М.Е. Тавамайшвили // Автореф. дисс... докт. вет. наук. – М. – 1986. – 47 С.

99. Таран И.Ф. О перспективах использования РПГА для диагностики бруцеллеза сельскохозяйственных животных / И.Ф. Таран, Б.П. Цыбин, К.М. Евстариади // Ветеринария. – 1977. – № 3. – С. 12 – 15.

100. Тихомирова Е.А. Экспресс – метод обнаружения противобруцеллезных антител в сыворотке крови и молоке / Е.А. Тихомирова, В.П. Урбан, В.В. Сочнев // Тез. докл. науч. конференции. – Новосибирск. – 1989. – С. 127 – 128.

101. Триленко П.А. Испытание кольцевой реакции для диагностики бруцеллеза / П.А. Триленко // Ветеринария. – 1951. – № 8. – С. 59 – 61.

102. Триленко П.А. Особенности РА и КР при исследовании на бруцеллез сывороток крови и молока овец / П.А. Триленко // Ветеринария. – 1954. – № 3. – С. 34 – 38.

103. Триленко П.А. Опыт оздоровления отар от бруцеллеза / П.А. Триленко, В.Я. Фишбейн, Ф.Г. Баландин, А.С. Гуков, Т.В. Фоменко // Ветеринария. 1971. – № 11. – С. 54 – 55.

104. Триленко П.А. Бруцеллез сельскохозяйственных животных / П.А. Триленко // Л. «Колос». – 1976. – 280 С.

105. Уласевич П.С. Состояние и перспективы специфической профилактики бруцеллеза овец / П.С. Уласевич // Автореф. дис. ... доктора вет. наук. – М. – 1965. – 38 с.

106. Уласевич П.С. Серологическая диагностика бруцеллеза животных роз бенгал пробой / П.С. Уласевич, А.Н. Касьянов, Т.И. Малахова, А.И. Климанов // ГУВ МСХ СССР. – Листовка ВДНХ. – 1980. – 7 С.

107. Уласевич П.С. Результаты испытания роз бенгал пробы при диагностике бруцеллеза животных / П.С. Уласевич, А.Н. Касьянов, Т.И. Малахова, А.И. Климанов // Бюлл. ВИЭВ: Вып. 43. – 1981. – С. 42 – 46.

108. Хаиров С.Г. Влияние детергента – вторичного алкилсульфата натрия на *B.adortus* 19 / С.Г. Хаиров, А.А. Шахбанов // Сб. науч. работ ДагНИВИ. – Махачкала. – 1981. – Т. 12. – С. 16 – 19.

109. Хаиров С.Г. Способ получения антигена для реакции непрямой гемагглютинации / С.Г. Хаиров, О.Ю. Юсупов // А.С. № 8284454. – 1981.

110. Хаиров С.Г. Экспресс – метод диагностики бруцеллеза овец и коз в реакции непрямой гемагглютинации (РНГА) для исследования молока / С.Г. Хаиров, О.Ю. Юсупов, П.М. Кабахова, Э.А. Яникова, Г.М. Шехилалиева // Патент на изобретение. – RUS 2571560 – 21.05.2014.

111. Хаиров С.Г. Высокочувствительный и специфический метод диагностики бруцеллеза крупного рогатого скота и овец / С.Г. Хаиров, О.Ю. Юсупов // Проблемы ветеринарной медицины в условиях реформирования сельскохозяйственного материала. – Материалы юбилейной научно – практической конференции, посвященной 35 – летию ГУ Прикаспийского зонального научно – исследовательского ветеринарного института. – 2003. – С. 49 – 51.

112. Хаиров С.Г. РНГА при бруцеллезе овец и коз / С.Г. Хаиров, О.Ю. Юсупов // Вестник ветеринарии. – 2005. – № 4 (35). – С. 39 – 43.

113. Хаиров С.Г. Применение РНГА для диагностики бруцеллеза овец / С.Г. Хаиров // Материалы научно – производственной конференции. – Основы проблемы ветеринарии Северного Кавказа. – Махачкала. – 1976. – С. 25 – 27.

114. Хаиров С.Г. Результаты сравнительного испытания бруцеллезных антигенов в РСК / С.Г. Хаиров, О.Ю. Юсупов // Вестник ветеринарии. – 2006. – № 3 (38). – С. 40 – 43.

115. Хаиров С.Г. Новый эритроцитарный бруцеллезный диагностикум для РНГА / С.Г. Хаиров, О.Ю. Юсупов // Вестник ветеринарии. – 2008. – № 2 (45). – С. 22 – 30.

116. Хаиров С.Г. Методы стабилизации эритроцитов барана для РНГА / С.Г. Хаиров, О.Ю. Юсупов, Д.Г. Рамазанова, Ю.С. Салихов // Вестник ветеринарии. – 2010. – № 3 (54). – С. 53 – 57.

117. Хасанов Н.Х. Изучение свойств штаммов бруцелл, выделяемых от сельскохозяйственных животных и миграция *B.melitensis* на крупный рогатый скот в Таджикистане / Н.Х. Хасанов // Автореф. дисс... к.в.н. – М. – 1964. – 19 С.

118. Н.Е. Цветков Сравнительное значение реакции Райта и реакции связывания комплемента для борьбы с бруцеллезом / Н.Е. Цветков // Бруцеллез сельскохозяйственных животных. – Работы 12 пленума ветеринарной секции. – Сельхозгид. – 1940. – С. 55 – 63.

119. Цыбин Б.П. К вопросу производства эритроцитарных препаратов для диагностики бруцеллеза / Б.П. Цыбин, И.Ф. Таран, С.Г. Хаиров, К.М. Евстрафиади / Сб. науч. тр. ДагНИВИ. – Махачкала. – 1976. – Т. 8. – С. 15 – 18.

120. Чекишев В.М. Средства и методы дифференциальной поствакцинальной серологической диагностики бруцеллеза животных / В.М. Чекишев, О.А. Каманова // Монография. – Изд. Новосибирск. гос. аграр. университета. – 2010. – 130 с.

121. Чернышева М.И. Значение метода иммунофлюоресценции в диагностике бруцеллеза / М.И. Чернышева // Бюллетень ВИЭВ: Вып. 12. – Москва. – 1971. – С. 29 – 32.

122. Шумилов К.В. Результаты производственного испытания реакции непрямой гемагглютинации при диагностике бруцеллеза крупного и мелкого рогатого скота / К.В. Шумилов, А.И. Климанов, О.Ю. Юсупов, С.Г. Хаиров [и др.] // Сб. науч. тр. ФГБУ «ВГНКИ». – М. – 2005. – Т. 66. – С. 223 – 243.

123. Шумилов К.В. Реакция непрямой гемагглютинации при диагностике бруцеллеза крупного и мелкого рогатого скота / К.В. Шумилов, О.Д. Скляр, А.И. Климанов, С.Ш. Кабардиев, О.Ю. Юсупов, С.Г. Хаиров и др. // Ветеринария. – 2007. – № 11. – С. 47 – 48.

124. Юсковец М.К. Бруцеллез сельскохозяйственных животных / М.К. Юсковец // М. – 1960. – 696 С.

125. Юсупов О.Ю. Антиген для серологической диагностики бруцеллеза крупного рогатого скота и овец в РНГА / О.Ю. Юсупов, С.Г. Хаиров, П.М. Кабахова [и др.] // Основные пробл. и перспект. развития вет. мед. в обеспеч. животновод. Прикасп. рег. РФ. – Махачкала. – 2010. – С. 65 – 67.

126. Юсупов О.Ю. Эффективность РНГА при бруцеллезе крупного рогатого скота овец и коз / О.Ю. Юсупов, С.Г. Хаиров, С.Ш. Кабардиев, О.Д. Скляр, А.И. Климанов, В.Г. Ощепков, Л.В. Дегтяренко, Д.А. Девришов // Ветеринария. – 2015. – № 11. – С. 22 – 25.

127. Юсупов О.Ю. Диагностическое значение РНГА при бруцеллезе животных / О.Ю. Юсупов, С.Г. Хаиров, С.Ш. Кабардиев, О.Д. Скляр, А.И. Климанов и др. // Ветеринария. – 2012. – № 8. – С. 7 – 12.

128. Юсупов О.Ю. Способ получения бруцеллезного эритроцитарного диагностикума для РНГА / О.Ю. Юсупов, М.М. Микаилов, А.А. Халиков, Э.А. Яникова [и др.] // Патент на изобретение № 2016142827. – 2018.

129. Юсупов О.Ю. Диагностика бруцеллеза у лактирующих овец и коз с применением РНГА с молоком / О.Ю. Юсупов, М.М. Микаилов, А.А. Халиков, Э.А. Яникова [и др.] // Ветеринария и кормление. – 2019. – № 2. – С. 20 – 23.

130. Яникова Э.А. Экспресс – метод выявления противобруцеллезных антител в сыворотке крови и молока / Э.А. Яникова, О.Ю. Юсупов, П.М. Кабахова, [и др.] // Ветеринарный врач. – 2016. – № 5. – С. 16 – 20.

131. Abdoel T. Simple and rapid field test for brucellosis in livestock / T. Abdoel, H.L. Smits, I.T. Dias, R. Cardoso // *Vet. Microbiol.* – 2008. – V. 130. – № 3 – 4. – P. 312 – 319.
132. Acosta – Gonzalez R. Epidemiological patterns caprine brucellosis in an unvaccinated area, Mexico / R. Acosta – Gonzalez, F. Infante, G.H. Flores – Cutirrez // *Rev. med. Vet. (France)*. – 2010. – V. 160. – № 3. – P. 145 – 148.
133. Adone R. Combined S99/RB51 antigen for serological diagnosis of brucellosis in cattle and sheep / R. Adone, F. Ciuchini, C. Pistoia, P. Pasquali // *Jornal of applied microbiology*. – 2002. – V. 253. – № 3. – P. 263 – 275.
134. Alton G.G. The control of bovine brucellosis / G.G. Alton // *World anim. rew.* – 1981. – V. 39. – P. 17 – 24.
135. Al – Talafhah A.N. Epidemiology of ovine brucellosis in Avassi sheep in Northern Jordan / A.N. Al – Talafhah, S.Q. Lafi, Y. Al – Tarari // *Prev. Vet. Med.* – 2003. – № 60 (4). – P. 297 – 306.
136. Ангелов С.Т. Бруцелозата у животните и човека / С.Т. Ангелов, В. Ганов, И.Л. Куюмджиев // *София.* – Изд. Болгар. Академии наук. – 1951. – 319 С.
137. Banai M. Control of small brucellosis of ruminants using the brucella melitensis vaccine Rev – 1: laboratory aspects and field observations / M. Banai // *Veterinary microbiology*. – 2002. – V. 90. – № 1 – 4. P. 497 – 519.
138. Bamaïyi P.H. Prevalence and risk factors of brucellosis in man and domestic animals / P.H. Bamaïyi // *International Journal of one health available*. – 2016. – P. 29 – 34.
139. Bengis R.G. Infections animal diseases: The wild life live stock interface / R.G. Bengis, R.A. Kock, J. Fisher // *Rev. sci. et. techn. off. Inf. epizoot.* – 2002. – V. 21. – P. 53 – 65.
140. Boschirdi M. Brucellosis: a world wide zoonosis / M. Boschirdi, V. Foulongne, D. O Callaghan // *Curr. opin. microbiol.* – 2001. – V. 4(1). – P. 58 – 64.

141. Bricker B.J. PCR as a diagnostic tool for brucellosis / B.J. Bricker // *Vet. microbiol.* – 2002. – V. 90 (1 – 4). – P. 435 – 446.
142. Brinlay – Morgan W.I. The serological diagnosis of brucellosis / W.I. Brinlay – Morgan // *Vet. Rec.* – 1967. – V. 80. – P. 612 – 621.
143. Brinlay – Morgan W.I. Brucellosis of small ruminants. Diagnosis / W.I. Brinlay – Morgan // *Control and eradication.* – *Bull. Off int. Epiz.* – 1974. – V. 82. – P. 93 – 96.
144. Bruce B. Note on the discovery of a microorganism in Malta / B. Bruce // *Practitioner.* – 1886. – V. 39. – 161 P.
145. Сора П. Изучение новых методов диагностики бруцеллеза / П. Сора // *Бюллетень Всесоюзного ордена Ленина. – Институт экспериментальной ветеринарии.* – Москва. – Выпуск 10. – 1971. – С. 38 – 42.
146. Chayu Y. Modeling the spatiotemporal variations in brucellosis transmission / Y. Chayu, O. Paride // *Nonlinear analysis: real world applications.* – 2017. – V. 38. – P. 49 – 67.
147. Corbel M.J. Brucellosis: an overview / M.J. Corbel // *Emerg. Infect. Dis.* – 1997. – № 3. – P. 213 – 221.
148. Croft D. G. Brucellosis of cattle / D.G. Croft // *Agriculture.* – 1972. – V. 19. – № 2. – P. 77 – 81.
149. Cutler S.J. Brucella species: brucellosis / S.J. Cutler, M.S. Zygmunt, B. Gapin – Bastuji // *BSL 3 and BSL 4 agents: Epidemiology, microbiology and practical guidelines.* – 2012. – P. 19 – 35.
150. Cutler S.J. Brucellosis – new aspects of an old disease / S.J. Cutler, A.M. Whatmore, N.J. Commander // *Journal of applied microbiology.* – 2005. – V. 98. – № 6. – P. 1270 – 1281.
151. Ducrotoy M.J. How do you get the Rose Bengal test at the point – of – care to diagnose brucellosis in Africa? The importance of a systems approach / M.J. Ducrotoy, K.L. Bardosh // *Acta tropica.* – 2017. – V. 165. – P. 33 – 39.
152. Drimelen G.C. Diagnosis of brucellosis in sheep and goats / G.C. Drimelen // *S. Afr. Vet. Med. Ass.* – 1959. – V. 30 – № 3. – P. 259 – 269.

153. Ebadi A. Comparison of various serological tests on the milk of sheep in relation to the isolation of brucella melitensis / A. Ebadi // Brit. Vet. J. – 1971. – V. 127. – № 3. – P. 106 – 112.

154. Erganis O. Comparison of rose bengal plat test antegens prepared from brucella abortus, brucella melitensis, brucella suis / O. Erangis [et. at] // Bul. veter. inst. in Pulawy. – 2005. – V. 165. – P. 165 – 167.

155. Estein S.M. Comparison of serogical test based on outer membrane or internal antigens for detecting antibodies to brucella ovis in infected flocks / S.M. Estein, P.C. Baldi, R.A. Bowden // J. Vet. Diagn. Invest. – 2002. – V. 14. – P. 407 – 411.

156. Festerbank R. La brucellose ovine et caprine. – Pathol. Ovins et caprins zemes / R. Festerbank // Jornees rech. Ovine et. caprine. – Paris. – 1977. – P. 90 – 97.

157. Festerbank R. Assainissement d'un troupeau ovin atteint de brucellose par les moyens de la prophylaxie santtaire en utilisant l'epreuve an rose bengal / R. Festerbank, R. Maguere // Res. Med. Vet. – 1978. – V. 154. – № 7/8. – P. 657 – 661.

158. Fich T.A. Intracellular survival of brucella: Oefining the link with persistence / T.A. Fich // Veterinary microbiology. – 2003. – V. 93. – № 3. – P. 213 – 223.

159. Godfroid J. Brucellosis in the European union and Norway at the tum of the 21st century / J. Godfroid, A. Kasbohner // Veterinary microbiology. – 2002. – V. 90 (1 – 4). – P. 135 – 145.

160. Godfroid J. Brucellosis in wildlite / J. Godfroid // Rev. sci. tech. 2002. – V. 21. – № 2. – P. 277 – 286.

161. Георгиу Х. Иммуноферментный анализ / Х. Георгиу // Вестник ветеринарии. – 2002. – № 3 (24). – С. 25 – 26.

162. Гомон М. Современные методы биологической диагностики бруцеллеза животных / М. Гомон // Бюллетень всесоюзного ордена Ленина

института экспериментальной ветеринарии. – Выпуск 11. – Москва. – 1971. С. 95 – 98.

163. Huber B. Development of PCR analysis for typing and subtyping of brucella species / B. Huber // *Int J. biol. sci.* – 2002. – V. 299. – P. 563 – 573.

164. Krkic – Dautovic S. Brucellosis epidemiological and clinical aspect (Is brucellosis a major public health problem in Bosnia and Herregonna) / S. Krkic – Dautovic, M. Ferhatovic, S. Cavaljuga // *Bosn J. Basic med. sci.* – 2006. – V. 6 (2). – P. 11 – 15.

165. Kolar G. Diagnosis and control of brucellosis in small ruminants / G. Kolar // *Prev. Vet. Med.* – 1984. – V. 2. – № 1-4. P. 215 – 225.

166. Leyla G. Comparison of polymerase chain reaction and bacteriological culture for the diagnosis of sheep brucellosis using aborted fetus samples / G. Leyla, G. Kadri // *Vet. microbiol.* – 2003. – V. 93. – № 1. – P. 53 – 61.

167. Majid Avigan Clinical an serological approach to patients with brucellosis: A common diagnosis dilemma and a worldwide perspective / Majid Avigan, Masha Rostamnezhad, Hamidrera Jahanbani – Ardakani // *Microbiol. Pathogenesis.* – 2009. – V. 129. – P. 125 – 130.

168. Marie J. A review of the immunological diagnosis of ruminant brucellosis / J. Marie // *Veterinary immunology and immunopathology.* – 2016. – V. 171. – P. 81 – 102.

169. Morata P. Diagnosis yield of PCR analysis in focal complications of brucellosis / P. Morata // *J. Clin Microbiol.* – 2001. – V. 39. – P. 3743 – 3746.

170. Nicolleti P. Bacteriologic evaluation of the serologic test procedures for the diagnosis of brucellosis in problem cattle herds / P. Nicolleti, T. Muraschi // *Armer journal veterin. res.* – 1966. – V. 27. – P. 694 – 699.

171. Nicolleti P. Epidemiology in brucellosis / P. Nicolleti // *Br. res. conf. Merida, Yucatan, Mexico.* – 2005. – P. 19 – 23.

172. Nielsen K. Diagnosis of brucellosis with serology / K. Nielsen // *Veterinary microbiology.* – 2002. – V. 90. – P. 447 – 459.



173. Ning P. Short communication evaluation of brucella infection of cows by PCR detection of brucella dna in raw milk / P. Ning, K. Guo, L. Xu, R. Xu, C. Zhang, Y. Zeng, H. Cui, W. Liu, Q. Lv, W. Cao, Y. Zhang // *Journal of dairy science*. – 2012. – V. 95. – № 9. – P. 4863 – 4867.
174. Paulauskas V. Comparative diagnostic testing of brucellosis in Lithuania / V. Paulauskas, I. Michalskiene, J. Buitkuvieni, M. Stankeviciene // *Veterinarija ir zootechnika Lietuvos veterinarijos akad. kaunas*. – 2005. – V. 32. – № 54. – P. 20 – 25.
175. Praud A. Evaluation of three competitive ELISA and a fluorescence polarisation assay for the diagnosis of bovine brucellosis / A. Praud, M. Duran – Ferrer, D. Fretin, M. Jay, M. O Connor, A. Stourama, M. Tittarelli Dias, B. Garin Bastuji // *The veterinary journal*. – 2016. – V. 216. – P. 38 – 44.
176. Purcell B.K. Brucellosis / B.K. Purcell, R. Rivard // *Biodefense research methodology and animal models, second edition*. – 2012. – P. 197 – 222.
177. Redkar R. Real – time detection of brucella abortus, brucella melitensis and brucella suis / R. Redkar, S. Rose, B. Bricker, V. Del Vecchio // *Molecular and Cellular Probes*. 2001. – V. 15. – P. 43 – 52.
178. Refai M. Incidence and control of brucellosis in the near east region / M. Refai // *Vet. microbiol*. – 2002. – V.90. – № 1 – 4. – P. 81 – 110.
179. Refai M Application of biotechnology in the diagnosis and control of brucellosis in the near east region / M. Refai // *World journal of microbiology and biotechnoljlgjy*. – 2003. – V. 19. – № 5. – P. 443 – 449.
180. Silva Junior F.F. Evolution of the ring test in an epidemiological surveillance of bovine brucellosis in herds and dairies / F.F. Silva Junior // *Arg. Brasil. med. veter. zotech*. – 2007. – V. 9. – № 2. – P. 295 – 300.
181. Szyfres B. Vacinas vivas en el control dela brucellosis / B. Szyfres // *Gaseta Veterinaria*. – 1964. – V. 26. – № 173. – P. 537 – 552.
182. Teleski V. An overview of the epidemiology and epizootology of brucellosis in selected countries of central and southeast Europe / V. Teleski, L. Zerva, T. Kantardjiew, Z. Cvetnic, M. Erski – Bijic, B. Nikolovski, J. Bonjakovski,

V. Katalinik – Jankovic, A. Panteliadou, S. Stojkoski, T. Kirandziski // *Vet microbiol.* – 2002. – V. – 90. - № 1 – 4. – P. 147 – 155.

183. Thacker E. Brucellosis melitensis diagnosis, surveillance and control / E. Thacker // *Ветеринарна медицина.* – 2011. – № 95. – P. 11 – 12.

184. Valette L. Diagnosis serologique des brucellosis / L. Valette // *Simposium brucellose.* – Moscow. – 1984. – P. 1 – 12.

185. Zhanbyrbaev M. The efficiency of modern methods for serological diagnosis of brucellosis in animals / M. Zhanbyrbaev, B. Zamankhanbaeva, M. Meirbekova // *ICITE.* 2018. – P. 287 – 289.

186. Zammit T. Reports Commission / T. Zammit // *Med. Fever. I.* – 1905. – 88 P.

## 6. ПРИЛОЖЕНИЕ

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2667121

**СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ БРУЦЕЛЛЕЗНОГО  
ЭРИТРОЦИТАРНОГО ДИАГНОСТИКУМА ДЛЯ  
РЕАКЦИИ ЦЕПРЯМОЙ ГЕМАГГЛЮТИНАЦИИ (РНГА)**

Патентообладатель: *Федеральное государственное бюджетное  
научное учреждение "Прикаспийский зональный научно-  
исследовательский ветеринарный институт" (RU)*

Авторы: *Юсупов Омар Юсупович (RU), Микаилов Михаил  
Муслимович (RU), Халиков Ахмед Алиасхабович (RU),  
Шехилишева Гуарниа Магомедовна (RU), Яникова Эльмира  
Арслановна (RU), Кабахова Патимат Магомедовна (RU),  
Дугричилова Мадина Омаровна (RU)*

Заявка № 2016142827

Приоритет изобретения 31 октября 2016 г.

Дата государственной регистрации в

Государственном реестре изобретений

Российской Федерации 14 сентября 2018 г.

Срок действия исключительного права  
на изобретение истекает 31 октября 2036 г.

*Руководитель Федеральной службы  
по интеллектуальной собственности*

*Г.В. Дриго* *Г.В. Дриго*





РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ(19) **RU** (11) **2 667 121** (13) **C2**(51) МПК  
G01N 33/569 (2006.01)(12) **ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**(52) СПК  
G01N 33/569 (2018.05)

(21)(22) Заявка: 2016142827, 31.10.2016

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
31.10.2016Дата регистрации:  
14.09.2018

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 31.10.2016

(43) Дата публикации заявки: 03.05.2018 Бюл. №  
13

(45) Опубликовано: 14.09.2018 Бюл. № 26

Адрес для переписки:

367000, г. Махачкала, ул. Дахадаева, 88,  
ФГБНУ "Прикаспийский зональный научно-  
исследовательский ветеринарный институт"

(72) Автор(ы):

Юсупов Омар Юсупович (RU),  
Микаилов Микаил Муслимович (RU),  
Халиков Ахмед Алиасхабович (RU),  
Шехидалиева Гуарша Магомедовна (RU),  
Яникова Эльмира Арслановна (RU),  
Кабахова Патимат Магомедовна (RU),  
Дугричилова Мадина Омаровна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное бюджетное  
научное учреждение "Прикаспийский  
зональный научно-исследовательский  
ветеринарный институт" (RU)(56) Список документов, цитированных в отчете  
о поиске: RU 2415434 C2, 27.03.2011. RU  
2484481 C1, 10.06.2013. RU 2283498 C1,  
10.09.2006. KZ 20375 A, 15.12.2008.(54) **СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ БРУЦЕЛЛЕЗНОГО ЭРИТРОЦИТАРНОГО ДИАГНОСТИКУМА ДЛЯ  
РЕАКЦИИ НЕПРЯМОЙ ГЕМАГГЛЮТИНАЦИИ (РНГА)**(57) **Формула изобретения**

Способ получения бруцеллезного эритроцитарного диагностикума для реакции непрямой гематглютинации (РНГА) при диагностике бруцеллеза, включающий изготовление формализированных эритроцитов барана с их последующей сенсibilизацией бруцеллезным антигеном, отличающийся тем, что сенсibilизацию формализированных эритроцитов проводят суспензией бруцелл штамма В. abortus 19, полученной в концентрации 70-80 млрд микробных клеток в 1 мл гипертонического 12%-ного раствора хлористого натрия, к которой добавляют 4-4,5% поверхностно-активного средства «Прогресс» и 0,25% додецилсульфата натрия, смесь подогревают до 45-50°C и выдерживают 45 мин на водяной бане, после чего ее используют для сенсibilизации формализированных эритроцитов из расчета 2,0-2,5 мл на 1 мл 10%-ной взвеси эритроцитов.

**ДЕКЛАРАЦИЯ О СООТВЕТСТВИИ**

Общество с ограниченной ответственностью «Ветмедсервис»  
(ООО «Ветмедсервис»)

Зарегистрирован Инспекцией ФНС России по Советскому району г. Махачкала Республики Дагестан 09.03.2005 г.,  
ОГРН 1050562004635, ИНН 0562059676, ОКПО 73917611

367000, Республика Дагестан, г. Махачкала, ул. Дахадаева, д.88  
Тел/факс: 8 (8722) 68-27-02; e-mail: vetmedservis@mail.ru

в лице директора О.Ю. Юсупова

**заявляет что продукция**

**Набор для серологической диагностики бруцеллеза крупного и мелкого рогатого скота в реакции непрямой гемагглютинации (РНГА)**

По ТУ 9388-001-73917611-2005

Код ОКПД2 21.10.60.196/ Код ТН ВЭД 3002909000

Серия №1 от 20.09.2017 г.- 390 наборов, серия №2 от 28.09.2017 г.- 381 набор

Изготовитель: Общество с ограниченной ответственностью «Ветмедсервис»  
(ООО «Ветмедсервис»), 367000, г. Махачкала, ул. Дахадаева, 88

**соответствует требованиям**

НД № 13-5-2/1062 «Ветеринарные препараты. Показатели качества. Требования и нормы»,  
утв. Минсельхозпродом России 17.10.1997 г.; ТУ 9388-001-73917611-2005

**Декларация принята на основании**

протокола испытаний № 1 от 28.09.2017 г. ООО «Ветмедсервис»

Дата принятия декларации 28.09.2017

Декларация о соответствии действительна до 28.03.2019

М.П. О.Ю. Юсупов  
подпись

О.Ю. Юсупов  
инициалы, фамилия

**Сведения о регистрации декларации о соответствии**

RA.RU.11CC07 Орган по сертификации (Федеральное государственное бюджетное учреждение «Всероссийский государственный Центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов» - ФГБУ «ВГНКИ»),  
123023, Москва, Звенигородское шоссе, д. 5



21.11.2017 г. регистрационный № РОСС RU.СС07.Д00188  
дата регистрации и регистрационный номер декларации

М.Ю. Матвеев  
подпись, инициалы, фамилия руководителя органа по сертификации

**ДЕКЛАРАЦИЯ О СООТВЕТСТВИИ**

Общество с ограниченной ответственностью «Ветмедсервис»  
(ООО «Ветмедсервис»)

Зарегистрирован Инспекцией ФНС России по Советскому району г. Махачкала Республики Дагестан 09.03.2005 г.,  
ОГРН № 1050562004635, ИИН 0562059676, ОКПО 73917611

367000, Республика Дагестан, г. Махачкала, ул. Дахидиева, д. 88  
т./факс: 8 (8722) 68-27-02; e-mail: vetmedservis@mail.ru

в лице \_\_\_\_\_  
директора О.Ю. Юсунова

заявляет что продукция

**Набор для серологической диагностики бруцеллеза крупного и мелкого рогатого скота в реакции непрямой гематоглютинации (РНГА)**

По ТУ 9388-001-73917611-2005

Код ОКПД 2 21.10.60.196, КОД ТН ВЭД 3002909000

Серия №1 от 01.11.2018 г. – 358 наборов, серия №2 от 16.11.2018 г. – 352 набора

Изготовитель: Общество с ограниченной ответственностью «Ветмедсервис» (ООО «Ветмедсервис») (ООО «Ветмедсервис») 367000, г. Махачкала, ул. Дахидиева, 88

соответствует требованиям

НД № 13-5-2/1062 «Ветеринарные препараты. Показатели качества. Требования и нормы»,  
ули. Минсельхозпродом России 17.10.1997 г.; ТУ 9388-001-73917611-2005

Декларация принята на основании

\_\_\_\_\_ протокола испытаний № 1 от 16.11.2018 г. ООО «Ветмедсервис»

Дата принятия декларации 16.11.2018 г.

Декларация о соответствии действительна до 16.05.2020 г.

М.П. О.Ю. Юсунов  
подпись

О.Ю. Юсунов

инициалы, фамилия



МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
Присоединенный к высшейшей государственной ветеринарной академии институт - филиал  
ФГБНУ «Федеральный аграрный научный центр Россельхозакадемии»



**МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

Диагностика бруцеллеза овец и коз с применением реакции инверсной титратации  
(РИГА)



МАХАЧКА 2019

УДК 61+616.96.579.341.93

Рекомендации исследования Приволжского зонального НИИВ – филиала ФГБНУ «ФАНЦ РД» (Мухомин М.М., Янкова Э.А., Халиков А.А., Гуляев А.Т.), Республиканское ветеринарное управление МСХ РД (Калимуллин К.М.)

Рекомендации составлены на основании исследований специалистов научно-исследовательских ветеринарных учреждений, работающих по проблеме бруцеллеза, практических ветеринарных специалистов и работников ветеринарных лабораторий.

Одобрены Ученым советом Приволжского зонального НИИВ – филиала ФГБНУ «ФАНЦ РД» (протокол № 4 от 31 июля 2019 г.)



**Рецензенты:**

Доктор ветеринарных наук, директор Приволжского зонального НИИВ – филиала ФГБНУ «ФАНЦ РД» А.Ю. Аалиев.

© Приволжский зональный научно-исследовательский ветеринарный институт - филиал ФГБНУ «ФАНЦ РД»

Издательство «Ветеринария» (Москва) 2019 г.



Министерство науки и высшего образования Российской Федерации  
**ПРИКАСПИЙСКИЙ ЗОНАЛЬНЫЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ВЕТЕРИНАРНЫЙ ИНСТИТУТ - ФИЛИАЛ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО НАУЧНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ АГРАРНЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР РЕСПУБЛИКИ ДАГЕСТАН»**  
 (Прикаспийский зональный ИВВИ - филиал ФГБНУ «ФАНЦРД») СЕВЕРО-КАВКАЗСКИЙ ЗОНАЛЬНЫЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ВЕТЕРИНАРНЫЙ ИНСТИТУТ - ФИЛИАЛ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО НАУЧНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ РОСТОВСКИЙ АГРАРНЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР»  
 (СКЗНИИВ - филиал ФГБНУ ФРАНИЦ) ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ «КУБАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И.Т. ГРУБИДИНА» (ФГБОУ ВО Кубанский ГАУ)

Утверждаю

И.о. начальника Управления ветеринарии  
 Ростовской области



2020 г.  
 Озарян А.П.

Применение РИГА с усовершенствованным антигеном в «Наборе для серологической диагностики бруцеллеза крупного и мелкого рогатого скота и реакции непрямой геммагглютинации (РИГА)» (методические рекомендации)

г. Ростов-на-Дону, 2020

УДК 619:57.083.330:616.981.21/988.7:636.2:636.3

Рекомендации рассмотрены на специализированном научно-исследовательском ветеринарном учреждении, работающих по проблеме бешенства в рабочих-ков практических ветеринарных лабораторий.

Рекомендации разработаны к.в.н. М.М. Микановым, Э.А. Янковой, д.в.н. А.Ю. Адиевым, А.А. Халиковым, А.Т. Гушиловой (Прикаспийский зональный ЦНИИ – филиал ФГБНУ «ФАНЦ РБ»), д.в.н., профессором О.Ю. Черных (ГБУ Краснодарского края «Хропоткинская краевая ветеринарная лаборатория») к.и.ц. Р.А. Кривошею (Удмуртские ветеринарии Краснодарского края), д.в.н. А.М. Тулюкшиным (ФГБНУ ФНЦ ВРЭВ им. К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко РАЦ), д.б.и., профессор А. Г. Кошелевым (ФГБОУ ВО Кубанский ГАУ), д.б.и., А.Н. Черновым (Татарский НИИХИП – обособленное структурное подразделение ФИЦ КэИВИ РАН), к.с.-х.н. Ю.Д. Дробин (Северо-Кавказский зональный научно-исследовательский ветеринарный институт – филиал ФГБНУ ФРАНЦ).

**Рецензенты:**

Мусыка Д.Г. – доктор ветеринарных наук, профессор, заведующий кафедрой эпизоотологии ФГБОУ ВО «ДатГАУ им. М.М. Джамбулатова»

Гушаев Ш.А. – кандидат ветеринарных наук, доцент кафедры эпизоотологии ФГБОУ ВО «ДатГАУ им. М.М. Джамбулатова»

Рекомендации рассмотрены и одобрены Ученым советом СКЗНИИ – филиал ФГБНУ ФРАНЦ (протокол №2 от 24 марта 2020 года)