

**ҚР АУЫЛШАРУАШЫЛЫҚ МИНИСТРЛІГІ
«ҚАЗАГРОИННОВАЦИЯ» АҚ
«ҚАЗАҚ ҒЫЛЫМИ-ЗЕРТТЕУ ВЕТЕРИНАРИЯ ИНСТИТУТЫ»
ЖШС**

1905



**МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА РК
АО «ҚАЗАГРОИННОВАЦИЯ»
ТОО «КАЗАХСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ВЕТЕРИНАРНЫЙ ИНСТИТУТ»**

**«МАЛ БРУЦЕЛЛЕЗИМЕН КҮРЕСУДІҢ ҒЫЛЫМИ ЖӘНЕ
ТӘЖІРИБЕЛІК НЕГІЗДЕРІ»
халықаралық ғылыми – тәжірибелік конференцияның
материалдары**

**Материалы Международной научно – практической
конференции
«НАУЧНЫЕ И ПРАКТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ БОРЬБЫ
С БРУЦЕЛЛЕЗОМ ЖИВОТНЫХ»**

12 – 13 февраля 2014 г.

Алматы 2014

УДК 619:616.981.42
ББК 48.1:72
Қ 18

«Мал бруцеллезімен күресудің ғылыми және тәжірибелік негіздері»
халықаралық ғылыми – тәжірибелік конференцияның материалдары

Материалы Международной научно – практической конференции
«Научные и практические основы борьбы с бруцеллезом животных», ТОО
«КазНИВИ», 12 - 13 февраля 2014 г., Алматы: ТОО «КазНИВИ», 2014. - 267
б., қазақша, орысша.

ISBN 978-601-80394-1-6

В Материалах Международной научно – практической конференции
«Научные и практические основы борьбы с бруцеллезом животных»
освещены актуальные проблемы борьбы и обеспечения благополучия по
бруцеллезу животных в Республике Казахстан и пути их решения.

УДК 619:616.981.42
ББК 48.1:72

ISBN 978-601-80394-1-6

© ТОО «КазНИВИ», 2014

СЛАЙДЫ УЧАСТНИКОВ МЕЖДУНАРОДНОЙ КОНФЕРЕНЦИИ «НАУЧНЫЕ И ПРАКТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ БОРЬБЫ С БРУЦЕЛЛЕЗОМ ЖИВОТНЫХ»

Тайтубаев М.К., зам. председателя КВКН МСХ РК



Министерство сельского хозяйства Республики Казахстан



**МЕЖДУНАРОДНАЯ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ
«ПРОБЛЕМЫ ПРОФИЛАКТИКИ И ДИАГНОСТИКИ БРУЦЕЛЛЕЗА
СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ»
12-13 ФЕВРАЛЯ 2014
АЛМАТЫ**

www.minagri.gov.kz

Астана

СРАВНИТЕЛЬНЫЕ ДАННЫЕ ПО ИССЛЕДОВАНИЯМ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА НА БРУЦЕЛЛЕЗ

№	Наименование областей	2012 год			2013 год			Неблагоприят
		Исследовано	Положительно реагировало	% заражен	Исследовано	Положительно реагировало	% заражен	
1	Акмолинская	51 6903	2 436	0,5	287 249	2 183	0,8	
2	Актюбинская	650 000	4 380	0,7	492 768	4 553	0,9	6
3	Алматинская	1 361 450	969	0,1	725 743	997	0,1	1
4	Атырауская	220 000	876	0,4	184 282	1 428	0,8	
5	ВКО	1 278 366	4 589	0,4	665 470	3 837	0,6	11
6	Жамбылская	500 000	960	0,2	306 470	724	0,2	
7	ЗКО	486 740	6 181	1,3	323 217	4 773	1,5	5
8	Караганды	826 000	4 146	0,5	343 331	3 895	1,1	1
9	Кызылорда	340 000	36	0,0	259 061	135	0,1	
10	Костанайская	600 000	4 068	0,7	329 832	2 321	0,8	2
11	Мангистауская	15 931	5	0,0	13 736	0	0,0	
12	Павлодарская	495 600	3 295	0,7	327 701	3 050	0,9	
13	СКО	462 250	1 079	0,2	260 147	585	0,2	
14	ЮКО	1 268 000	436	0,0	947 099	332	0,0	
15	г.Астана	1 603	0	0,0	628	0	0,0	
16	г.Алматы	1 450	0	0,0	858	0	0,0	1(*1 подв.)
	Итого	9 024 293	33 456	0,4	5 468 092	28 813	0,5	28



Министерство сельского хозяйства Республики Казахстан

www.minagri.gov.kz

СРАВНИТЕЛЬНЫЕ ДАННЫЕ ПО ИССЛЕДОВАНИЯМ МЕЛКОГО РОГАТОГО СКОТА НА БРУЦЕЛЛЕЗ

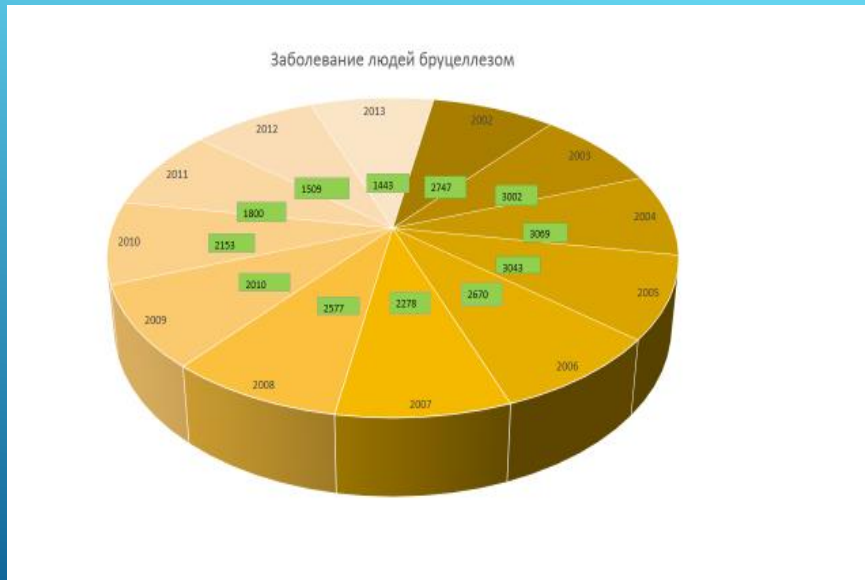
№	Наименование областей	2012 год			2013 год			Неблагоприятный пункт
		Исследовано	Положительно реагировало	% заражено	Исследовано	Положительно реагировало	% заражено	
1	Акмолинская	452 382	1 149	0,3	474 353	2130	0,5	
2	Актюбинская	1 800 000	2 782	0,2	1 272 205	3514	0,3	7
3	Алматинская	4 101 510	4 968	0,1	2 523 737	6337	0,3	43 (6 подв.)
4	Атырауская	740 000	320	0,04	630 342	1206	0,2	1
5	ВКО	4 143 125	9 560	0,2	1 846 384	7680	0,4	39
6	Жамбылская	4 436 300	11 520	0,3	1 997 377	9145	0,5	24
7	ЗКО	1 089 400	2 842	0,3	805 565	2042	0,3	9
8	Карагандинская	1 860 000	606	0,03	771 872	343	0,0	2
9	Кызылорда	979 618	247	0,03	804 370	502	0,1	6
10	Костанайская	350 000	380	0,1	404 311	558	0,1	
11	Мангистауская	648 420	0	0,0	612 417	0	0,0	
12	Павлодарская	645 840	457	0,1	552 310	205	0,0	
13	СКО	360 850	35	0,01	342 783	79	0,0	
14	ЮКО	6 344 100	2 388	0,04	4 246 087	2336	0,1	3
15	г.Астана	1 382	0	0,0	1 113	21	1,9	
16	г.Алматы	810	0	0,0	512	2	0,4	
	Итого	27 953 737	37 254	0,1	17 285 738	36 100	0,2	134



Министерство сельского хозяйства Республики Казахстан

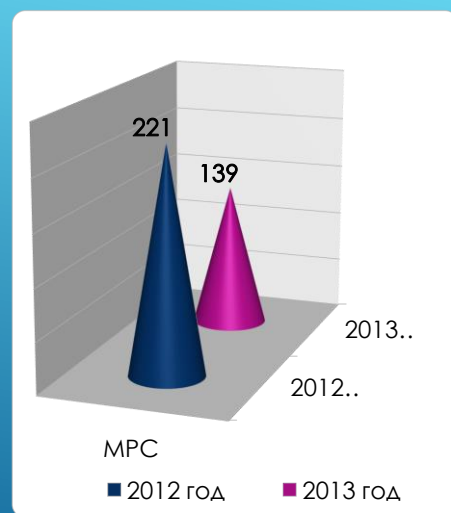
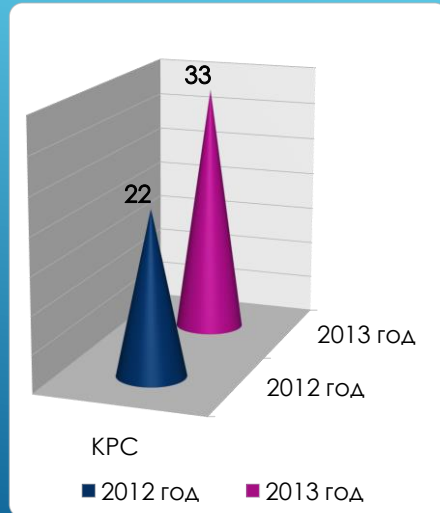
www.minagri.gov.kz

ЗАБОЛЕВАНИЯ ЛЮДЕЙ БРУЦЕЛЛЕЗОМ ЗА 2002-2013 Г.Г.



СРАВНИТЕЛЬНАЯ ДИАГРАММА ОЗДОРОВИТЕЛЬНЫЕ МЕРОПРИЯТИЙ ПО БРУЦЕЛЛЕЗУ В РЕСПУБЛИКИ ЗА 2012-2013 ГОДЫ

5



Министерство сельского хозяйства Республики Казахстан

www.minagri.gov.kz

ОЗДОРОВИТЕЛЬНЫЕ МЕРОПРИЯТИЯ ПО БРУЦЕЛЛЕЗУ СРЕДНИЙ ЗАТРАТЫ ВРЕМЕНИ НА ОЗДОРОВЛЕНИЯ 1 ОЧАГА

5



Министерство сельского хозяйства Республики Казахстан

www.minagri.gov.kz

**В РАМКАХ ЗАКОНА РК «О ВЕТЕРИНАРИИ» ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
ВЕТЕРИНАРНЫЙ КОНТРОЛЬ И НАДЗОР ПРЕДУСМАТРИВАЕТ:
(КОНТРОЛЬ И НАДЗОР)**

7

- за обеспечением выполнения Плана ветеринарных профилактических и диагностических мероприятий;
- за проведением оздоровительных мероприятий в неблагополучных пунктах и ликвидацией очагов особо опасных болезней;
- за импортом племенных животных зарубежной селекции с последующим постоянным контролем за сохранением благополучного статуса стада, популяции и региона;
- за проведением идентификации сельскохозяйственных животных с ведением базы данных;
- за осуществлением инспекторской работы в сфере пищевой безопасности;
- за соблюдением Правил транспортировки, реализации перемещаемых объектов и выдачи ветеринарных документов .



Министерство сельского хозяйства Республики Казахстан

www.minagri.gov.kz

**ПРОБЛЕМНЫЕ ВОПРОСЫ В НЕБЛАГОПОЛУЧНЫХ ПУНКТАХ ПРИ
ОЗДОРОВЛЕНИИ ИХ ОТ БРУЦЕЛЛЕЗА СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ**

8

- нарушение Правил идентификации сельскохозяйственных животных с ведением базы данных;
- не правильное составление акта обследования очага и наложение ограничения без учета условия содержания (подворное оздоровление и т.д.);
- отсутствие раздельного содержания животных по половозрастным группам, неоднородность структуры стада, совместное содержание всех видов животных;
- несоблюдение требования инструкции и интервалов исследования и сроков сдачи больного скота;
- рассредоточение поголовья сельскохозяйственных животных в хозяйствах мелких собственников, сосредоточение их в хозяйствах населения;
- недостаточность разъяснительной работы среди населения и владельцев животных.



Министерство сельского хозяйства Республики Казахстан

www.minagri.gov.kz

Рекомендации международных экспертов по стратегии вакцинации животных против бруцеллеза в Республике Казахстан

ТАЙТУБАЕВ М.К.
Заместитель Председателя КВК и Н МСХ РК
Международная научно-практическая конференция
«Научные и практические основы борьбы с бруцеллезом животных»
13 февраля 2014 г., г. Алматы



Текущая стратегия 2013 года



Рекомендации эксперта ФАО - Питера Роедера



Этап 1: Целью – значительное уменьшение проявления *B.abortus* у КРС (первый год)

DS

- Статистическая выборка.
- ИФА - непрямым или компетентным методом, либо сначала РБП, затем для переподтверждения положительных проб не прямой или компетентный ИФА метод.
- Независимый надзор по каждой области планируется с учетом двух подходов:
- с) Первый этап: простая случайная выборка из ферм/сёл.
- д) Второй этап: простая случайная выборка животных.

PR

- **Первый год** - Обязательная вакцинация 19 *Brucella abortus* всего молодняка в возрасте от 3 до 6 месяцев с использованием дозы 10×10^{10} КОЕ, идентификация животных
- **В течении 2-5 и далее лет, до стратегии «исследование и убой»**
- 1. Продолжать вакцинацию только молодняка от 3 до 6 мес (важно, что другого возраста КРС не должны подлежать вакцинации).
- 2. Проводить ежегодные серологические исследования на бруцеллёз у КРС. Отбор проб должен быть ограничен для не иммунизированных животных и привитых в раннем возрасте.
- 3. Следует рассматривать массовое тестирование молока на антитела к *Brucella* для выявления зараженных стад, а затем проводить исследования отдельных животных.



Этап 1: Целью – значительное уменьшение проявления *B.mellitensis* у МРС (первый год)

Диагностика

- Статистическая выборка.
- ИФА - непрямым или компетентным методом, либо сначала РБП, затем для переподтверждения положительных проб непрямой или компетентный ИФА метод.
- Независимый надзор по каждой области планируется с учетом двух подходов:
- с) Первый этап: простая случайная выборка из ферм/сёл.
- д) Второй этап: простая случайная выборка животных.



Этап 1: Целью – значительное уменьшение проявления *B.mellitensis* у МРС (первый год)

Профилактика

1. Вакцинация всего МРС дважды в течение первого года программы, с учётом не вакцинирования беременных животных - после окота в апреле и до спаривания в сентябре/октябре. Этот подход необходим для повышения уровня иммунитета популяции как можно быстрее, чтобы подавить болезнь. Это усложняет серомониторинг, потому что вакцинированные взрослые МРС могут остаться серопозитивными. Однако, с годами значительную часть популяции составляют животные, вакцинированные будучи молодняком, и они будут сероотрицательными в возрасте после 1 года.



Этап 1: Целью – значительное уменьшение проявления *B.mellitensis* у МРС (первый год)

Профилактика

- 2. Отметить всех вакцинированных животных биркой «вакцинированный *Brucella*», и внедрение этой практики, необходимо по возможности в кратчайшие сроки.
- 3. Выбрать вакцину REV 1, которая производится в соответствии со стандартами МЭБ для производства вакцин, которая вводится конъюнктивальным методом, в дозе 10⁹ КОЕ.
- 4. Все случаи абортос должны быть исследованы на наличие бруцеллеза и любые изоляты *Brucella* охарактеризованы и результаты введены в базу данных бруцеллеза. МРС, которые показывают положительный результат, должны быть забиты с выплатой компенсации в полном объеме.



Этап 1: Целью – значительное уменьшение проявления *B.mellitensis* у МРС (В течении 2-5 и далее лет, до стратегии «исследование и убой»)

Профилактика

- 1. Иммунизация только МРС от 3 до 6 месяцев один раз в год, используя REV1, которая вводится конъюнктивальным методом.
- 2. Во второй год, применения программы ежегодного сероисследования на антитела для обнаружения инфекции, исследование только животных, вакцинированных до 6-месячного возраста - животные, вакцинированные в течение первых шести месяцев жизни, являются серонегативными в возрасте после 1 года. Сероисследование может быть проведено напрямую подтверждающим методом ИФА.



Этап 2: Целью - уменьшение бруцеллёза в Казахстане искоренение бруцеллёза МРС методом «исследование и убой»

2 этап

- 1. Применение программы исследования и убой похоже будет экономически нецелесообразным в течение многих лет, но экономическая и социально-экономическая оценка может показывать с другой стороны если хорошо выполняется контроль.
- 2. Прогресс может быть постоянно оцениваться и политика пересматриваться если прогрессивный контроль не доказуемый. Однако, такая ситуация может сохраняться под постоянным рассмотрением с использованием результатов мониторинга болезни и экономического анализа.
- 3. Для бруцеллеза КРС сыворотки пробы крови должны быть исследованы сначала РБП тестом, затем тестированы для подтверждения таким методом как полная валидация компетентным ИФА.



Рекомендации эксперта ФАО - Аластар Макмиллан



Диагностические исследования

- Есть большое количество тестов, которые можно использовать, но только некоторые рекомендуются МЭБ. Каждый тест имеет свои преимущества и недостатки с точки зрения стоимости, эффективности, возможность автоматизации и простота действия.
- Эффективность теста измеряется с точки зрения их чувствительности и специфичности.
- Чувствительность вероятность того, что зараженное животное, выявит положительный результат теста
- Специфика вероятность того, что неинфицированных животных выявит отрицательный результат теста
- Это неправильно, сказать «это тест слишком чувствительный», что имеется в виду, что тест слишком неспецифический.



Диагностические исследования

- Низкую специфичность видно после вакцинации, в зависимости от вида животных и на фоне других инфекций. Инфекция с конкретными организмами, как известно, перекрестно реагируют в серологических исследованиях на бруцеллез, но мировой опыт показывает, что этот признак становится важным только при исследовании областей свободных от бруцеллеза.
- Фактором чувствительность теста, является ранее последовательность заражения в инкубационный период, тест выявляется положительным, и это может сильно варьировать. Фактически, это феномен часто наблюдается, что образцы крови животных, взятые во время аборта (и следствие, высокая вероятность распространения болезни), серологический отрицательными. Этот атрибут является очень важным, поскольку это дает более высокую вероятность того, что инфицированные животные могут быть обнаружены, прежде чем случится аборт и дальнейшего распространения заболевания.



Диагностические исследования

- Другой фактор, который влияет на чувствительность некоторых тестов, является феномен «прозоны реакции», что означает, очень высокие уровни антител не обнаружены в тесте, если осуществляются недостаточный диапазон разведения. Особенно это сказывается на реакции связывания комплемента. Я отметил, этот случай, в лаборатории которую я посетил в Астане, и по моему мнению, вполне вероятно, что некоторые инфицированные животные отсутствуют.
- Чувствительность теста и специфичность взаимосвязаны между собой, в определенной степени будет изменена путем изменения параметров испытаний, таких как положительный/отрицательный «отсечка». Если чувствительность увеличилась, тем не менее специфичность уменьшается, и наоборот.
- .



Диагностические исследования

- Способность теста для обнаружения зараженного стада выше, однако, есть вероятность, более одного зараженного животного в стаде, во время отбора проб увеличивается вероятность обнаружения по крайней мере один из них. Например, если тест имеет относительно низкую индивидуальной чувствительностью 80%, вероятность выявить по крайней мере одного положительного животного, возрастает до 95%, если есть два инфицированных животных в группе. Если имеются четыре инфицированных животных во время отбора проб, это практически не вызывает сомнений, что по крайней мере один из них будет выявлен, следовательно классифицировать стадо как положительное.



Профилактические мероприятия

- Довольно много вакцин были разработаны и использовались на протяжении многих лет, но только три живые вакцины рекомендованы Всемирной организацией по охране здоровья животных (МЭБ), а именно Ш19 (S19), Рев-1 (Rev-1) и РБ51 (RB51).
- Как показывают многочисленные исследования, экспериментальные и полевые исследования, несмотря на то, что они не дают полной защиты у индивидуальных животных, вакцины чрезвычайно успешно применяются в снижении инцидентности бруцеллеза у животных путем снижения распространения заболевания.



Профилактические мероприятия у МРС

- – *Высокий и низкий риск стада :*
- • Вакцинация молодых ярок 3-6 месяцев с полной дозой Rev-1 (РЭВ 1)
- • Вакцинация не беременных самок конъюнктивной с Rev-1



Профилактические мероприятия у КРС

- – **Высокий риск стада:**
- • Вакцинация телок 3-6 месяцев с полной дозой Ш19
- • Вакцинация не стельных телок с RB-51



Профилактические мероприятия у КРС

- – **Низкий риск стада:**
- • Вакцинация телок 3-6 месяцев с полной дозой Ш19
- • Вакцинация не стельных телок RB-51, если не получили Ш19 в молодом возрасте.



Важная информация



- Кроме того, все аборт и инфицирование человека, связанные с вакцинацией, необходимо тщательно расследовать, чтобы проверить, вызвано ли это вакциной, режимы вакцинации, выбранные для применения должны отвечать требованиям действующих международных стандартов и рекомендаций, а также должны быть проверены в полевых условиях до повсеместного применения. Чтобы все случаи, где вакцинация относится либо к заболеванию человека или аборт у животных должны быть исследованы, включая выделение культуры и типизацию.



**Рекомендации
НИИПББ КН МОН РК**



Профилактические мероприятия

- Проведение вакцинации поголовья в сельхозформированиях (молодняк в возрасте с 3-4 мес. до года, племенной и завезенный скот).



**Рекомендации
ДВПБ**



Профилактические мероприятия

- **Низкий риск распространения:**
- **КРС:**
- 1 вариант
 - - иммунизация молодняка от 3 до 6 месяцев - шт. 82;
 - - повторно телки перед случкой - шт 82.
- 2 вариант
 - - иммунизация молодняка от 3 до 6 месяцев - шт. RB 51;
 - - повторно телки перед случкой- шт RB 51
- Исследование РБП; ИФА
- **МРС:**
Иммунизация молодняка и маточного поголовья полной дозой Rev-1 подкожно.
- Ревакцинация через 2 года.



Профилактические мероприятия

- **Высокий риск распространения:**
- **КРС**
- 1 вариант
 - - иммунизация молодняка от 3 до 6 месяцев - шт. 82;
 - - повторно телки перед случкой - шт 82;
 - - иммунизация (реимунизация) коров (1-2 года после отела).
- 2 вариант
 - - иммунизация молодняка от 3 до 6 месяцев - шт. RB 51;
 - - повторно телки перед случкой- шт RB 51
 - - допускается иммунизация ко-ров- RB 51
 - Сероисследование РБП и ИФА .
- **МРС:**
Иммунизация молодняка 3-4 месяцев – Rev-1;
- Иммунизация (реимунизация) маточного поголовья - Rev-1



Ибрагимов П.Ш., д.в.н., профессор, директор РГП «Республиканская ветеринарная лаборатория»



Министерство сельского хозяйства Республики Казахстан *Слайд 1*
Комитет ветеринарного контроля и надзора
Республиканская ветеринарная лаборатория

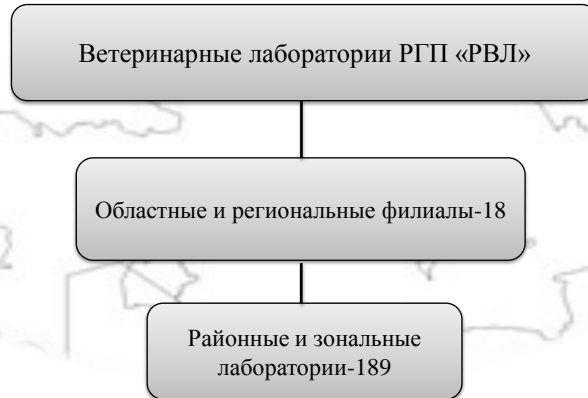


Министерство сельского хозяйства Республики Казахстан *Слайд 2*
Комитет ветеринарного контроля и надзора
Республиканская ветеринарная лаборатория

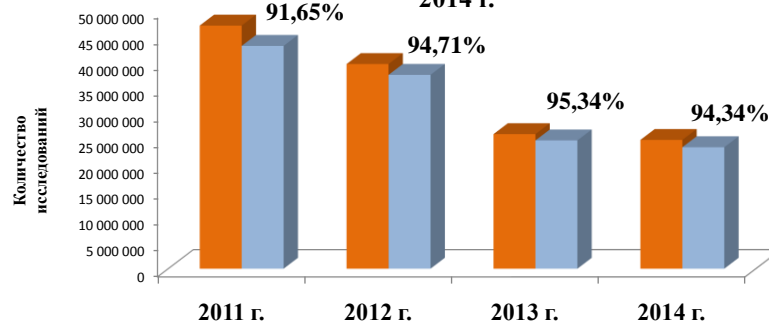
Диагностика заболеваний бруцеллеза сельскохозяйственных животных в Казахстане

*д.в.н. профессор Ибрагимов П.Ш.
Генеральный директор*

Алматы, 2014 г.



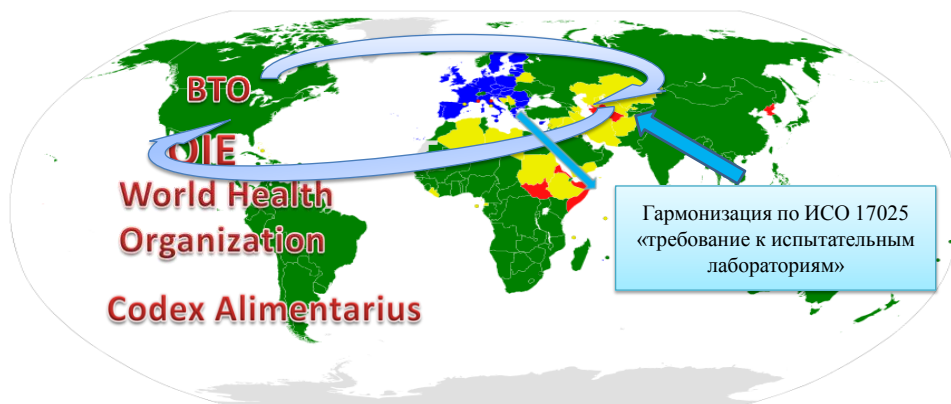
Доля объема исследования болезни бруцеллез в общем объеме исследований особо опасных болезней животных с 2011 г. по 2014 г.



- Количество исследований согласно календарному плану, в ...
- Бруцеллез (классические, бактериальные методы, ИФА, ПЦР)

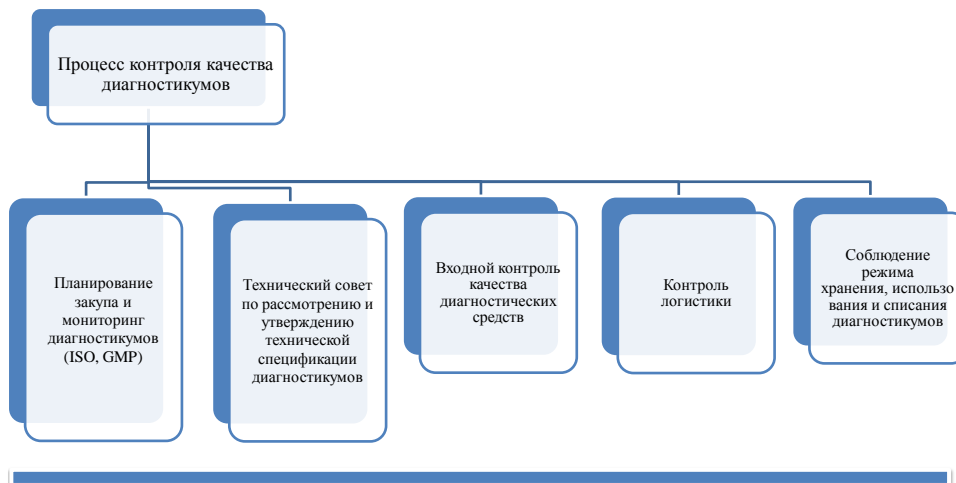


Международные стандарты необходимые для организации лабораторного дела

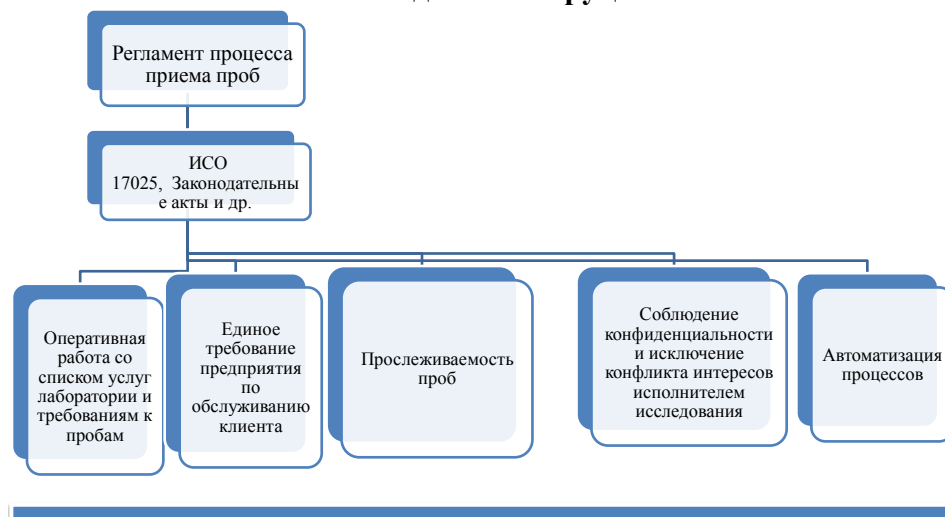




Обеспечение качества закупаемых диагностикумов



Единый стандарт качества предприятия по исследованию бруцеллеза





Единый стандарт качества предприятия по исследованию бруцеллеза



Единый стандарт качества предприятия по исследованию бруцеллеза





Сытник И.И., директор РГП «Национальный референтный центр по ветеринарии»

МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН
Комитет ветеринарного контроля и надзора



РГП «Национальный референтный центр по ветеринарии»



Тема:Международный опыт борьбы с бруцеллезом. Рекомендации МЭБ.

Рекомендуемые диагностические тесты по бруцеллезу МЭБ.

Глава кодекса	Глава руководства	Наименование болезни	Рекомендуемые МЭБ диагностические тесты
11.3	2.4.3.	Бруцеллез крупного рогатого скота	ВВАТ (РБП); CF (РСК); ELISA (ИФА); FPA (ФПА).
14.1.	2.7.2.	Бруцеллез овец и коз	ВВАТ (РБП); CF (РСК); ELISA (ИФА); FPA (ФПА).
14.7	2.7.9.	Эпидидимит баранов	CF (РСК)
15.4	2.8.5.	Бруцеллез свиней -	ВВАТ (РБП); CF (РСК); ELISA (ИФА), FPA (ФПА).

«Благополучный штат»

- это штат, в котором непрерывно осуществляются соответствующие меры надзора, в котором не регистрируются случаи бруцеллеза в данный момент и в котором они не регистрировались по крайней мере в течение года до объявления штата благополучным по бруцеллезу.

Любые зарегистрированные очаги бруцеллеза среди других видов домашних животных локализируются строгими карантинными мерами. Большинство благополучных штатов не имеют неизвестных очагов бруцеллеза среди других видов домашних животных.

КРС можно перемещать из благополучного штата без проверки крови. Необязательно ставить такой скот на карантин или вновь проверять его по прибытии на место назначения.

КРС, предназначенный вывозу из благополучного штата, не обязательно вакцинировать, если только он не предназначается для штата «В» или «С».

Штат «А»

- это штат, в котором непрерывно осуществляются меры надзора и в котором в течение предшествующих 12 месяцев зарегистрировано не более 2,5 бруцеллезных стад на каждые 1000 стад.

КРС, подлежащий вывозу из штата «А», проверяется за 30 дней до перевозки. Настоятельно рекомендуется ставить такой скот на карантин по прибытии на место назначения до тех пор, пока он не будет проверен с отрицательным результатом через 45-120 дней после прибытия.

Штат «В»

- это штат, в котором непрерывно осуществляются соответствующие меры надзора, но в котором в течение предшествующих 12 месяцев зарегистрировано 2,5 – 15 бруцеллезных стад на каждые 1000 стад.

КРС, подлежащий вывозу из штата «В» должен проверяться за 30 дней до перевозки и по прибытии на место назначения, его ставят на карантин и вновь проверяют.

Такой скот должен иметь разрешение на ввоз из штата назначения. Весь молочный скот, который вывозится из штата «В», должен быть официально вакцинированным. Весь мясной скот должен быть официально вакцинированным, если он предназначен для штата «С».

Штат «С»

- это штат, в котором непрерывно осуществляются соответствующие меры надзора, но в котором в течение предшествующих 12 месяцев зарегистрировано более 15 бруцеллезных стад на каждые 1000 стад.

Непривитый скот из штата «С» можно вывозить, если он прошел две отрицательные проверки через интервал по крайней мере в 60 дней. Вторая проверка должна быть сделана за 30 дней до вывоза. Официально привитые животные должны пройти отрицательную проверку за 30 дней до вывоза.

Такой скот должен иметь разрешение на ввоз. По прибытии на место назначения скот надо ставить на карантин до проверки с отрицательным результатом. Весь скот, подлежащий вывозу из штата «С» должен быть официально вакцинированным.

Меры соответствующего непрерывного надзора за бруцеллезом в США

Кольцевая проба - надзор путем проверки молока в молочных стадах, продающих молоко в промышленном масштабе.

Пробы молока берут по крайней мере 4 раза в год на всех молочных заводах штата. Ведется учет, свидетельствующий о том, что каждое стадо в штате проверялось по молоку по крайней мере 3 раза в год.

В стадах с подозрительными пробами молока кровь проверяют в течение 30 дней после получения подозрительной пробы.

Программа проверки рыночного скота - надзор данным методом касается стад всех типов.

Он заключается в том, что скот, предназначенный к убою, подвергается мечению бумажными ярлыками. Эти ярлыки приклеиваются на аукционах торговцами скотом, имеющими дело с животными такого типа. Пробы крови берут от этих коров и быков при убое. Кровь проверяют в лаборатории и по бумажным меткам с номерами и определяют стада, из которых происходят положительные животные.

Такие стада должны проверяться в течение 30 дней после обнаружения положительной пробы крови в благополучных стадах и в штатах класса «А» и в течение 45 дней в штатах класса «В» и «С».

В целях эффективности, кровь отбирается у 95 % всех коров и быков, убиваемых на каждой бойне в штате.

В программе искоренения бруцеллеза США использовались 4 официальных теста и 2 допустимых скрининг-теста.

К официальным тестам относятся:

1. стандартная реакция агглютинации в пробирке;
2. стандартная реакция агглютинации на платах;
3. реакция агглютинации с риванолом на платах;
4. реакция связывания комплемента.

К допустимым скрининг-тестам относятся:

1. реакция с забуференным кислым антигеном на платах (ВРАТ)
2. реакция с забуференным бруцеллезным антигеном (ВВАТ) или кард-тест, т. е. роз-бенгал проба (РБП).

ВЫСТУПЛЕНИЯ УЧАСТНИКОВ МЕЖДУНАРОДНОЙ КОНФЕРЕНЦИИ «НАУЧНЫЕ И ПРАКТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ БОРЬБЫ С БРУЦЕЛЛЕЗОМ ЖИВОТНЫХ»

КАЗАХСКИЙ НИВИ В ОБЕСПЕЧЕНИИ ВЕТЕРИНАРНОГО БЛАГОПОЛУЧИЯ ЖИВОТНОВОДСТВА РЕСПУБЛИКИ

Султанов А.А., генеральный директор
ТОО «Казахский научно – исследовательский ветеринарный институт»

Научное обеспечение ветеринарного благополучия животноводства Республики Казахстан осуществляется, наряду с другими, учеными Казахского научно-исследовательского ветеринарного института и пяти его филиалов, которые проводят работу самостоятельно и в комплексе с 10 ведущими научными учреждениями из 5 стран мира.

Работа проводится в 8 подразделениях института, где осуществляют свою деятельность 104 научных сотрудника, в том числе 19 докторов наук и 41 кандидат наук.

На сегодняшний день завершена капитальная реконструкция инфраструктуры института, закуплено 529 единиц мебели и 298 единиц современного лабораторного оборудования. Проведена работа по аккредитации лабораторий как испытательного центра по диагностике особо опасных инфекционных и инвазионных болезней животных, пищевой безопасности, по сертификации биоветпрепаратов, кормов и кормовых добавок в соответствии с требованиями СТ РК ИСО/МЭК 17025. Получено положительное заключение Департамента Комитета госсанэпиднадзора по г.Алматы на соответствие лабораторных помещений санитарным требованиям СНиП РК и Научно-производственного центра санитарно-эпидемиологической экспертизы и мониторинга МЗ РК на работу с микроорганизмами II, III, IV групп патогенности.

Завершена работа по аттестации рабочих мест, внедрению стандарта СТ РК ИСО 9001-2009, получен знак ILACMRA и NCA, соответствующий международной аккредитации.

Институтом за последние 20 лет разработаны и получены: 93 авторских свидетельств СССР, более 500 предпатентов, инновационных патентов и патентов Республики Казахстан, 439 рекомендаций, методических указаний и стандартов, защищено 68 докторских, 379 кандидатских диссертаций, издано 59 томов трудов, 40 монографий. Разработано и предложено производству более 100 диагностикумов, сывороток и вакцин, антибактериальных, противопаразитарных, терапевтических и дезинфицирующих средств. Впервые в истории аграрной науки Казахстана институтом продано 6 лицензий на использование изобретений, прибыль (роялти) от продажи которых составила более 100 млн. тенге.

По результатам завершенных НИР институт принимает участие в различных государственных закупках и тендерах. По подпрограмме 052 «Диагностика заболеваний животных» ежегодно поставляются для РВЛ набор для диагностики эпизоотического лимфангоита лошадей в РДСК, питательная среда Левенштейна-Йенсена, набор для диагностики инфекционного эпидидимита баранов в РДСК. Разработки института имеют спрос и в странах ближнего зарубежья. Так, например, в 2012 году в Республику Азербайджан были поставлены розбенгал-антиген для ПРА при диагностике бруцеллеза животных и ППД-туберкулин для млекопитающих.

Доказательством высокого профессионализма наших ученых в науке Казахстана являются высокие рейтинговые показатели НИР среди 23 институтов системы КазАгроИнновация.

В настоящее время основной целью деятельности института является усовершенствование имеющихся и разработка новых диагностических и лечебно-профилактических препаратов против болезней животных, отработка технологии и выпуск ветеринарных препаратов, разработка системы мер борьбы, оказание научно-методической и практической помощи с заболеваниями сельскохозяйственных животных и птиц инфекционной, паразитарной и незаразной этиологий.

Надо отметить, современная мировая наука в области диагностики, терапии и профилактики инфекционных и паразитарных заболеваний достигла значительных успехов.

В области диагностики успешно развиваются методы, основанные на применении полимеразной цепной реакции (ПЦР), которые позволяют проводить дифференциальную диагностику возбудителей, идентификацию их в организме и объектах внешней среды. Развитие этих методов с применением методологии сиквенса позволило установить генетический код многих возбудителей. В результате во многих странах созданы и активно развиваются базы данных по циркуляции микроорганизмов.

Казахский НИВИ с 2002 по 2007 годы являлся Республиканским депозитарием коллекций микроорганизмов - возбудителей болезней II – IV групп патогенности. В 2007 году 344 штамма микроорганизмов – 286 штаммов бактерий, 34 штамма вирусов, 21 штамм патогенных грибов и 3 штамма кровепаразитарных простейших были переданы в Республиканскую коллекцию микроорганизмов НРЦВ.

Только за последние 3 года институтом было выделено, паспортизировано и депонировано в республиканскую коллекцию микроорганизмов 25 штаммов. Начаты работы по изучению нуклеотидной последовательности их генома, т.е. проводится генотипирование сохраняемых и вновь выделенных штаммов; идет паспортизация штаммов с заполненными генетическими свойствами.

Перечень микроорганизмов института сегодня представлен набором эталонных, музейных, производственных, эпизоотических штаммов, используемых для изготовления препаратов ветеринарного назначения, с

помощью которых обеспечивается благополучие по опасным и особо опасным инфекциям, предотвращаются эпизоотии, что является одним из основных стратегических направлений ветеринарной науки страны.

Внедрение компьютеров, микропроцессоров, робототехники и нанотехнологий привело к революционным изменениям в области серологических исследований, что позволило механизировать, автоматизировать и интенсифицировать процесс проведения серологических реакций в микродозах сыворотки крови. Применение различных модификаций иммуноферментного анализа (ИФА) дает возможность получать инструментальные данные о результатах серологических реакций в цифровом формате, которые могут подвергаться различным видам математической и статистической обработки, что, в свою очередь, повышает информативность, качественность и достоверность этих результатов.

Применение высокоэффективных хроматографов, различных видов электрофореза, суперцентрифуг, белковых и аминокислотных анализаторов, автоматов по подсчету структурных элементов крови вкладывает в руки ученых новейшие методы по мониторингу инфекционного процесса и его динамических взаимодействиях с иммунной системой организма, изучению патологических изменений в организме, выявлению и выделению наиболее эффективных биоинформативных структур, которые могут найти применение при конструировании диагностических и профилактических препаратов.

Методы наработки моноклональных антител, выделение и глубокое разделение по фракциям иммуноглобулинов, иммобилизация их на различных носителях привели к внедрению в широкую ветеринарную практику высокоэффективных, портативных экспресс-тестов для диагностики инфекционных заболеваний (латексагглютинация, диагностические пленки, диагностические стрипы). При этом первоочередной задачей научных изысканий в области диагностики бруцеллеза животных в Казахстане является разработка доступных по стоимости высокочувствительных и специфичных диагностикумов, позволяющих повысить информативность и оперативность рутинных и современных серологических тестов. Соблюдая рекомендации Санитарного кодекса наземных животных МЭБнами были разработаны инновационные способы конструирования диагностикумов для РА, РСК/РДСК, РБП/ПРА, КР с молоком, которые имеют свои отличия от известных ранее диагностикумов.

В области терапии заболеваний широко применяются высокоэффективные, пролонгированные, синтетические антибиотики 4-го и 5-го поколения. Постоянно совершенствуются методы их доставки в различные органы инфицированного организма (пролонгирующие гели и полимеры, микрокапсулы с программируемым растворением оболочки, подшивка химических функциональных групп вызывающих селективную сорбцию антибиотика в определенных тканях микроорганизма и структурах

микроорганизма, пролонгированные подкожные и внутрикожные капсулы, электронные нанотаблетки). Казахским НИВИ предложены и успешно применяются в производстве антибактериальные препараты, которые способствуют купированию острого течения инфекционного процесса при бруцеллезе.

В области вакцинопрофилактики активно внедряются новые селекционированные высокоиммуногенные вакцинные штаммы, в том числе полученные генно-инженерными методами. Создание высокоэффективных адъювантов (в том числе на основе синтетических полимеров и фуллеренов), выделение из клеток микроорганизмов высокочистых антигенных структур, а в некоторых случаях и их направленный синтез, налаживание широкого производства иммуномодуляторов вывело ветеринарную медицину на путь повсеместного вытеснения живых вакцинных препаратов различными неживыми вакцинами. Кроме того, современные генно-инженерные методы спровоцировали разработку технологий производства белков-антигенов, присущих тому или иному возбудителю, с помощью культивирования непатогенных, а значит безопасных, микроорганизмов, в генетический аппарат которых встроен соответствующий ген, ответственный за продуцирование такого белка.

Несмотря на действенность диагностических исследований животных с удалением больного скота, результаты борьбы с бруцеллезной инфекцией в настоящее время в РК, показывают, что оздоровление неблагополучных хозяйств от бруцеллеза животных с широким распространением инфекции, без применения средств специфической профилактики недостаточно эффективно. Поэтому вопросы создания средств специфической профилактики, направленных на искоренение бруцеллезной инфекции животных в настоящее время вновь выдвинулись на первый план. Особый научный интерес представляет использование штаммов микроорганизмов, циркулирующих на территории республики, для производства вакцин в оптимальном технологическом режиме, что позволит удешевить себестоимость продукции, улучшить качество препарата, повысить отдачу от применения и снизить поствакцинальные осложнения.

В некоторых зарубежных странах, где проблема полной ликвидации бруцеллеза окончательно не решена и временами регистрируется указанная инфекция, используются инактивированные противобруцеллезные вакцины: в Голландии - вакцина для крупного рогатого скота «Duphavak» из штамма *B. abortus* 45/20; во Франции вакцины из штамма *B. melitensis* 53H38 «Abortox» и «Aborlane», которые не обладают отрицательными свойствами и создают иммунитет в среднем равный иммунитету, создаваемому живыми вакцинами, не загрязняя окружающую среду. В Америке применяют для иммунизации крупного рогатого скота живую вакцину из шт. *B. abortus* RB-51. В России в комплексе противобруцеллезных мероприятий наряду с вакциной *B. abortus* 19 применялась вакцина из штамма *B. abortus* 82, которая была получена из слабоагглютиногенного диссоцианта SR-формы К.М. Салмаковым,

инактивированная вакцина KB 17/100, а для мелкого рогатого скота вакцина из шт. *B. melitensis*Rev-1.

В настоящее время в Казахском НИВИ разработаны и предлагаются для внедрения в производство 3 вакцины против бруцеллеза животных:

- неживая вакцина против бруцеллеза животных;
- инактивированная вакцина против бруцеллеза животных;
- инактивированная вакцина против бруцеллеза животных 960/W 1.

Разработанные нами неживые вакцины позволяют обходить иммунодефицитные состояния за счет использования иммуномодуляторов. Введение неживой вакцины на фоне хронической или латентной инфекции приводит к провокации продуцирования специфических антител и выявлению ареактивных и гипореактивных животных, причем феномен провокации не сопровождается увеличением патологических проявлений, как это бывает при использовании живых вакцин.

Таким образом, результаты проведенных исследований в области бруцеллеза животных, за все годы научной деятельности Казахского НИВИ, по разработке инновационных способов изготовления и последующего применения в практике диагностических и лечебно-профилактических препаратов нашли отражение в опубликованных 600 научных статьях, 40 рекомендациях, 8 монографиях, 10 плакатах и буклетах, 10 брошюрах. Утверждено и подготовлено к согласованию в МСХ РК 12 нормативно-технических документов на различные биопрепараты, получено более 70 авторских свидетельств.

Наиболее ценные материалы научно-исследовательских работ были представлены к защите в диссертационных советах в виде 17 докторских диссертаций и 65 научных работ на соискание ученой степени кандидата наук.

Уважаемые коллеги, развитие информационных технологий вызвало консолидацию усилий ученых развитых стран в борьбе с болезнями животных, облегчило доступ к наиболее свежей и передовой научной информации, позволило наблюдать целостную картину распространения инфекции в мировом масштабе, что, в свою очередь, закладывает основы для формулирования новых фундаментальных закономерностей развития эпизоотии.

Глобализация торговли продовольствием обусловила тенденцию повышения риска распространения заразных болезней животных, в том числе опасных и для человека. Поэтому одним из приоритетов ветеринарной службы должна быть программа мониторинга биологической безопасности продукции и сырья животного происхождения. Разработанный нами проект «Научное обеспечение оценки и управления рисками в области ветеринарной безопасности» соответствует цели и задачам Государственной программы по обеспечению ветеринарной и пищевой безопасности «Агробизнес-2020».

В результате выполнения проекта будут проведены исследования по оценке риска распространения и прогнозирования болезней животных, в том

числе особо опасных, карантинных и эмерджентных для эффективной реализации проекта «Повышение экспортного потенциала мяса КРС». Разработана и внедрена научно-обоснованная система мероприятий по управлению эпизоотическим процессом и купированию очагов особо опасных болезней животных, согласно требованиям МЭБ. Разработана и внедрена система эпизоотологического надзора, математического моделирования и прогнозирования болезней (ГИС-программа) в рамках выполнения Программы «Агробизнес-2020» по развитию системы ветеринарной безопасности страны. Разработаны и усовершенствованы методы мониторинга и контроля за безопасностью продуктов растительного, животного происхождения и кормов, содержащих генетически модифицированные организмы. Проведена индикация и идентификация эпизоотических штаммов, выделенных из очагов инфекционных болезней на территории РК.

Таким образом, сохранение благополучия имеющегося здорового поголовья скота, а также разработка эффективной системы профилактических мероприятий, включающих применение вакцинных препаратов и высокоинформативных экспресс-методов диагностики, являются актуальной задачей ветеринарной науки и практики. Только на основе объединения усилий научного потенциала и практической ветеринарной службы в Казахстане может быть решена проблема бруцеллеза.

Я убежден, что дискуссии на нашей конференции внесут достойный вклад в дело совершенствования ветеринарной науки и практики Казахстана.

Хотел бы пожелать всем участникам конференции плодотворного обмена опытом, интересных идей и успехов в нашей важной работе!

ПРОБЛЕМА БОРЬБЫ И ПРОФИЛАКТИКА БРУЦЕЛЛЕЗА В ЗАПАДНО-КАЗАХСТАНСКОЙ ОБЛАСТИ

Абсатиров Г.Г., Гусманов М.Г.

«Западно - Казахстанский аграрно - технический университет
имени Жангир хана»

Общеизвестно, что в стратегии борьбы с инфекционными болезнями основополагающим положением является разрыв эпизоотической цепи, т.е. эффективность противоэпизоотических мероприятий будет действительна, когда они направлены одновременно на все звенья эпизоотической цепи.

Однако, как показывает практика борьбы с бруцеллезом, у нас имеются проблемы, носящие системный характер, и присущие, практически для всех регионов Казахстана.

Первая проблема - это своевременное полное выявление и изоляция источника возбудителя инфекции, или первого звена эпизоотической цепи.

Для полного выявления источника инфекции необходимо актуализировать планирование исследуемого поголовья животных. Указанные планы должны быть реалистичными и формироваться по принципу «снизу - вверх». То есть начинаться с сельских округов, районов, областей и завершаться республиканским показателем. Назрела пора внести коррективы в финансирование диагностических исследований. В последние годы руководством страны на развитие и деятельность ветеринарной службы ежегодно выделяются значительные материальные средства, но эффективность их использования оставляет желать лучшего. В настоящее время финансирование на предстоящее ежегодное исследуемое поголовье определяется республиканским ветеринарным ведомством в виде контрольных показателей, но фактическая численность поголовья превышает эти показатели и выделяемые диагностикумы не позволяют провести полный охват исследуемых животных. Также не учитывается ежегодная динамика изменения численности поголовья связанная с миграцией населения, закупа поголовья животных по госпрограммам или для племенных целей. В случае выявления положительно реагирующих животных, особенно в благополучных хозяйствующих субъектах, повторные исследования не проводятся. Неполный охват, нарушение кратности исследований способствуют сохранению источника инфекции, а попытки провести повторные исследования, ограничиваются наличием диагностикумов и могут служить причиной проверок со стороны органов финансового контроля.

Формирование планов и выявление источника инфекции также возможно только при четко налаженной системе идентификации животных. Давно назрела необходимость перейти на идентификацию качественными бирками, с последующим дублированием в виде татуировок на ушных раковинах или роговых номерах. Было бы идеальным использование электронной идентификации путем чипирования. В нашем регионе отдельные хозяйствующие субъекты (КХ «Шунайбеков», «Азамат», ТОО «Ізденіс») с целью учета внедрили электронную идентификацию путем чипирования. Также требует решения создание постоянно возобновляемой информационной программы отслеживания динамики движения животных при изменении их индивидуальных номеров.

Другой стороной воздействия на первое звено, является изоляция выявленных положительно реагирующих животных. Это процесс в настоящее время переложено на плечи владельцев животных, которые в силу объективных и субъективных причин не мотивированы к скорейшему избавлению от больных животных. Несмотря на то, что увеличены сроки изоляции больных животных, системно не решается вопрос о механизме доставки и убоя больных животных. Издержки по доставке и стоимость, предлагаемая мясоперерабатывающими предприятиями за убой положительно реагирующих животных, всячески задерживают сроки изоляции и убоя больных животных.

Для решения этого вопроса требуется реализация п. 24 Постановления Правительства Республики Казахстан от 31 мая 2011 года № 611, которое предусматривает, при обязательном обезвреживании (обеззараживании) и переработке без изъятия животных, продукции и сырья животного происхождения, представляющих особую опасность для здоровья животных и человека, за счет местного бюджета возмещается стоимость в размере, не превышающем 30% от рыночной стоимости одной головы животного и одного килограмма продукции и сырья животного происхождения на соответствующей территории, а остальная часть стоимости выплачивается организацией по переработке продукции и сырья животного происхождения.

По Западно - Казахстанской области лишь в Сырымском и Бурлинском районах, при формировании бюджета предусмотрены средства на транспортировку выявленных на бруцеллез положительно реагирующих животных.

Еще одним источником для материальной заинтересованности владельцев животных в сдаче больного скота служат ст. 54 (п.8), 56 (п.7) (Расходы бюджета области и района) Бюджетного Кодекса Республики Казахстан, предусматривающие организацию санитарного уоя больных животных и возмещение владельцам стоимости обезвреженных (обеззараженных) и переработанных без изъятия животных, продукции и сырья животного происхождения, представляющих опасность для здоровья животных и человека. В настоящее время указанные республиканские нормативные акты не исполняются.

Следующая проблема борьбы – это реализация мероприятий направленных на второе звено эпизоотической цепи, т.е. разрушение механизмов и факторов передачи возбудителя бруцеллеза от источника инфекции восприимчивым животным. Противоэпизоотические мероприятия в этом направлении предполагают проведение механической очистки и дезинфекции при каждом случае выявления положительно реагирующих животных, которые должны проводиться специализированными механизированными средствами, с последующим обязательным контролем качества дезинфекции. На сегодняшний день более или менее качественная дезинфекция проводится в неблагополучных пунктах силами и средствами областного эпизоотического отряда. В случае выявления положительно реагирующих в условно-благополучных субъектах животноводства и частных подворьях, все ветеринарно-санитарные мероприятия проводятся за счет владельцев животных. Естественно владельцы животных, особенно индивидуального сектора не всегда готовы оплатить услуги по дезинфекции. Кроме того практически никто не проводит контроль ее качества. По данным лабораторий всех уровней, проведение контроля качества дезинфекции занимает ничтожно малую долю.

Третья проблема борьбы – профилактическая работа с восприимчивым поголовьем, основным элементом которой является специфическая профилактика, т.е. применение противобруцеллезных вакцин. Здесь очень

важно строго соблюдать п.1063 постановление Правительства Республики Казахстан от 9 августа 2013 года № 814 «Об утверждении Ветеринарных (ветеринарно-санитарных) правил», предусматривающих применение только вакцин зарегистрированных в Республике Казахстан ведомством уполномоченного органа в области ветеринарии, а также зарегистрированных в государствах-членах Таможенного союза. Сегодня во многих регионах активно рекламируют и предлагают американскую вакцину из штамма RB-51, которая практически не известна ветеринарным специалистам и не применяется в государствах-членах Таможенного союза.

Новой проблемой в борьбе с бруцеллезом, в частности искоренения источника возбудителя инфекции, могут стать противоречивые толкования п.1070, п. 1079 и п.1098 постановления Правительства Республики Казахстан от 9 августа 2013 года № 814 «Об утверждении Ветеринарных (ветеринарно-санитарных) правил», где в одном случае положительно реагирующие овцы и козы подлежат убою, в другом случае подлежат обязательному изъятию и уничтожению в порядке установленном Правительством Республики Казахстан.

Требуется решения проблема создания для ветспециалистов надлежащих условий для реализации своей профессиональной деятельности. В этом вопросе имеются положительные подвижки, созданы коммунальные предприятия (ветеринарные станции) в районах, выделен автотранспорт, определена приемлемая заработная плата. Но вместе с тем в сельских округах не налажена работа ветеринарных пунктов, у ветспециалистов сельских округов нет мало-мальски приспособленного помещения, где бы были созданы условия для хранения соответствующего инвентаря, оборудования, спецодежды, проведения специальных манипуляций связанных с обработкой патологического материала, проб крови и др. Потребители ветеринарных услуг обращаются к специалистам по месту жительства, что не способствует укреплению их имиджа, авторитета и создают потенциальную угрозу заражения болезнями для членов семьи ветспециалиста.

На сегодняшний день научными учреждениями предложены конкретные мероприятия воздействия на все звенья эпизоотической цепи, кроме того работа в этом направлении постоянно совершенствуется.

Основой противобруцеллезных мероприятий должно стать неукоснительное исполнение регламентированных положений инструкции, постановлений Правительства Республики Казахстан и др. нормативных актов касающихся мер борьбы и профилактики бруцеллеза.

ЭПИДЕМИЧЕСКАЯ СИТУАЦИЯ ПО БРУЦЕЛЛЕЗУ В РЕСПУБЛИКЕ КАЗАХСТАН И ПРИНИМАЕМЫЕ МЕРЫ ПО ЕГО ПРОФИЛАКТИКЕ

Жандосов Ш .У., Мырзабекова А.А., Усенов У.Б., Дайрабекова А.Т.,
Мырзабеков А.М.

РГКП «Научно - практический центр санитарно - эпидемиологической
экспертизы и мониторинга» КГСЭН МЗ РК
Казахский национальный медицинский университет им. С.Д.
Асфендиярова

Ежегодно в республике регистрируется более 1,5 тысяч случаев впервые диагностированного бруцеллеза среди людей.

Министерствами сельского хозяйства и здравоохранения РК ведется целенаправленная работа по профилактике бруцеллеза в стране. Создана необходимая законодательная и нормативно-правовая база. Борьба с бруцеллезом значительно активизировалась, в стране проводится большая работа по выявлению больных животных, массовое исследование всех видов сельскохозяйственных животных на бруцеллез. Проводится своевременное изъятие больного скота и дальнейшая переработка или их уничтожение, а также оздоровление неблагополучных пунктов по бруцеллезу скота.

Проводимые противобруцеллезные мероприятия, проведенные в последние годы позволили стабилизировать и снизить заболеваемость бруцеллезом среди населения Республики Казахстан (интенсивные показатели заболеваемости бруцеллезом в РК на 100 тыс. населения в 2004 году были -23,7 в 2008 году соответственно - 16,4 и в 2013 году - 8,5). По сравнению с 2004 годом отмечается снижение уровня заболеваемости почти в 3 раза, а с 2008 годом в 2 раза.

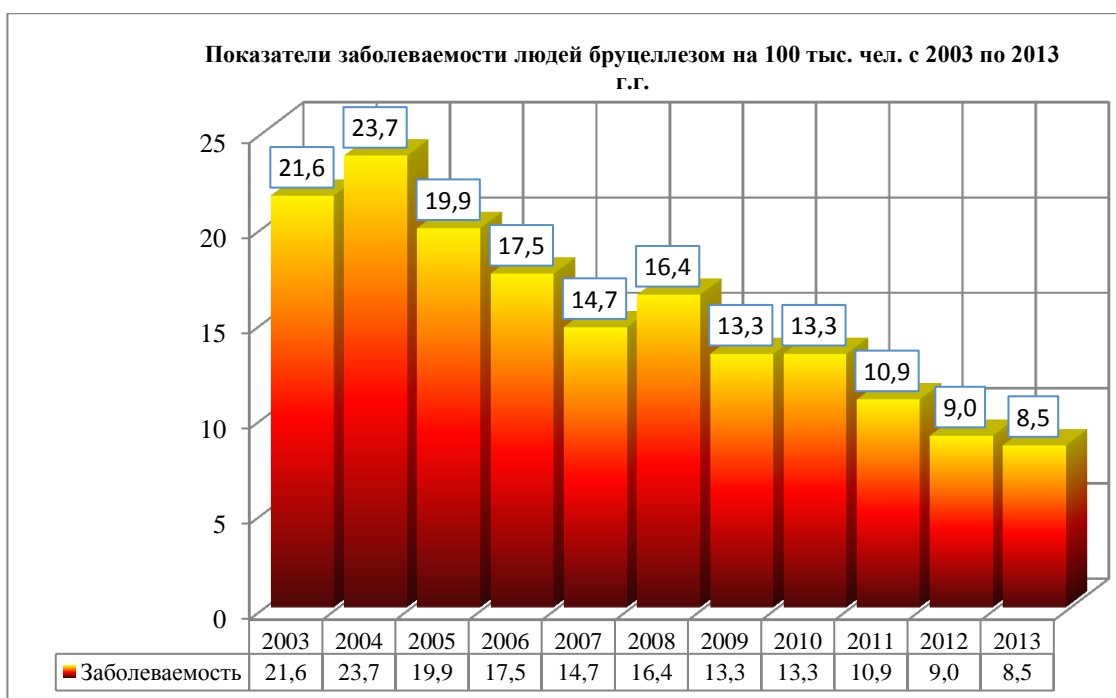


Рисунок 1 – Показатели заболеваемости людей бруцеллезом на 100 тысяч человек с 2003 по 2013 годы

В 2013 году в республике зарегистрировано 1443 случая бруцеллеза среди людей, показатель заболеваемости на 100 тысяч населения составил 8,49 против 1509 случаев и показателя 9,02 за 2012 год, т.е. уровень заболеваемости снизился на 5,8%.

В некоторых областях отмечается значительное снижение заболеваемости: в Алматинской - 18,0%, Жамбылской - 8,5% и Карагандинской - 2,2 раза, а также от 1 до 9 случаев снижена в Актюбинской, Восточно-Казахстанской, Западно-Казахстанской, Северо-Казахстанской областях.

Значительный рост уровня заболеваемости отмечается в Акмолинской - 1,8 раза, Атырауской - 3,7 раза, Южно-Казахстанской - 1,8% областях.

Выше среднереспубликанского показателя заболеваемости на 100 тысяч населения (8,49) отмечается в Жамбылской (26,78), Алматинской (16,12), Южно-Казахстанской (16,15), Кызылординской (11,48) областях.

На долю жителей сельской местности приходится - 85,3%.

В связи с использованием труда детей по уходу за животными, продолжает иметь место выявление бруцеллёза среди детей до 14 лет и за истекшее время среди данного контингента выявлено 108 случаев впервые диагностированного бруцеллеза, что составляет 12,4% от общего числа зарегистрированных больных бруцеллёзом. В сравнении с аналогичным периодом прошлого года отмечен рост бруцеллёза среди детей на 3,9%. Высокие показатели заболеваемости бруцеллёзом среди детей отмечаются в Алматинской области - 6,7 на 100 тыс. населения, в Южно-Казахстанской - 8,2; Жамбылской - 7,3; Кызылординской - 6,5.

В целом по республике не зарегистрировано профессиональных заболеваний.

В трех районах Южно-Казахстанской области зарегистрировано 4 групповых случаев заболевания людей бруцеллезом с общим количеством заболевших - 25 человек.

Основными источниками инфекции остаются сельскохозяйственные животные индивидуального сектора, в том числе: мелкий рогатый скот - в 65,1%, крупный рогатый скот - в 18,7%. В 226 случаях (15,6%) источники заражения не установлены, а 1,1% источниками стали другие животные. Высокие проценты неустановленных источников заражения людей отмечаются: в Кызылординской - 59,5 %, Жамбылской - 15,9%, и Южно-Казахстанской - 14,6%, областях, что говорит о низком качестве эпизоотолого-эпидемиологического обследования очагов на местах.

Лабораториями особоопасных инфекции областных Центров санитарно - эпидемиологической экспертизы обследовано бактериологическим методом 3962 подозрительных больных на бруцеллез, при этом выявлены возбудители бруцеллеза в 1146 случаях или 28,9%.

В отчетном году было выявлено 1359 очагов бруцеллеза, все очаги были обследованы своевременно. При этом выявлено 36240 контактных лиц с больными животными. Из них обследовано серологическим методом - 36101 контактных лиц, при этом выявлено 141 больных. Было обследовано больных бактериологическим методом (гемокультура) - 3962 человека, при этом высеян возбудитель бруцеллеза у - 1146 лиц (28,9%). Высокий процент бактериологического подтверждения диагноза отмечены в Южно-Казахстанской - 87,8%, Кызылординской - 23,7%, Жамбылской - 24,5%, Алматинской - 19,5 областях.

Эпизоотическая ситуация.

По данным областных Департаментов ветеринарного надзора областей в 2013 году при исследовании ветеринарными лабораториями в благополучных по бруцеллезу хозяйствах выявлено более 29 тыс. голов (0,5%) больных КРС, соответственно выявлено более 46 тыс. больных голов (0,2%) МРС. Весь больной крупный рогатый скот сдан на убой, а мелкий рогатый скот изъят и уничтожен.

По республике в 2013 году были объявлены неблагополучными по бруцеллезу КРС 32 пункта, из них оздоровлено 19 пунктов; соответственно по МРС объявлено 129, оздоровлено 110 пунктов. В населенных пунктах мероприятия по оздоровлению животных от бруцеллеза проводятся недостаточно. В Восточно-Казахстанской области были объявлены неблагополучными 12 населенных пунктов по КРС, из них оздоровлено 7 пункта, а в Актобинской - соответственно 8 - 4, в Западно-Казахстанской - 5 и 3. А по мелкому рогатому скоту в ВКО - 43 - 37, Западно-Казахстанской области - 10- 4.

Несмотря на принимаемые меры все еще недостаточно ведется работа по учету и строительству ветеринарных объектов и контролю над их

санитарно-ветеринарным состоянием, а также работа по строительству скотомогильников.

Ослабление контроля над проведением противобруцеллезных мероприятий на животноводческих объектах способствует появлению и распространению скрытых очагов инфекции, о чем свидетельствует выявление больных людей на территориях, где ранее не зарегистрированы больные бруцеллезом сельскохозяйственные животные.

Принимаемые меры.

Проблема борьбы и профилактики бруцеллеза была определена одной из приоритетных задач 2013 года, поэтому органами государственного санитарно-эпидемиологического надзора усилены организационные и контрольные меры. В ходе санитарно-эпидемиологического надзора в 2013 году было выдано 3579 санитарных предписаний по устранению выявленных нарушений, наложено 188 штрафов, передано 7 дел в следственные органы, отстранено от работы 50 лиц.

Ситуации по заболеваемости населения бруцеллезом посвящено 215 статей в СМИ, 323 выступлений по радио и телевидению.

В 2013 году по вопросам бруцеллеза было принято 11 решений областных и 312 районных акиматов, 115 раз вопрос рассматривался на Координационных советах при акиматах районов и городов. На коллегиях областных департаментов госсанэпиднадзора вопрос заболеваемости рассмотрен 21 раз. Издано 32 приказов областных отделов здравоохранения, из них 28 – совместно с ТУ МСХ РК областей. Постоянно проводилась подготовка медицинских кадров.

Были приняты меры и со стороны государственного ветеринарного надзора областей и районов: на виновных лиц представлено 5453 санитарных предписаний, наложено 1178 штрафов, передано в следственные органы 7 материалов, отстранены от работы 22 человека. Опубликовано 196 статьи в газетах, 76 выступления по радио и телевидению.

Специалистами бывшей Республиканской СЭС и Алматинского филиала Государственного учреждения «НЦ МРМиЛД» МСХ РК, был разработан и издан совместный приказ Министерства здравоохранения РК № 63 от 10.02.06 года и Министерства сельского хозяйства РК № 109 от 23.02.06 года «Об утверждении схемы мониторинга за эпизоотической и эпидемической ситуацией по бруцеллезу в Республике Казахстан».

«Мониторинг эпизоотической и эпидемической ситуации по бруцеллезу в Республике Казахстан», предусматривает официальную, обязательную и достоверную информацию между департаментами ГСЭН МЗ РК и территориальными управлениями МСХ РК на всех уровнях (район, область).

Внедрение комплексного Мониторинга в системах МСХ РК и МЗ РК позволило оперативно реагировать на осложнения по бруцеллезу в стране.

В целях повышения уровня квалификации специалистов на местах нами, совместно с учеными Казахского национального медицинского

университета им. С.Д. Асфендиярова (Амиреев С.А.) разработаны **Методические рекомендации** «Стандартные определения случаев и алгоритм действий при инфекционных заболеваниях (бруцеллез)» и утверждены МЗРК 21.12.05г., которые способствовали правильной ориентации специалистов при проведении противоэпидемической и профилактической работы, упорядочиванию и систематизации их действий при принятии управленческих решений.

Выводы Проблемными вопросами остаются:

- широкое распространение бруцеллёза среди сельскохозяйственных животных всех форм собственности, особенно в южных регионах республики;

- недостаточность или отсутствие перерабатывающих предприятий по переработке больного скота на местах (убойные пункты, колбасные цеха), несоответствие требованиям НТД ветеринарно-санитарных объектов;

- неконтролируемая миграция, свободная купля-продажа животных в сопредельных неблагополучных по бруцеллёзу регионах и ввоз их в хозяйства без обследования и разрешения ветеринарной службы.

- не полный учёт и охват противобруцеллёзными мероприятиями поголовья скота частного сектора животноводства, нарушения владельцами ветеринарно-санитарных правил его содержания;

- одним из самых проблемных вопросов по ликвидации бруцеллеза в Казахстане остается вопрос выплаты денежной компенсации владельцам скота больного бруцеллезом, так, как выкуп больного скота проводится не по рыночным ценам и вынуждает владельцев перепродавать в другие хозяйства, что способствует распространению бруцеллеза;

- некачественное проведение эпизоотолого-эпидемиологического обследование возникшего очага бруцеллеза, следствием чего остаются не полностью выявленными источники возбудителя (за 2006 год не установлены источники в 18,2% или 368 случаях), несвоевременная и некачественная санация очага, что приводит к заражению людей в виде единичных и групповых заболеваниях.

СИТУАЦИЯ ПО БРУЦЕЛЛЕЗУ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА В ТОО «ВОСТОК МОЛОКО»

Сайлаубаев С., директор ТОО «Восток молоко»

Разрешите представить Вашему вниманию результаты внедрения в условиях хозяйств корпорации «Восток-Молоко» (Восточно-Казахстанская область) оптимальной системы противобруцеллёзных мероприятий у крупного рогатого скота, отразив итоги работы за период с конца 2012 года по настоящее время.

Однако прежде хотелось бы вкратце отразить состояние проблемы, которое предшествовало внедрению оптимальной системы противобруцеллезных мероприятий и, в конечном итоге, предопределило его, явившись, по сути, отправной точкой отсчета.

В Восточно - Казахстанской области в 2009 году эпизоотическая ситуация по бруцеллёзу стала крайне сложной. Не случайно 15 сентября 2009 г. при Областном Акимате было проведено совещание на тему «О неотложных мерах местных исполнительных органов по реализации Закона Республики Казахстан «О ветеринарии». На совещании были представлены статистические данные по бруцеллёзу КРС и овец. На 01.09.2009 года было официально открыто 52 пункта, неблагополучных по бруцеллезу животных, в течение указанного года было выявлено 18 130 голов КРС и 13 300 голов овец, больных бруцеллёзом. На нем много говорили о недостаточном материальном и финансовом обеспечении ветеринарной службы, о необходимости создания технической базы и организации просветительной работы. Помимо всего, был констатирован переход с 2007 года на тактику постепенного отказа от массовых вакцинаций животных при ряде болезней, в том числе при бруцеллезе, и отмечено неуклонное ежегодное снижение их объемов, вплоть до полной отмены.

При этом никого из руководства государственной ветеринарии не насторожили все возможные последствия данной тенденции.

Областной ветеринарной территориальной инспекцией были приведены финансовые расчёты, по которым получалось, что для оздоровления одного неблагополучного пункта в среднем требуется 20 млн. тенге.

К сожалению, реально необходимых действенных неотложных мер на совещании не было представлено, а потому эпизоотическая ситуация по бруцеллёзу в области ещё более осложнилась.

В частности, наше предприятие при наличии по сути пяти неблагополучных пунктов с широким распространением бруцеллезной инфекции среди крупного рогатого скота, стало одним из заложников непродуманной и непоследовательной стратегии государственной ветеринарной службы в вопросах борьбы с бруцеллёзом, а точнее, её отсутствия, как таковой.

Так, к началу 2009 года поголовье крупного рогатого скота на участках корпорации составляло 3800 голов, из них 1700 коров. Поставив перед собой задачу выхода на рубеж ежедневного надоя молока в объеме 25-30 тон, корпорация в конце января 2009 года закупила 1500 коров и нетелей в одном из хозяйств Шемонаихинского района, в целом на тот момент считавшемся благополучным по бруцеллёзу КРС. Это поголовье было размещено на территории Шемонаихинского района в одном из хозяйств корпорации (ТОО «Белокаменское»).

К началу 2010 года поголовье КРС на всех участках корпорации составляло уже 5000 голов, из них 2300 коров.

Проблемы начались с августа 2010 года, когда после проведенных плановых серологических исследований в ИФА было выявлено большое количество положительно реагирующих животных. Но до этого на отделении № 1 ТОО «Белокаменское» где содержались нетели, в марте-апреле месяце 2010 года прошли серийные аборт. Из-за халатной беспечности районной ветеринарной службы этот факт остался скрытым. В итоге к концу ноября 2010 года по причине бруцеллёза хозяйство потеряло 1500 голов КРС, в том числе 900 коров.

В течение 2011 года на участке Шемонаиха в ТОО «Белокаменское» при регулярных серологических исследованиях постоянно выявляли животных, положительно реагирующих на бруцеллез, которых сдавали на убой.

В этот же год проблема возникла и на участке Украинка, расположенном в Уланском районе. В итоге там было убито по причине бруцеллёза 550 голов крупного рогатого скота, в том числе 300 коров.

В результате в период с августа 2010 года по август 2012 года участки корпорации по причине бруцеллёза потеряли 2100 голов КРС, в том числе 1200 коров.

За это время, кроме серологических исследований и соответствующей сдачи реагирующего скота на убой, никаких кардинальных и конструктивных мер со стороны государственной ветеринарной службы принято не было. Мы уверенно шли к ликвидации всего поголовья, возмещать которое ни одна наша государственная программа не предусмотрела.

Идти по пути депопуляции поголовья, так широко применяемой на Западе (там, кстати, в этом направлении работают госпрограммы), с осуществлением комплекса ветеринарно-санитарных мероприятий и организацией биологического разрыва в отношении завоза нового благополучного поголовья сроком на год или несколько лет означало для нас одно – полную потерю животноводства и полеводства, ориентированного на кормопроизводство. Это неминуемо повлекло бы за собой потерю кадров полеводов, животноводов и специалистов: как минимум 500 человек остались бы без работы.

Вот на таком социально - экономическом фоне, сложившемся к концу 2012 года, было принято решение кардинально изменить ситуацию, для чего мы были вынуждены обратиться в лабораторию оптимизации противозoonотических систем Института экспериментальной ветеринарии Сибири и Дальнего Востока (г. Новосибирск, Россия) с просьбой о научно-методическом сопровождении необходимых для хозяйств корпорации противобруцеллезных мероприятий.

В результате был заключён договор, и началась планомерная целенаправленная совместная работа.

На ее первом этапе провели:

1. Анализ имеющихся в хозяйстве статистических и отчётных данных, касающихся бруцеллёза;

2. Комплексное эпизоотологическое обследование всех животноводческих объектов хозяйств, включая оценку санитарного состояния скотопомещений и территорий ферм, мест дислокации летних доек, пастбищ, водопоев, состояния навозохранилищ, фуражных складов и др.;

3. Трёхкратное комплексное диагностическое исследование сывороток крови животных на базе ГНУ ИЭВСиДВ.

В частности, исследованиями было охвачено в среднем 1218 голов КРС (всего 3656 проб сывороток крови). При трех исследованиях было выявлено 70 голов эпизоотически опасных животных, в том числе в РИД 21 голова (наиболее опасные в эпизоотическом отношении). В это же время исследования Шемонаихинской районной лаборатории, проведённые осенью 2012 года, не смогли выявить скрытых носителей бруцеллёза, которые могли стать источником новой вспышки инфекции.

С учетом результатов серологических исследований и проведённого всестороннего эпизоотического анализа, а так же имеющихся научных разработок в данном направлении, была подготовлена «Оптимальная система противобруцеллёзных мероприятий в условиях хозяйств корпорации «Восток-Молоко». Программа была предварительно обсуждена и согласована в Восточно-Казахстанской областной территориальной инспекции КВКиН МСХ РК, а затем в Комитете ветеринарного контроля и надзора МСХ РК.

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

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

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

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

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

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

В соответствии с необходимостью неукоснительного выполнения всех предписанных «Законом о Ветеринарии» мероприятий, необходимых при оздоровлении животноводческих ферм от бруцеллёза, в данной программе были чётко обозначены три основных базисных принципа (наиболее оптимальных и приемлемых применительно к существующим условиям):

1. Ограничение и запрет всяческих перемещений скота между участками с переводом всех участков на замкнутую систему воспроизводства стада.

2. Проведение вакцинации против бруцеллеза всего поголовья, в том числе коров, по рациональным схемам, применительно к конкретной эпизоотической обстановке в том или ином хозяйстве, в целях создания и поддержания в неблагополучных и угрожаемых стадах перманентного (постоянного) группового иммунитета, препятствующего развитию бруцеллезной инфекции. Для чего применяются живые вакцины: из штамма 19 - для однократной иммунизации молодняка в 3-5 месячном возрасте в особо сложных эпизоотических условиях; из штамма 82- для иммунизации молодняка 3-5 месячного возраста и реиммунизации телок перед случкой и коров; неабортотенного штамма 75/79- на ранее не иммунизированном взрослом поголовье.

3. Проведение поствакцинальной диагностики бруцеллеза, начиная уже через 1,5 - 3 месяца после вакцинации, в целях рационального использования провоцирующих свойств вакцин, позволяющих выявлять скрытых бруцеллоносителей, а также дифференцировать инфекционный процесс от вакцинного, с использованием серологических реакций: РА, РСК с S антигеном, РСК с R антигеном, РИД с О-ПС-антигеном.

Кроме специальных мероприятий, Программой были предусмотрены:

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

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

3 - максимальное соблюдение однородности стад в отношении иммунного и эпизоотического статусов;

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

5 - выпаивание телочкам после молозивного периода заменителя молока;

6 - формирование из нетелей отдельных групп и гуртов;
7 - соблюдение мер групповой и личной профилактики для работников животноводства;

8 - выполнение других установленных ветеринарным Законом общих ветеринарно-санитарных, зоотехнических и организационно-хозяйственных мероприятий, предусмотренных официальными действующими положениями в целях предупреждения возникновения и распространения бруцеллеза животных.

Контроль эпизоотической ситуации в процессе внедрения разработанной оптимальной системы противобруцеллезных мероприятий в хозяйствах корпорации осуществлялся систематически путем:

1 - анализа результатов регулярных серологических исследований сывороток крови животных из хозяйств корпорации на базе ГНУ ИЭВСиДВ;

2 - анализа статистических, учетных и отчетных данных по хозяйствам корпорации, оперативно представляемых руководством и специалистами корпорации;

3 - периодических эпизоотологических обследований животноводческих объектов корпораций непосредственно при выездах сотрудников ИЭВСиДВ на места.

Динамика такого комплексного контроля показала, что эпизоотическая ситуация по бруцеллезу среди крупного рогатого скота в хозяйствах корпорации за период внедрения разработанной оптимальной системы противобруцеллезных мероприятий кардинально улучшилась.

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

Так, если при пяти исследованиях всего маточного поголовья крупного рогатого скота, проведенных в 2013 году после его массовой иммунизации против бруцеллеза по рациональным схемам (всего исследовано 8138 проб сывороток крови) было выявлено 102 эпизоотически опасных животных (все они сданы на убой), в том числе с помощью РИД - 40 голов, то при последнем пятом из 2418 исследованных проб положительных реакций, которые бы подтверждали эпизоотическую опасность исследованных животных, не выявлено вообще (ни в РА, ни в РСК, ни в РИД).

Таким образом, в хозяйствах корпорации «Восток - Молоко» открылись реальные возможности создания стойкого эпизоотического благополучия по бруцеллезу при условии дальнейшего строгого соблюдения основных принципов осуществления противобруцеллезных мероприятий, предусмотренных разработанной системой.

Мы убеждены, что внедрение разработанной оптимальной системы противобруцеллезных мероприятий, предусматривающей, наряду с общими

ветеринарно-санитарными, зоотехническими и организационно-хозяйственными мероприятиями, использование рациональных схем вакцинации и поствакцинальной диагностики, необходимо продолжать до полного исчезновения угрозы возникновения вспышек либо за счет рецидивов, либо заноса возбудителя извне.

И такая плодотворная совместная работа продолжается.

О СИТУАЦИИ С БРУЦЕЛЛЕЗОМ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ В РЕСПУБЛИКЕ КАЗАХСТАН

Сейсенов Болат Секенович - председатель комитета Ассоциации ветеринарных врачей Казахстана по г. Астана

Бруцеллез – инфекционное заболевание, которым заражаются практически все виды сельскохозяйственных и многие виды диких животных, а также человек.

Бруцеллез представляет собой мировую проблему, как для здравоохранения, так и для сельского хозяйства. Он является одной из наиболее сложных и, в то же время, опасных для людей антропозоонозных инфекционных болезней.

В мировой практике накоплен огромный опыт борьбы с бруцеллезом. Многие страны смогли избавиться от этой болезни, но, разумеется, не в одночасье. В СССР к моменту перестройки ситуация с бруцеллезом значительно стабилизировалась, но решить проблему бруцеллеза полностью так и не удалось.

Ситуацию по бруцеллезу в Казахстане на данный момент можно назвать чрезвычайной. За последние четыре года было уничтожено более 300 тысяч голов только маточного поголовья КРС. Население перестало доверять органам ветеринарного надзора, соседним странам Казахстан представляется постоянным источником инфекции. Все началось с того, что в 2007 году МСХ РК приняло новую для нас стратегию ликвидации бруцеллеза.

При сравнительном анализе противобруцеллезных программ, применяемых в различных странах, было отмечено, что в основном с успехом применяются три стратегии, выбор которых зависит от реальной превалентности бруцеллезной инфекции в стране, социально-экономических условий, государственного подхода к проведению оздоровительных мероприятий.

1. поголовная вакцинация, вытеснение патогенных штаммов вакцинными, стабилизация и снижение фона зараженности полевыми штаммами.

2. выборочная вакцинация и постоянный мониторинг оздоровившихся хозяйств.

3. и только после получения устойчивых результатов, когда случаи

выявления больных животных становятся редкими, принимается стратегия «отмены вакцинации, уничтожение единичных больных животных и жесткий контроль за ввозом и перемещениями животных».

Было много информации, что отмена вакцинации в РК связана с рекомендациями Международного эпизоотического бюро (МЭБ), однако стоит отметить, что рекомендации МЭБ не учитывают обстановку в каждой конкретной стране. Казахстан, в отличие от многих других стран, представляет собой огромные пространства, на которых тысячами разводили и перегоняли скот. В почве и среди диких животных сохранилось и циркулирует множество патогенных возбудителей. Бруцеллы могут быть обнаружены у оленей, сайгаков, кабанов и т.д. По последним данным, бруцеллез выявлен у собак (соответственно, и у волков) и сурков. Пастбищное скотоводство в Казахстане - это огромный риск заражения домашнего скота, ведь ликвидация больных животных не предполагает изоляцию здоровых животных от природы. Если бы проблема бруцеллеза легко решалась «тотальной зачисткой», то бруцеллез уничтожили бы во времена СССР.

Переход на метод ИФА резко увеличил статистику по бруцеллезу в Казахстане. Конечно, ИФА высокоспецифичная реакция, но возможны ложноположительные реакции, ведь «большими» засчитываются животные, имеющие антитела к вакцинным штаммам. На территории РК длительное время применялись вакцины против бруцеллеза из штамма 19, шт-82 и РЕВ-1. Бактерии этих штаммов могут длительное время циркулировать в организме животных и даже передаваться другим животным и людям. Конечно, эти бактерии безопасны для человека, но создают постоянный антигенный фон в организме животных, что затрудняет дифференциацию больных бруцеллезом животных от вакцинированных. Недостатком является длительная циркуляция бактерии штамма 19 в организме и трансмиссия другим животным, что не соответствует последним нормам экологии и безопасности. После вакцинации штаммом 82, в отличие от штамма 19, агглютинины в крови резко снижаются уже через 2-3 месяца, но недостатком штамма 82 является повышенная вирулентность и абортгенность. При этом основным отрицательным моментом является то, что борьба ведется не с бруцеллезом, а с поствакцинальными реакциями, в результате чего продолжается неоправданный убой реагирующих животных.

Возможно, часть уничтоженного скота не была больна и являлась просто носителем этих искусственных штаммов и претензии фермеров оправданы. Борьба с бруцеллезом свелась к статистике и созерцанию – выявление, уничтожение, подведение итогов. Эта стратегия повлияла и на ветеринарную науку Казахстана: все разработки и проекты по вакцинам стали бесперспективными.

Не каждая страна может позволить себе роскошь – замену поголовья не в отдельных хозяйствах, а в масштабах всей страны, а мы именно к этому и пришли. За последние годы был утрачен статус стабильности

эпизоотической обстановки и многим наблюдателям она представляется как неконтролируемая. Ветеринария Казахстана должна в кратчайшие сроки сменить стратегию, необходимо в срочном порядке переходить на систему вакцинации в неблагополучных областях, районах, хозяйствах.

Вышеперечисленных недостатков лишена американская вакцина RB-51, произведенная в США компанией «ColoradoSerum». Эта вакцина создает длительный и напряженный иммунитет и помогла оздоровить от бруцеллеза целые страны и уже более 20 лет применяется в странах с многомиллионным поголовьем КРС - США, Канаде, Бразилии, Мексике, Аргентине, Европе.

В США вакцина RB-51 полностью вытеснила с рынка вакцину из штамма 19.

В конечном счете, выбор вакцины - это всего лишь тактика и в настоящее время потребуется некоторое время для принятия стратегии борьбы против бруцеллеза сельскохозяйственных животных в сложившихся условиях содержания и развития скотоводства в Казахстане. Основным же является то, что вакцинам нет альтернативы. Вакцинируют скот и члены ВТО - Россия, Украина, Киргизия, соседний Китай и Монголия.

Для полного искоренения бруцеллеза потребуются решительные административно-хозяйственные преобразования и совместные действия власти, бизнеса и науки.

ЭПИЗОТИЧЕСКАЯ СИТУАЦИЯ ПО БРУЦЕЛЛЕЗУ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ И МЕРЫ БОРЬБЫ В ВОСТОЧНО - КАЗАХСТАНСКОЙ ОБЛАСТИ

Токтасынов К.А., руководитель Восточно-Казахстанской областной
территориальной инспекции КВКН МСХ РК

В территорию Восточно - Казахстанской области входит бывшая Семипалатинская область и Восточно-Казахстанская область.

Поголовье всех видов сельскохозяйственных животных составляет:

КРС – 825 155 гол, в т.ч. коров 380 872 голов;

МРС – 2 407 385 голов;

Свиней – 101 881 голов;

Лошадей – 236 023 голов;

Птицы – 3 524 713 голов. По численности сельскохозяйственных животных Восточно-Казахстанская область занимает 3 место по Республике.

Эпизоотическая обстановка по бруцеллезу сельскохозяйственных животных: в 2013 году КРС исследовано 719434 голов, выделено 4557 (0,63 %) положительно реагирующих животных. В 2012 году КРС исследовано 1314483 голов, выделено положительно реагирующих на бруцеллез – 5208 (0,40 %) голов. В 2013 году по сравнению с 2012 годом исследовано на 595049 голов меньше. Процент зараженности больше на 0,23 % по

сравнению с 2012 годом. МРС исследовано 2254112 голов, выделено положительно реагирующих 13396 (0,59 %), а в 2012 году исследовано МРС 4321272 голов, выделено положительно реагирующих на бруцеллез – 12752 голов (0,30 %). Как видно, в 2013 году в сравнении с 2012 годом исследовано на 2067160 голов меньше. Несмотря на это, процент зараженности больше на 0,29 % по сравнению с 2012 годом.

С начала 2013 года зарегистрировано 55 неблагополучных пунктов по бруцеллезу, из них 12 пунктов среди КРС, 43 пункта среди МРС. На сегодняшний день оздоровлено 6 пунктов по КРС и 40 пунктов МРС. В неблагополучных пунктах по бруцеллезу КРС происследовано 53117 голов, выделено 716 голов положительно реагирующих на бруцеллез (1,35 % зараженности), МРС происследовано 407728 голов, выявлено положительно реагирующих – 5716 голов (1,40 % зараженности).

Почему резко возросли неблагополучные пункты по бруцеллезу? Положительно реагирующее поголовье отара, аула или сельского округа превышает 0,2 процента, мы обнаруживали неблагополучные пункты согласно письма Комитета Ветеринарного контроля и надзора МСХ РК от 03.04.2013 года (исх. №16-03-16/538-И).

Переходящими пунктами на 2014 год остались 5 неблагополучных по бруцеллезу КРС, 3 по МРС.

Основные меры борьбы с бруцеллезом:

- идентификация сельскохозяйственных животных.

С 2010 года по области идентифицировано 943 305 голов КРС, 2 265 280 голов МРС, 55 069 голов свиней, 573 голов верблюдов, 6 699 голов лошадей. На сегодняшний день осуществлен на 100%. В базе данных поставлено на учет всего – 3 270 926 головы;

- возмещение.

выделено положительно реагирующих животных 13252 голов, все уничтожены. Все уничтоженное поголовье мелкого рогатого скота возмещено владельцам по рыночной стоимости за счет республиканского бюджета на сумму **265 млн. 040 тыс. тенге;**

- дезинфекция.

По области 2013 году в неблагополучных пунктах по особо опасным болезням (бруцеллез, бешенство, пастереллез и т.д.) проведена дезинфекция на площади 1807185 кв.метров, из них вынужденная дезинфекция проведена на площади 938242 кв.метров, текущая на площади 868943 кв.метров и заключительная на площади 90 680 кв.метров. Были отобраны и направлены в ветеринарную лабораторию пробы для проведения исследований на качество дезинфекции;

- контроль за передвижением скота.

Как внутри Восточно-Казахстанской области так и за ее пределами, а также приграничных районов Российской Федерации, для оперативного реагирования при обнаружении несанкционированной перевозки сельскохозяйственных животных и для принятия соответствующих мер в

отношении задержанного скота на стационарных контрольных постах «СКП Шемонаиха - Семей – Новоалтайск» и СКП Аягуз» республиканская трасса с южными регионами Казахстана, организовано дежурство совместно с районной дорожно-патрульной полицией ДВД и территориальными инспекциями.

2013 году за несоблюдение условий и требований карантина и ограничительных мероприятий, привлечено к административной ответственности 52 физических и юридических лица в виде наложения штрафа на сумму 344469 (триста сорок четыре тысяч четыреста шестьдесят девять) тенге.

В том числе 11 должностных лиц привлечены к административной ответственности в виде штрафа.

Несмотря на принимаемые меры за последние 3 года эпизоотическая ситуация по бруцеллезу среди МРС остается на одном уровне.

Мы считаем, что основные причины связаны со следующим:

1. В гуртах (отарах) остается приплод полученный от маточного поголовья, положительно реагировавшего на бруцеллез, который является источником инфекции.

2. На сегодня местными исполнительными органами повсеместно организованы государственные ветеринарные организации в области ветеринарии, которые достаточно обеспечены необходимыми материально-техническими средствами и квалифицированными специалистами на местах.

Считаем необходимым задействовать их в оздоровительных работах по хроническим заболеваниям, не имеющих трансграничного значения (как бруцеллез, туберкулез).

3. К настоящему времени, в связи с отсутствием вакцинации против бруцеллеза у животных нет иммунного фона, что при наличии возбудителя бруцеллеза способствует быстрому и масштабному распространению инфекции.

В связи с этим, в современных условиях требуются новые подходы к специфической профилактике. А именно: применение такого метода, способа иммунизации животных, который позволял бы создавать достаточно прочный иммунитет при слабовыраженной серопозитивности, позволяющий осуществлять не только диагностику бруцеллеза для выявления больных животных из оздоравливаемых отар, но и эпизоотический контроль в поствакцинальный период.

Восточно-Казахстанской областной территориальной инспекцией с учетом мнений казахстанских и российских ученых проведен выбор вакцины против бруцеллеза сельскохозяйственных животных и порядок ее применения, с учетом сложившейся эпизоотической обстановки по бруцеллезу в Восточно-Казахстанской области.

В настоящее время в Восточно-Казахстанской области для специфической профилактики «вакцинации», в неблагополучных пунктах применяются следующие вакцины: среди КРС ШТАММ 82 применяется

только в организованных хозяйствах, а в неблагополучных пунктах частного сектора применяется вакцина РВ 51 со следующей целью:

1. Животные, вакцинированные вакциной, РВ-51 могут быть исследованы на бруцеллез серологическими методами без ограничений. Таким образом, можно удалить из стада зараженных бруцеллезом животных.

2. Перед вакцинацией необходимо провести исследования на бруцеллез, целью проведения исследования является выявление у животных латентной формы бруцеллеза.

3. У вакцинированных животных вырабатывается, (создается) высокий иммунный фон.

Кроме того, на территории Восточно-Казахстанской области имеется опыт по проведению оптимальной системы противобруцеллезных мероприятий в условиях хозяйств корпорации «Восток-Молоко» с использованием противобруцеллезных вакцин из штамма 82,19 и 75/79-АВ.

С 2012 год в неблагополучных пунктах по бруцеллезу МРС внедряем применение вакцинации мелкого рогатого скота против бруцеллеза вакциной из штамма 19 конъюнктивальным методом.

Конъюнктивальный метод иммунизации вакциной из штамма 19 имеет ряд преимуществ перед традиционным подкожным методом иммунизации. Так конъюнктивальный метод иммунизации мелкого рогатого скота вакциной из штамма 19 в дозе 4 млрд. м.к., обладает безвредностью (введение вакцины не вызывает у привитых животных каких-либо поствакцинальных осложнений), низкой агглютиногенностью (поствакцинальные реакции угасают у иммунизированных и реиммунизированных животных через 3-5 месяцев), прост в применении, эффективен в противоэпизоотическом и противоэпидемическом отношении, так как обеспечивает возможность (в отличие от подкожного метода) выявлять после иммунизации бруцеллоносителей не только с помощью РИД с О-полисахаридным антигеном, но и РА и РСК. В связи с тем, что в настоящее время в хозяйствах всех форм собственности все половозрастные группы (бараны, овцематки и приплод от них) находятся в одной отаре и вакцинация проводится по следующей схеме:

1. Поголовье, не иммунизированное против бруцеллеза, исследовать в РА и РСК, при возможности по РИД с М – антигеном. Животных, давших положительный результат уничтожить, а оставшееся поголовье привить вакциной из штамма 19 конъюнктивально в дозе 4 млрд. м.к.;

2. В целях оздоровления все поголовье подвергнуть исследованию в РА и РСК – через 5 месяцев, а при возможности в РИД с А и М – антигенами через 3 месяца;

3. Исследование проводить с интервалом в 1 месяц до получения подряд двукратного отрицательного результата;

4. По истечению года после прививки провести ревакцинацию животных конъюнктивальным методом;

5. Иммунизацию продолжать ежегодно в течение 3-4 лет после оздоровления отар для предотвращения рецидивов инфекции.

В феврале 2013 года на базе К/Х «Дарабоз» Тарбагатайского района, с согласия главы данного хозяйства, проведена иммунизация мелкого рогатого скота против бруцеллеза штаммом V.abortus19 конъюнктивально. Всего вакцинировано 312 голов мелкого рогатого скота. Через 21 дней от 100 голов привитых животных взяты пробы крови для исследования на напряженность иммунитета. Исследование проводилось классическим методом (РСК). Из 100 голов исследованных по РСК в титре 1:40, положительно реагировало 100 голов, что составляет 100%. Также по истечению 5 месяцев от вакцинированного поголовья мелкого рогатого скота отобраны пробы сывороток крови для проведения исследования на бруцеллез. Исследования проводились на базе РГП на ПВХ «Национальный референтный центр по ветеринарии» КВК и Н МСХ РК серологическими методами (ИФА и РСК). Согласно протокола испытания из исследованных 312 проб сывороток крови от вакцинированного поголовья по ИФА в 10 пробах выявлены антитела к возбудителю болезни бруцеллез и по РСК в 2 пробах. У вакцинированных животных поствакцинальные осложнения не отмечались.

В период с 7 по 17 октября 2013 года на отдельных участках Курчумского, Зайсанского, Кокпектинского, Тарбагатайского и Урджарского районов проведена иммунизация мелкого рогатого скота против бруцеллеза штаммом V.abortus19 конъюнктивально. Всего вакцинировано 8480 голов мелкого рогатого скота. У вакцинированных животных поствакцинальные осложнения не отмечались. В настоящее время животные находятся на контроле. Исследования будут проведены по истечению 5 месяцев согласно наставления. Мы считаем, что с применением данного метода можно повысить эффективность контроля эпизоотического процесса бруцеллеза мелкого рогатого скота, применять его в различных эпизоотических и социально-экономических условиях. Кроме того, данный метод является экономически выгоднее по сравнению с традиционным методом оздоровление хозяйств от бруцеллеза животных.

ПРЕДЛОЖЕНИЯ ПО ПРОВЕДЕНИЮ СПЕЦИАЛЬНЫХ ВЕТЕРИНАРНЫХ МЕРОПРИЯТИЙ, НАПРАВЛЕННЫХ НА ЛИКВИДАЦИЮ БРУЦЕЛЛЕЗА ЖИВОТНЫХ

Улубаев Б., директор Кербулакской районной ветеринарной станции
Алматинской области

В конце 80-х годов прошлого столетия специалисты КазНИВИ (Тен В.Б, Султанов А.А) испытывали препараты КазНИВИ (неживая вакцина против бруцеллеза животных, препарат (иммуностимулятор) для

профилактики бруцеллеза животных, алерго-серологический, аллергический методы диагностики животных в неблагополучных хозяйствах по бруцеллезу животных в Кербулакском районе, с целью оздоровления их.

При этом были получены положительные результаты. Район был оздоровлен от бруцеллеза животных. Кроме того иммуностимулятор хорошо зарекомендовал себя в борьбе с паратифом, хламидиозом.

Названные препараты способствовали сохранению благополучия по названным болезням, повышению продуктивности, снижению заболеваемости людей бруцеллезом. Результаты проведенных работ в районе представлены в таблице 1.

Таблица 1 -Эпизоотическая ситуация по бруцеллезу по колхозу им. Чокана Валиханова до и после применения аллергена КазНИВИ, антибактериального препарата и неживой вакцины против бруцеллеза овец в 1989-90 гг.

№ пп	Фамилия, имя чабанов	Результаты до применения аллергена КазНИВИ, антибактериального препарата и убитой вакцины против бруцеллеза					Результаты после применения аллергена КазНИВИ, антибактериального препарата и убитой вакцины против бруцеллеза					Разница		
		Аборты			Положительно реагировало	Выход ягнят на 100 овцематок	аборты			Положительно реагировало	Выход ягнят на 100 овцематок	Абортов	Положительно реагирующих	Выход ягнят на 100 овцематок
Всего	Исследовано бактериолог.	Выделено культур	всего	Исследовано бактериолог.			Выделено культур							
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1	Карабеков С.	189	21	1	80	70	-	-	-	58	105	-189	-22	+35
2	Дарубаев Ж.	45	-	-	115	95	-	-	-	42	101	-45	-73	+6
3	Бейсенов К	-	-	-	30	78	-	-	-	19	92	-	-11	+14
4	Адилов И	51	-	-	99	82	-	-	-	2	95	-51	-4	+13
5	Жанабаев Т	-	-	-	-	71	-	-	-	9	93	-	-9	+22
6	Тельбаев Е	66	-	-	85	82	-	-	-	-	115	-66	-85	+33
7	Жолаев О	125	21	3	17	46	21	-	-	-	44	-104	-17	-2
8	Атабаев Ш	26	-	-	8	70	-	-	-	8	94	-26	-	+24
9	Бейсенов А	5	-	-	65	69	-	-	-	19	92	-5	-46	+23
10	Бекбатыров Д	-	-	-	8	125	2	-	-	-	90	+2	-8	-35
11	Рахатов К	210	25	2	153	62	6	-	-	4	100	-204	-149	+38

Продолжение таблицы 1

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
12	Абишев А	248	26	2	25	47	-	-	-	14	92	-248	-11	+45
13	Толебаева К	79	-	-	32	60	-	-	-	21	97	-79	-11	+37
14	Тураисова Ж	-	-	-	29	100	-	-	-	9	112	-	-20	+12
15	Нуркабылов Т.	11	-	-	70	93	-	-	-	-	120	-11	-70	+27
16	Кемалова Б	-	-	-	31	92	-	-	-	14	113	-	-17	-21
17	Абишев К	-	-	-	-	60	-	-	-	-	43	-	-	-17
18	Шымырбеков М	-	-	-	30	90	-	-	-	19	104	-	-11	+14
19	Абишев З	85	-	-	17	75	62	-	-	-	76	-23	-17	+1
20	Жанпеисов О	102	-	-	58	69	4	-	-	10	110	-98	-48	+41
21	Бейсенов А	-	-	-	115	100	-	-	-	-	105	-	-115	+5
22	Муратбеков М	-	-	-	148	78	26	-	-	4	65	+26	-144	-13
23	Абдильдаев Р	-	-	-	49	110	-	-	-	-	120	-	-49	+10
24	Кожаметов Т	252	23	1	39	60	-	-	-	40	93	-252	-1	+33
25	Маралбаев К	-	-	-	54	130	-	-	-	31	95	-	-23	-35
Итого по колхозу		1499	118	9	1364	80	121	-	-	340	95	-1379	-1024	+15

Полученные данные подтверждают высокую профилактическую эффективность мероприятий предлагаемой методики. При этом уменьшилось заболеваемость животных в среднем на 875 овец, количество абортосов на 1379, а выход ягнят увеличился в среднем на 40 голов.

Таким образом, применение в практике препаратов разработанных в КазНИВИ позволило значительно снизить заболеваемость животных, повысить выход ягнят, сократить сроки оздоровления неблагополучных пунктов по бруцеллезу мелкого рогатого скота.

В 1991 году (60-летие колхоза имени Чокана Валиханова) были получены небывалые результаты по продуктивности животных (получены – 96 ягнят на 100 овцематок против 40-50 ягнят на 100 овцематок в предыдущие годы).

Применение аллергического метода позволило нам (Кербулакском районе) исследовать сотни тысяч овец ежемесячно до получения отрицательных результатов. Неживая вакцина против бруцеллеза животных создавала иммунитет равный живым вакцинам. На современном этапе развития животноводства в районе сложилась сложная эпизоотическая ситуация по бруцеллезу животных.

В последние годы, проводимые противобруцеллезные мероприятия сводятся к исследованию и выявлению реагирующих положительно животных. Другие мероприятия (организационно-хозяйственные, ветеринарно-санитарные мероприятия) практически не проводятся. Известно, нормальное ведение животноводства невозможно при стихийном разведении животных, так как они могут контактировать с животными других хозяйств, на низком уровне проводятся очистка территорий, скотопомещений, а дезинфекция проводится только в крупных хозяйствах.

Так в Кербулакском районе в 2012 году положительно реагировало овец 170 голов, КРС -21 голов, заболело людей – 42 человек. В 2013 году положительно реагировало овец - 213 голов, КРС – 39 голов, заболело 39 человек. Животных кормят естественными кормами в связи с этим у продуктивных животных очень низкая резистентность.

Таким образом, для снижения заболеваемости животных необходимо:

1. Снижение контакта животных путем постройки огороженных территорий;
2. Ежегодное проведение очистки помещений, выгульных дворов;
3. Проведение дезинфекции в помещениях при выявлении животных, неблагополучных хозяйствах;
4. Улучшение кормления;
5. В случае выявления реагирующих животных, я предлагаю проведение РБП (розбенгал проба), эта реакция позволяет выявить больных животных в ранние и средние сроки заражения (хроников), дополнительно проводить аллергическую пробу. Обе реакции легко ставить, а аллергическая проба позволяет во время чистки сразу определять реагирующих животных и метить их.

Наш опыт применили все хозяйства Кербулакского района (Басши, Карашоки, Кызылжар и.д). При этом продуктивность во всех хозяйствах была повышена, однако «бичем» нормального разведения животных были инфекционные болезни, в том числе бруцеллез, поэтому нами решено стимулятор применить в сочетании с антибиотиком.

Необходимо отметить, что доза антибиотика равнялась 250 мг на животное, которое распределялось в течение 10 дней и это количество антибиотика не влияло отрицательно на организм животного. При определении антибиотика в продукции (молоко овцематок) существующие тест – системы не улавливали его.

После применения названных препаратов, антибиотики в сочетании со стимулятором (Т - активном) в хозяйствах района резко снизилось заболеваемость бруцеллезом (10 раз), также снизилось заболеваемость животных сальмонеллезом, хламидиозом.

Но добиться полной ликвидации инфекции нам не удалось, поэтому было решено применить спецпрофилактический препарат (неживую вакцину против бруцеллеза животных). Это связано с тем, что она безопасна для животных, не загрязняет окружающую среду, создает иммунитет достаточной напряженности. После применения протективного антигена в сочетании с иммуномодулятором уже через год наблюдалось уменьшение числа положительно реагирующих животных.

УДК 619.616.98

НАУЧНЫЕ ОСНОВЫ РАЗРАБОТКИ ДИАГНОСТИЧЕСКИХ И ПРОФИЛАКТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ ПРИ БРУЦЕЛЛЕЗЕ ЖИВОТНЫХ

Султанов А.А., д.в.н., профессор, Абуталип А., д.в.н., профессор,
Барамова Ш.А., д.б.н., профессор

ТОО «Казахский научно – исследовательский ветеринарный институт»

Резюме В статье приводятся основные результаты научно-исследовательских работ по бруцеллезу животных, проведенные учеными РК и перспективные направления исследований по этой проблеме на сегодняшний день

В Казахской ССР первые случаи заболевания бруцеллезом крупного рогатого скота установлены в 1930 году Петропавловской ветеринарной лабораторией в отдельных хозяйствах Петропавловского и Щучинского районов бывшего Петропавловского округа. В том же году ветеринарный врач Тавельский обнаружил бруцеллез у овец в совхозе «Тас-Булак» Семипалатинской области.

В Казахстане научно-исследовательская работа по изучению бруцеллеза впервые была начата в 1931 г. К.П. Студенцовым и В.И. Соколовым. Плановые диагностические исследования на бруцеллез животных введены в 1932 году.

В 1933 году под руководством академика С.Н.Вышелесского впервые были организованы курсы по бруцеллезу для ветеринарных специалистов.

В 1934 году в одном из хозяйств Карагандинской области Р.А. Цион и С.М.Овчинников проводили серию опытов по изучению динамики самовыздоровления при бруцеллезе крупного рогатого скота (согласно существующих в то время теорий).

Недостаточность знаний практических ветеринарных врачей об этом заболевании, отсутствие научно-исследовательских работ, направленных на борьбу с ним способствовало открытию в 1937 г. в КазНИВИ лаборатории по изучению бруцеллеза.

Лабораторию по изучению бруцеллеза Казахского НИВИ в разное время возглавляли И.П. Дербеденев (1942-1946), К.С.Омаров (1946-1956), К.П. Студенцов (1956-1975), Н.П.Иванов (1975-1998), В.Б. Тен (1998-2009). С 2009 года по настоящее время заведует лабораторией Ш.А. Барамова.

Лаборатория за эти годы занималась изучением эпизоотологии, разработкой и усовершенствованием средств и методов диагностики и профилактики и схем оздоровления неблагополучных хозяйств от бруцеллеза животных.

Успешное развитие агропромышленного комплекса и поднятие уровня животноводческой отрасли основаны на повышении продуктивности животных, их резистентности к заболеваниям инфекционной патологии, в частности к бруцеллёзу, что является одним из приоритетных направлений ветеринарной науки в наши дни. При этом одной из задач решения проблемы борьбы с бруцеллёзом сельскохозяйственных животных является ускоренное создание высокоэффективных диагностикумов, вакцинных и лечебных препаратов, стабильно обеспечивающих ветеринарное благополучие по бруцеллёзу на всей территории республики.

Для этих целей в Казахстане в разные годы было разработано и апробировано множество различных методов диагностики и профилактики бруцеллёза животных, а также методов выделения, идентификации, типирования и сохранения в коллекции различных штаммов бруцелл. Основная часть коллекционного фонда бруцелл была сформирована когортой учёных, работавших под руководством К.П.Студенцова. Определённое число музейных штаммов бруцелл - референтных, вакцинных, полевых - в течение многих десятилетий эффективно используются в качестве эталонов для научно- производственных, диагностических и профилактических целей, что имеет большое научно-практическое значение.

Научной основой всех проводимых исследований является, прежде

всего, изучение биологических свойств выделенных на территории республики штаммов бруцелл с целью их скрининга для дальнейшего использования при разработке диагностических и профилактических препаратов. Основой создания новых препаратов и рекомендации по диагностике, профилактике и борьбе с бруцеллезом животных, также является изучение инфекционного и эпизоотического процессов при бруцеллезе животных, роль макро и микроорганизма, социально-экономических, природно-климатических факторов влияющих на возникновение и распространение инфекции.

Исследованиями К.П.Студенцова получены штаммы бруцелл, обладающие пониженными вирулентными, но выраженными иммуногенными свойствами. Проводя пассажирование бруцелл через организм пресмыкающихся, он установил возможность заражения бруцеллёзом черепах и выявил способность их организма продуцировать агглютинины, при этом не образуя комплемент связывающие вещества.

Исследованы особенности проявления иммунологического состояния организма при бруцеллёзе разных видов животных, что позволило расшифровать свойства иммунологических реакций, дать им соответствующую оценку и установить зависимость их показаний от возраста, давности заболевания и т.д. Эта работа имеет не только научно-теоретическое, но и практическое значение, т.к. позволяет наиболее точно определить освобождение организма от инфекции.

Выявлена динамика иммунологических реакций, а также установлены изменения в картине крови, РОЭ, проявлении фагоцитоза, процента гемоглобина, кислотно-щелочного равновесия и других факторов при гипериммунизации продуцентов различными бруцеллёзными антигенами. В результате, помимо общебиологического значения проведённых работ, установлен критерий, позволяющий судить о кратности введения бруцеллёзных антигенов и времени получения сыворотки, имеющей наибольшую активность.

Учёными КазНИВИ были предложены методы изготовления компонентов для проведения РСК: позитивных и негативных сывороток, гемолизина, комплемента, единого бруцеллёзного антигена и эритроцитов барана.

Особый интерес представляет метод получения антигена для РСК, основанный на разрушении взвеси бруцелл разной видовой принадлежности при помощи низкочастотного ультразвукового генератора. Применение этого метода намного ускорило процесс изготовления антигена и придало ему специфичность и более высокую активность. Предложены методы получения антигена для РСК из диссоциированных и агглютиногенных форм бруцелл, модифицирован метод проведения РСК с сывороткой крови, а также с цельным молоком коров.

Сделан большой вклад в изучении этиологии бруцеллёзной инфекции у животных. Показано, что характерной особенностью для молодняка

крупного рогатого скота после заражения бруцеллёзом в возрасте старше 5-7 месяцев является отсутствие проявления заболевания до наступления половозрелого состояния.

Бруцеллёз у тёлочек начинает проявляться при наступлении половой зрелости, в период беременности и после отёла, что, вероятно, связано с биологической перестройкой организма.

Большое внимание учёными уделялось поиску методов дифференциации больных бруцеллезом от вакцинированных животных.

Разработана методика дифференциации вакцинного штамма № 19 от эпизоотических вирулентных штаммов бруцелл вида *abortus*, основанная на высокой чувствительности бруцелл вакцинного штамма к росту на питательных средах с тионином и пенициллином.

Кроме изучения вопросов бруцеллёзной инфекции животных, большое внимание уделялось исследованию этиологии инфекционного эпидидимита баранов, а также эпизоотической ситуации по этому заболеванию в Казахстане. Ряд учёных разработали методы получения диагностикумов и постановки серологических реакций РДСК и РНГА при исследовании инфекционного эпидидимита баранов.

В настоящее время развитие животноводческой отрасли идет путем образования частных хозяйств, где имеет место тесный контакт совместно содержащихся разных видов животных (крупный рогатый скот, свиньи, лошади, овцы, козы, верблюды), которые отличаются по своему физиологическому состоянию и обладают разной степенью восприимчивости к бруцеллезу. Поэтому при возникновении очага инфекции в этих группах создаются разные условия заражения и проявления инфекции. В таких случаях для более полного и быстрого выявления больных бруцеллёзом животных, определения иммунологической характеристики стада, изготовление наиболее полноценных в антигенном отношении и высокочувствительных экспресс-диагностикумов имеет чрезвычайно большое значение. Кроме того, получение высокоактивных в иммунологических реакциях антигенов важно для изучения родственных связей различных видов микроорганизмов, так как антигенная структура их, в известной мере, отражает филогенетические взаимоотношения между ними.

Проводимые в Казахстане научные изыскания по разработке высокоэффективных лечебно-профилактических и диагностических препаратов в области ветеринарии чаще всего основаны на использовании клеточных технологий. В этой связи, несмотря на достаточно высокий уровень активности и специфичности, имеющих в лабораторной практике для исследований животных биопрепаратов, возникает необходимость внедрения новейших методов генной инженерии.

В условиях рыночной экономики ветеринарная наука и практика должны быть нацелены на обеспечение животноводства отечественными препаратами лечебно-профилактического характера, диагностикумами,

дезинфицирующими средствами и т.д. в достаточном количестве, обладающими качественными признаками и отвечающими требованиям технических условий при их изготовлении.

Так, разработанный нашими учёными антиген впервые может быть применен сразу в нескольких серологических реакциях (РА, ПРА, КР). В этих реакциях до сих пор используются три различных антигена, имеющих различные степени диагностической активности, что существенно снижает результативность и информативность каждого серологического теста. Значительным и неопровержимым преимуществом предлагаемого цветного антигена является возможность его применения в пробирочной и пластинчатой реакциях агглютинации не только для исследования сыворотки крови животных, но и сыворотки молока, а также в кольцевой реакции для исследования на бруцеллез свежего цельного молока. При этом диагноз на бруцеллез становится известным в пробирочной РА уже через 3 часа, тогда как в этой же реакции с известным антигеном только лишь через 18-24 часов.

Трудоёмкость проведения официально применяемого, бактериологического метода исследования на бруцеллез и длительность получения результатов по его постановке побудили исследователей НИВИ разработать эритроцитарный бруцеллезный антигенный диагностикум для индикации в РНГА разных форм бруцелл в исследуемом патологическом материале, позволяющий ставить диагноз уже через 2 часа. В настоящее время ведутся изыскания по применению специфического фага при изготовлении диагностических препаратов как для РНГА, так и других серологических тестов, что значительно повышает результативность проводимых мероприятий по установлению эпизоотического очага в том или ином регионе республики. Так, например, использование бактериофага при создании цветного антигена для ПРА способствовало существенному повышению его чувствительности и специфичности, а также информативности самой реакции. Применение бруцеллезного фага при создании диагностикумов не только повысило их эффективность, но и существенно увеличило диагностическую ценность уже имевших практическую значимость ускоренных иммунологических методов.

Учитывая особую опасность бруцеллезной инфекции для окружающей среды и ее социальную значимость, это преимущество является одним из немаловажных показателей диагностической ценности разработанного диагностикума, позволяет своевременно выявить и изолировать больных животных, что предотвратит дальнейшее распространение заболевания.

В результате проведенных в разные годы работ предложены способы приготовления новых и совершенствования существующих препаратов:

- Бруцелловин и антиген для РДСК при инфекционном эпидидимите баранов (К.П. Студенцов, Н.П. Иванов, А.А. Чубуков);
- Антиген и аллерген из различных форм бруцелл (Н.П. Иванов, А.А. Султанов, В.Б. Тен, В.И. Белобаб, А.Л. Воробьев, Р.Д. Сейдахметова, Ш.А. Барамова, Э.А. Хван, Алимбекова М.Е.);

- Эритроцитарные антигенный и антительный диагностикумы для РНГА (Н.П. Иванов, Клименко В.А., Ш.А. Барамова, М.Жанбырбаев);
- Неживая вакцина для иммунизации животных против бруцеллеза (Н.П. Иванов, В.И.Белобаб, В.Б.Тен, А.А. Султанов, М.К. Мустафин, А.Абуталип, А.Н. Михалев и др.);
- Антибактериальный препарат пролонгированного действия для инъекций крупного и мелкого рогатого скота с лечебной и профилактической целью (В.Б. Тен, В.И. Белобаб, Н.П. Иванов., Мустафин М.К., Абуталип А и др.);
- Адьюванты и стимуляторы на минеральной, растительной основе для вакцинных препаратов (А.Н. Михалев, Р.Б. Ахметкалиев, В.Б. Тен и др.);
- Антиген цветной для РБП (В.Б.Тен, Н.Н.Зинина, К.А.Аскарров и др.);
- Антиген цветной для кольцевой реакции (КР) с молоком (А.А.Султанов, Ш.А.Барамова, А.Ж.Мырзалиев);
- Антиген цветной единый, предназначенный для диагностики бруцеллеза сельскохозяйственных животных в ускоренной пробирочной реакции агглютинации (РА), пластинчатой реакции агглютинации (ПРА) и кольцевой реакции (КР) с молоком (Ш.А.Барамова, В.Б.Тен, А.А. Султанов, Н.Н. Зинина, Е.К.Оспанов, А.К.Мырзалиев, Б.М. Мустафин).

Разработаны:

- Методики постановки иммунологических реакций с сывороткой крови и молоком коров, верблюдиц, овец и коз (Н.П. Иванов, Е.С.Чичибабин, В.А. Клименко, Д.Е. Арзымбетов);
- Экспресс-метод обнаружения (за 3-4 часа) возбудителя бруцеллеза в исследуемом материале (Н.П. Иванов, М.Жанбырбаев, Ш.А. Барамова) с помощью РНГА и РИФ (А.Абуталип);
- Изучена эффективность применения противобруцеллезных мероприятий вакцин из штаммов Бр. мелитензис Рев-1 (А.А. Султанов, Д.Е. Арзымбетов, Н.П. Иванов), Бр.авортус-19 (Н.Гусманов, К.И. Минжасов, А.Абуталип, Р.Г.Биттер). Для иммунизации животных указанными вакцинами представлены и утверждены рекомендации, а также «Наставление по применению вакцины живой сухой из штамма Рев-1 против бруцеллеза мелкого рогатого скота и инфекционного эпидидимита баранов (А.А. Султанов, Р.Г. Биттер, С.Садыков);
- Разработана научно-обоснованная программа по борьбе с бруцеллезом в РК с использованием вакцин из штаммов Рев-1,82,19 (В.И.Белобаб, И.Ф. Задорожный, В.С. Шаблов, М.С. Сарсенов, А.А. Султанов, В.Б. Тен, К.И. Минжасов);
- Составлена система профилактических и оздоровительных мероприятий от бруцеллеза мелкого и крупного рогатого скота, верблюдов, инфекционного эпидидимита баранов (Н.П.Иванов, А.А.Султанов, В.Б.Тен, А.Абуталип, Д.Е. Арзымбетов, Е.Канжигитов);

- Определена роль диких животных, в частности, сайги в эпизоотологии бруцеллеза, изучена их восприимчивость и устойчивость к бруцеллезной инфекции (Ш.А. Барамова, Н.П. Иванов);

- Исследована этиология бруцеллеза у верблюдов (бактерианов и драмодеров) и разработаны методические подходы к борьбе с распространением бруцеллезной инфекции среды этих животных (Р.Д. Сейдахметова, В.Б. Тен, А.Абуталип);

- Изысканы пути повышения иммуногенности вакцины из штамма Бруцелла мелитензис Рев-1 при помощи иммуномодуляторов (Ж.Е. Омарбеков, А.А. Султанов, Е.Канжигитов);

- Селекционированы R-фаг, лизирующий диссоциированные варианты бруцелл, а также поливалентный фаг, обладающий способностью лизировать как S-, так и R-формы разных видов бруцелл. Предложена методика лизогенизации бруцелл с целью индукции специфических фагов, предложен фагосодержащий антиген для серологической диагностики бруцеллеза, который позволяет выявлять на 20-30% больше инфицированных животных, чем обычные диагностикумы (А.Л. Воробьев, Е.К.Оспанов, С.Е. Алпысбаева, А.А. Адамбаева);

- Разработана автоматизированная система управления ведения мониторинга за эпизоотической ситуацией в современных условиях «Ветпрофилактика» (Б.Т.Шманова, О.Б. Шаграева, А.Н. Михалев).

За время существования лаборатории бруцеллеза было защищено 17 докторских (К.П. Студенцов, Н.П. Иванов, А.А. Султанов, В.Б.Тен, К.И. Минжасов, В.И. Белобаб, М.К. Мустафин, Ш.А. Барамова, Р.Д. Сейдахметова, Е.С. Хасенов, Е.К. Канжигитов, А. Абуталип, А.Л. Воробьев, Канатбаев С.Г., Базарбаев М., Абсатиров Г.Г., Мустафин Б.М.) и 57 кандидатских диссертаций.

По материалам проведенных исследований опубликовано 542 научные статьи, 48 рекомендаций, 9 монографий, 15 плакатов и буклетов, издано 20 брошюр. Утверждено и подготовлено 18 нормативно-технических документаций на различные биопрепараты. Получено более 80 авторских свидетельств.

В дальнейшем перспективными направлениями исследований считаем:

- Разработка перспективных методов ведения мониторинга за эпизоотической ситуацией в современных условиях развития животноводческой отрасли с целью установления проявлений эпизоотических штаммов бруцелл и путей их миграции на территории Республики Казахстан;

- Изучение особенностей биологических свойств культур, выделенных от больных бруцеллезом животных в разных регионах республики;

- Разработка и усовершенствование технологии получения высокоэффективных диагностических и лечебно-профилактических препаратов, направленных на борьбу с бруцеллезной инфекцией животных;

- Изыскание эффективных иммунокорректирующих средств и изучение возможности их применения совместно со специфическими фагами для профилактики здоровых и санации инфицированных бруцеллезом животных.

- Создание селективных питательных сред, способствующих ускоренной бактериологической диагностики бруцеллеза;

Научная деятельность лаборатории направлена на разработку новых поколений диагностикумов, профилактических и лечебных средств и усовершенствования известных, на основе современных достижений ветеринарной и иммунной биотехнологии, направленных на борьбу с бруцеллезом с последующим их внедрением в ветеринарную практику.

В настоящее время сотрудниками лаборатории, используя новейшие методы биотехнологии, разработаны следующие диагностические препараты: для диагностики бруцеллеза животных - цветной антиген для кольцевой реакции (КР) с молоком, цветной антиген для пробирочной реакции агглютинации (РА), эритроцитарный антиген для реакции непрямой гемагглютинации (РНГА), которые широко применяются ветеринарной практике.

Особенно актуально использование этих методов для определения иммунобиологического состояния организма животного, исходя из которого, можно судить о создании защитного барьера в организме животного при применении живых и неживых вакцинных препаратов.

Применение этих методов в особенности ПЦР в ветеринарной практике позволит не только обнаруживать в исследуемых пробах специфические нуклеотидные последовательности генома микроорганизмов, антиген в любом биологическом образце, но и проводить идентификацию путем сравнения геномов, выделенных антигенов с исходными. Важно отметить, что значение применения ПЦР еще более возрастает при проведении противозoonотических мероприятий с использованием живых вакцин, с помощью которого можно определять их вредность, токсичность, вирулентность, патогенность.

Новым направлением научных исследований в последнее время широко известных является конструирование диагностических и протективных препаратов содержащих бруцеллезные фаги. В этом направлении селекционирован R-фаг, лизирующий диссоциированные варианты бруцелл, и поливалентный фаг, обладающий способностью лизировать как S-, так и R-формы бруцелл разных видов. Предложен фагосодержащий антиген для серологической диагностики бруцеллеза, который позволяет выявлять на 20-30 % больше инфицированных животных, чем обычные диагностикумы, а также протективный фагосодержащий

антиген который при ряде лабораторных исследований показал себя перспективным спецпрофилактическим противобруцеллезным препаратом.

В настоящее время наибольшую популярность в мире приобрели экологически безопасные профилактические препараты из инактивированных вакцинных штаммов бруцелл, использование которых для иммунизации животных в ветеринарной практике решило многие серьезные проблемы, имеющиеся при вакцинации животных живыми штаммами - их миграцию на здоровых животных, длительную персистенцию в организме, трансформацию и мутацию до состояния, неулавливаемой стандартными серологическими тестами.

Убитые (неживые) вакцины позволяют обходить недостатки, отмеченные у живых вакцин, иммунодефицитные состояния за счет использования в её составе пролонгатора и иммуностимулятора.

Так как, более всего вакцина должна защищать животных от заражения локальными штаммами бруцелл циркулирующими именно в Казахстане, то в качестве источника протективного антигена использованы эндемичные казахстанские штаммы бруцелл. Был проведен поиск методов инактивации, позволяющих сохранить без значительных изменений антигенную структуру бруцелл, что, в дальнейшем, существенно влияет на иммуногенную активность получаемого протективного антигена. Разработан метод выделения антигенов из бруцелл, определена иммунологическая активность различных антигенов, в частности различных структур клеток бруцелл и фракции, полученных с применением различных физико-химических методов. Был проведен подбор адьювантов, пригодных для конструирования противобруцеллезных вакцин. Были разработаны добавки, снижающие реактогенность адьюванта, повышающие его адсорбционную емкость по отношению к веществам, составляющим активное начало протективного бруцеллезного антигена, и повышающие седиментационную устойчивость. Выбраны иммуностимуляторы активизирующие противобруцеллезный иммунитет. В настоящее время в КазНИВИ разработаны и предлагается для внедрения в производство три варианта инактивированной (неживой) вакцины против бруцеллеза животных.

Определение сущности эпизоотического процесса и характера его основного противоречия позволяет раскрыть принцип единства биологического, природно-географического и социально-экономического компонентов в нем. Это важно не только с теоретической точки зрения, но и для научного обоснования противоэпизоотических мероприятий, направленных на профилактику и ликвидацию инфекционных болезней животных.

Признание большой роли социально-экономических условий в распространении инфекционных болезней среди животных не является основанием, для отрицания специфики эпизоотического процесса, определяемой биологической природой возбудителя и восприимчивого животного, а также взаимодействием непосредственных движущих его

биологических сил. Поскольку в основе эпизоотического процесса лежит сохранение в природе возбудителя инфекционной болезни животных, характеристика этого процесса, естественно, должна исходить из биологической сущности конкретного патогенного возбудителя и социально-экономической (хозяйственной) сущности животноводства, как способа производства животноводческой продукции.

И в настоящее время не подлежит сомнению тот факт, что основой оптимальных систем противоэпизоотических мероприятий является принцип контроля эпизоотического процесса, который в свою очередь объединяет два основных понятия эпизоотологический мониторинг и управление эпизоотическим процессом. Эффект управления всегда будет напрямую связан с тем, насколько при этом учтены конкретная эпизоотическая ситуация, а также влияющие на нее различные факторы.

В Республике Казахстан в последнее время резко изменились технология ведения и содержания животных, подавляющее большинство сельскохозяйственных животных содержатся в мелких КФХ и личных подворьях, в связи с этим изменяются их ветеринарное обслуживание.

Сохранение высокой степени риска распространения бруцеллеза в Республике Казахстан, социальная значимость проблемы определяет направления наших дальнейших исследований.

Необходимо, в сравнительном аспекте и в динамике изучить роль и место, особенности формирования и функционирования паразитарной системы бруцеллеза в общей заразной патологии сельскохозяйственных животных в современных условиях хозяйствования на территории РК, и на этой основе усовершенствовать систему эпизоотологического мониторинга, контроля, управления противоэпизоотическими мероприятиями и прогнозирования эпизоотического процесса в условиях региона.

Прослеживание динамики изменения эпизоотических показателей в различных регионах по годам позволяет делать вероятностные оценки и прогноз эпизоотической ситуации, на основании которых можно проводить оптимизацию планов ветеринарных мероприятий.

Очень важным является создание и усовершенствование новых отечественных безопасных для здоровья животных лекарственных форм на основе местного сырья аналогичных по эффективности дорогостоящим заграничным препаратам повышающих резистентность организма против бруцеллезной инфекции.

Таким образом, учитывая актуальность изложенных проблем, связанных, прежде всего, с обеспечением защиты здоровья животных, разработка отечественных лечебно-профилактических и диагностических препаратов для животноводческой отрасли, отвечающих требованиям мирового стандарта, является перспективным направлением в развитии ветеринарной и биотехнологической науки.

Достигнутые успехи и перспективные направления исследований казахстанских ученых в области ветеринарной медицины позволят

обеспечить стойкое благополучия животноводства республики от опасных болезней животных.

Түйін

МАЛ БРУЦЕЛЛЕЗІНДЕ БАЛАУ ЖӘНЕ АЛДЫН АЛУ ПРЕПАРАТТАРЫН ЖАСАУДЫҢ ҒЫЛЫМИ НЕГІЗДЕРІ

Султанов А.А., Абуталип А., Барамова Ш.А.

«Қазақ ғылыми – зерттеу ветеринария институты» ЖШС

Мақалада ҚР ғалымдарының жануарлар бруцеллезін зерттеу жұмыстарының негізгі нәтижелері және қазіргі күн талабына сай ғылыми-зерттеу жұмыстарының перспективті бағыттары жөнінде айтылған.

Summary

SCIENTIFIC BASES OF DEVELOPMENT OF DIAGNOSTICAL AND PROPHYLAXIS PREPARATIONS IN ANIMAL BRUCELLOSIS

Sultanov A.A., Abutalip A., Baramova Sh.A.

LLP «Kazakh Scientific research Veterinary Institute»

The article summarizes the main results of scientific - research works on animal brucellosis conducted by scientists of Kazakhstan and promising areas of research on this issue to date.

ВЕТЕРИНАРНО-САНИТАРНЫЕ МЕРОПРИЯТИЯ НА ФЕРМАХ ПРИ БРУЦЕЛЛЕЗЕ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ

Абуталип А., д.в.н., Искаков М. Ш., к.в.н., Базарбаев М., д.в.н.

ТОО «Казахский научно – исследовательский ветеринарный институт»
Филиал «Карагандинская научно- исследовательская ветеринарная станция»

Резюме В статье подчеркивается важность проведения ветеринарно-санитарных мероприятий, направленных на предупреждение распространения инфекционных болезней и санацию объектов окружающей среды. Описаны порядок и последовательность проведения ветеринарно-санитарных мероприятий. Авторы останавливаются на ряде разработок ТОО «КазНИВИ» и отмечают актуальность этих разработок, направленных на поиск новых композиционных препаратов путём применения современных методов конструирования бактерицидного средства.

Бруцеллез это хроническая инфекционная болезнь животных и человека. К бруцеллезу восприимчивы все виды домашних животных. Из них наиболее часто болеют крупный рогатый скот, овцы, козы и свиньи, реже птицы, собаки, кошки. Поражаются бруцеллезом также многие дикие животные, особенно парнокопытные и грызуны. В очаге инфекции бруцеллы обнаруживаются и у кровососущих насекомых и клещей.

Источником возбудителя инфекции являются больные бруцеллезом животные. Они выделяют бруцеллы при родах, абортах, с молоком, мочой, калом, истечениями из влагалища. Факторами передачи возбудителя болезни могут быть обслуживающий персонал, инфицированные корма, вода, предметы ухода, насекомые и другие. Заражение животных происходит через пищеварительный тракт, кожу, слизистые оболочки. Люди заражаются во время ухода за больными животными, при употреблении в пищу необезвреженных продуктов (мясо, молоко), при разделке туш, обработке кож, шерсти и т.д.

Бруцеллы при нагревании до 70⁰С погибают в течение 5-10 минут, до 100⁰С – моментально. В молоке, сливках они сохраняются до 4-7 дней, на одежде – до 14 дней, в сырах, масле, соленом мясе и шкурах до 3 месяцев, в почве, навозе, воде, кормах - до 4 месяцев. Прямые солнечные лучи убивают возбудителя в течение 3-4 часов.

Важной и зачастую решающей частью борьбы с этой инфекцией является проведение ветеринарно-санитарных мероприятий, направленных на предупреждение распространения бруцеллеза и санацию объектов окружающей среды.

Система мероприятий по профилактике и ликвидации инфекции основывается на трех основных направлениях организационно-

хозяйственных, общих ветеринарно-санитарных и специальных мероприятиях.

Организационно-хозяйственные и общие ветеринарно-санитарные мероприятия распространяются на все животноводческие фермы независимо от эпизоотической ситуации и характеризуются следующими общими требованиями.

Перевод ферм на предприятия закрытого типа, т.е. создание жесткого санитарного режима.

Территорию фермы:

- огораживают, сооружают санпропускники;
- оборудуют дезбарьеры при выходе и въезде на территорию, в каждый скотный двор;
- в другие санитарные объекты - ветеринарный блок с помещениями для изоляции и лечения, убойная площадка, утилизационная яма;
- постоянно поддерживают санитарный порядок и чистоту.

Основные ветеринарно-санитарные мероприятия при бруцеллезе сельскохозяйственных животных

Это общее неспецифическое мероприятие по предупреждению проникновения возбудителя из внешней среды и охране окружающей среды фермы от санитарных отходов животноводства в процессе производства мяса, молока и другой животноводческой продукции.

Животноводческая ферма, особенно комплекс, представляет собой повышенный этиологический фактор заболевания животных, если он не отвечает основным требованиям промышленного животноводства.

Санитарные разрывы между фермами и потенциальными источниками заразного начала – это охрана животноводческих объектов путем рассредоточения за счет определенных расстояний, узаконенных нормами технологического проектирования животноводческих предприятий по производству молока, мяса.

Санитарные принципы, к ним относятся:

- использование животноводческих помещений по принципу «все свободно от животных – все занято животными» с полной санацией помещения и профилактическими перерывами;
- регулярное проведение санитарного дня на ферме 1 раз в 10 – 15 дней. В санитарный день приводят в должный порядок все помещения с их внутренним оборудованием и территорию вокруг помещений;
- немедленная изоляция животных с признаками заболевания;
- технологический инвентарь используемый в производстве ежедневно по окончании работ очищают от грязи и погружают в емкости с дезинфицирующим раствором;
- строгое соблюдение режима и общий порядок дезинфекции животноводческих помещений с прилегающей территорией и объектов внешней среды.

Дезинфекция – это мера, направленная на уничтожение патогенных и

условно-патогенных микроорганизмов и способствующая профилактике и оздоровлению от инфекционных болезней человека и животных.

Дезинфекцию с учетом ее ветеринарно-санитарного и эпизоотологического значения делят на профилактическую и вынужденную, в том числе заключительную.

Профилактическая дезинфекция направлена на предупреждение накопления возбудителей инфекционных болезней и снижение общей микробной загрязненности.

Она проводится в животноводческих комплексах:

- в сроки, определяемые технологией;
- на животноводческих фермах — весной после выгона скота на пастбище и осенью перед постановкой его на стойловое содержание;
- на скотобойных предприятиях — перед началом и после окончания переработки скота;
- на холодильниках — перед их загрузкой и после разгрузки.

Вынужденная дезинфекция проводится при возникновении инфекционных болезней в целях предотвращения разноса возбудителя бруцеллеза за пределы эпизоотического очага и предупреждения распространения болезни внутри него. Она проводится в неблагополучных хозяйствах, на фермах в течение всего периода болезни животных.

Вынужденную дезинфекцию животноводческих помещений проводят сразу же после выявления и изоляции животного, больного инфекционной болезнью.

В дальнейшем проводят текущую дезинфекцию помещений — всякий раз при обнаружении вновь заболевшего бруцеллезом животного, а также при очередных обследованиях неблагополучного стада в сроки, предусмотренные соответствующими инструкциями.

В помещениях, где содержатся изолированные больные животные, дезинфекцию проводят ежедневно при уборке помещения.

Заключительную дезинфекцию проводят перед снятием карантина или ограничений, после ликвидации вспышки инфекционной болезни в хозяйстве.

Обеззараживание молока. Молоко представляет собой среду, благоприятную для сохранения и переноса возбудителей бруцеллеза. Поэтому при отсутствии надлежащего контроля возможно массовое перезаражение молодняка животных при выпаивании их молоком от коров условно благополучного стада. Если же такое молоко поступает на маслозавод, заражение может произойти одновременно в нескольких хозяйствах, т.е. в тех, где было использовано обезличенное молоко. Поэтому руководители хозяйствующих субъектов (подворьев) должны организовать работу по качественному обеззараживанию молока в соответствии с требованиями действующих правил.

При бруцеллезе запрещается вывоз необезвреженного молока, полученного от коров неблагополучного пункта, на

молокоперерабатывающие предприятия, для продажи на рынках, использования в сетях общественного питания и т.д. Такое молоко подлежит кипячению и использованию для выпаивания молодняка непосредственно в неблагополучном пункте. Молоко от реагирующих на бруцеллез коров неблагополучного пункта обеззараживают кипячением или перерабатывают на топленое масло. Молоко не реагирующих коров неблагополучного стада обеззараживают в хозяйстве при температуре 70°С в течение 30 мин или при температуре 85-90°С в течение 20 сек. В таком же порядке обеззараживают молоко, необходимое для внутривладельческих нужд. Запрещается использование молока без термической обработки для кормления молодняка.

В молочной промышленности для пастеризации молока и молочных продуктов применяют пастеризационные установки различного типа.

Наибольшее применение получили четыре типа пастеризационных аппаратов: ванны длительной пастеризации, паровые пастеризаторы с вытеснительными барабанами, пластинчатые пастеризаторы и трубчатые пастеризаторы. Нужный режим работы молочной аппаратуры при бруцеллезе могут обеспечить пастеризаторы длительного действия типов ВДП-300, ВДП-600, ВДП-1000 или ОПФ-1-300, ОПУ-3М, и ПТУ-2.

В последние годы заводами-изготовителями в России, Украине и Белоруссии выпускаются электропастеризаторы с инфракрасным (ИК) нагревом. Основные преимущества пастеризаторов с ИК-нагревом следующие:

- возможна целенаправленная обработка молока с получением наилучших свойств, требуемых для дальнейшей переработки (хорошая сквашиваемость для производства кисломолочных продуктов, низкая влагоудерживающая способность белков для производства сыра и творога);

- качество молока по технологическим показателям и питательной ценности превосходит молоко, обработанное традиционным тепловым способом;

- удельный расход энергии на 20-40% ниже, чем в традиционных установках;

- обеззараживание возбудителей бруцеллеза в молоке происходит при более низких температурах (70–76 °С) и без выдержки.

- для работы установки не требуются пар, система подготовки горячей воды, выдерживатель.

По нашим наблюдениям обеззараживание молока в хозяйствах, неблагополучных по бруцеллезу, при использовании ИК-излучения достигалось при температуре 70 °С с выдержкой 20 сек и при температуре 76°С без выдержки. На неблагополучных по бруцеллезу фермах доильное оборудование, молочную посуду, охладители, молочные шланги, фильтрующий материал, насосы подвергают соответствующей санитарной обработке. Доильные аппараты и молочную посуду ежедневно моют и дезинфицируют в течение 7 минут на флягопропаривателе или в ванной для дезинфекции доильных аппаратов струей 200г в минуту. Фильтрующий

материал, полотенца и спецодежду обеззараживают кипячением в течение 5 минут. Можно обеззараживать доильные аппараты, молочную посуду, фильтрующие материалы, погружая на 5 минут в 0,5%-ный раствор дезмола при температуре 95...97⁰С или в 1%-ный раствор при 90⁰С. Используют и хлорсодержащие препараты (гипохлорид кальция, хлорную известь, хлорамин в смеси с моющими средствами, а также тексанит). Рабочий раствор этих препаратов должен содержать в 1 л не менее 500 мг активного хлора. Доильные установки с молокопроводом промывают в течение 15-20 минут обычным способом с обязательной циркуляцией промывной и дезинфицирующей жидкости. Для дезинфекции оборудования и инвентаря применяют раствор хлорной извести, очищенный фильтрованием или отстаиванием от нерастворимых примесей, так называемую «хлорную воду».

Гипохлорит кальция (натрия) по дезинфицирующей способности аналогичен растворам осветленной хлорной извести. При их использовании (периодически) контролируют содержание активного хлора в них и общую щелочность. Особенность мойки трубопроводов, пастеризаторов и другой аппаратуры для обработки молока при высокой температуре заключается в удалении моющим раствором, кроме остатков молока, еще и молочного камня, который способствует сохранению термофильных бактерий и затрудняет теплопередачу при пастеризации.

В настоящее время ведется поиск высокоэффективных средств для дезинфекции, с меньшей экологической нагрузкой на окружающую среду. Поэтому представляется весьма актуальной разработка новых композиционных препаратов на основе хорошо известных и широко используемых в практике дезинфицирующих веществ путём применения современных методов конструирования бактерицидного средства. В Республике Казахстан назрела необходимость в разработке собственных saniрующих препаратов для объектов ветеринарного надзора, которые позволят надежно уничтожить возбудителей инфекционных болезней во внешней среде и получить животные продукты высокого санитарного качества. Решение данной проблемы имеет важный научно-практический интерес. В отделе бактериологии Казахского НИВИ после получения положительных результатов исследования органического продукта пиролиза рисовой шелухи (Ришел) в качестве дезинфицирующего средства, на него разработаны и утверждены нормативно-технические документы. Для повышения бактерицидных свойств раствора Ришел составлена на его основе композиция, которую можно использовать для профилактической и заключительной дезинфекции на фермах. Завершаются исследования по определению дезинфицирующей способности четвертично-аммониевых соединений, глутарового альдегида и их комбинаций. Эти соединения практически безопасны для людей и животных, дают меньшую экологическую нагрузку на окружающую среду и более экономичны.

Түйін

АУЫЛШАРУАШЫЛЫҒЫ МАЛДАРЫНЫҢ БРУЦЕЛЛЕЗІНДЕ ШАРУАШЫЛЫҚТАРДА ЖҮРГІЗІЛЕТІН ВЕТЕРИНАРЛЫҚ – САНИТАРИЯЛЫҚ ШАРАЛАР

Абуталип А., Искаков М. Ш., Базарбаев М.

«Қазақ ғылыми – зерттеу ветеринария институты» ЖШС
«Қарағанды ғылыми – зерттеу ветеринария станциясы» филиалы

Мақалада жұқпалы індеттерден таралуын алдын алудағы ветеринариялық-санитариялық іс-шаралардың маңыздылығы көрсетілген. Олардың жүргізілуі тәртіптері мен өткізу кезектері жазылған.

Мақала авторлары «ҚазҒЗВИ» ЖШС-дегі қазіргі заманауи әдістерді қолдану арқылы жаңа бактерицидтік заттарды құрастыру бағытындағы ізденістердің маңыздылығына тоқталған.

Summary

ANIMAL HEALTH EVENTS IN FARMS IN CASE OF BRUCELLOSIS OF FARM ANIMALS

Abutalip A.A., Iskakov M.Sh., Bazarbayev M.

LLP «Kazakh Scientific - Research Veterinary Institute»
Branch "Karaganda Research Veterinary Station"

The article emphasizes the importance of animal health measures aimed at preventing the spread of infectious diseases and sanitation of the environment. The order and sequence of the animal health activities are described.

The authors dwell on some LLP "KazNIVI" researches and developments and note the relevance of these developments in the search for new composite products through the application of modern methods of inventing microbicides.

ЭПИЗОТИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ БРУЦЕЛЛЕЗА КРУПНОГО И МЕЛКОГО РОГАТОГО СКОТА В ЗАПАДНО – КАЗАХСТАНСКОЙ ОБЛАСТИ

Аманжол Р. А., к.в.н., Туяшев Е. К. к.в.н., Канатбаев С. Г., д.в.н.

Филиал «Западно - Казахстанская научно – исследовательская ветеринарная станция»

Резюме В статье приводится эпизоотическая ситуация в Западно – Казахстанской области по бруцеллезу, причины распространения бруцеллезной инфекции в животноводческих хозяйствах области

Бруцеллез крупного и мелкого рогатого скота наносит большой экономический ущерб хозяйствам из-за снижения продуктивности, преждевременной выбраковки животных, затрат на профилактические и оздоровительные мероприятия [1,2].

Эпизоотологическое районирование Западно-Казахстанской области по бруцеллезу крупного рогатого скота проводилось в соответствии со схемой эпизоотологического районирования территории, разработанной ранее и на основании эпизоотологического анализа данных о распространении бруцеллеза крупного рогатого скота в области [3]. Эпизоотологический мониторинг является основой рационального планирования и осуществления мероприятий по борьбе с инфекционными болезнями и оценке их эффективности. Он позволяет выявить причины и проследить эпизоотические и социально – экономические последствия этих изменений, обеспечивает комплексную и быструю корректировку противоэпизоотических мероприятий и разработку периодических прогнозов. Эпизоотологический мониторинг и прогнозирование, а также реализация их результатов в государственном масштабе для успешного обеспечения профилактики инфекционных болезней и борьбы с ними являются насущными задачами ветеринарной науки и практики [4]. Целью данной работы является проведение эпизоотологического мониторинга по бруцеллезу крупного и мелкого рогатого скота в зависимости от природно-климатических факторов и проявления эпизоотического процесса. Материалами исследований служат данные о количестве заболевших животных и сведения о количестве и расположении неблагополучных пунктов, статистические данные о среднегодовом поголовье в разрезе административных районов, данные о природно-географической характеристике изучаемой территории, а также климатические, почвенные, ландшафтные карты и карты административно-территориального деления изучаемой территории.

Результаты исследований Диагностические исследования на бруцеллёз за 2013 г. по Западно-Казахстанской области, как мы видим из диаграммы 1, показали следующие результаты: в благополучных и неблагополучных

хозяйствах области исследовано всего 416108 голов крупного рогатого скота, из них положительно реагирующих 5116 голов животных, что составила 1,23% заболеваемости. Из них в неблагополучных хозяйствах по бруцеллезу крупного рогатого скота исследовано 17428 гол, выделено 307 гол. больного скота или 1,76%. За 2012 год было исследовано всего 493615 голов крупного рогатого скота, из которых положительно среагировало 6300 голов или 1,28%.

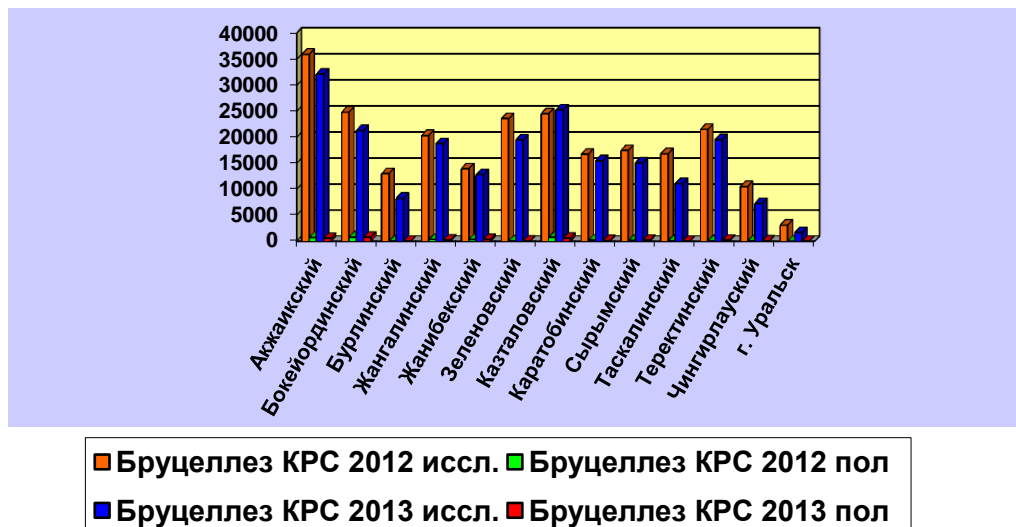


Рисунок 1 – Количество исследованного и больного крупного рогатого скота за 2013 г. в сравнении с 2012г.

Как видно из диаграммы 1, наиболее неблагоприятная обстановка по бруцеллезу крупного рогатого скота в Бокейординском, Жанибекском, Казталовском районах, где процент заболеваемости составляет соответственно 2,7%, 2,4%, 2,1%.

Эти районы можно отнести к зонам максимального риска заражения (пустынная зона). В пустынной зоне короткая зима и длительный пастбищный период. Скудная урожайность трав заставляет пасти скот на большой территории, что делают их порою недоступными при проведении массовых диагностических исследований. Именно в этой зоне находятся районы с высоким уровнем заболеваемости. К зоне умеренного риска заражения (полупустынная зона) относятся территории Акжайкского (1,7%), Сырымского (1,3%) и Шынгирлауского (0,8%) районов. Маточные гурты большую часть года находятся на пастбище, пользуются естественными водоемами. Здесь трудно избежать и возможные контакты здорового скота с животными неблагополучными по бруцеллезу. Степная зона расположена на севере области. Зима продолжается в течение 5-6 месяцев и характеризуется в среднем небольшим снежным покровом со среднемесячной температурой воздуха минус 14 градусов. Развито молочное животноводство и зерновое земледелие. Для этой зоны характерна более высокая культура ведения животноводства, высокий охват животных диагностическими исследованиями. Следствием этого показатели заболеваемости в этой зоне самые минимальные. К зоне минимального риска заражения относятся Таскалинский (0,6%), Бурлинский

(0,4%) и Зеленовский (0,3%) районы. Как видно из диаграммы 2, за 2013 год было исследовано 957420 голов мелкого рогатого скота, из которых положительно на бруцеллез реагировали 5061 голов, что составила 0,52% заболеваемости. За 2012 г. по области было исследовано 1089400 голов, из которых 2958 голов дали положительный результат или 0,27%. В 2013г. наиболее большое количество больного бруцеллезом скота отмечено в Акжайкском(514голов), Казталовском (440 голов) и Сырымском (292 головы) районах.

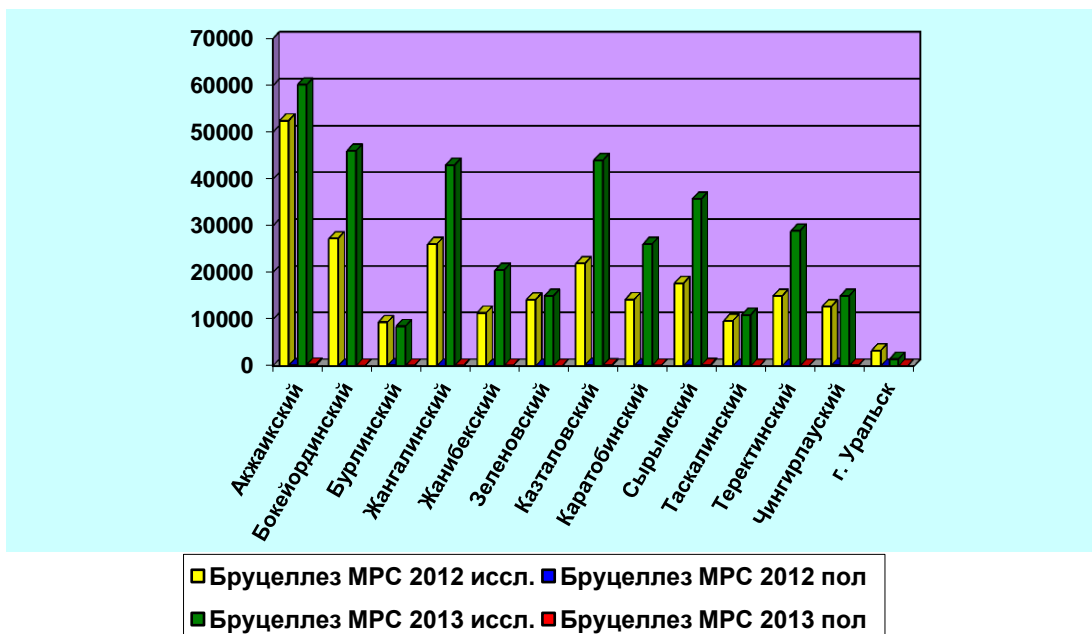


Рисунок 2 – Количество исследованного и больного мелкого рогатого скота за 2013г. в сравнении 2012г.

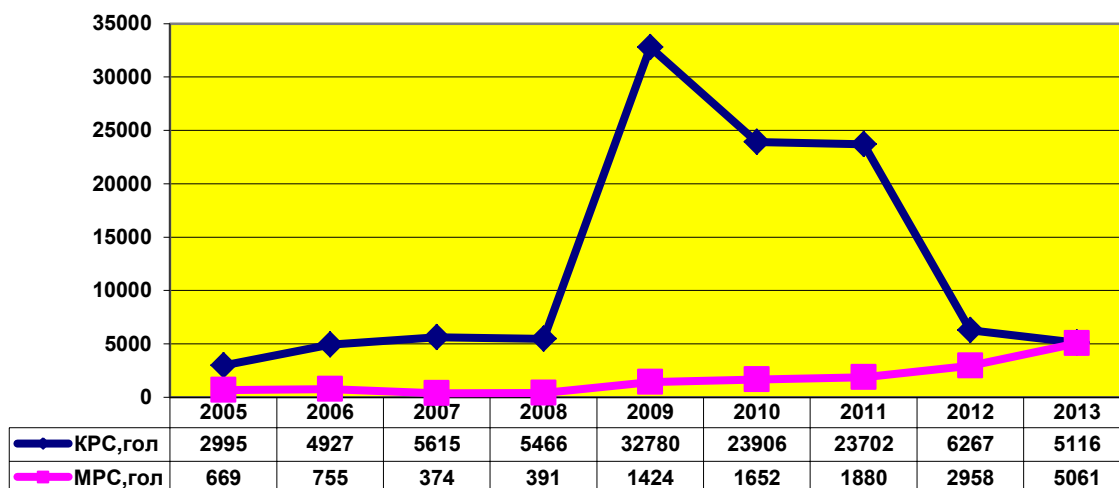


Рисунок 3 - Заболеваемость КРС и МРС бруцеллезом за 2005-2013 гг.

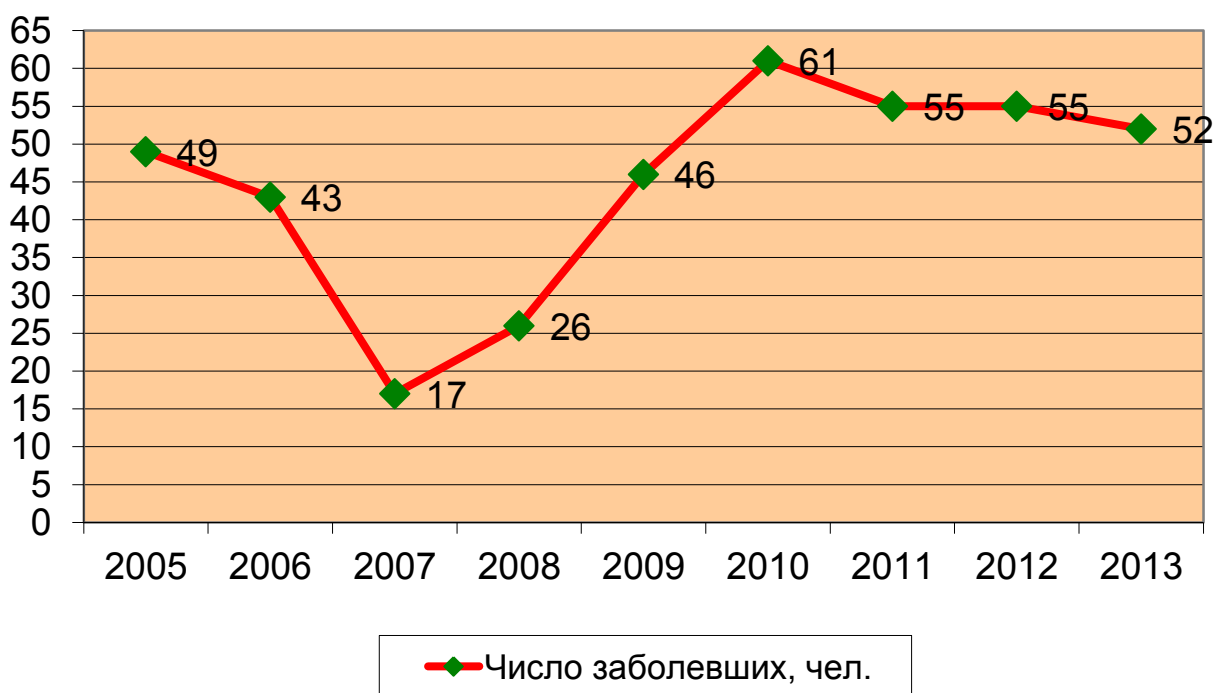


Рисунок 4 - Заболеваемость людей бруцеллезом за 2005-2013 гг.

Основными причинами возникновения и распространения бруцеллёза в Западно – Казахстанской области являются:

- несанкционированный ввоз и приобретение животных;
- несвоевременная сдача животных на убой;
- подворный убой больных животных;
- совместный выпас на пастбище животных из неблагополучных по бруцеллёзу подворий и здоровых животных;
- не проведение мероприятий по уничтожению возбудителя во внешней среде;
- отсутствие должного контроля со стороны ветеринарных органов;
- содержание различных видов животных на ограниченной территории в личных подсобных хозяйствах граждан.

Согласно статистике санэпиднадзора по Западно-Казахстанской области в 2013г. бруцеллезом заболело 52 человек, т.е. заболеваемость среди населения не уменьшается в течение последних трех лет.

Чаще люди, больные бруцеллезом, зарегистрированы в Сырымском (12 человек), Шынгирилауском (12 человек) и Акжайкском (11 человек) районах, на территории которых находятся неблагополучные пункты по бруцеллезу мелкого рогатого скота.

Заключение Представленные данные свидетельствуют о необходимости комплексного подхода к решению проблемы профилактики бруцеллёза, как социально значимого заболевания, путем существенного повышения охвата диагностическими исследованиями на бруцеллёз крупного и мелкого рогатого скота, вакцинопрофилактики в угрожаемых зонах, усиления ветеринарного

надзора за состоянием неблагополучных пунктов и перемещением животных в области.

Литература

1. Триленко П. А. Бруцеллез сельскохозяйственных животных.-: Колос, 1976. - 280 с.
2. Косилов И.А. Бруцеллез сельскохозяйственных животных.- Новосибирск: Сибирское отделение РАСХН, 1992. - 260 с.
3. Туяшев Е. К., Канатбаев С. Г., Нысанов Е.С., Кайыржанов А.Ш. Меры борьбы с бруцеллёзом крупного рогатого скота в Западно-Казахстанской области Сб. научн. тр. КазНИВИ «Проблемы теории и практики современной ветеринарной науки», том 59, Алматы, 2013. – С. 265-269.
4. Абуталип, А. Задачи эпизоотологического мониторинга РК/ А. Абуталип, В. Б. Тен, Г. Г. Абсатиров // Наука и образование, 2008 - № 2 - 32с.

Түйін

БАТЫС ҚАЗАҚСТАН ОБЛЫСЫНДАҒЫ ІРІ ҚАРА МЕН ҰСАҚ МАЛДЫҢ БРУЦЕЛЛЕЗИНЕ ЭПИЗООТИЯЛЫҚ МОНИТОРИНГ

Аманжол Р. А., Туяшев Е. К., Канатбаев С. Г.

«Батыс Қазақстан ғылыми – зерттеу ветеринария станциясы» филиалы

Мақалада Батыс Қазақстан облысындағы бруцеллез жөнінен індеттік ахуал, індеттің таралу себептері туралы айтылады.

Summary

EPIZOOTIC MONITORING OF BRUCELLOSIS OF CATTLE AND SMALL LIVESTOCK IN WESTERN – KAZAKHSTAN

Amanjol R.A., Tuyasheva E.K., Kanatbayev S.G.

Branch «West - Kazakhstan Research Veterinary Station»

In article given epizootic condition in Western – Kazakhstan on farm animal brucellosis, causes of spreading brucellosis infections in the area of livestock farms.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ БРУЦЕЛЛ МЕТОДОМ ПОЛИМЕРАЗНО - ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ (ПЦР) В СРАВНЕНИИ С ОБЩЕПРИНЯТЫМИ МЕТОДАМИ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ

Барамова Ш.А., д.б.н., профессор, Даугалиева А.Т., к.в.н., Адамбаева А.

ТОО «Казахский научно - исследовательский ветеринарный институт»

Резюме В статье приводится анализ ПЦР метода в сравнении с другими методами лабораторной диагностики. Описываются преимущества ПЦР – анализа. Показана высокая эффективность полимеразно - цепной реакции при надзоре за бруцеллезной инфекцией

Бруцеллез - зоонозная, преимущественно хроническая болезнь животных и человека, одна из наиболее острых проблем для современного здравоохранения и ветеринарии. Являясь широко распространенной инфекцией, бруцеллез наносит большой экономический ущерб животноводству.

Успех борьбы с бруцеллезом зависит от эффективности диагностических исследований. Возможность постановки окончательного диагноза на бруцеллез дают результаты бактериологических и серологических исследований.

Наиболее достоверный бактериологический метод, с постановкой биопробы на лабораторных животных, так как выделение культур бруцелл из патологического материала является бесспорным доказательством наличия бруцеллезной инфекции. Однако и отрицательные результаты этого исследования не могут служить исключением заболевания [1].

Необходимо все же отметить, что бактериологический метод не пригоден для проведения массовых прижизненных исследований, с целью выявления источника возбудителя инфекции, так как требует значительных затрат времени. По частоте выявления возбудителя и трудоемкости использования, этот метод уступает серологическому и дополнительно подтверждает специфичность показаний серологических реакций.

Серологические реакции являются основой лабораторной диагностики. Из серологических методов в настоящее время применяют следующие тесты: реакцию агглютинации (РА), реакцию связывания комплемента (РСК), роз-бенгал пробу (РБП). В ветеринарии широко используют эти реакции, так как они просты по технике исполнения, более доступны для проведения массовых прижизненных исследований и характеризуются быстротой получения результатов.

В то же время в литературе имеются немало сообщений, свидетельствующих о не совершенстве и не достаточной эффективности существующих препаратов и тестов диагностики, применяемых в практике

борьбы с бруцеллезом. Диагностические реакции не отличаются постоянством показаний. Каждый метод даже в комплексе с другими не позволяет выявить всех больных животных [2].

Многие авторы доказывают, что РА и РСК специфичны и чувствительны, но показания этих реакций не всегда совпадают при применении на одном и том же поголовье скота, в связи с этим характеризуются низкой объективностью. Названные выше реакции не выявляют определенную часть больных животных, так как они отличаются по аналитической чувствительности к определенным классам иммуноглобулинов. Каждая из них отражает лишь определенное иммунологическое состояние организма, которое неодинаково на разных этапах инфекционного процесса. Использование иммунологических реакций обосновывается авторами разной их разрешающей способностью (экспрессивностью) при разных фазах инфекции. Так РА наиболее полно выявляет свежезараженных животных, а РСК дает высокий эффект при определении хронически больных [3].

РА и РСК не являются достаточно эффективными реакциями. Каждый метод имеет свое определенное преимущество. Авторы рекомендуют для лабораторной диагностики комплексное применение обеих реакций, которые дают положительную эффективность в смысле полного обнаружения больных животных и с учетом реактивности организма их применяют многократно. Исследователи считают, что одновременное использование диагностических реакций взаимно дополняют друг друга, хотя одна другую заменить не могут [2, 3].

Изыскание новых, быстрых, специфических и высокочувствительных методов диагностики бруцеллеза является актуальной задачей.

Достижения современной биотехнологии позволяют, используя биомолекулярно – генетические подходы, разрабатывать эффективные способы для подтверждения диагноза, одним из которых является метод ПЦР. Среди многообразия гибридных методов анализа ДНК, этот метод широко используется в лабораторной диагностике инфекционных заболеваний, а также для научных исследований.

Метод ПЦР обладает рядом преимуществ, отметим следующие из них:

1. Высокая специфичность (100%) обусловлена тем, что в исследуемом материале выявляется характерный только для данного возбудителя фрагмент ДНК, который не изменяет свою антигенную структуру ни при каких обстоятельствах. Специфичность задается нуклеотидной последовательностью праймеров, что исключает возможность получения ложных результатов, связанных с перекрестно-реагирующими антигенами, а также интерпретация результатов ПЦР-анализа не зависит от иммунологического статуса животного;

2. Высокая чувствительность позволяет выявлять даже единичные клетки возбудителя в минимальном объеме пробы;

3. Универсальность процедуры выявления возбудителя. Сходство химического состава всех нуклеиновых кислот позволяет применять унифицированные методы проведения исследований. Это дает возможность одновременно диагностировать несколько возбудителей из одной биопробы. В качестве исследуемого материала могут использоваться разные образцы, а именно: биологические выделения, соскобы эпителиальных клеток, кровь, смывы, гистологические препараты, биопсийный материал, законсервированные образцы тканей, вода, почва и т.д.;

4. Высокая скорость и простота получения результата анализа в течение рабочего дня, благодаря унифицированному методу обработки биоматериала и детекции продуктов реакции, автоматизации процесса амплификации;

5. Возможность диагностики острых и хронических форм инфекции. Эффективен для обнаружения трудно культивируемых, некультивируемых и персистирующих вариантов микроорганизмов, а также возбудителей с антигенной изменчивостью и внутриклеточных паразитов;

6. Простые требования к условиям хранения и транспортировки материала в лабораторию, связаны с тем, что совсем не обязательно сохранения возбудителя в живом виде, так как ПЦР выявляет в образце погибшие микроорганизмы и даже фрагменты ДНК, оставшиеся после их разрушения;

7. ПЦР является референс - методом, в тех случаях, когда другие методы дают противоречивые результаты;

8. Метод позволяет контролировать бактериемию и вирусемию, определением количества копий возбудителя в пробе и тем самым оценивать эффективность лечения;

9. Доклиничность или ретроспективность диагностики. Возможность определения патогенна в организме до развития заболевания (в инкубационном периоде, то есть в серонегативной фазе);

10. Полученные результаты можно вносить в информационные носители для последующей их оценки экспертами [4, 5].

Для оценки степени напряженности эпизоотического процесса по бруцеллезу в 2013 году для исследования из Костанайской НИВС был доставлен биологический материал от поголовья крупного рогатого скота (23 головы), принадлежащих селу «Шили» Жангильдинского района Костанайской области, имевших положительные результаты по серологическим тестам и их внутренние паренхиматозные органы подвергли бактериологическому исследованию. Через трое суток после высева на эритрит агар с добавками и в МПБ проб патологического материала, начали наблюдать за посевным материалом в течение месяца. Культуры бруцелл от двух животных из двадцати трех, показали рост в аэробных условиях на 4 день после посева.

С целью идентификации изолята бактерий рода *Brucella* использовали ряд методов: бактериологический (исследовали культурально–

морфологические свойства), бактериоскопический (изучали тинкториальные свойства) и серологический (ставили пробу с бруцеллезными сыворотками в РА на стекле).

Изучение вегетируемых культур на чашках Петри, изолированных от двух животных, показало, что они представляют собой бесцветные, выпуклые, круглые, мелкие, с гладкой поверхностью колонии и имеют правильно очерченные контуры. Для бактериоскопического подтверждения колонии пересеяли на косяк агара. По истечению двух суток из опытных культур подготовили мазки. При их микроскопировании установили, что изучаемые микроорганизмы представляют собой грамотрицательные палочки и кокки.

На следующем этапе идентификации изолятов проводили РА на стекле с бруцеллезной сывороткой. При этом следует отметить, что агглютинация наступала в течение первой минуты исследования. Реакция характеризовалась наличием хорошо выраженных хлопьев.

Результаты проведенных исследований дали основания утверждать, что тестируемый изолят от крупного рогатого скота относится к бруцеллам.

Культуры изучали на диссоциацию путем использования таких тестов, как: окраска колоний раствором кристаллвиолета по методу Уайт-Вилсона, постановка пробы с триафлавином на предметном стекле и реакцией термоагглютинации.

С целью установления наличия признаков диссоциации в исследуемых культурах бруцелл использовали пробу с триафлавином на предметном стекле. При этом взвесь испытуемой культуры бруцелл оставалась гомогенной. Для вегетации изолированных колоний высевали культуры образца изолята на поверхность агара в чашки Петри. Через двое суток колонии окрашивали по методу Уайт-Вилсона. По результатам этого теста для проведения дальнейшей дифференциации культуры в S-форме отсеяли на косяки с агаром.

Далее провели постановку реакции термоагглютинации. Суспензии бруцелл после прогревания в водяной бане оставались гомогенными, что свидетельствует о том, что испытуемая культура бруцелл не является диссоциантом.

Используя пробу с триафлавином, реакцию термоагглютинации, окраску колоний по Уайт – Вилсону нами было исключено наличие признаков диссоциации культур.

Определяли редуцирующую активность культур в отношении красок - основного фуксина и тионина, интенсивность продуцирования сероводорода, способность к лизису бруцеллезным фагом Тб.

Определение видовой принадлежности бруцелл начали путем изучения редуцирующей активности в отношении красок - тионина и основного фуксина. При этом было установлено, что все штаммы бруцелл относятся к виду *B. abortus* 3 биовара, которая давала рост в чашке с тионином 1:100 000, 1:50 000, 1:25 000, и с основным фуксином 1:100 00 и 1:50 000.

Также этот факт был подтвержден результатами изучения интенсивности образования сероводорода. Отметили побурение краев фильтровальной бумаги на 4 и 2 мм соответственно.

На следующем этапе провели дифференциацию изучаемых культур посредством агглютинации (антигены А и М). Изоляты бруцелл, которые по предшествующим тестам были отнесены к виду *B. abortus*, при постановке РА с использованием антиабортусной сыворотки давали выраженную агглютинацию с полным просветлением жидкости.

Чувствительность исследуемых культур к бактериофагу определяли с использованием Тб бактериофага вида абортус. Нанесение цельного и разведенного фага на агаровую поверхность чашек Петри со взвесями бруцелл вызвало лизис колоний.

Далее дифференциация видов тестируемых изолятов бруцелл, проводилась с учетом их биохимических свойств, которые устанавливали путем постановки каталазной пробы. Все исследуемые культуры бруцелл обладали каталазной активностью, так как при постановке этого теста они незамедлительно выделяли пузырьки в течение длительного времени.

Также наблюдали типичный для бруцелл характер роста эпизоотического изолята на твердой и жидкой питательных средах.

Полная характеристика биологических свойств изученных изолятов бруцелл представлена в таблице 1.

Методом ПЦР исследовали суспензию паренхиматозных органов крупного рогатого скота, используя тест-систему «Бру-ком». ПЦР проводили на амплификаторе «Eppendorf» при следующих температурных и временных параметрах: начальная инкубация – 95 °С, 2 мин; денатурация цепей ДНК-95 °С, 1 мин; гибридизация праймеров -65 °С, 1 мин; полимеризация цепей ДНК с помощью термостабильного фермента ДНК- полимеразы- 72 °С, 2 мин; количество циклов – 44. Для визуализации амплификатов ПЦР продукта разделяли посредством электрофореза в агарозном геле с окраской этидием бромистым.

Результаты и обсуждение В результате бактериологических исследований проб биологического материала от 27 голов крупного рогатого скота было выделено 2 культуры микроорганизмов. Все культуры были отнесены нами к роду *Brucella*. Результаты бактериологических и биохимических исследований подтвердили, что тестируемые полевые изоляты бруцелл относятся к виду *B. abortus*, 3 биовара.

В результате постановки ПЦР в суспензии паренхиматозных органов от трех животных обнаружили специфическую светящую полосу (460 п.н.), соответствующую фрагменту ДНК *Brucella*.

Как свидетельствуют результаты исследования, при бактериологическом исследовании удалось высеять бруцеллы не от всех зараженных животных. На наш взгляд, это зависит от качества используемых для посева питательных сред, от работы исследователя (пережигает пипетку и уничтожается культура в ней), от концентрации и локализации возбудителя

в определенном органе. В этом случае, во время забора пипеткой суспензии из органов для посева на питательные среды, культура бруцелл не всегда становится доступной исследователю в месте прокола.

Поэтому возникает целесообразность применения ПЦР, где доступность имеющего в исследуемом органе возбудителя бруцеллеза, независимо от места локализации, возрастает. В связи с этим положительные показания этого метода доминируют над бактериологическим. Тест–система «Бру-ком» основанная на применение ПЦР-анализа, при исследовании на бруцеллез патологического материала от крупного рогатого скота из эпизоотического очага превосходит по чувствительности бактериологический метод.

Результаты бактериологических исследований, в отличие от ПЦР, зависят от условий хранения и транспортировки материала в лабораторию. ПЦР же выявляет в образце погибшие микроорганизмы и даже фрагменты ДНК, оставшиеся после их разрушения.

В этой связи диагностика бруцеллеза с использованием ПЦР способна давать более оперативную и точную информацию, позволяющую предотвратить дальнейшее распространение очагов заболевания и своевременно провести самые эффективные мероприятия по борьбе с бруцеллёзом и его искоренение. Кроме того, молекулярно-биологические методы на основе определения ДНК необходимы для отслеживания происхождения возбудителя, выявления первых случаев заражения бруцеллами.

Таблица 1- Результаты исследований биологических свойств бруцелл выделенных из организма животных

Инвентарный номер культуры бруцелл, выделенного от КРС	Реакция агглютинации на стекле				Термоагглютинация	Окраска колоний по Уайт-Вильсону (S или R-форма)	Потребность в CO ₂	Выделение H ₂ S, в мм	Рост культур бруцелл на средах с содержанием					Реакция агглютинации с монорецепторными сыворотками	Фаг разведенный (10 ⁻⁴)	Рост на среде с содержанием пенициллина	Рост Бруцелл на средах		биофар					
	R-овиная сыворотка	Сыворотка отрицательная	Сыворотка положительная	Трипафлавин					Фуксина		тионина						Антибортус	Антимелитензис		5 ед./мл	Ед./мл. среды	МПБ	Эригрит-агар	каталаза
									+	-	+	+	-											
11	-	-	+	-	-	S 100 %	+	4мм	+	+	+	+	+	320#	-	Л	+	75	PM	ТИП	+	3		
20	-	-	+	-	-	S 100 %	+	2 мм	+	+	+	+	+	320#	-	Л	+	50	PM	ТИП	+	3		
19 abortus(эт алонный) контроль	-	-	+	-	-	S 100 %	+	3мм	+	+	-	-	-	80#	-	Л	+	50	PM	ТИП	+	1		

Таким образом, проведенные исследования показали высокую эффективность метода ПЦР при надзоре за бруцеллезной инфекцией.

Литература

1. Альтон Д.Ж., Джон Л.М. Методы лабораторных исследований по бруцеллезу. - Женева, 1968. - 84 с.
2. Белобаб В.И. Пути совершенствования диагностики, профилактики бруцеллеза животных: дис. ...докт. вет. наук. – А., 1998.- 480с.
3. Сайдулдин Т.С. Серологическая активность разных классов иммуноглобулинов при бруцеллезе крупного рогатого скота // Ветеринария.- 1984.- № 11.- С.29 - 30.
4. Федоров Н.А., Суханов Ю. С. Полимеразно - цепная реакция // Методическое пособие. - Москва, 1996.- С. 29.
5. Шостакович - Корецкая Л. Р., Маврутенков В. В. И др. Полимеразно -цепная реакция // Руководство для врачей. - Днепропетровск, 2002.-17с.

Түйін

ЖАЛПЫ ПАЙДАЛАНЫЛАТЫН ЗЕРТХАНАЛЫҚ БАЛАУ ӘДІСТЕРІМЕН САЛЫСТЫРА ОТЫРЫП БРУЦЕЛЛАЛАРДЫ ПОЛИМЕРАЗДЫ – ТІЗБЕКТЕУ РЕАКЦИЯСЫ ӘДІСІ АРҚЫЛЫ ИДЕНТИФИКАЦИЯЛАУ

Барамова Ш.А., Даугалиева А.Т., Адамбаева А.А.

«Қазақ ғылыми зерттеу ветеринария институты» ЖШС

Мақалада басқа зертханалық балау әдістерімен салыстыра отырып бруцеллаларды ПТР әдісі арқылы жіктеп балау нәтижелері келтірілген. Зерттеулер барысында полимеразды тізбектеу реакциясының бруцеллаларды жіктеп балаудағы жоғары тиімділігі көрсетілген.

Summary

IDENTIFICATION OF BRUCELLA BY POLYMERASE - CHAIN REACTION (PCR) COMPARED WITH CONVENTIONAL METHODS OF LABORATORY DIAGNOSIS

Baramova Sh. A., Daugaliyeva AT, Adambaeva A.A.

Kazakh Scientists Research Veterinary Institute

The article provides an analysis of the PCR method in comparison with other methods of laboratory diagnosis. Describes the advantages of PCR analysis. The article showed the high efficiency of the polymerase chain reaction in overseeing brucellosis infection.

ӘОЖ 619:616.981.42.

ЖАНУАРЛАРДЫҢ БРУЦЕЛЛЕЗІН ЖӘНЕ ЖҰҚПАЛЫ ЭПИДИМИТІН СЕРОЛОГИЯЛЫҚ БАЛАУ ҮШІН S – R - АНТИГЕН ДАЙЫНДАУДЫҢ ТӘСІЛІН ЖАСАУ

Барамова Ш.А., б.ғ.д., профессор, Мырзалиев А.Ж., в.ғ.к., Түсіпқан О., Шманова Б.

«Қазақ ғылыми-зерттеу ветеринария институты» ЖШС

Түйін Мақалада жануарлардың бруцеллезін және жұқпалы эпидимитін (КУБР және AP) балауға арналған S-R- формадағы антиген дайындаудың тәсілін жасау және оларды жетілдіру туралы айтылған. Әр түрлі бруцелла штамдарынан жиналған бактериалдық қоймалжыңнан антиген алу тәсілін зерттеуге жүргізілген жұмыстары және түсті антиген алу мақсатында әр түрлі бояулар қолданғаны келтірілген.

Көптеген зерттеушілер табиғат айналымында бруцеллез қоздырғыштарының R, RS, SR және L-формаларының өзгерген варианттары бар екендігін айтады, ол бруцеллезді диагностикалауда маңызды қиындықтар туғызады.

Бруцеллдің өзгерген формасы, олардың уыттылығының төмендегеніне қарамастан, малдардың ағзасында бастапқы формасында реверсияға ұшырауға қаблетті, бруцеллез ауруын шақырады және табындағы сәтсіздікті ұстап тұрады. Бруцелланың өзгерген формасымен зарарланған малдар инфекция көздерін таратушы болып табылады, сонымен қатар S формасын жұқтырғанжеке ағзада. Бірақ-тамұндай малдар дегенмен кәзіргі уақытта зертханалық тәжірибеде жалпы қабылданған антигендер болып саналмайды, тек қана қарсы денелермен әрекеттеседі, S-формадан жасалған

антиген. Сайып келгенде, ресми қолданатын диагностикалық дәрімектер бруцелланың S – форма түрі негізінде құрастырылғандықтан, антигендік құрылымы өзгерген бруцелл серологиялық және бактериологиялық диагностикалауда және бруцелла қоздырғыштарын жіктегенде қиындықтар туғызады.

Осыған байланысты, зерттеу жаңа тиімді диагностикалық препараттардың ізденістері бойынша бруцелла қоздырғышының өзгергіштігін есепке алу өзекті мәселелердің бірі болып саналады.

Кәзіргі кездегі бар диагностикалық зерттеулердің мәселелерін еске ала отырып, біздің зерттеуіміздегі келесі мәселелер қошқарлардың жұқпалы эпидидимитін және малдардың бруцеллезін балауға КҮБР және АР реакцияларына арналған бруцеллдің S және R - формасынан антиген дайындаудың тәсілін жасау және оны жетілдіру болып табылады.

Антиген дайындаудың технологиясын жасау үшін серологиялық реакцияларда қошқарлардың жұқпалы эпидидимитін және малдардың бруцеллезін диагностикалауға арналған, олардың биологиялық қасиетін зерттегеннен кейін, бруцелланың келесі штаммдарын, бруцеллез зертханасының мұражайында сақталған *B.abortus* 100, 544 (S түрі), *B.melitensis* 115, 16M (S түрі); *B. abortus* 960 (R түрі), *B.melitensis* H-12 (R түрі), *B.ovis* 63/290, 424/2 (R түрі) қолдандық. Бруцелланың биологиялық қасиетін бруцеллез бойынша комитеттің нұсқауы мен әдістемесі, ал токсономия бруцелл FAO/ДСҰ Халықаралық комитеттің экспертті бойынша анықтадық.

Тазалыққа тексерілген және штамм өсіндісінің өскен түрін Тартаковский колбасындағы агарға септік 3-4 тәуеліктен кейін, өскен өсінділерді, өсіу тазалығын қарадық. Содан кейін бактериальды қоймалжыңды бөлек стерильді шыны ыдысқа қоймалжың күйінде 0,5 % фенолданған физиологиялық ерітіндімен шайып алдық.

Одан кейін алынған бактериальды қоймалжыңды төрт қабатты дәке фильтр арқылы сүздік колбаға және оны келешектегі зерттеулер үшін қолдандық.

S- формадағы бруцеллез штаммдарын 80-90 °C температурада 1 сағат бойына үзбей араластырып тұрып инактивацияладық.

Содан кейін бактериальды суспензияның таза екендігін анықтағаннан кейін, 6000 айн/мин 20 минут бойына центрифугада айналдырдық, тұнбаның жиналған суын төгіп тастадық, ал тұнбаны оптикалық стандарт лайығы бойынша қоюлығы 30 млрд микроб торша 1 см³ болатындай 0,5 % фенолданған физиологиялық ерітіндімен езіп алдық.

Дайындалған тәжірибедегі антиген сериясының сезімталдығын анықтау үшін МҮМ және МІҚ малдардың оң, күмәнді және теріс нәтиже берген қан сарсуыларымен АР реакциясын биофабрикалық антигенмен қойдық. Алынған нәтижелер 1 кестеде келтірілген.

Кесте 1 – AP сезімталдығы әртүрлі антигендермен

№ №	Сынама нөмірі	Биофабрикалық антиген (бақылау)	Антиген алынған, штамм атауы			
			B.abortus 100	B.abortus 544	B.melitensis 115	B.melitensis 16M
МҮМ қан сарысуы						
1	0001	-	-	-	-	-
2	0004	-	-	-	-	-
3	0008	-	-	-	-	-
4	0005	1:200	1:400	1:200	1:200	1:200
5	0006	1:400	1:800	1:400	1:400	1:400
6	0015	1:100	1:100	1:100	1:100	1:100
7	0018	1:25	1:100	-	1:25	1:25
8	0020	1:25	1:50	1:25	1:50	1:25
9	0022	1:25	1:50	1:25	1:25	1:50
МІҚ қан сарысуы						
10	4708	-	-	-	-	-
11	4588	-	-	-	-	-
12	6908	1:100	1:400	1:100	1:100	1:100
13	424	1:400	1:800	1:400	1:400	1:400
14	3249	1:200	1:400	1:200	1:200	1:200
15	0557	1:50	1:50	1:50	-	1:50
16	7797	1:50	1:200	1:100	1:50	1:25

1 кестеде келтірілген нәтижелер бруцеллезбен зарарланған малдардың қан сарысуы *B. melitensis* 115, 16M және *B. abortus* 544 штаммдарынан жасалған тәжірибедегі антигендер титрі төмен өзіне тән қарсыденені ұстайтынын көрсетті, антиген *B.abortus* 100 штаммнан алған, жоғарғы сезімталдығын көрсетті, биофабрикалық және аталған тәжірибедегі антигенге қарағанда, қан сарысуының 1:800 араластырымда әсер етеді.

Антигенді қалыптастырылған жоғарғы сезімталдығын және катал өзіне тәнділігін есепке ала отырып біздің зерттеулерде біз серологиялық реакцияларға арналған (КБР/КҮБР және AP) *B.abortus* 100 штаммынан алынған бруцеллдің S-формаларынан құрастырған диагностикалық алдық, оптикалық стандарт лайлығы бойынша 30 млрд микробты торша 1 см³ болатын.

Бұрын бізге белгілі болған, R-формадағы бруцелла штаммдары, серологиялық реакцияларға арналған жоғарғы белсенді антиген алуға мүмкіндік бермеді (негізінде AP үшін), әрдайым тек қана корпускулалық антиген *B.abortus* 19 штаммы (S- форма) қолданылатыны атап өтілді. Бұл мәселені шешу үшін, біздің зертеушілер, сонымен бірге R-формадағы бруцелл антигендерін алудың әдісін өңдеп-жасауды іске асырды, бұл барлық бруцеллез жұқтырған малдарды толығырақ анықтауға арналған (КБР/КҮБР және AP) жалпы қабылданған негізгі серологиялық реакцияларда қолдануға болады. Серологиялық реакциялар үшін бруцеллдің R-формасынан белсенді антиген алу үшін біз бактериялық суспензиялар дайындадық *B. abortus* 960 (R формасы), *B.melitensis* H-12 (R формасы), *B.ovis* 63/290, 424/2

(R формасы) штамдарынан, оны су моншасында 80-90 °С температурада 1 сағат бойына тұрақты араластыру арқылы инактивацияға ұшырады. Содан соң алынған бруцелл қоймалжыңын тазалығы және зарасыздыққа тексерілді қоректік ортаға себу жолымен және содан кейін центрифугада 6000 айн/мин 30-45 минут айналдырып қоюландырдық, ал тұнбаны 5% фенолданған физиологиялық ерітіндімен шайқап алдық, қоюлығы 200 млрд микробты торша 1 см³ оптикалық стандарт лайлығы. Алынған антигендер 1 см³ 200 млрд микробты торшадан тұратын физикалық әсерлердің 3 әдісіне ұшырады :

1. ультра - дыбыс толқындары көмегімен 22 кгц жиілікте және 90 Вт/см² 30 минут бойына әсер етеді;

2. 4 - еселеп мұздату жолымен 18-20 ° С температурада 4- 5 сағат және термостаттағы ақырын еріту немесе су моншасында 37-40°С температурада. Соңғы ерітуден кейін қоймалжыңды +4 °С температурада тоңазытқышта 5 тәулік бойына күніне 5-6 рет шайқайды;

3. алдын ала 4 - еселеп мұздату жолымен 18-20 ° С температурада 4- 5 сағат және термостаттағы ақырын еріту немесе су моншасында 37 - 40°С температурада, содан кейін соңғы ерітуден кейін қоймалжыңды +4 °С температурада тоңазытқышта 5 тәулікте күніне 5 - 6 рет шайқайды және ультра-дыбыс толқындары 22 кгц жиілікте және 90 Вт/см² 3 рет 10-15 минут бойына әсеріне ұшырады. Жоғарыда көрсетілген әдістердің әсерінен кейін, бактериялы қоймалжың центрифугада 4000 - 5000 айн/мин 40 минут бойына айналдырдық, тұнбаның сұйықтығын төгіп тастадық, тұнбаны шайқап алдық 0, 5% фенолданған физиологиялық ерітіндімен қоюлығы 1 см³ 30 млрд. микроб торша оптикалық стандарт лайлығы үлгісі бойынша. Сайып келгенде, тұрақты R - антиген алудың тиімді жолы, оның өздігінен агглютинацияға түсуін жоятын – 4 еселеп мұздату жолымен 18-20 ° С температурада 4 - 5 сағат және ультра-дыбыс толқындары 22 кгц жиілікте және күштілігі 90 Вт/см² әсермен қалыптастырылды. Алған R - антигендердің сезімталдығы және өзіне тәнділігі AP реакциясында қояндардың экспериментальды әртүрлі бруцелла штамдарымен зарарланған қан сарысуын зерттеу жолымен анықтадық, коммерциялық овистік және теріс қан сарысуларымен. Алған нәтижелер кесте 2 келтірілген.

Кесте 2 – R - антигендердің тәжірибедегі сериясының AP реакциясындағы сезімталдығы және өзіне тәнділігі

Қояндардың инд.№	Қояндарды зарарлау үшін қолданған штамм атауы	Антиген алынған штамм атауы			
		B. abortus 960	B.melitensis H-12	B.ovis 63/290	B.ovis 424/2
1	B.melitensis 16 M	-	1:10	-	-
2	сол штамм	-	-	-	-
3	B. abortus 544	-	-	-	-
4	сол штамм	-	1:20	-	-
5	B.ovis 63/290	1:80	1:320	1:320	1:160
6	сол штамм	1:40	1:160	1:160	1:80
7	B.ovis 424/2	1:20	1:40	1:40	1:40
8	сол штамм	1:20	1:40	1:40	1:20
9	B. abortus 960	1:10	1:20	1:20	1:10
10	сол штамм	1:20	1:40	1:40	1:20
11	B.melitensis H-12	1:80	1:160	1:160	1:40
12	сол штамм	1:40	1:80	1:80	1:20
теріс қан сарысуы (бақылау)		-	1:10	-	-

2 кестеде келтірілгендей, тәжірибелік жолмен бруцеллезбен зарарланған қояндардың қан сарысуын зерттегенде, овистік және теріс қан сарысуы АР бруцелланың әртүрлі түрлерінен дайындалған штаммдарға қарағанда B.ovis 63/290 штаммы жасалған антиген ең үлкен белсенділікті және қатал өзіне тәнділікті көрсетті.

Сезімталдығын жоғарлату және көрнекілікті жақсарту үшін АР реакциясында олардың нәтижелерін есепке алып, алынған S- және R-антигендерді әртүрлі бояулармен боядық: қызыл 6С, қызыл орлактив, ксерон қызғылт, жасыл 5Ж, бриллиантты жасыл, белсенді қара-көк 5 ЗТ, белсенді бордо 4СТ, судан – қара, метилен көк, метилен көгілдір, кристаллды күлгін, белсенді қызыл - күлгін 2КТ, эриохромқара, бромфенол көк, генцианвиолет. Бояуларды дисстилденген суда еріттік және 1% ерітінді түрінде қолдандық. Бруцелланы бояуды жоғарыда көрсетілген бояулармен келесі үлгіде жасадық: бруцеллез суспензиясына сыналып отырған бояуларды қостық 0,1% -ке дейінгі қоюлықта, араластырып және 37-38 °С температурада термостатқа 24 сағатқа қойдық. Қоспаны төрт қабат дәкемен сүздік және центрифугада 5000 айн/мин 30 минут бойына айналдырдық. Тұнбаны суын тұйықтадық, ал тұнбаны еріттік буферлік ерітіндіде, соңғы қоюлығын бастапқы көлеміне жеткізіп. Бұдан әрі дайындалған антигеннің белсенділігін АР сыналды. Зерттеуге бруцелланың әртүрлі (S- және R формаларының) иммундағанда алынған қоянның қан сарысуы алынды, биофабрикалық антигенмен салыстыра отырып. Антигендерді 4% қоюлықта қолдандық 0,5% карболизирленген физиологиялық ерітіндіде. Боялған антигендер АР қояғанда 1:10 араластырымында қолдандық. Алынған нәтижелер АР реакциясында S- антигенді қолданғаны 3 кестеде келтірілген.

Кесте 3 - S - форм бруцелл антигендермен АР нәтижелері

Антигендер, эртүрлі бояумен боялған	Нәтижелері AP қан сарысуын зерттегенде, бруцелланың эртүрлі формаларнан алынған						
	Теріс сары су	B. ovis		B.abortus		B.melitensis	
		424/2	63/290	960	19	H-12	115
Қызыл 6С	-	-	-	-	1:640	-	1:640
Қызыл орлақтив	-	-	-	-	1:640	-	1:640
Ксерон қызғылт	-	-	-	-	1:320	-	1:320
Жасыл5Ж	-	-	-	-	1:320	-	1:320
Бриллиант жасыл	-	-	-	-	1:320	-	1:320
Белсенді қара-көк5 ЗТ	-	-	-	-	1:320	-	1:320
Белсенді бордо 4СТ	-	-	-	-	1:320	-	1:320
Судан – қара	-	-	-	-	1:320	-	1:320
Метилен көк	-	-	-	-	1:320	-	1:320
Метилен көгілдір	-	-	-	-	1:640	-	1:640
Генцианвиолет	-	-	-	-	1:640	-	1:640
Кристалл күлгін	-	-	-	-	1:320	-	1:320
Белсенді қызыл – күлгін 2КТ	-	-	-	-	1:320	-	1:320
Эриохромқара	-	-	-	-	1:320	-	1:320
Анилин көгілдір	-	-	-	-	1:1280	-	1:1280
Біріңғай бруцеллезді антиген AP, КБР (КУБР)	-	-	-	-	1:640	-	1:640

3 кестеде келтірілгендей, AP қояндардың сарысуын зерттегенде белгілі болды, S-форм бруцелл антигендердің сезімталдығы, қызыл 6С, метилен көгілдір, генцианвиолет бояуымен боялған биофабрикалық бруцеллезді антигенмен AP бірдей көрсеткішті көрсетті, малдардың қан сарысуы 1:640 араластырымда көрсетті, ал антигеннің белсенділігі, анилин көгілдір бояуымен боялған, осы аталған диагностикумдар – 1:1280 бірнеше жоғары болды. Сонымен бірге, сыналып отырған антигендерді қолданғанда, реакция көрнекілігі өте анық болды, пайда болған өзіне тән агглютинат бойынша анықтауға болады, түтіктің түбіне отырған көк-көгілдір қолшатырдан, түссіз биофабрикалық антигенмен салыстырмалы зерттегенде нәтижесі қолшатыр әрең көрінетін және нашар оқылатын болды. Антигендердің боялу мүмкіндіктерін анықтағанда, бруцелл R-формсынан алынғаны анықталды, барлық бояулардың бәрі бруцелл антигеніне бірдей тиімді емес және тұрақты боялмайды. Антигендердің бір бөлігі, кейбір бояулармен боялған антиген, өздігінен агглютинацияға түсті. Одан әрі зерттеулерімізде мұндай антигендерді қолданбадық. Антигендермен реакция нәтижелері, қалған бояқпен боялғандары 4 кестеде келтірілген.

Кесте 4 - R-формдағы тәжірибедегі антигендермен AP нәтижелері

Антигендер боялған өртүрлі бояулармен	AP қан сарысуы, бруцелл өртүрлі формаларынан алынған						
	Теріс сары су	B. ovis		B.abortus		B.melitensis	
		10/2 (R-форма)	63/290 (R-форма)	960 (R -форма)	19 (S-форма)	H-12 (R-форма)	115 (S-форма)
Қызыл 6С	-	1:80	1:160	1:80	-	1:160	-
Бриллиант жасыл	-	1:10	1:40	1:20	-	1:80	-
Белсенді бордо 4СТ	-	1:40	1:40	1:20	-	1:80	-
Кристал күлгін	-	1:20	1:40	1:20	-	1:80	-
Белсенді қызыл – күлгін 2КТ	-	1:80	1:40	1:20	-	1:160	-
Анилин көгілдір	-	1:40	1:80	1:40	-	1:160	-
Биофабрикалық овистік антиген КБР үшін (КҮБР)	-	1:20	1:40	1:10	-	1:80	-

4 кестеде келтірілгендей, сыналып отырған антиген, қызыл 6С бояуымен боялған және бруцеллдің R-формасынан дайындалған, жоғары өзіне тәнділігін көрсетті, өйткені қан сарысуымен өзара іс-әрекетке түспеді, алынған S- антигенмен. Көрсетілген антиген R-қан сарысуымен өзіне тән қарсы дененің шекті титрін 1: 160 айқындады. Реакция оң болған жағдайда түтіктің түбінде қызыл түсті қолшатыр пайда болды, реакцияның оқуын жеңілдетті. Антигендер қалған бояумен боялғандар AP қан сарысуын зерттегенде төмен сезімталдықты көрсетті.

Біздің зерттеулердің келесі кезені малдарды бруцеллезге және қошқардың жұқпалы эпидидимитіне қан сарысуын зерттегенде, B.abortus 100 штаммынан алынған және B.ovis 63/290 штаммынан КҮБР арналған антигендердің жарамдылығын анықтау болып табылады.

Алынған антигендердің титрі және олардың белсенділігі, өзіне тәнділігі, антикомплементтік, гемотоксикалық қасиетінің болмауы КҮБР-да квадрат үлгісі бойынша гомологиялық және теріс сарысулармен тексердік. S- антигенмен реакция нәтижелері 5 кестеде көрсетілген.

Кесте 5 - *B.abortus* 100 алынған антигеннің титрация нәтижелері

Реакциякомпоненттер i	Антигеннің араластырымы								
	Араластырым	1:50	1:75	1:100	1:150	1:200	1:300	Бақылау	
								Бифаб. антиген	сарысу антигенсіз
ОңS-сарысуы	1:10	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++	-	-	++ ++	-
	1:20	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++	-	-	++ ++	-
Теріссарысу	1:10	-	-	-	-	-	-		-
	1:20	-	-	-	-	-	-		-
Антигенніңантикомплемента-рность (комплементпен)	Екі еселенген мөлшер	-	-	-	-	-	-		-
Гемотоксичность (антигенсіз)	Екі еселенген мөлшер	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++	-	-

5 кестеде келтірілгендей, *B.abortus* 100 дайындалған антигеннің жұмыс титрі 1:50-1:150 шамасында болды. AP қойғандаR- антигенменкелесі нәтижелер алынды (кесте 6).

Кесте 6 - *B.ovis* 63/290 алынған антигеннің титрация нәтижелері

Реакции компоненттері	Антиген араластырымы								
	Араластырым	1:50	1:75	1:100	1:150	1:200	1:300	Бақылау	
								Биофаб. антиген	Сарысу антигенсіз
Оң R- сарысуы	1:10	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++	-	-	++ ++	-
	1:20	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++	-	-	++ ++	-
Теріс сарысу	1:10	++	-	-	-	-	-		-
	1:20	-	-	-	-	-	-		-
Антигенніңантикомплемента-рность (комплементпе)	Екі еселенген мөлшер	-	-	-	-	-	-		-
Гемотоксичность (антигенсіз)	Екі еселенген мөлшер	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++	-	-

6 кестеде көрсетілгендей, сыналып отырған R- антиген КҮБР-да антикомплементарлық, гемотоксикалық қасиеттері жоқ, антигеннің қойылған жұмыс титрі КҮБР 1:75-1:150 құрады. Антиген тек қана R- сарысумен әрекеттесті (бруцеллезді бақылау және сыналып отырған) теріс сарысумен реакцияға түспеді, дайындалған антигеннің өзіне тәнділігін куәландырады.

Қойылған тапсырмаларды шешкеннен кейін, S- және R-формадағы жеке антигендерді алудың тиімді жағдайдын қалыптастыру, жеке бруцелл штаммдарын қосып, өте тиімді бояуларды қосып және олардың сезімталдығын және өзіне тәнділігін анықтау AP және КҮБР-да біздің жұмыстың келесі кезеңі - S- және R-формадағы бруцелладан алынған антигендерден бір тұтас (аралас) диагностикум жасау, жоғары өзіне тәнділікке және сезімталдыққа ие, AP және КҮБР бір уақытта қолдануға болатын. Бірыңғай диагностикума алу үшін *B.abortus* 100 штаммынан алынған антиген, 1 мл 30 млрд м.т. тұратын және анилин көгілдірмен боялған 1:1 антигенмен араластырдық, *B.ovis* 63/290 штаммынан алынған, сондай-ақ 1 мл 30 млрд м.т. тұратын қызыл 6С боялған.

Әдебиеттер

1. Kumar S., Tamura K., Nei M. MEGA3: Integrated software for Molecular Evolutionary Genetics Analysis and sequence alignment [Text]: - // Briefings in bioinformatics. – 2004. – Vol. 5, №2. – P. 150–163.
2. Тен В.Б. Методологические основы приготовления и совершенствования профилактических противобруцеллезных препаратов и диагностических средств [Текст]: дис. ... д-ра вет. наук. – А., 1996. - 398 с.
3. Белобаб В.И. Пути совершенствования диагностики и профилактики бруцеллеза у животных [Текст]: дис. ... д-ра вет. наук. – А., 1998. - 426 с.

Резюме

РАЗРАБОТКА СПОСОБА ПРИГОТОВЛЕНИЯ S-R-АНТИГЕНА ДЛЯ СЕРОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ БРУЦЕЛЛЕЗА И ИНФЕКЦИОННОГО ЭПИДИМИТА ЖИВОТНЫХ

Барамова Ш.А., Мырзалиев А.Ж., Түсіпқан О., Шманова Б.

ТОО «Казахский научно – исследовательский ветеринарный институт»

В статье отражены результаты исследований по разработке и усовершенствованию способа приготовления антигенов из S – R - форм бруцелл (РДСК и РА) для диагностики бруцеллеза животных и инфекционного эпидидимита. Для испытания различных методов получения

антигенов из накопленных бакмасс из различных штаммов бруцелл и для получения окрашенных антигенов были испытаны различные красители.

Summary

DEVELOPMENT METHOD OF PREPARATION S-R-ANTIGEN FOR SEROLOGICAL DIAGNOSIS OF BRUCELLOSIS AND INFECTIOUS EPIDIDYMITIS OF ANIMALS

Baramova Sh.A., Myrzaliev A.Zh., Tusipkan O., Shmanova B.

LLP "Kazakh Scientific - Research Veterinary Institute"

The article covers results of study on the development and improvement of the antigen preparation method from S- R-forms of brucellosis for the diagnosis of brucellosis and infectious epididymitis of animals. For making colored antigens were tested different dyes.

УДК 619: 616.981.42

ДИАГНОСТИКА БРУЦЕЛЛЕЗА ЖИВОТНЫХ В СОВРЕМЕННЫХ УСЛОВИЯХ

Барарова Ш.А, д.б.н., профессор, Абуталип А., д.в.н., Мырзалиев А.Ж., к.в.н.

ТОО «Казахский научно- исследовательский ветеринарный институт»

Резюме В данной статье приведена сравнительная оценка диагностических методов применяемых при бруцеллезе животных и их преимущество и недостатки. А также проанализировано состояние исследовательских работ по бруцеллезу сельскохозяйственных животных в Казахстане.

Произошедшая реструктуризация сельскохозяйственного производства в РК вызвала необходимость усовершенствования системы эпизоотологического надзора и контроля над особо опасными зоонозными заболеваниями животных, в т.ч. оптимизации мероприятий против бруцеллеза животных, который всё ещё имеет широкое распространение, сдерживая развитие животноводческой отрасли.

Анализ эпизоотической ситуации по бруцеллезу животных за последние годы показал различную степень проявления эпизоотического процесса на территории РК и позволил определить территориальную приуроченность бруцеллеза животных с наиболее выраженными эпизоотологическими показателями. Так, в 2012 году самый высокий показатель зараженности МРС бруцеллезом был отмечен в Восточно-

Казахстанской (0,5%), Западно-Казахстанской (0,4%) и Жамбылской областях (0,4%). Аналогичная обстановка наблюдалась и в 2013 году в котором только лишь за 7 месяцев процент зараженности бруцеллезом МРС в Восточно-Казахстанской и Жамбылской областях возрос до 0,8 и 0,6%, соответственно. Наименьшие показатели заболеваемости среди этого вида животных отмечены в северных областях республики: Северо-Казахстанской, Карагандинской, Акмолинской.

Среди КРС максимальные показатели зараженности бруцеллезом были зарегистрированы в Западно-Казахстанской - 1,62%, Актюбинской - 1,0% и в Карагандинской областях - 1,0%. В 2013 году, опять же в названных областях, отмечено наивысшее количество зараженного бруцеллезом скота, которое всего лишь за 7 месяцев текущего года уже равнялось 1,69; 1,1; 1,4 процентов, соответственно. В Кызылординской, Алматинской и Южно-Казахстанской областях зафиксированы наименьшие проценты больного бруцеллезом КРС.

Таким образом, распространение бруцеллезной инфекции по территории РК имеет неравномерный характер, т.е. в отдельных регионах отмечены интенсивно выраженные количественные показатели заболевания животных бруцеллезом, а в других, наоборот, низкие. Существующее обстоятельство требует дифференцированно подбирать противобруцеллезные мероприятия, включающих, в зависимости от ситуации, наравне с диагностическими исследованиями и использование средств специфической профилактики в соответствии с утвержденным в РК Ветеринарным (ветеринарно-санитарным) Правилom, чтоб обеспечить скорейшее оздоровление неблагополучных хозяйств и остановить расширение ареала инфекции.

При этом в общей системе противоэпизоотических мероприятий важная роль отводится диагностике болезни, которая в отличие от профилактики на основе вакцин, применяется без особых ограничений, независимо от существующей ситуации в хозяйствах республики по бруцеллезу для исследования скота, как благополучных, так и неблагополучных и угрожаемых зон.

Со дня открытия различных видов возбудителей бруцеллезной инфекции до настоящего времени исследователями накоплен огромный багаж знаний в области иммуно- и генодиагностики болезни, что позволило рекомендовать практически во всех странах мира одинаковые стандартные диагностические методы. Комплексный анализ эпизоотологических данных, клинических признаков и лабораторных исследований позволяет своевременно и достоверно осуществлять постановку диагноза на бруцеллез.

Наиболее точным методом диагностики бруцеллеза был и остается до сих пор бактериологический, основанный на исследовании в лабораториях биоматериала (кровь, молоко, моча, плод, плацента, содержимое бурс, кусочки паренхиматозных органов и лимфоузлов и др.), полученного от животных и образцов с объектов внешней среды (смывы с кормушек, пола,

предметов ухода за животными и т.д.), включающий бактериоскопию окрашенных по Граму и другими специальными методами мазков-отпечатков. В необходимых случаях (например, при загрязнении исследуемого материала, отсутствия роста культур или подавлении их роста посторонней микрофлорой и т.д.) осуществляется биопроба на морских свинках. Изоляция культуры бруцелл из биоматериала и положительная биопроба являются основанием для постановки окончательного диагноза на бруцеллез, который может подтверждаться положительными результатами серологических исследований животных.

На сегодняшний день, при массовых исследованиях животных на бруцеллез в РК, применяются официально рекомендованные МЭБ (Санитарный наземный кодекс животных, 2010) серологические тесты - реакция связывания комплемента (РСК - CFT), розбенгал-проба (РБП -ВВАТ или RBT), иммуноферментный анализ (ИФА - enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA), а в зарубежных странах также метод флюоресцентной поляризации (ФПА-ФРА). Для контроля эпизоотической ситуации, перечисленные серологические тесты являются строго регламентированными при массовой диагностике бруцеллеза животных во всем мире.

Дополнительно, во многих странах СНГ и дальнего зарубежья при исследованиях животных на бруцеллез используются: пробирочная реакция агглютинации (РА - Agg или SAT; РДСК - LCFT) и кольцевая реакция с молоком для КРС (КР - brucellosis milk Ring Test).

РСК является двухэтапной реакцией и впервые была применена в 1901 году французскими исследователями для диагностики инфекционных болезней. На первом этапе в испытуемой системе формируется комплекс антиген-антитело, способный взаимодействовать с комплементом. На втором, представляющим собой реакцию гемолиза, из-за отсутствия комплемента эритроциты не изменяются. В случае, когда на первой стадии комплекс не вовлекается в реакцию, на второй происходит гемолиз эритроцитов, который оценивается как отрицательный, а его отсутствие - как положительный результат.

Испытание РСК для диагностики бруцеллеза сельскохозяйственных животных проводилось, начиная с 1909 года, которая стала широко изучаться в различных странах мира и получила положительную оценку исследователей. Строгая специфичность и высокая чувствительность РСК, её способность обнаруживать больных животных с хронически протекающей инфекцией являются основными преимущественными показателями этой реакции, которые подтверждают её ценность при диагностике бруцеллеза животных. Однако ряд авторов считают, что РСК имеет и свои недостатки. Она относительно сложна по методике и требует дополнительных затрат на компоненты, участвующие в реакции. О высокой диагностической ценности РСК при исследовании домашних животных на бруцеллез свидетельствуют работы и многих зарубежных авторов. Они считают ее наиболее объективной из всех серологических методов диагностики. Однако РСК не может

заменить РА, так как не всегда подтверждает ее положительный и сомнительный результаты. Изучая РСК и РА в хозяйствах с различной давностью бруцеллезной инфекции, исследователи установили, что РСК обычно проявляется позже РА, но ее показатели постоянны и длительно сохраняются.

РСК сохраняет свою ценность в стадах, как с острым, так и с хроническим течением бруцеллеза. В результате для исследования неблагополучных по бруцеллезу стад был принят серологический комплекс РА и РСК. Многие практические работники дали положительную оценку этому комплексному методу. Однако внедрение комплексного исследования не позволило решить проблему ликвидации бруцеллеза животных. Известны случаи, когда через несколько недель после получения отрицательного результата в РА и РСК среди коров появлялись аборты бруцеллезного происхождения.

Модификация РСК с использованием холода (РДСК) существенно повысило чувствительность и результативность реакции (П. А.Триленко, 1976). Усовершенствованная методика проведения реакции, основанная на длительном выдерживании первой фазы реакции на холоде в течение 16-18 часов, нашла широкое применение не только в научных целях, но и в лабораторной ветеринарной практике и оказалась более специфичной, выявляя большее число реагирующих особей, чем РСК.

Вместе с тем, несмотря на указанные преимущества РДСК и РСК, они громоздки по проведению и технически сложно выполнимы, при учете их результатов требуется опытный лабораторный работник, владеющий методиками постановки реакции. Кроме того, получение результатов исследований затягивается на 2 дня из-за длительности его проведения.

Другим серологическим тестом, прочно внедрившимся в лабораторную практику, является РА, которая обладает достаточно высоким уровнем эффективности при исследовании животных на бруцеллез в свежих случаях заражения. Главными позитивными характеристиками данной реакции являются её высокая активность, строгая специфичность, оперативность получения результатов, простота техники постановки с минимальными материальными затратами. Преимуществом данной реакции перед другими серологическими методами является то, что с помощью неё выявляются больные бруцеллезом животные в ранний период инфицирования, что позволяет своевременно изолировать больных животных и принять необходимые меры предосторожности по недопущению дальнейшего рассеивания инфекции. Этот аспект подчеркивает неоспоримую ценность и весомое место РА в числе других серологических методов, если учитывать, что бруцеллез относится к ряду особо опасных инфекций. РА также как и любой другой серологический тест имеет свои определенные несовершенства. Так, например, в случае длительно протекающей инфекции в организме животного (с хронической формой), показания РА не всегда бывают положительными и не всегда совпадают с результатами РСК/РДСК

из-за того, что РА обнаруживает агглютинирующие антитела, интенсивно вырабатываемые организмом сразу после заражения, тогда как РСК обнаруживает комплементсвязывающие антитела.

Другим недостатком РА является необходимость использования в качестве стабилизатора реакции фенолинизированного физиологического раствора. Фенол в нашей стране включен в список реагентов, приносящих вред здоровью людей, что послужило причиной его ограниченного применения в ветеринарной лабораторной практике. Однако, в медицинских лабораториях эта причина не явилась убедительной для исключения РА из числа официальных серологических тестов. Мало того, показания РА в медицинских лабораториях являются одним из основных и решающих при постановке диагноза на бруцеллез у людей.

Заслуживающие внимания достоинства РА (нетрудоёмок по постановке, не требует больших материальных затрат, отличается оперативностью и высокой информативностью) послужили вескими доводами для широкого его использования в лабораторной ветеринарной и медицинской практике многих стран мира в течение нескольких десятилетий и до сих пор. Так, например, в России, Армении, Украине и в других странах СНГ, а также дальнего зарубежья РА до сих пор остается одним из основных диагностических тестов при массовых исследованиях животных на бруцеллез.

Исходя из практической значимости РА при диагностике бруцеллеза животных, научными работниками КазНИВИ были проведены научные изыскания по поиску путей постановки РА с известным единым бесцветным антигеном с использованием растворов хлористого натрия без добавления фенола. С целью сохранения РА в составе используемого сегодня в нашей стране при диагностике бруцеллеза животных комплекса серологических тестов, в результате проведенных исследований нами был найден альтернативный фенолу реагент, не позволяющий прорасти посторонней микрофлоре в исследуемых сыворотках, что предотвращает неспецифические показания РА при учете её результатов.

Использование предлагаемого нами реагента в РА вместо фенола позволяет не отходить от классической постановки РА (реакция ставится по известной всем серологам методике) и тем самым не требует переучивания лабораторных работников новой методике.

Основными аргументами применения предлагаемого нами реагента в РА вместо фенола, кроме вышесказанных его преимуществ, являются также:

- безвредность реагента здоровью исследователя (в отличие от канцерогенного фенола);
- улучшение наглядности реакции (вместо бесцветных малозаметных зонтиков образуются четко очерченные окрашенные специфические зонтики);
- меньший расход предлагаемого реагента, чем фенола, что очень важно, т.к. последний отпускается по строгому учёту;

- свободное приобретение и дешевая стоимость реагента по сравнению с фенолом, реализация которого химфирмами минимально ограничена.

Способ постановки РА с предлагаемым нами при диагностике бруцеллеза животных реагентом защищен охранным документом (инновационный патент, 2012; получена приоритетная справка на патент, 2013). Разработаны методические указания КазНИВИ по применению электролитной среды в РА, содержащей реагент (Алматы, 2012), с подробным описанием применения при исследовании различных видов животных на бруцеллез.

Все вышесказанное позволяет использовать РА для массовых плановых исследований сельскохозяйственных животных в нашей республике на бруцеллез с применением предлагаемого нами реагента в составе электролитной среды, использование которой способствует ранней диагностике бруцеллезной инфекции и повышению результативности серологических исследований животных за счет дополнительного выявления больных особей, не обнаруженных с помощью ныне применяемых тестов (РСК/РДСК, РБП, ИФА).

Модификацией РА является пластинчатая реакция агглютинации, предложенная Хеддельсоном в 1926 году, которая ставится на стекле, и нашла широкое применение в медицинской практике. Несмотря на высокую чувствительность, реакция Хеддельсона часто показывает неспецифический результат, о чем отмечено в сообщениях различных исследователей. Этот недостаток вызван тем, что специфический антиген в указанной реакции вступает во взаимодействие с антителами, выработанными к близкородственным к бруцеллезному антигенам, таким как иерсиниезный, пастереллезный и др.

В результате усовершенствования реакции агглютинации также была разработана пластинчатая реакция агглютинации с антигеном, окрашенным бенгальским розовым (РБП) и имеющим кислую среду, в которой активны только специфические агглютинины. Предложенный забуференный кислый окрашенный антиген для ПРА способен обнаруживать специфические агглютинины не только в ранние сроки заболевания, но и в отдаленные периоды болезни, когда идёт угасание агглютинирующих антител в организме и их невысокий титр уже не улавливается в РА с единым бруцеллезным антигеном. РБП была официально принята для исследования животных на бруцеллез в 1977 году и до настоящего времени широко используется при диагностике указанного заболевания. Роз бенгал проба обладает той же качественной динамикой, что и стандартная агглютинация, но имеет некоторые количественные различия и благодаря низкой рН обладает большей чувствительностью к специфическим антигенам, обнаруженным у инфицированных животных.

Главным преимуществом РБП по сравнению с другими серологическими реакциями является то, что учет показаний реакции проводится уже через 3-5 мин после постановки, что делает его

востребованным в случаях необходимости быстрого распознавания состояния эпизоотической обстановки в стаде. Кроме того, технология проведения реакции настолько несложная и нетрудоемкая, что она доступна для исследований сывороток крови и сывороток молока и в полевых условиях (непосредственно в хозяйствах). Вместе с тем, РБП тоже может давать неспецифические реакции.

В настоящее время во многих странах мира, в том числе и СНГ для диагностики различных инфекционных заболеваний, в т.ч. и бруцеллеза применяются современные перспективные методы - иммуноферментный анализ (ИФА) и полимеразная цепная реакция (ПЦР), позволяющие за короткий срок обнаруживать в любом биологическом материале возбудителя инфекции. Однако, в силу своей высокой чувствительности, эти методы в некоторых случаях показывают неспецифический результат, что отмечено многими исследователями, которые рекомендуют подходить к их применению с осмотрительностью.

ИФА - иммунологический тест, также основанный на специфической реакции - антиген-антитело, который выявляется с использованием фермента в качестве метки. Как и любые иммунохимические методы анализа, ИФА может давать ложноположительные и ложноотрицательные результаты. Ложноотрицательные результаты при определении антител могут быть обусловлены состояниями иммунодефицита, а также техническими ошибками при постановке реакции.

Как известно, ИФА - как ускоренный метод диагностики был разработан ещё в 1972 году Энгваллом и Перлманом и является новым «хорошо забытым старым» тестом, который по указанному недостатку ранее не нашёл широкого применения для массовой диагностики бруцеллеза у животных. В настоящее время рядом исследователей ИФА предлагается в качестве модифицированного теста с использованием новых биотехнологических приёмов, что, возможно, позволит устранить существующие его недостатки.

В нашей республике, ИФА стал использоваться при массовых исследованиях на бруцеллез КРС с 2008 года, как единственный серологический тест, по результатам которого резко возросло число положительно реагирующих на бруцеллез животных. При этом, по неизвестным причинам, из комплекса официально используемых диагностических тестов были исключены издавна доказавшие свою практическую ценность РБП/ПРА, РСК/РДСК, которые официально рекомендованы Санитарным наземным кодексом МЭБ (2010) при диагностике бруцеллеза животных.

ПЦР, как один из основных тестов, официально регламентирована МЭБ для диагностики бруцеллеза животных. В отличие от бактериологического метода ПЦР позволяет проводить прижизненную диагностику бруцеллеза, обнаруживая в исследуемых пробах биоматериала как живые, так и неживые микроорганизмы и их отдельные фрагменты ДНК,

оставшиеся после их разрушения. ПЦР обладает рядом других преимуществ перед бактериологическим методом, которые заключаются в значительной чувствительности и строгой специфичности метода, высокой информативности, оперативности получения результатов и постановки диагноза. Одним из существенных препятствий широкому внедрению ПЦР для массовой диагностики бруцеллеза в ветеринарной практике РК является дороговизна оборудования и ингредиентов, с помощью которых осуществляется постановка реакций. Отсутствие отечественных тест-систем и закуп специфических праймеров за рубежом также сдерживают повсеместное применение ПЦР в ветеринарных областных и районных лабораториях.

Таким образом, в связи с имеющимися недостатками всех вышеперечисленных серологических тестов, несмотря на их достаточно высокий уровень диагностической ценности, массовые исследования животных на бруцеллез необходимо проводить с применением всего комплекса серологических тестов, включая РА, которая может определять не только наличие антител, но и высоту их титра, характеризующую остроту течения инфекционного процесса.

Түйін

ҚАЗІРГІ ЖАҒДАЙДАҒЫ ЖАНУАРЛАР БРУЦЕЛЛЕЗІН БАЛАУ

Барамова Ш.А., Абуталип А., Мырзалиев А.Ж.

«Қазақ ғылыми зерттеу ветеринария институты» ЖШС

Мақалада мал бруцеллезіндегі диагностикалық әдістердің салыстырмалы бағасы және олардың артықшылығы мен кемшіліктері көрсетілген. Сонымен қоса, Қазақстандағы ауыл шаруашылық малдарын бруцеллез бойынша тексеру жұмыстарының жағдайына сараптама келтірілген.

Summary

DIAGNOSIS OF ANIMAL BRUCELLOSIS IN MODERN CONDITIONS

Baramova Sh.A., Abutalip A., Myrzaliev A.Zh.

LLP «Kazakh Scientific - Research Veterinary Institute»

This article provides a comparative evaluation of diagnostic methods used in animal brucellosis and their advantages and disadvantages. And also analyzes research on farm animal brucellosis in Kazakhstan.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИММУНОМОДУЛЯТОРА ДЛЯ КОРРЕКЦИИ ИММУНОЛОГИЧЕСКОГО СТАТУСА ОРГАНИЗМА ЖИВОТНЫХ И СРЕДСТВ СПЕЦИАЛЬНОЙ ПРОФИЛАКТИКИ ПРИ ОЗДОРОВЛЕНИИ ХОЗЯЙСТВ НЕБЛАГОПОЛУЧНЫХ ПО БРУЦЕЛЛЕЗУ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Базарбаев М., д.в.н., Тен В.Б., д.в.н., профессор

ТОО «Казахский научно- исследовательский ветеринарный институт»
Филиал «Карагандинская научно- исследовательская ветеринарная станция»

Резюме В статье приводятся результаты применения алергосерологического исследования крупного рогатого скота на бруцеллез, иммуномодулятора для коррекции иммунного статуса организма животных и инактивированной вакцины «КазНИВИ» при оздоровлении хозяйств от бруцеллеза крупного рогатого скота. Авторы отмечают, что внедрение вышеописанной схемы позволяет оздоровить хозяйство от бруцеллеза КРС в кратчайшие сроки, то есть в течение 10-12 месяцев.

Анализ результатов оздоровления хозяйства методом систематических серологических исследований дает основание считать, что данный метод при современной технологии ведения отрасли в хозяйствах не всегда дает желаемые результаты. Поэтому в целях локализации распространения бруцеллеза в хозяйстве и с учетом экономической сложности разовой замены всего неблагополучного маточного поголовья, была рекомендована схема оздоровления с применением в общем комплексе противобруцеллезных мероприятий иммуностимулятора для коррекции иммунного статуса организма животных с последующим применением средств специальной профилактики бруцеллезной инфекции.

Схема оздоровления от бруцеллеза крупного рогатого скота в эпизоотическом очаге в зависимости от уровня заболеваемости включала: алергосерологическое исследование животных, 4-х или 8 – ми кратное подкожное введение иммуномодулятора для коррекции иммунного статуса организма животных, содержащего антибиотик (тетрациклин, стрептомицин) и последующую иммунизацию животных экологически безопасной вакциной против бруцеллеза.

Пример 1. Проверка предлагаемой схемы оздоровления была испытана в хозяйстве, где длительное время наблюдались единичные выделения и за последние 3-4 года оно было неблагополучным по бруцеллезу. На день обследования в нем содержалось 73 головы крупного рогатого скота. Во время отельной компании среди сухостойных коров произошло 2 аборта и заболеваемость составила 2,6%.

При исследовании животных, перед испытанием предлагаемой схемы оздоровления, заболеваемость составила 5,5%. Спустя месяц все животные были снова исследованы на бруцеллез, реагировали позитивно 2 коровы и 1 телка случного возраста (4,11%). Реагирующие животные были сданы на убой. Оставшимся 67 животным препарат вводили 4-хратно с интервалом 7-10 дней. Спустя 7-10 дней после последнего введения препарата животные были исследованы аллергосерологическими методами. Результаты проведенной работы представлены в таблице 1.

Таблица 1 - Результат аллергосерологического исследования КРС до и после 4-х кратного введения иммуностимулятора.

Кол-во ж-х	Результаты исследования											
	до введения препарата						после 4-х кратного введения препарата					
	Аллерг.		РА		РСК		Аллерг.		РА		РСК	
	К-во	%	К-во	%	К-во	%	К-во	%	К-во	%	К-во	%
73	4	5,5	2	2,7	4	5,5	-	-	-	-	-	-

Из данных таблицы 1 видно, что после четырехкратного введения препарата все животные реагировали отрицательно как по серологии, так и аллергопробе. В дальнейшем животные были иммунизированы инактивированной вакциной

Таким образом, мероприятия, предложенные нами в общем комплексе (диагностические тесты, препарат для профилактики), позволяют сократить сроки оздоровительных мероприятий и получить отрицательные результаты в течение 2-3 месяцев.

Пример 2. Во втором хозяйстве, в котором содержалось 110 голов крупного рогатого скота, длительное время наблюдалось незначительное выделение реагирующих на бруцеллез животных.

Оздоровление данного хозяйства проводилось методом систематических диагностических исследований с последующей изоляцией реагирующих животных и проведением комплекса ветеринарно-санитарных мероприятий. Однако, описанные мероприятия ощутимых результатов не давали, так как при 4-х кратном исследовании не прекращались выделения реагирующих по серологическим тестам животных. Всего было выявлено 11 голов скота, которых сдали на убой.

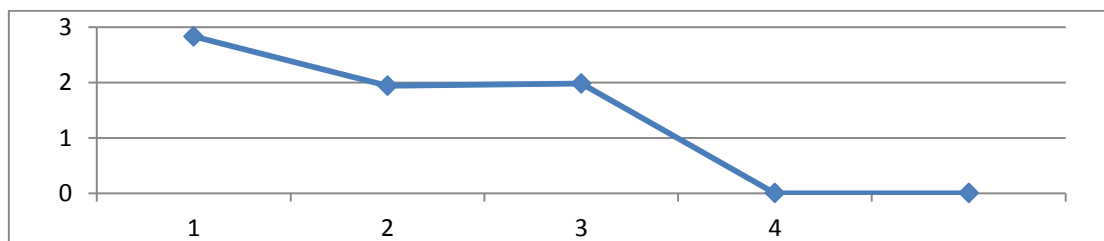


Рисунок 1 - Результаты 4-х кратного исследования КРС на бруцеллез до опыта

Перед началом мероприятий по оздоровлению, животные в количестве 99 голов были исследованы на бруцеллез, где положительно реагировали 2 коровы (2,0%). После изоляции реагирующих, оставшимся животным 4-хкратно с интервалом 7-10 дней подкожно был введен иммуностимулятор в дозе 5 см³.

Спустя 7 дней после четвертого введения все животные были исследованы на бруцеллез. Результаты исследований были отрицательными. Через 2 месяца после последнего исследования и перед постановкой на зимне-стойловое содержание их исследовали на бруцеллез. Показания реакции в обоих случаях были отрицательными.

Далее животные были иммунизированы инактивированной вакциной «КазНИВИ» против бруцеллеза сельскохозяйственных животных в дозе 4 см³.

Пример 3. В одном из хозяйств Абайского района при планово-диагностическом исследовании 470 голов крупного рогатого скота КОФ РКП «Республиканская ветеринарная лаборатория» было выявлено 52 (11,1%) головы, положительно реагирующие на бруцеллез животных. Реагировавшие на бруцеллез животные были изолированы и сданы на убой. Далее планировалось проведение оздоровления стада от бруцеллеза методом систематических диагностических исследований животных, с последующим убоем реагирующих (интервал между исследованиями составлял 25-30 дней).

При 4-х кратном исследовании было выявлено 149 голов реагирующих на бруцеллез животных, и заболеваемость в среднем составила 12,2%.

Результаты 4-х кратного исследования КРС на бруцеллез до начала испытания иммуномодулятора приведены на рисунке 2.

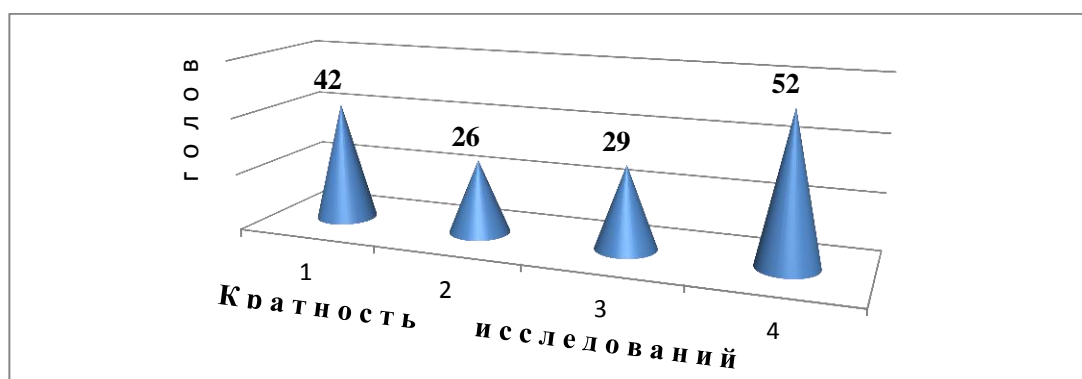


Рисунок 2 - Результаты 4-х кратного исследования КРС на бруцеллез до начала опыта

Реагирующие на бруцеллез животные, а также 47 голов с зоотехническим браком (старые, тощей упитанности и т.д.) были сданы на убой. Оставшиеся коровы в количестве 201 головы были размещены в

обособленный пастбищный участок. Оздоровление данного хозяйства проводилось по следующей схеме:

- Исследование крупного рогатого скота хозяйства с полным охватом на бруцеллез по аллергической пробе и общепринятыми серологическими тестами (РБП, РА, РСК) с последующей изоляцией реагирующих животных;
- Обработка отрицательно реагирующих животных восьмикратно с интервалом 7-10 дней (доза коровам – 6 см³, молоднякам старше года – 5 см³) иммуностимулятором;
- Исследование животных на 7 -10 дни после 4 и 8 –кратных обработок иммуностимулятором с последующей изоляцией реагирующих животных.

В результате исследования животных основного стада (201 голова) после четырехкратной обработки антибактериальным препаратом было выявлено 20 голов реагирующих, в том числе 6 (2,98%) голов по классическим тестам. Данные приведены в таблице 2.

Таблица 2 - Результаты исследования животных после 4-х и 8-ми кратного применения иммуномодулятора

Кол-во ж-х	Кратность применения АБП									
	4					8				
	КМ		Аллергич.			Кол-во ж-х	КМ		Аллергич.	
	отн	абс	отн	абс	отн		абс	отн	абс	
201	6	2,98	14	6,96	181	-	-	-	-	

Примечание: КМ – классический метод

Как видно из таблицы 2 по всей группе после восьмикратной обработки антибактериальным препаратом у животных были получены отрицательные результаты исследований по РБП, РСК и РА. Оставшиеся в стаде животные в количестве 181 головы были иммунизированы инактивированной противобруцеллезной вакциной в вышеупомянутых дозах. По истечению трех месяцев после иммунизации, при серологическом исследовании установили наличие антител различной степени выраженности и через восемь месяцев после вакцинации были получены отрицательные результаты исследований. После получения двукратных отрицательных результатов исследований, с данного хозяйства было снято ограничение по бруцеллезу крупного рогатого скота. Также была изучена динамика поствакцинальных реакций у вакцинированных животных, результаты которых отражены на рисунке 3.

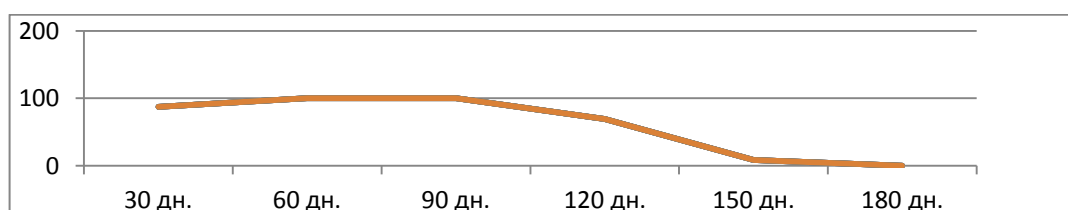


Рисунок 3 - Динамика поствакцинальных реакций у вакцинированных животных

Из рисунка 3 видно, что на 30-й день после иммунизации у 87,8% животных проявляются поствакцинальные реакции, которые постепенно возрастают и к 60 дню они отмечаются у всех иммунизированных животных. К 120 дню поствакцинальные реакции сохраняются у 58,4-69,4%, а к 150 дню они сохраняются только от 3,5 до 8,4% коров. В последующих исследованиях были получены отрицательные результаты.

Таким образом, применение в комплексе противобруцеллезных мероприятий аллергосерологического исследования на бруцеллез, иммуномодулятора для коррекции иммунного статуса организма животных и инактивированной вакцины «КазНИВИ», позволяет оздоровить хозяйство от бруцеллеза КРС в кратчайшие сроки, то есть в течение 10-12 месяцев.

Следует отметить, что по данным Карагандинского областного филиала РКП «Республиканская ветеринарная лаборатория» по данному хозяйству через год после вакцинации при плановом исследовании были получены отрицательные результаты.

Түйін

ІРІ ҚАРА МАЛДЫҢ БРУЦЕЛЛЕЗИНЕН САУ ЕМЕС ШАРУАШЫЛЫҚТАРДЫ САУЫҚТЫРУДАҒЫ МАЛ АҒЗАСЫНЫҢ ИММУНОЛОГИЯЛЫҚ СТАТУСЫН ҚАЛЫПҚА КЕЛТІРЕТІН ИММУНОМОДУЛЯТОР МЕН АРНАЙЫ АЛДЫН АЛУ ЗАТТАРЫНЫҢ ТИІМДІЛІГІ

Базарбаев М., Тен В.Б.

«Қарағанды ғылыми – зерттеу ветеринария станциясы» филиалы
«Қазақ ғылыми зерттеу ветеринария институты» ЖШС

Мақалада шаруашылықты ірі қара бруцеллезінен айықтыру кезінде малдарды бруцеллезге сероаллергиялық әдістермен зерттеумен қоса малдардың ағзаларының иммундық статусын коррекциялау үшін иммуномодуляторды қолданудың нәтижелері келтірілген. Мақала авторларының айтуы бойынша жоғарыда аталған жүйені енгізу ірі қара бруцеллезінен қолайсыз шаруашылықтарды 10-12 ай ішінде айықтаруға мүмкіндік береді.

Summary

EFFICACY OF IMMUNOMODULATOR FOR CORRECTING IMMUNE STATUS OF ANIMALS AND MEANS FOR SPECIAL PREVENTION IN HEALTHCARE OF BOVINE BRUCELLOSIS

Bazarbaev M., Ten V.B.

Branch «Karaganda Research Veterinary Station»
LLP «Kazakh Scientific - Research Veterinary Institute»

The article presents the results of applying of allergoserological research on cattle brucellosis, of the immunomodulator for correction of the immune status of animals and the inactivated vaccine «KAZNIVI» at improvement of farms from cattle brucellosis. The author notes that implementation of the above-described scheme can improve the farms from cattle brucellosis in the shortest possible time, i.e. within 10 - 12 months.

УДК 619:616.9-036.2:616.981.42+636.22/.28

ОСОБЕННОСТИ ПРОЯВЛЕНИЯ ИНФЕКЦИОННОГО И ЭПИЗООТИЧЕСКОГО ПРОЦЕССОВ ПРИ БРУЦЕЛЛЕЗЕ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА МЯСНОГО НАПРАВЛЕНИЯ

Гордиенко Л.Н., Гуськова Т.В., Еланцева Н.Б., Гайдуцкая Г.М.,
Куликова Е.В.

Государственное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт бруцеллеза и туберкулеза животных»
Российской академии сельскохозяйственных наук, г. Омск

Резюме Установлено, что на проявление инфекционного и эпизоотического процесса при бруцеллезе оказывают влияние факторы, связанные со спецификой отрасли отгонного скотоводства. В очаге бруцеллеза инфекция распространяется интенсивно в течении короткого периода с охватом 30% животных в стаде

Одним из перспективных направлений животноводства в последние годы (2000-2014 гг.) является мясное скотоводство. Разведение крупного рогатого скота мясного направления позволяет при минимальных затратах на

содержание животных получать круглогодично высококачественную продукцию для реализации в свежем и в переработанном виде.

Основными факторами развития отрасли являются селекционно-племенная работа, кормовая база и обеспечение устойчивого ветеринарного благополучия [1].

Значительную опасность для животноводства представляют инфекционные болезни, особенно в период адаптации [2].

Вместе с этим содержание животных в свободном выгуле, многократное использование пастбищ и водоёмов, постоянный контакт с многочисленными факторами внешней среды, сложности в управлении стадами на выпасах и при проведении ветеринарных обработок, специфика ведения отрасли отгонного животноводства играют определённую роль в проявлении инфекционного и эпизоотического процессов.

Важное место в инфекционной патологии крупного рогатого скота принадлежит бруцеллёзу, который, кроме экономического ущерба, представляет опасность для здоровья людей. В связи с этим изучение особенностей проявления инфекционного и эпизоотического процессов при бруцеллёзе животных в мясном скотоводстве необходимо для объективной оценки ситуации в стадах, принятия правильного решения и своевременного проведения профилактических и оздоровительных мероприятий.

Анализируя эпизоотическую ситуацию по бруцеллёзу крупного рогатого скота в Российской Федерации за последние годы (2011-2014 г.г.), следует отметить, что наиболее интенсивное распространение инфекции отмечается в регионах, где преобладает овцеводство и мясное скотоводство со свободным выгулом животных в республиках Калмыкия, Дагестан, Бурятия, Тыва, Чечня, Кабардино-Балкария; Ставропольский край, Астраханская область.

Показатели эпидемической ситуации по бруцеллёзу свидетельствуют об интенсивности инфицирования людей в тех же регионах (рисунок 1) [3].

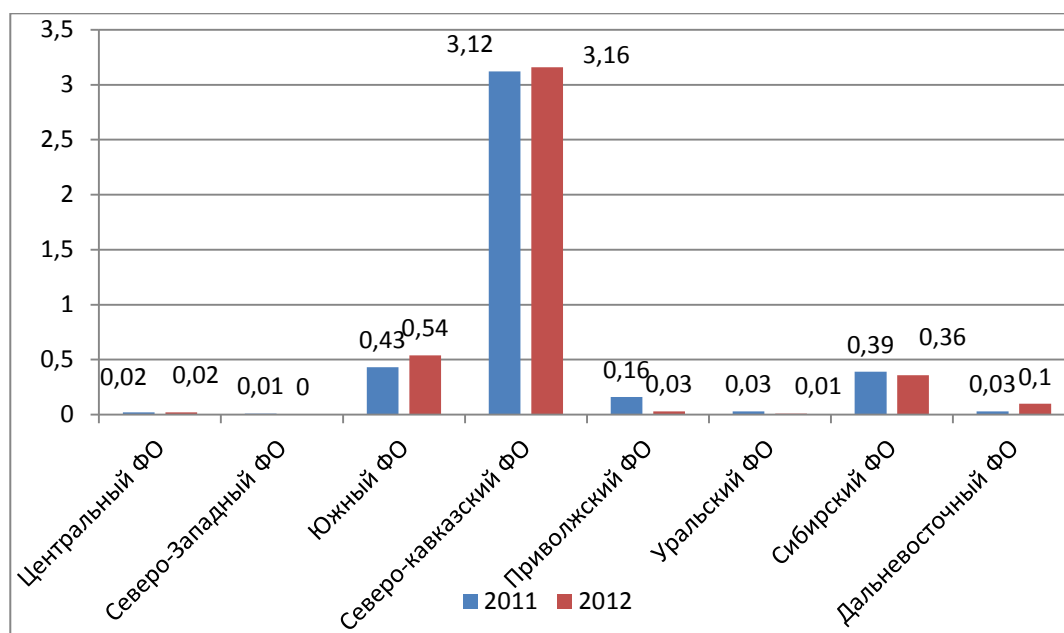


Рисунок 1 - Заболеваемость людей бруцеллезом на 100 тыс. населения по Федеральным округам

По данным информационно-аналитического центра Россельхознадзора за последние годы (2004-2012 г.г.) отмечается динамика распространения бруцеллеза крупного рогатого скота (рисунок 2) [3].



Рисунок 2 - Динамика распространения бруцеллеза крупного рогатого скота в регионах Российской Федерации

В течение 2011-2013 г.г. нами проведен анализ проявления инфекционного и эпизоотического процессов в свежем очаге бруцеллеза крупного рогатого скота Казахской белоголовой породы, содержащегося в свободном выгуле.

Животные были завезены из двух ферм с различным эпизоотическим состоянием. Одно хозяйство было оздоровлено от бруцеллеза с использованием средств специфической профилактики и в течение 4-х лет в нем сохранялось благополучие.

В другом хозяйстве отмечали хроническое течение бруцеллеза с незначительным распространением инфекции среди взрослого поголовья. После ввоза животных объединили в один гурт и в течение карантинного периода среди них выявили две нетели, положительно реагирующие на бруцеллез.

Реагирующих животных изолировали из стада, а остальное поголовье исследовали на бруцеллез через 6 месяцев.

По результатам первого серологического исследования из 500 животных было выявлено 154 головы положительно реагирующих на бруцеллез. Причем характер и титры серологических реакций (РА 50 МЕ, РСК 1:10) свидетельствовали о начальной стадии инфицирования и развития эпизоотического процесса.

Для оздоровления неблагополучного стада был выбран метод учащенных серологических исследований (через 25-30 суток) с удалением из стада положительно реагирующих животных. В течение последующих 6 месяцев животных всех половозрастных групп исследовали на бруцеллез, а инфицированных животных изолировали из стада (таблица 1).

Таблица 1 - Результаты серологических исследований крупного рогатого скота мясного направления на бруцеллёз в очаге инфекции

Дата исследования	Количество исследованных проб	Выявлено положительно реагирующих животных	
		голов	%
27.07.2013-29.07.2013	202	19	9,4
25.08.2013 –28.08.2013	493	55	11,1
26.09.2013 –29.09.2013	440	29	6,5
24.10.2013 –27.10.2013	412	19	4,6
23.12.2013 –25.12.2013	528	32	6,0

Оценивая проявление эпизоотического процесса, в свежем очаге бруцеллеза крупного рогатого скота следует отметить, что инфекция в течение 6 месяцев распространялась интенсивно с поражением 30,8% животных в стаде. Важную роль в широком распространении инфекции среди восприимчивых животных играли факторы, связанные со спецификой ведения отрасли отгонного скотоводства.

Прежде всего, это туровый отёл, который по технологии проходит в зимние месяцы с января по март. При появлении у коров и нетелей клинических признаков бруцеллеза (аборты, рождение нежизнеспособного потомства и др.) сложно определить подозреваемых в заболевании животных для постановки диагноза и изоляции их из стада.

В случае проявления клинических признаков бруцеллёза у коров и первотёлок абортированные плоды, плодовые оболочки и околоплодная жидкость соприкасаются с факторами внешней среды и обсеменяют бруцеллами подстилку, предметы ухода, инвентарь, создавая условия для перезаражения животных через кожу, слизистые дыхательных путей, пищеварительного тракта и половых органов. Другим, не менее важным фактором, влияющим на интенсивность распространения инфекции, является вольная случка, одна из неотъемлемых составляющих технологического процесса в мясном скотоводстве. При выгульном содержании скота во время случного периода на одного быка – производителя рассчитано от 15 до 20 коров. Поэтому в период случки в неблагополучном по бруцеллёзу стаде существует высокая вероятность перезаражения животных половым путём.

В эпизоотическом процессе при бруцеллёзе крупного рогатого скота не исключаются и другие факторы: пастбища, водоёмы, выгульные площадки, которые существуют и участвуют в эпизоотической цепи при перезаражении животных в течение всего года.

Таким образом, при заносе возбудителя бруцеллёза в благополучные или оздоровленные стада крупного рогатого скота формируется свежий очаг с интенсивным распространением инфекции и охватом до 30,0% восприимчивого поголовья. На проявление эпизоотического и инфекционного процессов при бруцеллёзе крупного рогатого скота мясного направления оказывают влияние факторы, связанные со специфичностью ведения отрасли: круглогодичный выгул с использованием одних и тех же пастбищ и водоёмов, туровые отёлы на ограниченных площадках, проведение вольной случки. При возникновении бруцеллёза среди крупного рогатого скота мясного направления со свободным выгулом метод учащенных серологических исследований, с выявлением положительно реагирующих животных и изоляций их очага без проведения специфической иммунизации не позволяет купировать инфекцию и достичь оздоровления стада.

Литература

1. Глазунова Л.А., Глазунов Ю.В., Бахарев А.А. //Телязиоз герфордского скота в Тюменской области//Стратегия развития мясного скотоводства и кормопроизводства в Сибири: Материалы научной сессии 19-21 июня 2013 г.- Тюмень. – 2013.- С.11-16.
2. Глотов А.Г.//Проблема адаптации сохранности импортного скота в Сибири//Стратегия развития мясного скотоводства и кормопроизводства в Сибири: Материалы научной сессии 19-21 июня 2013 г.- Тюмень. – 2013.- С.16-23.
3. Эпизоотическая ситуация в Российской Федерации 1-й квартал 2013г. - ФГБУ ВНИИЗЖ ИАЦ Управления Ветнадзора г. Владимир // <http://www.fsvps.ru/fsvps/iac/rf.html>

Түйін

ЕТ БАҒЫТЫНДАҒЫ МҮЙІЗДІ ІРІ ҚАРА МАЛДЫҢ БРУЦЕЛЛЕЗІНДЕ ИНФЕКЦИЯЛЫҚ ЖӘНЕ ІНДЕТТІК ПРОЦЕССТЕРДІҢ ЕРЕКШЕЛІКТЕРІ

Гордиенко Л.Н., Гуськова Т.В., Еланцева Н.Б., Гайдуцкая Г.М.,
Куликова Е.В.

«Мал бруцеллезі мен туберкулезінің Бүкілресейлік ғылыми – зерттеу институты» Ресей ауылшаруашылық ғылымдарының академиясының мемлекеттік ғылыми мекемесі, Омск қ.

Бруцеллездегі инфекциялық және індеттік процесстерге отгондық малшаруашылығы саласының ерекшеліктеріне байланысты факторлардың әсер ететіні анықталды. Бруцеллез ошағында індет тез арада қысқа мерзімде жайылымдағы малдардың 30%-на дейін таралады.

Summary

FEATURES OF INFECTIOUS AND EPIZOOTOLOGICAL PROCESSES IN BRUCELLOSIS OF BEEF CATTLE

Gordienko L.N., Guskova T.B., Elanceva N.B., Gaiduckaya G.M., Kulikova E.V.

State Scientific Institution “All-Russian Research Institute of Animal Brucellosis and Tuberculosis”

Russian Academy of Agricultural Sciences, Omsk

There was found that expression of infectious and epizootic process with brucellosis affected by factors related to the specific industry transhumant.

At the outbreak of brucellosis infection spreads rapidly within a short period, covering 30% of the animals in the herd.

УДК 610-616.98: 579.841.93-076

ПОВЫШЕНИЕ РЕЗИСТЕНТНОСТИ ОРГАНИЗМА ЖИВОТНЫХ К ЗАБОЛЕВАНИЮ БРУЦЕЛЛЕЗОМ

Горелов Ю.М., д.в.н., профессор

ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт»

Резюме Показана возможность эффективного снижения диагностических антител у больных животных бруцеллезом на введение антитоксического противоинфекционного препарата Интоксан с одновременным повышением недостающих солей натрия в сыворотке крови и неспецифических факторов резистентности организма крупного рогатого скота.

Среди различных заболеваний инфекционной патологии у животных бруцеллез относится одной из самых распространенных и серьезных проблем как ветеринарии, так и здравоохранения. Это хронически протекающая инфекционная болезнь всех видов сельскохозяйственных и диких млекопитающих, характеризующаяся поражением ретикулоэндотелиальной системы, абортами с задержанием последа, эндометритами, орхитами,

артритами, расстройством воспроизводительной способности животных. Болеет бруцеллезом и человек. Бруцеллез занимает высокую процентную позицию по выявлению положительно реагирующих животных во всех областях Республики Казахстан- 0,3-0,4%, а в некоторых регионах заболеваемость составляет 1,3%.[1]. Такая распространенность заболевания наряду с низкой эффективностью проводимых мероприятий обуславливает заинтересованность ветеринарных специалистов в изыскании новых доступных средств фармакокоррекции бруцеллезной патологии у животных, несмотря на то, что их повседневная работа ориентирована на диагностику и иммунопрофилактику инфекции.

В связи с этим мы предлагаем несколько иной взгляд на проблему и эффективный способ ее решения, основанный на применении электролитов и дезинтоксикационных средств в повышении неспецифической резистентности организма животных и купировании инфекции.

Важнейшими составляющими естественной резистентности являются кожные и слизистые барьеры, а также гуморальные и клеточные защитные факторы, однако бруцеллы легко преодолевают эти барьеры, проникая в организм животных через слизистые и неповрежденные кожные покровы. Бруцеллы продуцируют ферменты гиалуронидазу и нейраминазу, которые разрушают мукополисахаридный остов эпителиальных клеток и помогают им проникать через барьеры кожи и слизистых оболочек

Нормальные, не обладающие антигенной активностью иммуноглобулины участвуют в механизмах естественной резистентности влияя на такие факторы как фагоцитоз, бактерицидная активность сыворотки крови. В неспецифической резистентности организма принимают участие и другие белки сыворотки крови глобулиновой природы такие как: *комплемнт*, который присутствует в организме всегда и способен разрушать большинство бактериальных антигенов, включая лизис бруцелл и это играет главную роль в устойчивости крупного рогатого скота к бруцеллезу.

Немаловажным фактором резистентности является *лизоцим* (фермент мурамидаза). Основными продуцентами лизоцима являются моноциты, нейтрофилы и тканевые макрофаги. Он усиливает захватывающую способность фагоцитов и принимает участие во внутриклеточном переваривании бактерий. Лизоцим молока, слюны, слезной жидкости, верхних дыхательных путей выполняет роль противомикробной преграды при воспалении молочной железы коров, воздействии внешних факторов и др. Большую роль в бактерицидности сыворотки крови играет сывороточный белок *пропердин - эуглобулин*. С присутствием комплемента и ионов магния пропердин участвует в разрушении грамотрицательных бактерий и простейших, инактивации вирусов. Сыворотка лишенная пропердина, не обладает бактерицидностью. Гликопротеин *интерферон*, вырабатываемый клетками макроорганизма при вирусных инфекциях способен разрушать РНК вирусной частицы и при его наличии животные могут выздоравливать от вирусного заболевания. Установлено, что в

сыворотке крови телят в возрасте 20-40 дней при вирусных болезнях титр интерферона значительно повышается при его отсутствии у здоровых животных.

Защитными свойствами обладают и другие белковые соединения такие как трансферин, церулоплазмин, конглоутинин и др.

Феномен фагоцитоза, открытый в 1882 г. И.И.Мечниковым, является важнейшей составной частью клеточного иммунитета и одним из основных неспецифических защитных механизмов макроорганизма в борьбе с бактериальными инфекциями. Важную роль в этом процессе играют макрофаги костного мозга (нейтрофилы и эозинофилы) и макрофаги ретикулогистиоцитарной системы. Нейтрофилы обладают высокой подвижностью и фагоцитарной активностью, в их цитоплазме большое количество гликогена, лизосом и трансферазы. У эозинофилов подвижность и фагоцитарная активность выражены слабее, но ярче проявляется способность обезвреживать токсины.

Наличие естественных неспецифических факторов иммунитета позволяет инфицированному организму немедленно реагировать на внедрение чужеродного агента путем сложной взаимосвязанной цепи иммунных реакций. Основой иммунного ответа организма на внедрение возбудителя бруцеллеза служит воспалительная реакция, индукторами которой являются специфические бактериальные клетки или продукты ими выделяемые, а также компоненты поврежденных ими тканей организма, что обуславливает аллергичность организма [2, 3].

Важная роль этой реакции состоит в привлечении к месту воспаления клеток иммунной системы (макрофаги, лимфоциты), которые способствуют разрушению или поглощению чужеродного белка.

Одной из особенностей бруцеллеза является возможность противостоять бактерицидным системам фагоцитов, но и длительно выживать внутри фагоцита, что в конечном итоге приводит его к разрушению. Более того, возбудитель "стремится" как можно скорее быть захваченным фагоцитом и укрыться за его мембранами, поскольку бактерицидные ферменты и белки крови (лизоцим, комплемент) очень губительны для микробных клеток бруцелл.

Находясь внутри фагоцита, бруцеллы защищены мембранами этих клеток от антибиотиков и других препаратов, которые используются при лечении бруцеллеза. Именно поэтому бруцеллез очень трудно излечить, поскольку лекарственные препараты плохо преодолевают клеточные мембраны.

Согласно полученным результатам, а также некоторым литературным данным, этот процесс можно представить следующим образом. При фагоцитозе микробной клетки бруцелл на неё воздействуют активные формы кислорода и перекись водорода. Но бруцеллы легко выдерживают этот "натиск", поскольку их клетки содержат большое количество фермента каталазы, которая нейтрализует перекись водорода. Поэтому в фагосому

оказывается заключена не убитая, а живая клетка бруцелл. В дальнейшем возбудитель секретирует некое вещество (макрофаготоксин), которое, действуя на регуляторные системы фагоцита, увеличивает в нем содержание циклического аденозинмонофосфата (цАМФ) и снижает уровень циклического гуанозинмонофосфата (цГМФ). Таким образом, резко (в 8-10 раз) увеличивается индекс цАМФ/цГМФ в макрофаге, что через каскад сложных реакций приводит, к снижению подвижности лизосом. Поэтому процессы сближения лизосом и фагосомы, а также их слияния резко подавляются. "Токсическая триада" (миелопероксидаза-НгОа-галоген), которая очень губительна для бруцелл, в этом случае не образуется. Таким образом возбудитель остается жизнеспособным внутри фагоцита и, паразитируя, нарушает метаболизм этой клетки. В результате фагоцит погибает и лизируется. Вышедший во внеклеточное пространство возбудитель фагоцитируется новыми клетками и процесс начинается снова. Вместе с поглотившими их клетками бруцеллы разносятся во все паренхиматозные органы (печень, селезенку, костный мозг и т.д.) и лимфоузлы. Но наибольший тропизм возбудитель имеет к половым органам (семенникам, придаткам семенника, тканям матки, особенно в состоянии беременности). Развиваются множественные воспалительные явления, которые носят хронический характер с периодическими обострениями (ремитирующий тип). Длительное течение болезни сопровождается серозно-продуктивным воспалением паренхиматозных органов, что приводит к атрофии паренхимы, склерозу стромы и множественным фиброзным отложениям [4,5].

Взаимоотношения с системой иммунитета Механизмы иммунитета, которые обеспечивают специфическую невосприимчивость организма к бруцеллезу, пока не известны. Возможно, это какие-то особые, неизвестные пока типы реакций. Установлено, что если бруцеллы могут нарушать бактерицидные процессы в макрофагах восприимчивых животных, то в таких же макрофагах, полученных от иммунизированных животных сделать этого возбудитель уже не в состоянии. В этом случае бруцеллы очень быстро погибают при фагоцитозе у лабораторных животных при выработке у них иммунитета к макрофаготоксину. Животные, которым одно или двукратно вводили чистый макрофаготоксин, становились невосприимчивыми к экспериментальному заражению бруцеллезом. Таким образом, в результате вакцинации организм животного приобретает повышенную устойчивость к последующему заражению, т.е. становится иммунным. Однако напряженность такого иммунитета невелика и доза возбудителя, на два порядка превышающая минимальную заражающую (ИД/100), легко прорывает иммунитет, создаваемый любой современной вакциной.

Взятый нами для исследования инъекционный препарат Интоксан представляет раствор солей электролитов, и антитоксических средств растительного и химического происхождения. Интоксан обладает выраженной антитоксической, антиаллергической, антимикробной

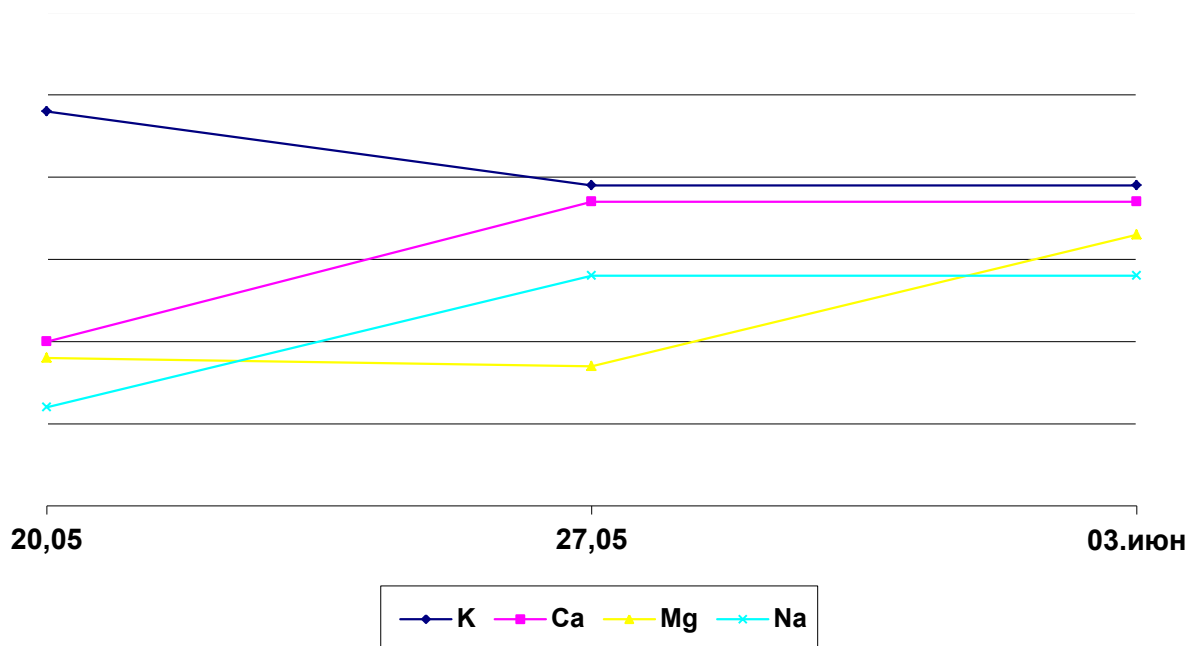


Рисунок 1 - График физиологических колебаний микроэлементов в сыворотке крови КРС

активностью, направленной на усиление противобактериального, противовирусного, противогрибкового иммунитета. Препарат нормализует водно-солевой и энергетический обмен веществ.

Его применение позволяет быстро добиться снижения болевых и местных реакций при различных патологиях, заживлении и рубцевании ран и других: хирургический сепсис, перитонит, эндометрит, стафилококковые инфекции, дерматиты, туберкулез, чума плотоядных, парвовирусный энтерит, злокачественный отек, микоплазмоз, сибирская язва.

Многие исследователи считают, что если в организме изменений нет, то, независимо от наличия микроорганизмов, нет и болезни. На этом принципе построена тибетская медицина - лечить не болезнь а больного. Универсальным индикатором, сигнализирующим о нарушении в работе организма является электролитный состав крови. К таким процессам в первую очередь следует отнести падение окислительно-восстановительного потенциала (ЕН) и увеличение коллоидов, несущих положительный заряд. Такая целевая направленность лечебных конструкций позволила провести подбор наиболее действенных средств. Так, для стимуляции ЕН наиболее эффективной является тиогликолевая кислота, а для осаждения коллоидов-сера и ее соединения.

Анализ биохимического состава сыворотки крови показал, что нарушение соотношения в содержании К, Са, Mg, Na является предпосылкой для возникновения заболеваний, т.е. фактором угнетающим как проводимость, так и раздражающее действие нервных рецепторов. Поэтому задача стоит обнаружить каких микроэлементов недостает, восполнить их и выравнять их соотношение. Исследования показали, что наиболее эффективным методом, сокращающим сроки и улучшающим состояние больных животных, являются внутривенные вливания лекарственных форм. Установлено, что как избыток, так и недостаток микроэлементов сказывается на состоянии организма, поэтому определить критерии оценки можно руководствуясь графиком 1.

На графике горизонтальные линии на расстоянии 20 мм одна от другой, которые ограничивают предел физиологических колебаний, например для калия «К» заключен между 19 и 24 мг%, поэтому 19 мг% соответствует нижней центральной горизонтали, а 24 мг% - верхней. Физиологические изменения концентрации лежат в пределах $24-19=5$ мг%. следовательно, изменение количества калия на 1 мг% соответствует 4мм данного графика.

Графические характеристики кальция из расчета 9-13 мг%, для магния -1,5-3,5 мг%, для натрия-210-350 мг%.

Изменение концентрации на 1мг% для кальция соответствует 5 мм графика, для натрия-0,5 мм и для магния-10мм.

Величины, показывающие содержание каждого элемента в последующих анализах, соединены прямыми линиями. В соответствии с данным графиком выбрана схема лечения: например, 20.05.- раствор натрия дополнен солями кальция; 27.05.- раствор натрия дополнен солью магния, 3.06- лечение прекращено

Из наиболее часто встречающихся недостающих элементов в сыворотке крови животных при различных заболеваниях, нами были приготовлен инфузионный раствор «Интоксан». Его применение при бруцеллезе способствовало стабилизации солей натрия и магния в организме животных

Патогенетическое обоснование При хронических заболеваниях у животных, особенно при повторяющемся ингаляционном и пероральном контакте с возбудителем бруцеллеза возникает картина вторичного иммунодефицита вследствие усиления супрессорных механизмов и поликлональной активации, который, как правило, не поддается коррекции традиционными иммуномодуляторами или индукторами синтеза цитокинов из-за истощения компенсаторных возможностей иммунной системы. Дополнительной причиной гибели иммунокомпетентных клеток, помимо действия бруцеллезных микроорганизмов, является необоснованно частое применение кортикостероидов, стимуляторов иммунитета.

Таким образом, вполне обоснованным представляется применение тех иммуностропных препаратов, которые устранили бы дефицит ключевого компонента адекватного иммунного ответа и при этом способствовали нормализации измененных биохимических процессов и в первую очередь электролитного состава крови в отношении солей натрия, калия, магния. Их координацию необходимо проводить в 3-х циклах, не менее 3-4 дней подряд в одном цикле с перерывом 6-7 суток до начала второго- третьего- цикла.

Исследования были проведены на базе фермерских хозяйств Алматинской, Жамбылской областей во время изолированного содержания реагирующего скота на бруцеллез (передержка скота), поэтому сложились определенные предпосылки для клинических испытаний препарата интоксан с терапевтической целью. Серологические исследования на бруцеллез проводили общепринятыми методами. Подсчет форменных элементов крови осуществляли в камере Горяева с использованием меланжеров (И.М.Беляков и др., 1992). Уровень гемоглобина в крови определяли колориметрически (Медведев В.В., Волчек Ю.З., 1997), белковые фракции- электрофоретически.

Для постановки эксперимента было сформировано по 2- группы животных (в возрасте 3-6 лет), принципу аналогов. Животным опытной группы (№ 1) вводили один раз в сутки внутривенно по 100 мл опытного препарата «Интоксан» в течение 3 дней (один цикл), затем делали перерыв 6-7 дней и вновь вводили испытуемое средство (второй цикл), затем также повторяли 3-й цикл. Через 10 дней после введения препарата из яремной вены брали кровь и сыворотку исследовали на бруцеллез.

Перед каждым введением препарата т.е до введения (0), через 10 суток (3 дня +7 суток) после первого цикла введения (1), на 20- сутки с начала опыта (2) и через -30 дней (3), исследовали кровь на гематологические показатели, фагоцитарную активность и глобулины. Интоксан применяли в качестве средства монотерапии. Животные контрольной группы находились под наблюдением и симптоматическое лечение не получали.

Для определения чувствительности различных штаммов бруцелл к антимикробным средствам были проведены опыты с серийным разведением антимикробных средств и учета роста микроорганизмов на питательных средах трех штаммов бруцелл (таблица 1).

Таблица 1 - Антимикробная активность антимикробных средств к бруцеллам вида абортус

Штамм бруцелл	Наименование антимикробных средств, мкг				
	Стрептоми-Цин	Тетрациклин	Фармазин	Гентамицин	Интоксан
В.абортус-16	0,2	0,7	0,4	0,5	0,4
Шт. 19	0,5	0,8	0,6	0,5	0,5
Шт. 82	0,5	0,7	0,4	0,4	0,3

Опытами установлено, что все взятые культуры бруцелл проявляют чувствительность к испытуемым лекарственным средствам.

Для изучения действия препарата интоксан на больных бруцеллезом животных, в неблагополучном хозяйстве по бруцеллезу, был проведен опыт по внутривенному введению препарата животным (таблица 2).

Таблица 2 - Результаты исследования реагирующего крупного рогатого скота на бруцеллез до и после экспериментального введения препарата «Интоксан»

№ Пп	До лечения			Через 30 дней после начала лечения			
	РА (МЕ)	РСК (титр)	РДСК (титр)	РА (МЕ)	РСК (титр)	РДСК (титр)	Бактери- ология
1	800	+	+	50	-	+	-
2	400	+	+	-	-	-	-
3	400	+	+	-	-	-	-
4	200	±	+	-	-	-	-
5	800	+	+	50	+	-	-
6	200	+	+	-	-	-	-
7	100	±	+	-	-	-	-
8	400	+	+	-	-	-	-
9	400	+	+	-	-	-	-
10	200	+	+	-	-	-	-
Контроль (реагирующие на бруцеллез животные)							
1	400	+	+	400	+	+	+
2	200	+	+	400	+	+	+
3	800	+	+	800	+	+	+
Примечание: - отрицательная реакция; ± - сомнительная; + - положительная							

Из данных таблицы 2 видно, что через 30 суток после начала введения экспериментального препарата «Интоксан» в сыворотке крови двух животных в реакциях РА, РСК и РДСК отмечено наличие специфических антител в минимальных титрах. У остальных животных специфические антитела против бруцеллеза отсутствовали.

Таблица 3 - Показатели резистентности здоровых и больных бруцеллезом коров алатауской и черно - пестрой пород

Показатель и	Порода									
	Алатауская					Черно - пестрая				
	здоровые	больные	разница %	td	показатель Р	здоровые	больные	разница %	td	показатель Р
Лизоцим, мкг/мл	16,44 ± 0,17	12,24 ± 0,20	-24,36	16,20	>0,001	16,92 ± 0,18	11,88 ± 0,11	-27,43	23,44	>0,001
Общий белок, %	3,50 ± 0,08	4,38 ± 0,03	18,97	-9,13	>0,001	3,71 ± 0,06	4,08 ± 0,03	10,03	-5,98	>0,001
Альбумины, %	13,71 ± 0,14	16,97 ± 0,11	22,93	-19,55	>0,001	13,15 ± 0,17	16,65 ± 0,07	25,62	-20,84	>0,001
α –лактоглобулин, %	15,90 ± 0,09	13,92 ± 0,23	-12,45	8,12	>0,001	14,46 ± 0,32	12,38 ± 0,14	-14,38	10,03	>0,001
β-лактоглобулин, %	60,38 ± 0,27	50,38 ± 0,69	-17,33	15,07	>0,001	60,54 ± 0,74	60,86 ± 0,53	0,41	-0,53	<0,05
γ- лактоглобулин, %	5,90 ± 0,06	16,82 ± 0,27	188,83	-39,68	>0,001	6,60 ± 0,14	17,54 ± 0,22	168,83	-43,31	>0,001

Из данных представленных в таблице 3 видно, что количество лизоцима снизился на 24,36% и 27,43%. Содержание общего белка в обеих группах повысилось на 18,97% и 10,03%, а альбуминов - на 22,93% и 25,62%. Произошли изменения и во фракционном составе сывороточных белков. Так, содержание α-лактоглобулинов снизилось на 12,45% и 14,38%, β-глобулинов - на 17,3% у коров алатауской породы, у коров черно-пестрой породы их количество практически не изменилось. Что же касается γ-лактоглобулиновой фракции, то в обеих группах животных их содержание увеличилось соответственно на 188,83% и 168,83%, то есть прослеживается тенденция нарастания защитных механизмов в организме выздоравливающих животных.

Аналогичные исследования по проверке эффективности применения препарата интоксан при бруцеллезе были проведены в трех хозяйствах на поголовье 4-7-10 положительно реагирующих на бруцеллез животных. Во всех случаях получен отрицательный результат по наличию специфических антител к бруцеллезу.

Заключение Значительное распространение бруцеллеза в республике Казахстан диктует необходимость разработки более эффективных методов борьбы с инфекцией.

Показана возможность эффективного снижения диагностических антител у больных животных бруцеллезом на введение антитоксического противомикробного препарата Интоксан с одновременным повышением недостающих солей натрия в сыворотке крови и неспецифических факторов резистентности организма крупного рогатого скота.

Литература

1. Абуталип А.А., Абсатаров Г.Г., Ибрагимов Ш.М. Факторы, влияющие на формирование и развитие эпизоотического процесса при бруцеллезе. Б. науч.тр. КазНИВИ, Т. LV111. - 2012. - С. 19 – 26.
2. Иванов Н.П. Бруцеллез животных: и меры борьбы с ним. - Алматы, 2007. - 609 с.
3. Вершилова П.А. Бруцеллез. Иммунология. М.: Медицина. - 1961. - 414 с.
4. Новашин С.М., Фомина И.П. Справочник по антибиотикам. - М., 1974. - 416 с.
5. Белобаб В.И., Тен В.Б. Эффективность антибактериального препарата в борьбе с бруцеллезом с.-х. животных // Методы профилактики и диагностики бруцеллеза и туберкулеза с. - х. животных: Сб. науч. тр. ВАСХНИЛ, ВНИИБТЖ. - Омск, 1991. - С.87 - 91.

Түйін

МАЛДЫҢ БРУЦЕЛЛЕЗБЕН ШАЛДЫҚПАУЫНА АҒЗАСЫНЫҢ РЕЗИСТЕНТТІЛІГІН АРТТЫРУ

Горелов Ю.М.

«Қазақ ғылыми зерттеу ветеринария институты» ЖШС

Қазақстан республикасында бруцеллездің кең етек алуы, инфекцияға қарсы күрестің ең тиімді тәсілдерін жасап шығаруды талап етеді.

Мақалада бруцеллезбен ауыратын мүйізді ірі қараға антитоксикалық инфекцияға қарсы «Интоксан» дәрмегін қолданғанда, қан сарысуындағы диагностикалық антиденелердің төмендейтіндігі, сонымен қатар натрий тұздарының мөлшері қалыпқа келіп, жалпы резистенттілігінің көтерілітіндігі көрсетілген.

Summary

INCREASE OF RESISTANCE OF ORGANISM OF ANIMALS TO THE DISEASE BRUCELLOSIS

Gorelov J.M.

Considerable distribution of a brucellosis in the Republic of Kazakhstan to need of development of more effective methods of fight against an infection.

Possibility of effective decrease in diagnostic antibodies at sick animals by a brucellosis on introduction of an anti-toxic anti-infectious preparation "Intoxan" with simultaneous increase of missing salts of sodium in serum of blood and nonspecific factors of resistance of an organism of cattle is shown.

УДК 619:591.4:576.8:616.981.42

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СТЕПЕНИ ПАТОГЕННОСТИ S И L-ФОРМ *B. RANGIFERI* МОРФОМЕТРИЧЕСКИМ МЕТОДОМ НА ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ

Дудолодова Т.С., Еланцева Н.Б., Гонохова М.Н., Секин Е.Ю.

Государственное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский институт бруцеллеза и туберкулеза животных Российской академии сельскохозяйственных наук (ГНУ ВНИИБТЖ Россельхозакадемии), г. Омск

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Омский государственный аграрный университет» им. А.С. Столыпина*, г. Омск

Резюме В статье приводятся результаты экспериментов на лабораторных животных, где выявлены гистологические и морфометрические изменения органов лимфоидного кроветворения и иммуногенеза при заражении различными формами бруцелл. Доказана патогенность L – форм бруцелл для лабораторных животных.

Бруцеллез животных до настоящего времени имеет широкое распространение во многих странах мира. Проблема бруцеллезной инфекции, наносящей большой экономический ущерб и имеющей социальное значение, весьма актуальна в связи с напряженной эпизоотической обстановкой в отдельных регионах страны.

При бруцеллезе успех ликвидации болезни и предупреждения распространения инфекции во многом зависит от своевременности и точности поставленного диагноза. Повышенную актуальность этой проблеме

придает изменчивость возбудителя. Среди животных довольно часто циркулируют измененные формы возбудителя бруцеллеза.

По данным ВНИИБТЖ (И.А. Косилов с соавт., 1992; В.Г. Ощепков с соавт., 1990; Л.Н. Гордиенко с соавт., 2001), за последние десятилетия процентная доля измененных форм выросла с 12,9% до 70-80% от общего количества бруцелл, выделенных от животных в стадах с естественным течением эпизоотии. У полевых L-вариантов отмечались существенные изменения основных биологических свойств, определяющих характер специфических взаимоотношений макро- и микроорганизмов: трансформация антигенной структуры в сторону S – SR – RS – R – RL – LR – L и значительное понижение вирулентности.

Основываясь на опубликованных данных (П.А. Вершилова, 1974; П.А. Триленко, 1976; И.А. Бакулов, 1980; В.Г. Ощепков, 1983; К.М. Салмаков, 1987 и др.), можно полагать, что одной из причин длительного сохранения очагов бруцеллеза и возникновения случаев повторных эпизоотических вспышек этой инфекции являются глубоко измененные (L-) формы бруцелл, которые по своим биологическим свойствам существенно отличаются от типичных культур возбудителя и не выявляются имеющимися в настоящее время средствами диагностики.

Сложность диагностирования бруцеллеза вызываемого L-формами бруцелл с помощью традиционных бактериологических и иммунологических методов, в свою очередь, определяет актуальность разработки способов быстрой и четкой идентификации и дифференциации измененных форм бруцелл, доступных для научно-исследовательских лабораторий.

Проведены исследования на морских свинках, сформировали три группы животных, подобранные по принципу аналогов и размещены в клетках. Работа проводилась в соответствии с «Правилами работы с использованием экспериментальных животных» (Приложения к приказу Министерства здравоохранения СССР от 12.08.1977г. №755). Лабораторные животные содержались в виварии ВНИИБТЖ в заразной зоне, в стандартных условиях, кормление осуществлялось согласно нормам рациона для лабораторных животных. За подопытными животными вели постоянное наблюдение.

Первая опытная группа морских свинок (n=5) была заражена *B. rangiferi* S-формой полевым штаммом (3797), выделенным из пантов северного оленя (важенки). Заражали подкожно в область паха с правой стороны в дозе 100 м.к. Вторая опытная группа морских свинок (n=5) была заражена *B. rangiferi* L-формой полевым штаммом (3776), выделенным из пантов северного оленя (быка). Заражали подкожно в область паха с правой стороны в дозе 100м.к. Третья контрольная группа (интактная) морских свинок (n=5), им вводили подкожно в дозе 1мл изотонический раствор натрия хлорида.

Через 30 суток после инфицирования животные выводились из эксперимента путем декапитации (под эфирным наркозом) и подвергались тотальному обескровливанию.

Материалом для гистологического исследования служили регионарные лимфатические узлы и селезенка, которые фиксировались в 10% нейтральном растворе формалина на фосфатном буфере. Материал заливали в парафин по общепринятой методике (Семченко В.В., 2006) с использованием станции пробоподготовки STP-120 и станции заливки парафином ЕС-350. На микротоме санного и роторного типа готовили срезы толщиной 3-5 мкм, размещали на стандартных по толщине предметных стеклах с последующей окраской гематоксилином и эозином. После окраски срезы заключали в синтетическую среду BioMount и покрывали стандартными покровными стеклами. Микрофотосъемку гистологических препаратов проводили на микроскопе Axio Imager A1 в программе Axio vision rev.4.7.

В результате проведенных исследований установлено, что различные формы *B. rangiferi* оказывают различное патогенное воздействие на органы иммунной системы морских свинок при бруцеллезной инфекции. Так при патологоанатомическом вскрытии животных зараженных S-формой *B. rangiferi*, отмечалась дистрофия и гиперемия печени, желудок переполнен газами, гиперемия сосудов брыжейки, пейеровы бляшки тонкого отдела кишечника увеличены, селезенка незначительно увеличена, на разрезе выступает белая пульпа. Почки увеличены, фиброзная капсула снимается с трудом с поверхности органа, корковое вещество гиперемировано, граница между слоями сглажена. Зарегистрировано увеличение пахового лимфатического узла со стороны введения культуры, а также брыжеечных лимфатических узлов. Лимфатические узлы в области шеи без изменений.

Микроскопические изменения в селезенке характеризовались пролиферативно-гиперпластическими процессами со стороны ретикулоэндотелиальной системы на фоне разрастания плотной соединительной ткани. Отмечен фиброз стенки кровеносных сосудов. Капсула органа утолщена. Лимфоидные фолликулы составили $236,051 \pm 35,485$. Центры просветления в них $101,958 \pm 21,267$.

В паховых лимфатических узлах, регионарных месту введения культуры микроорганизмов была выражена крупноклеточная гиперплазия синусов и активизация пролиферативных процессов в корковом и мозговом веществах. Зарегистрированы обширные эпителиоидные пролифераты в паренхиме органа, в результате чего трудно определить границу между слоями лимфатического узла, лимфатические фолликулы не дифференцируются. Очагов некроза не наблюдали, но в отдельных участках регистрировали узелки, состоящие из лейкоцитов и гигантских клеток.

В поверхностных и глубоких шейных, предлопаточных лимфатических узлах также наблюдали гиперплазию ретикулоэндотелия. В корковом веществе хорошо выражены реактивные центры, состоящие из ретикулярных клеток. В некоторых частях лимфатических узлов были отмечены гранулемы,

состоящие из лимфоидных и эпителиоидных клеток. Синусы значительно расширены, их эндотелий набухший, местами слущен.

У морских свинок зараженных L – формой при вскрытии наблюдали дистрофию и умеренную гиперемию печени, селезенка в пределах физиологической нормы, не увеличена, лимфатические узлы без видимых морфологических изменений, сосуды брюжейки умеренно кровенаполнены. Почки не увеличены, капсула снимается легко с поверхности органа, граница между корковым и мозговым веществом хорошо определяется.

В селезенке регистрировали только умеренное раздражение клеток ретикуло-эндотелиальной системы, при отсутствии гранулем и очагов некроза. В лимфатических узелках белой пульпы селезенки встречаются единичные светлые центры, продуцирующие лимфоциты. Лимфоидные фолликулы составили $96,925 \pm 1,987$, зона просветления отсутствует.

В паховых лимфатических узлах, регионарных месту введения культуры бруцелл отмечали разрастание соединительной ткани в паренхиме органа, наличие узелков, состоящих из центрально расположенных крупных эпителиоидных клеток, а по периферии многочисленные лимфоидные, плазматические клетки, фиброциты и фибробласты. Лимфоидные узелки ($64,455 \pm 12,048$) с герминативными центрами ($27,379 \pm 8,194$). Мозговое вещество разряжено, синусы сильно расширены, местами кровеносные сосуды разрушены, эндотелий слущен в просвет.

В предлопаточных, поверхностных и глубоких шейных лимфатических узлах хорошо контурируется корковое и мозговое вещество, умеренная гиперплазия ретикулоэндотелиальных элементов. Наблюдали набухание, слущивание и пролиферацию клеток эндотелия синусов. Лимфоидные узелки $51,777 \pm 2,044$, а их реактивные центры активизируются и составляют $24,397 \pm 3,100$, с повышенным содержанием плазматических клеток, нередко нейтрофильных лейкоцитов, возможно, происходило формирование гранулемы. Регистрировали возрастание количества клеток фибробластического дифферона преимущественно в корковом слое лимфатических узлов.

У интактных животных при вскрытии макроскопическая картина соответствует здоровой морской свинки. При микроскопическом исследовании: в селезенке лимфоидные узелки без центра просветления – $55,632 \pm 6,538$; в паховых лимфатических узлах фолликул – $64,518 \pm 4,826$ с герминативными центрами – $30,472 \pm 4,122$.

Заключение. При проведении экспериментов на лабораторных животных морфометрическим анализом были выявлены гистологические и морфометрические изменения органов лимфоидного кроветворения и иммуногенеза при заражении различными формами бруцелл.

При инфицировании S – формой бруцелл преобладали лимфатические узлы с резко выраженной степенью реактивных изменений, а при инфицировании L – формой – малоизмененные лимфатические узлы с умеренными реактивными изменениями.

Все это свидетельствует о том, что S – форма бруцелл приводит к более выраженным реактивным изменениям лимфоидной ткани и усиленному выбросу лимфоидных клеток в лимфу и кровь по сравнению с L – формой бруцелл в той же инфекционной дозе.

Доказана патогенность L – форм бруцелл для лабораторных животных. Установлена зависимость размеров фолликулов к форме и дозе бруцелл.

Литература

1. Бакулов И.А. Проблема L-форм бактерий в ветеринарии / И.А. Бакулов, Т.Я. Зеленцова // Ветеринария. – 1980. - №10. – С.23.
2. Вершилова П.А. Иммунитет при бруцеллезе / П.А. Вершилова, М.И. Чернышева, Э.Н. Князева // Патогенез и иммунология бруцеллеза. – М.: Медицина, 1974. – 272с.
3. Гордиенко Л.Н. Индикация L-вариантов бруцелл, выделенных от крупного рогатого скота на территории Амурской области / Л.Н. Гордиенко, О.Г. Гертман // Актуальные вопросы профилактики бруцеллеза и организация медицинской помощи больным. Тез.докл. Всесоюзной конф. – Новосибирск, 1989. – С. 135-137.
4. Гордиенко Л.Н. Персистенция типичных и измененных форм бруцелл в организме северных оленей, привитых вакциной из шт. Brucellaabortus19 / Л.Н. Гордиенко, В.Г. Толстиков // Инфекционная патология животных: Сб. науч. тр. Юбилейный вып. / СО РАСХН. ВНИИБТЖ. – Омск, 2001. – С.137-139.
5. Косилов И.А. Бруцеллез сельскохозяйственных животных / И.А. Косилов, В.Г. Ощепков. Зап. Сиб. изд.-во. – Новосибирск, 1976. – 88с.
6. Косилов И.А. Бруцеллез сельскохозяйственных животных / И.А. Косилов. Новосибирск, 1992. – 260с.
7. Ощепков В.Г. Антигенные и вирулентные свойства L-вариантов бруцелл, выделенных от крупного рогатого скота. / В.Г. Ощепков, Л.Н. Гордиенко. // Эпизоотология и иммунопрофилактика болезней сельскохозяйственных животных. Сб. тр. ВАСХНИЛ СО. Новосибирск. 1983. – С. 8-13.
8. Ощепков В.Г. R-и L-формы бруцелл и значение их в эпизоотологии и диагностике бруцеллеза животных: Автореф. дис. ... д-ра вет. наук / В.Г. Ощепков. – СПб, 1990. – 43с.
9. Салмаков К.М. Изыскание и совершенствование вакцинных препаратов против бруцеллеза / К.М. Салмаков // Совершенствование системы и методов в борьбе с бруцеллезом и туберкулезом животных: Сб. науч. тр./ВАСХНИЛ. ВНИИБТЖ. – Новосибирск, 1987. – С. 26-36.
10. Семченко В.В. Гистологическая техника / В.В. Семченко, С.А. Барашкова. – Омск, 2003. – 25 с.

11. Триленко П.А. Бруцеллез сельскохозяйственных животных / П.А. Триленко. – Л., 1976. – 277с.

Түйін

В. RANGIFERI – ДИҢ S ЖӘНЕ L-ТҮРЛЕРІНІҢ ЗЕРТХАНАЛЫҚ ЖАНУАРЛАРҒА ПАТОГЕНДІК ДЕҢГЕЙІН МОРФОМЕТРИЯЛЫҚ ӘДІСПЕН САЛЫСТЫРМАЛЫ ТҮРДЕГІ СИПАТТАМАСЫ

Дудоладова Т.С., Еланцева Н.Б., Гонохова М.Н.* , Секин Е.Ю.

«Мал бруцеллезі мен туберкулезінің Бүкілресейлік ғылыми – зерттеу институты» Ресей ауыл шаруашылық ғылымдарының академиясының мемлекеттік ғылыми мекемесі, Омск қ.

«А.С. Столыпин ат. Омбы мемлекеттік аграрлық университеті» Жоғарғы мамандырылған оқыту Федеральдық мемлекеттік бюджеттік білім мекемесі, Омбы қ.

Мақалада әр түрлі формадағы бруцеллалармен залалданған зертхана жануарларының лимфоидты қан түзу және иммуногенез органдарындағы гистологиялық және морфометрикалық өзгерістер анықталғандығы, бруцеллалардың L- түрінің зертхана жануарлары үшін патогенді екендігі дәлелденеді.

Summary

COMPARATIVE ANALYSIS OF PATHOGENIC LEVEL OF S AND L-FORMS OF B.RANGIFERI BY THE MORPH METRIC METHOD FOR LABORATORY ANIMALS

Dudoladova T.S., Elanceva N.B., Gonohova M.N., Sekin E.Yu.

State Scientific Institution “All-Russian Research Institute of Animal Brucellosis and Tuberculosis” Russian Academy of Agricultural Sciences, Omsk
Federal State Educational Institution of Higher Professional Training "Omsk State Agrarian University" after A.S. Stolypin * Omsk

The article presents the results of experiments on laboratory animals, which revealed histological and morphometric changes in lymphoid organs and immunogenesis hematopoiesis in various forms of brucella infection.

Proved the pathogenicity of L - forms of Brucella in laboratory animals.

РАЗРАБОТКА И ИСПЫТАНИЕ СРЕДСТВ И МЕТОДОВ УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЯ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ПРОФИЛАКТИКИ И ЛИКВИДАЦИИ БРУЦЕЛЛЕЗА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Иванов А.В., д.б.н., профессор, член-корр. РАСХН, Салмаков К.М., д.в.н., профессор, Фомин А.М., д.в.н., профессор, Сафина Г.М., к.в.н., Косарев М.А., к.б.н., Салмакова А.В., к.б.н.

ФГБУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности», г. Казань

Резюме В данной работе представлены результаты производственных испытаний средств и методов, разработанных в ФГБУ "ФЦТРБ-ВНИВИ", с целью повышения противоэпизоотической эффективности специфической профилактики бруцеллеза крупного рогатого скота. Показано значение каждого из предложенных средств и методов в системе специальных противобруцеллезных мероприятий, а именно дифференциальной серологической диагностики бруцеллеза крупного рогатого скота, привитого вакциной из штамма 82, с применением бруцеллезного R-антигена ВНИВИ, контроля поствакцинального иммунного ответа после введения данной вакцины, а также системы специальных противобруцеллезных мероприятий с применением вакцины из инагглютиногенного штамма В. abortus R-1096 для провокации заболевания, предохранения от поствакцинальных абортос, и на заключительном этапе оздоровления хозяйств для поддержания перманентного иммунитета у коров без поствакцинальной серопозитивности.

Бруцеллез крупного рогатого скота, несмотря на достигнутые успехи в его ликвидации, в РФ и других странах СНГ все еще представляет серьезную эпизоотологическую и эпидемиологическую проблемы. Анализ эффективности проводимых противоэпизоотических мероприятий по оздоровлению животноводческих хозяйств в РФ показывает решающую роль специфической профилактики в успешной борьбе с бруцеллезом (А.А. Новицкий и др., 1989; И.А. Косилов и др., 2001; А.В. Иванов и др., 2009; А.М. Фомин и др., 2009; К.М. Салмаков и др., 2010).

Изменения форм собственности, произошедшие в последнее двадцатилетие в аграрном секторе России, привели к существенному изменению технологий животноводства. Сформировались новые товаропроизводители - фермерские хозяйства. Значительно возросло число личных подсобных хозяйств, животноводство в них стало более интенсивным и разнообразным.

Все это потребовало новых подходов к научному обеспечению благополучия животноводства в стране, в том числе к организации и выполнению противоэпизоотических мероприятий.

Официально принятая в РФ система специальных мероприятий при бруцеллезе крупного рогатого скота, включающая в качестве средства

специфической профилактики вакцину из штамма 82, обладает высокой профилактической и противозoonотической эффективностью, о чем свидетельствуют результаты ее внедрения во многих регионах страны, но, несмотря на это, она не лишена недостатков, очевидна необходимость ее оптимизации.

Так, не решена до конца проблема дифференциации больных животных от здоровых в вакцинированных стадах. До настоящего времени ветеринарные специалисты не проводят контрольные исследования животных после их иммунизации этой вакциной, как это, например, делается после введения вакцины из штамма 19. Требуется своей корректировки система специальных противобруцеллезных мероприятий на заключительном этапе оздоровления хозяйств от бруцеллеза крупного рогатого скота. Все вышесказанное довольно значительно снижает противозoonотическую эффективность официальной системы противобруцеллезных мероприятий.

Чтобы окончательно оздоровить тот или иной регион от бруцеллеза крупного рогатого скота и не допустить впредь рецидивов этой инфекции, была поставлена задача усовершенствовать систему специальных противобруцеллезных мероприятий. Работу проводили в ветеринарных лабораториях и животноводческих хозяйствах Самарской области.

Для дифференциальной серологической диагностики бруцеллеза крупного рогатого скота, привитого вакциной из штамма 82, внедрили бруцеллезный R-антиген ВНИВИ. Применение R-антигена в общем комплексе противобруцеллезных мероприятий позволяло, с одной стороны, быстрее освобождаться от больных животных, а с другой стороны сохранять здоровое поголовье с поствакцинальным характером реакций от сдачи на убой. Внедрение комплекса серологических исследований в практику работы ветеринарных лабораторий региона (РА+РСК+РСК с R-антигеном) сыграло большую роль в оздоровлении Самарской области от бруцеллеза, а затем в сохранении благополучия по данному заболеванию.

Особое значение в деле ликвидации бруцеллеза имела ранняя дифференциальная диагностика, проводимая через 2-3 месяца после введения вакцины из штамма 82. При этом использовании мощный провоцирующий эффект вакцины и быстро удаляли больных животных из стада, что способствовало тому, что прекращалось выделение положительно реагирующего на бруцеллез поголовья после очередной его ревакцинации. Животных с положительными реакциями с единственным бруцеллезным антигеном при отрицательной РСК с R-антигеном считали больными и сдавали на убой.

Использование R-антигена ВНИВИ для оценки эпизоотической ситуации по бруцеллезу позволяло быстро установить истинную картину в том или ином хозяйстве и в результате оперативно спланировать специальные ветеринарные и другие мероприятия.

Несмотря на то, что вакцина из штамма 82 применяется в РФ уже 35 лет, до настоящего времени ветеринарные специалисты не проводят контроль поствакцинального иммунного ответа после ее введения, что в

значительной степени снижает противоэпизоотическую эффективность вакцинопрофилактики.

Изучение иммунного ответа у телок и коров, ревакцинированных вакциной из штамма 82, позволило нам рекомендовать проводить контроль за применением вакцины у этих половозрастных групп животных в РСК с R-антигеном через 10-15 суток после введения биопрепарата. Главное, чего мы добились внедрением контроля поствакцинального иммунного ответа это то, что ветспециалисты начали иначе относиться к вакцинации скота против бруцеллеза. Ветлаборатории области стали контролировать качество их работы. А когда они сами убедились в пользе этого контроля, то начали, в необходимых случаях, проводить его и у ревакцинированных коров.

В результате в целом по региону количество положительно реагирующих в РСК с R-антигеном на введение вакцины из штамма 82 животных достигло в 2001 г. 98,7% от числа проверенных (в 1993 г. на начало работы их было 84,1%), сохраняясь на уровне 98,5-99% до прекращения вакцинации скота против бруцеллеза. В случку стали идти только иммунные к бруцеллезу телки. На воспроизводство стада не попадали также толерантные животные, о чем свидетельствует прекращение выделений больного поголовья среди ревакцинированных телок после введения контроля за применением вакцины. Все это благоприятно отразилось на оздоровлении области от бруцеллеза.

Далее нами был испытан и внедрен в хозяйствах Самарской области двухэтапный способ иммунизации коров и нетелей с использованием вначале, на первом этапе, вакцины из инагглютиногенного штамма В. abortus R-1096 с целью провокации бруцеллеза у скрыто больных животных и предохранения от поствакцинальных абортотворений при последующем введении на втором этапе полной дозы вакцины из штамма 82 для создания напряженного иммунитета.

Что же дало ветеринарной службе области применение двухэтапного способа иммунизации с использованием вакцин из штаммов R-1096 и 82?

Во-первых, благодаря данному способу можно, при необходимости, прививать любой скот без учета периода стельности, не опасаясь поствакцинальных абортотворений, создавая тем самым единый иммунный фон у животных, что очень важно в современных условиях его массового, зачастую бесконтрольного, перемещения.

Во-вторых, благодаря провокации, можно наиболее полно и быстро освободиться от больных животных до введения вакцины из штамма 82 и в ранние сроки после ее применения.

Нами была доказана эпизоотическая опасность животных, у которых были спровоцированы серологические реакции на бруцеллез, выделением вирулентных культур бруцелл.

В результате внедрения всех разработок в ветеринарную практику нами было научно обосновано роль, место и значение каждой из них. В итоге была усовершенствована система специальных противобруцеллезных

мероприятий (1994 г.), которая дала возможность в 1997 году оздоровить область от этого заболевания и перейти к дальнейшей ее оптимизации.

Необходимость оптимизации системы специальных противобруцеллезных мероприятий была связана с улучшением эпизоотической ситуации по бруцеллезу. Поскольку неблагополучных пунктов в области не осталось, то неблагополучные районы переходили в категорию условно-благополучных, которые, в свою очередь, переходили в категорию оздоровленных. И, как следствие, в них корректировались специальные ветеринарные противобруцеллезные мероприятия (1998, 2003, 2005).

По мере изменения эпизоотической ситуации в лучшую сторону систему мероприятий продолжали корректировать. Хотя бруцеллез в регионе был ликвидирован, однако риск рецидива инфекции остался. Об этом свидетельствовали эпизодические выявления животных с постинфекционным характером реакций на бруцеллез в том или ином районе. Степень этого риска для конкретных районов была различной. Не исключалась возможность заноса инфекции и из соседних регионов (Оренбургской и Саратовской областей).

Кроме того, в результате широкого использования живой вакцины из штамма 82 для ревакцинации коров один раз в два года, в области ежегодно выделялось значительное количество скота, положительно реагирующего на бруцеллез в невысоких титрах антител поствакцинального характера: РА в титре 100-200 МЕ, РСК - 1:5-1:10. В 1998 году таких животных было 1035, в 1999 - 1402, в 2000 - 736 и т.д., в 2004 - 342.

В связи с вышеизложенным, мы поставили перед собой задачу - разработать специальные ветеринарные мероприятия по профилактике и ликвидации бруцеллеза крупного рогатого скота на заключительном этапе оздоровления хозяйств, обеспечивающие поддержание перманентного иммунитета у животных к бруцеллезу без поствакцинальной серопозитивности у коров.

С этой целью телочек 4-5 месячного возраста прививали вакциной из штамма 82, спустя 10 месяцев или за 2-3 месяца до осеменения, их ревакцинировали той же вакциной. Через 10-15 дней после ревакцинации у животных проверяли поствакцинальный иммунный ответ с помощью бруцеллезного R-антигена в РСК. Коров ежегодно ревакцинировали в течение 3-х лет вакциной из инагглютиногенного штамма R-1096. Серологическое исследование поголовья на бруцеллез проводили по РА и РСК два раза в год - перед ревакцинацией и спустя 10-15 дней после нее. В последний срок сыворотку крови всех коров дополнительно проверяли в РСК с R-антигеном с целью контроля их иммунного ответа. Отрицательно реагирующих в РСК с R-антигеном животных допрививали вакциной из штамма R-1096.

Производственная апробация системы специальных противобруцеллезных мероприятий на заключительном этапе оздоровления

хозяйств, утвержденная 6.12.2001 г. ДСХ и П Администрации области, на 15-ти тысячах коров показала положительные результаты. Ежегодная ревакцинация коров вакциной из штамма R-1096 по фону вакцины из штамма 82 позволяла сохранять эпизоотическое благополучие хозяйств по бруцеллезу. При этом серологические исследования животных на бруцеллез, проводимые через 10-15 дней после введения вакцины, по РА и РСК с единым бруцеллезным антигеном всегда показывали отрицательный результат после ежегодных ревакцинаций поголовья. Тогда как в других хозяйствах, где продолжали ревакцинировать коров вакциной из штамма 82, обнаруживали животных с положительными серологическими реакциями на бруцеллез поствакцинального характера, которых надо было подвергать дополнительному дифференциальному исследованию на бруцеллез, затрачивая время и средства.

Ревакцинация коров вакциной из штамма R-1096 по фону вакцины из штамма 82 сопровождается выраженным иммунным ответом (РСК с R-антигеном), сохраняющимся у 50-70% животных в течение года, т.е. до следующей ревакцинации.

В лабораторных условиях на морских свинках установили высокие защитные свойства вакцины из штамма R-1096 по фону вакцины из штамма 82. Заражению противостояли 90% животных.

Заключение Результаты проведенной работы по оздоровлению Самарской области от бруцеллеза крупного рогатого скота свидетельствуют о том, что оптимизация системы специальных противобруцеллезных мероприятий является непрерывным процессом до полного оздоровления региона. По мере улучшения эпизоотической ситуации по данному заболеванию систему корректировали в сторону ее упрощения и, естественно, удешевления. По истечении 3-4 лет благополучия в том или ином районе, после начала применения системы мероприятий на заключительном этапе оздоровления хозяйств, прекращали вакцинацию скота против бруцеллеза. Так, в 1999 году прекратили прививать животных вакциной из штамма 82 в Ставропольском районе, в 2004 - в Богатовском, Красноярском и Приволжском районах, в 2005 - в Безенчукском, Борском и Красноармейском районах, в 2006 - в Нефтегорском, в 2007 - в Похвистневском, Кинель-Черкасском и Волжском районах, в 2009 - в Хворостянском, Большеглушицком и Пестравском районах, в 2010 году прекратили вакцинацию скота против бруцеллеза в Большечерниговском, Кинельском и Алексеевском районах и на этом вообще закончили иммунизацию животных против данной инфекции в Самарской области. По сей день (2014 г.) регион свободен от бруцеллеза крупного рогатого скота.

Литература

1. Новицкий А.А. Экономическая эффективность внедрения схем специальных противобруцеллезных мероприятий в Омской области /А.А. Новицкий, Б.Ю. Кассал, В.И. Горбунов// Молодые ученые Сибири агропромышленному производству: межвуз. Сб. науч. тр.; СИБНИСХОЗ.-Омск.-1989.-С.24-28.
2. Косилов И.А. Оптимизация противозпизоотических мероприятий при бруцеллезе мелкого рогатого скота/И.А. Косилов, П.К. Аракелян// Ветеринария.-2001.-№6.-С.12-15.
3. Иванов А.В. Изыскание наиболее эффективных живой и гамма-инактивированной противобруцеллезных вакцин для мелкого рогатого скота/А.В. Иванов, Р.Х. Юсупов, К.М. Салмаков и др.//Вет. врач.-2009.-№4.-С.19-22.
4. Фомин А.М. Этапы оздоровления Самарской области от бруцеллеза крупного рогатого скота/ А.М. Фомин, Г.М. Сафина, О.Д. Скляров и др.//Матер.международ. конф., посвящ. 80-летию Самарской НИВС.-2009.-С.516-520.
5. Салмаков К.М. результаты изыскания более совершенных живых и инактивированных вакцин против бруцеллеза крупного и мелкого рогатого скота/ К. М. Салмаков, А.М. Фомин, Г.М. Сафина и др.// Вет. врач.-2010.-№5.-С.41-44.

Түйін

ІРІ ҚАРА МАЛ БРУЦЕЛЛЕЗІН ЖОЮ ЖӘНЕ АРНАЙЫ АЛДЫН АЛУ ШАРАЛАРЫН ЖЕТІЛДІРУДІҢ ТӘСІЛДЕРІ МЕН ӘДІСТЕРІН ЖАСАУ ЖӘНЕ СЫНАУ

Иванов А.В., Салмаков К.М., Фомин А.М., Сафина Г.М., Косарев М.А.,
Салмакова А.В.

«Токсикологиялық, радиациялық және биологиялық қауіпсіздіктің
федеральдік орталығы» ФМБМ, Казань қ.

Мақалада ірі қара мал бруцеллезіне қарсы арнайы алдын алу шараларының эпизоотияға қарсы тиімділігін арттыру үшін ФМБМ «ТРжБФО» жасаған тәсілдер мен әдістердің тәжірибелік сынақтарының нәтижелері келтіріледі.

Summary

DEVELOPMENT AND TESTING TOOLS AND METHODS FOR IMPROVING THE SPECIFIC PREVENTION AND ELIMINATION BOVINE BRUCELLOSIS

Ivanov A.V., Salmakov K.M., Fomin A.M., Safina G.M., Kosarev M.A.,
Salmakova A.V.

FSBI "FederalCenter for Toxicological, Radiation and Biological Safety", Kazan

This paper presents the results of performance test tools and techniques developed in FSBI "FCTRB-VNIVI", in order to increase the effectiveness of anti-epizootic specific prophylaxis of brucellosis in cattle. Shows the value of each of the proposed means and methods in the system antibrucellar special event, namely differential serological diagnosis of brucellosis in cattle vaccinated with a strain of 82, using brucellosis.R-antigen VNIVI, control of post-vaccination immune response after administration of the vaccine, as well as system antibrucellar special events with the vaccine strain of inagglyutinogenenogo B. abortus R-1096 for the provocation of the disease, prevention of vaccine-related abortions, and the final stage of rehabilitation farms to maintain permanent immunity in cows without postvaccinal seropositivity.

УДК 619:616.981.42:615.371:615.372

ИЗУЧЕНИЕ ИММУНОЛОГИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРОТИВОБРУЦЕЛЛЁЗНОЙ ВАКЦИНЫ ИЗ СЛАБОАГГЛЮТИНОГЕННОГО ШТАММА В. АВОРТУС 82 НА МОРСКИХ СВИНКАХ И ОВЦАХ

Иванов А.В., д.б.н., профессор, член-корр. РАСХН, Юсупов Р.Х., д.в.н., профессор, Салмаков К.М., д.в.н., профессор, Фомин А.М., д.в.н., профессор, Косарев М.А., к.б.н., Сафина Г.М., к.в.н., Федорова Н.Ю.

ФГБУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности», г. Казань

Резюме В статье представлены результаты сравнительного изучения антигенных и иммуногенных свойств живых и гамма-инактивированных противобруцеллезных вакцин из штаммов В. abortus 82, 19 и В. melitensis Рев-1 на морских свинках и овцах.

В Российской Федерации для специфической профилактики бруцеллёза мелкого рогатого скота официально регламентировано применение вакцины из штамма 19 по схеме: первичная иммунизация ярков подкожно в дозе 40 млрд. м.к. с последующей ежегодной ревакцинацией

переваривать и маток без предварительного исследования. Оздоровление неблагополучных хозяйств достигается путем поотарной замены неблагополучного поголовья изолированно выращенными иммунизированными ярками.

В новых условиях, начиная с 90-х годов прошлого века, когда возникли экономические и технические сложности эффективного осуществления планомерной поотарной замены овец и коз из-за организации многочисленных территориально разобщенных мелких частных хозяйств, с совместным содержанием всех половозрастных групп, такая схема специфической профилактики бруцеллёза мелкого рогатого скота стала нетехнологичной, т.к. длительно сохраняющиеся при ежегодных иммунизациях поствакцинальные реакции, не поддающиеся дифференциации, стали препятствовать выявлению эпизоотически и эпидемически опасных животных (С.К. Димов и др., 2010).

Уменьшение дозы вакцины, в том числе в сочетании с использованием конъюнктивального метода её введения животным, позволяло, как правило, в значительной степени снизить уровень поствакцинальной серопозитивности (П.К. Аракелян и др., 2001; M. Placketetal., 1980; G.V. Blaskoetal., 1984).

Аналогичные исследования были проведены на овцах с использованием вакцины из штамма Рев-1 (Е.А. Бровик и др., 1991).

У вакцины из штамма *B. melitensis* Рев-1, в экспериментах оказавшейся более иммуногенной, чем вакцина из штамма *B. abortus* 19, выявились недостатки, связанные с её высокой остаточной вирулентностью: абортотенность, потенциальная эпидемическая опасность (С.К. Димов и др., 2010).

В связи с этим П.К. Аракелян и др. (2011) считают, что схема специфической профилактики, предусматривающая специфическую иммунизацию животных вакциной из штамма Рев-1, в новых условиях нетехнологична, т.к. препятствует поствакцинальной диагностике бруцеллёза.

В качестве альтернативы живым вакцинам разрабатываются инактивированные вакцины против бруцеллёза мелкого рогатого скота из соображений экологического характера (М.П. Альбертян и др., 2006).

В лаборатории коллекции микроорганизмов ФГБУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» также проводятся исследования по изысканию живой и инактивированной вакцины для мелкого рогатого скота (А.В. Иванов и др., 2009).

Целью проведенных исследований в первом опыте было изучение антигенных и иммуногенных свойств живых противобруцеллёзных вакцин из штаммов *B. abortus* 82 и *B. melitensis* Рев-1 на морских свинках, а также гамма-инактивированных вакцин из этих штаммов.

Во втором опыте изучали антигенные и иммуногенные свойства живых вакцин из штаммов Рев-1 в сравнении с гамма-инактивированной вакциной из штамма 82 на овцах.

С целью проведения первого опыта морских свинок иммунизировали по схеме:

1 группа. Живая вакцина из штамма 82 в дозе 1 млрд. м.к. в объеме 1 см³ на фосфатном забуференном физрастворе, подкожно, в области паха.

2 группа. Гамма-инактивированная вакцина из штамма 82 в дозе 5 млрд. м.к.

3 группа. Живая вакцина из штамма Рев-1 в дозе 0,5 млн. м.к.

4 группа. Гамма-инактивированная вакцина из штамма Рев-1 в дозе 100 млн. м.к.

Через 15 суток, 1 и 2 месяца после иммунизации у животных брали кровь для проведения серологического исследования в РА, РСК- S и РСК- R до предельных титров антител.

Через 2 месяца со дня иммунизации морских свинок заражали культурой вирулентного штамма *V. melitensis* 16-М в дозе 50 м.к., подкожно, в объеме 1 см³, в области паха, со стороны, противоположной месту введения вакцины, с целью изучения иммуногенных свойств вакцин.

Во втором опыте овец иммунизировали подкожно за локтевым суставом в бесшерстное место по следующей схеме:

1 группа – 10 животных – живая вакцина из штамма *V. abortus* 82 в дозе 40 млрд. м.к. в объеме 2 см³.

2 группа – 5 животных – живая вакцина из штамма *V. abortus* 19 в дозе 40 млрд. м.к. в объеме 2 см³.

3 группа – 5 животных – живая вакцина из штамма *V. melitensis* Рев-1 в дозе 2 млрд.м.к. в объеме 2 см³.

4 группа – 5 животных – гамма-инактивированная вакцина из штамма *V. abortus* 82 в дозе 400 млрд. м.к. в объеме 4 см³.

5 группа- 3 животных – интактные (контроль).

Через 15 суток после иммунизации, а затем ежемесячно, в течение 7-и месяцев, проводили серологические исследования животных в РБП, РА, РСК- S и РСК- R.

Спустя 7 месяцев овец реиммунизировали теми же вакцинами, в тех же дозах. После ревакцинации серологическое исследование осуществляли через 15 суток, а затем ежемесячно, в течение 6-и месяцев.

После этого животных всех групп заражали культурой вирулентного штамма *V. melitensis* 16-М в дозе 1,5 млн. м.к.

Убой зараженных животных проводили через 24-27 суток с проведением серологического и бактериологического исследований, по результатам которых устанавливали иммунологическую эффективность вакцин.

Результаты исследований В результате проведенных исследований установили, что морские свинки, привитые как живой, так и инактивированной вакцинами из штамма 82, показывали отрицательные результаты серологических реакций с единым бруцеллезным (S-) антигеном во все сроки исследований.

В РСК с R-антигеном через 15 суток животные, привитые живой вакциной из штамма 82, реагировали в титре $26,7 \pm 6,7$. Через 1 месяц титр антител повысился до $66,7 \pm 13,3$, снизившись до $20,0 \pm 10,0$ через 2 месяца.

Среди морских свинок, иммунизированных 82-гамма вакциной, лишь одно животное реагировало положительно в невысоком титре антител - 1:10 через 15 суток и 1:5 через 1 месяц, а через 2 месяца РСК с R-антигеном стала отрицательной.

У морских свинок, привитых вакцинами из штамма Рев-1 отмечалась другая закономерность в выявлении антител. Эти животные, в отличие от предыдущих групп, реагировали положительно в РА и РСК с S-антигеном при отрицательных результатах в РСК с R-антигеном. При этом более выраженный иммунный ответ был также у морских свинок, привитых живой вакциной.

Так, у животных, привитых живой вакциной из штамма Рев-1, через 15 суток и через 1 месяц была положительной только РА в титрах соответственно $20,0 \pm 2,2$ и $13,0 \pm 3,3$. Через 2 месяца были положительными результаты в обеих реакциях в титрах: в РА $10,0 \pm 5,9$, в РСК $18,3 \pm 10,9$.

В группе морских свинок, иммунизированных гамма-вакциной из штамма Рев-1, лишь только у одного животного через 15 суток была положительной РА в титре 10 ME, в другие сроки все реакции показывали отрицательный результат.

Изучение иммуногенных свойств вакцин на морских свинках показало, что обе живые вакцины предохраняли от заражения 100% животных, гамма-инактивированные – в пределах 67%.

Серологическое исследование овец, иммунизированных живой вакциной из штамма 82 показало, что через 15 суток они реагировали положительно по всем реакциям с S- и R- антигенами в относительно высоких титрах антител. Затем количество антител снижалось и через 3 месяца все реакции были отрицательными.

Животные, первично иммунизированные живой вакциной из штамма 19, во все сроки исследований реагировали отрицательно в РСК с R-антигеном, при этом РБП, РА и РСК-S вплоть до ревакцинации показывали положительный результат у отдельных животных.

Слабые агглютинационные свойства показала живая вакцина из штамма Рев-1. Через 3 месяца после её введения все реакции стали отрицательными, а РСК с R-антигеном, как и в предыдущей группе, была отрицательной во все сроки исследований, что свидетельствует о специфичности бруцеллёзного R-антигена ВНИВИ.

У овец, иммунизированных гамма-инактивированной вакциной из штамма 82, все реакции показывали положительный результат в невысоких титрах антител лишь в течение 15 суток после иммунизации, а затем антитела практически не выявлялись. Через 1 месяц лишь одна овца реагировала положительно в РБП и РСК-S в титре 1:5. В последующие сроки исследования все реакции были отрицательными.

Ревакцинация овец сопровождалась увеличением титров антител и продолжительностью их выявления во всех группах животных, но особенно во 2-й группе, где животных реиммунизировали вакциной из штамма 19.

Так, у овец, реиммунизированных живой вакциной из штамма 82, через 3 месяца реакции начали выпадать у большинства животных, а затем вновь появились в невысоких титрах антител и держались вплоть до заражения.

Очень высокие титры антител с S-антигеном были у овец, ревакцинированных живой вакциной из штамма 19 (РА в титре 720 МЕ, РСК 1:80) и держались они в течение 6-и месяцев, вплоть до заражения. При этом РСК-R всегда была отрицательной.

Также в качественном выражении реагировали и овцы, реиммунизированные живой вакциной из штамма Рев-1. Они во все сроки исследований показывали отрицательный результат в РСК-R и положительные результаты в РБП, РА и РСК-S, но с более низкими титрами антител, чем овцы 2-й группы (штамм 19).

Реиммунизация овец гамма-инактивированной вакциной из штамма 82 вызывала иммунный ответ, улавливаемый во всех серологических реакциях (РА, РСК-S и РСК-R), но кратковременный (в течение 2-х месяцев) и в невысоких титрах антител.

Результаты изучения иммуногенных свойств вакцин показали, что все 3 живые вакцины создавали 100%-й иммунитет у ревакцинированных овец против заражения их культурой вирулентного штамма *V. melitensis* 16-M.

Гамма - инактивированная вакцина из штамма 82 создавала иммунитет у 66,7% овец.

Все контрольные интактные овцы заразились генерализованной формой инфекции. Индекс инфицированности у них равнялся 30,2.

Заключение Проведенные исследования по сравнительному изучению иммуногенных свойств живых и гамма-инактивированных противобруцеллёзных вакцин на морских свинках и овцах свидетельствуют о том, что более иммуногенными являются живые вакцины из слабоагглютиногенного штамма *V. abortus* 82 и агглютиногенных штаммов *V. abortus* 19 и *V. melitensis* Рев-1. Все морские свинки и овцы, реиммунизированные этими вакцинами, в 100% случаев противостояли заражению их культурой вирулентного штамма *V. melitensis* 16-M.

Гамма - инактивированная вакцина из штамма 82 создавала иммунитет у 66,7-70% животных.

При этом следует отметить, что при изучении иммуногенности с помощью серологических реакций как у привитых, так и ревакцинированных животных установили, что вакцина из штамма 82 является менее агглютиногенной и для овец, чем вакцина из штамма 19. Овцы, привитые и ревакцинированные вакциной из штамма 82, реагировали в РА и РСК в более низких титрах антител, чем овцы, которым вводили вакцину из штамма 19, и реакции становились отрицательными значительно быстрее как после вакцинации, так и после ревакцинации.

Следует отметить, что вакцина из штамма *B. melitensis* Рев-1 также показала менее агглютиногенные свойства по сравнению с вакциной из штамма 19, как на морских свинках, так и на овцах.

Исследования также показали довольно высокие иммуногенные и практически инагглютиногенные свойства гамма-инактивированной вакцины из штамма 82, что служит основанием для испытания противоэпизоотической эффективности как живой, так и гамма-инактивированной вакцины из штамма 82 в производственных условиях согласно разработанных и утвержденных в установленном порядке практических рекомендаций по их применению.

Литература

1. Димов С.К. Технологичность вакцин из штаммов *B. abortus* 19 и *B. melitensis* Рев-1 при бруцеллёзе овец /С.К. Димов, А.С. Димова, П.К. Аракелян и др.// Актуальные вопросы ветеринарной медицины: Матер. II Сиб. Вет. конгр., Новосиб. гос. аграрный университет.- Новосибирск.-2010.- С. 325-326.

2. Аракелян П.К. Влияние разных методов иммунизации овец вакциной из штамма 19 и кратности прививок на проявление серологических реакций (РА, РСК, РИД) /П.К. Аракелян, И.А. Косилов, Н.А. Морозова и др. // Инф. патология жив-х: сб. научн. тр. РАСХН.- Омск.- 2001.- С 77-80.

3. Plackett M. La Vaccination antibrucellique par voie conjonctivale / M. Plackett, G.O. Alton, P.D. Carter et al // Austral.Vet. Journ.-1980.-Vol. 56.-P. 409-412.

4. Blasco G.M. A note on adult sheep vaccination with reduced of *Brucella melitensis* Rev-1 / G.M. Blasco, A. Estrada // Ann. Rech. Vet.-1984.-Vol.15. - № 4.-P.553-556.

5. Бровик Е.А. Влияние различных методов введения вакцины из штамма *B. melitensis* Рев-1 на иммунологическую реактивность овец / Е.А. Бровик, А.Н. Касьянов// Тез.докл. III всесоюзн. конф. по эпизоотологии.- Новосибирск.- 1991.- С.162-164.

6. Аракелян П.К. Оптимизация противобруцеллёзных мероприятий у мелкого рогатого скота в современных эпизоотических и социально-экономических условиях /П.К. Аракелян, С.К. Димов, Е.Б. Барабанова и др. // Матер.международ.научно-практич. конф., посвящен.90-летию СибНИВИ-ВНИИБТЖ.- Омск.- 2011.- С.10-12.

7. Альбертян М.П. Иммунобиологические свойства бруцеллёзного антигена полимерного конъюгата / М.П. Альбертян, М.И. Искандаров, А.И. Федоров /Вет. патология.-2006.-№3 (18).- С.122-128.

8. Иванов А.В. Изыскание наиболее эффективных живой и гамма-инактивированной противобруцеллёзных вакцин для мелкого рогатого скота

Түйін

В. АВОРТУС 82 АГГЛЮТИНОГЕНДІГІ ӘЛСІЗ ШТАММЫНАН ЖАСАЛҒАН БРУЦЕЛЛЕЗГЕ ҚАРСЫ ВАКЦИНАНЫҢ ИММУНОЛОГИЯЛЫҚ ТИІМДІЛІГІН ТЕНІЗ ШОШҚАСЫ МЕН ҚОЙЛАРДА ЗЕРТТЕУ

Иванов А.В., Юсупов Р.Х., Салмаков К.М., Фомин А.М., Косарев М.А.,
Сафина Г.М., Федорова Н.Ю.

«Токсикологиялық, радиациялық және биологиялық қауіпсіздіктің
федеральдік орталығы» ФМБМ, Казань қ.

Мақалада бруцеллезге қарсы қолданылатын тірі *B. abortus* 82, 19, *B. melitensis* Рев-1 және гамма - инактивтелген вакциналарын теніз шошқалары мен қой ағзаларына енгізгендегі антигендік және иммуногендік қасиеттерін салыстырмалы түрде зерттеу нәтижелері баяндалған.

Summary

IMMUNOLOGICAL STUDY OF VACCINE EFFECTIVENESS ANTIBRUCCELLAR SLABOAGGLYUTINOGENNOGO STRAIN B. ABORTUS 82 IN GUINEA PIGS AND SHEEP

Ivanov A.V., Jusupov R.H., Salmakov K.M., Fomin A.M., Kosarev M.A.,
Safina G.M., Fedorova N.J.

FSBI«FederalCenter for Toxicological, Radiation and Biological Safety»,
Kazan

The article presents the results of a comparative study of antigenic and immunogenic properties of live and inactivated gamma antibrucellar vaccine strain *B. abortus* 82, 19 and *B. melitensis* Rev -1 in guinea pigs and sheep.

ПРОТИВОЭПИЗООТИЧЕСКИЕ МЕРОПРИЯТИЯ ПРИ БРУЦЕЛЛЕЗЕ

Иванов Н.П., д.в.н., профессор, академик НАН РК

ТОО «Казахский научно – исследовательский ветеринарный институт»

Резюме Противозoonотические мероприятия при бруцеллезной инфекции сводятся к охране благополучных по бруцеллезу хозяйств и оздоровлению неблагополучных и осуществляются путем комплексного одновременного воздействия на все три звена эпизоотической цепи (ликвидация источника инфекции, уничтожение возбудителя во внешней среде, повышение устойчивости организма восприимчивых животных к заболеванию). Эта работа осложняется восприимчивостью к бруцеллезу многих видов живых существ, вариабельностью возбудителя болезни, наличием большого числа факторов передачи патогенного начала, необходимостью участия специалистов биологического, ветеринарного и медицинского направлений, большими финансовыми и трудовыми затратами.

Бруцеллез (*Brucellosis*) хроническая инфекционная болезнь, протекающая часто с обострениями и выраженными клиническими признаками, проявляющимися в виде абортов, задержания последов, эндометритов, орхитов, эпидидимитов, расстройств воспроизводительной способности животных, поражения опорно-двигательного аппарата [1].

По различиям некоторых биологических свойств и способности паразитировать преимущественно в организме определенных видов животных (главным образом по эпизоотологическим и эпидемиологическим показателям) род «*Brucella*» к настоящему времени подразделен на девять разновидностей. Они различаются, кроме биологических и биохимических свойств, по некоторым эпизоотологическим показателям, отраженным в нижеследующей таблице 1.

Вид (подвид) бруцелл	Основной хозяин
<i>Brucella melitensis</i> (Hughes 1893) Meyer and Shaw 1920	Овцы, козы
<i>Brucella abortus</i> (Schmidt 1901) Meyer and Shaw 1920	Крупный рогатый скот
<i>Brucella suis</i> Huddleson 1929	Свиньи, зайцы, сев. олени, мыше- видные грызуны
<i>Brucella ovis</i> (Buddle 1956)	Бараны, овцы
<i>Brucella neotomae</i> (Stoenner and Lackman 1957)	Пустынные и кустарниковые крысы
<i>Brucella canis</i> (Carmichael and Bruner 1968)	Собаки
<i>Brucella ceti</i> sp. nov. (Cloeckart et al., 2001; Foster et al., 2007)	Морские животные, дельфины
<i>Brucella pinnipedialis</i> sp. nov. (Cloeckart et al., 2001; Foster et al., 2007)	Морские млекопитающие
<i>Brucella microti</i> sp. nov. (Hubalek et al. 2007) Scholz et al. 2008)	Полевки, кустарниковые крысы

С 2007 года международным комитетом экспертов ФАО /ВОЗ по бруцеллезу, подкомитетом по токсонамии бруцелл все названные виды объединены в один и назван *B. melitensis*, а все другие являются его подвидами.

Однако для нас, с точки зрения опасности бруцелл для организма человека и животных и эпизоотологической важности, необходимо знать, что на территории Республики Казахстан среди сельскохозяйственных животных циркулируют, в основном, *B. melitensis*, *B. abortus*, *B. suis*, *B. ovis* [1]. Бактерии рода *Brucella* могут проявлять неустойчивость некоторых своих признаков (вариабельность), а ферментативная активность зачастую характеризуется индуктивностью, что создает определенные затруднения при дифференциации культур тем или иным методом [2]. В специальной литературе имеются сообщения о выделении из организма животных и человека диссоциированных форм бруцелл [3,4,5].

Проведенные нами исследования показали, что из 875 культур бруцелл выделенных от сельскохозяйственных животных на территории Казахстана 12,1% из них оказались с измененной антигенной структурой. Паразитирование в организме животных диссоциированных форм бруцелл не всегда, в зависимости от степени диссоциации, вызывает выработку антител, улавливаемых стандартными биофабричными антигенами. Бруцеллезом заболевают животные многих видов, но наиболее восприимчивы и чувствительны к данной инфекции парнокопытные молодые половозрелые женские особи [6,7], заболевают бруцеллезом собаки и другие животные [8,9]. При бактериологическом исследовании материала от абортированных плодов возбудитель бруцеллеза выделяется от 50 до 80% случаев [10,11]. В молоке больных бруцеллезом коров бруцеллы обнаруживаются до 78% [6,7]. Нами [7] проведен сравнительный анализ бактериологического (биопроба) исследования влагалищной слизи и содержимого молочной железы коров через различные сроки после аборта (рисунок 1).

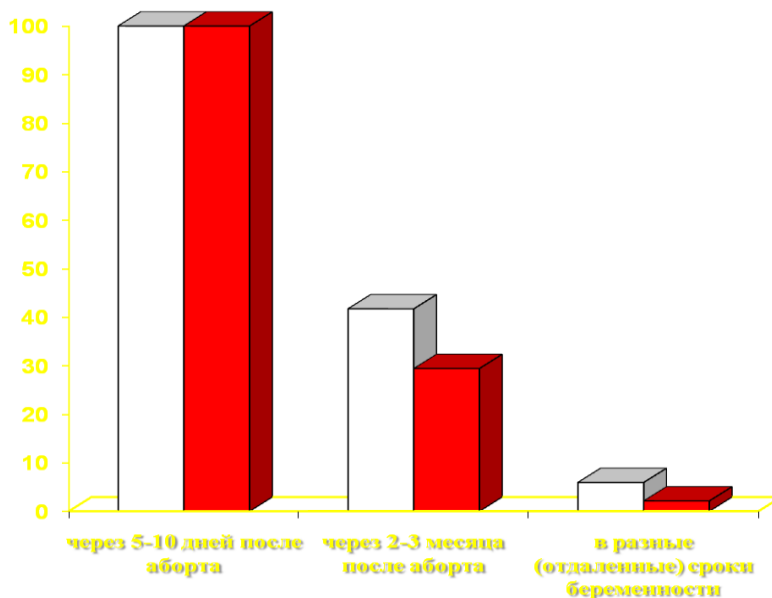


Рисунок 1 - Сравнительные данные о наличии бруцелл в содержимом молочной железы и влагалищной слизи

Из рисунка 1 видно, что возбудитель бруцеллеза более длительно выделяется с молоком, нежели с половыми истечениями. Эти данные свидетельствуют об опасности скармливания необеззараженного молока молодняку или употреблении его в пищу.

Лабораторией по изучению бруцеллеза КазНИВИ в 1978 году были изолированы бруцеллы из организма двух сусликов, отловленных на ферме, неблагополучной по бруцеллезу крупного рогатого скота.

Возможно, имеет место наличие резервуара бруцелл среди дикой фауны, контактирующей с домашними животными и/или ведущей стадный образ жизни. По сообщению А.Ф. Бабкина [12] стойкий природный очаг может быть среди диких свиней.

Наши наблюдения показывают о возможном наличии природных очагов среди сайги [13,14]. Другие представители дикой фауны, по нашим наблюдениям, не имеют практического значения в распространении бруцеллезной инфекции среди сельскохозяйственных животных.

Пути заноса возбудителя бруцеллезной инфекции в хозяйства и дальнейшее ее распространение разнообразны, но главное значение имеет контакт здоровых животных с больными при вводе их на благополучную ферму, на общих пастбищах и местах водопоя, размещение благополучного поголовья на недостаточно санитированной территории, скармливание молодняку необеззараженного молока или обрата, что показано в приведенной таблице 2.

Таблица 2 - Пути заноса бруцеллезной инфекции в благополучные стада и заражения здоровых животных

Годы	Количество хозяйств, где обнаружен бруцеллез КРС	Из них в результате				Не установлено (чаще многофакторн.)
		Контакта с неблагополучным поголовьем	Размещение в несанированные помещения	Выпойка необеззараженного молока	Использование телок от больных коров	
1981	44	15	2	5	2	20
1982	24	10	1	2	3	8
1983	44	21	1	3	2	17
1984	21	9	2	.	1	9
1985	21	12	-	-	4	5
Итого: абс.	154	<u>65</u> 42,0	<u>6</u> 4,0	<u>10</u> 6,5	<u>12</u> 8,0	<u>61</u> 40,0

Приведенные в таблице 2 данные необходимо учитывать при проведении противобруцеллезных мероприятий.

Мероприятия по борьбе с бруцеллезной инфекцией (как профилактические, так и оздоровительные) слагаются из комплекса работ организационно-хозяйственного, ветеринарно-санитарного и специального характера. Особое внимание уделяют мерам по недопущению инфицирования человека возбудителем бруцеллеза.

Комплекс организационно - хозяйственных мер включает: строительство недостающих животноводческих объектов, идентификация животных, налаживание технологии животноводства, способствующей разрыву эпизоотической цепи, порядок использования пастбищных участков и скотопомещений и т. д.

Ветеринарно - санитарные мероприятия направлены на второе звено эпизоотической цепи, то есть ликвидацию механизма передачи возбудителя болезни. С этой целью проводят работы по уничтожению возбудителя во внешней среде (дезинфекция, дератизация, дезинсекция) с помощью современных специфических средств и методов их применения.

Специальные мероприятия включают диагностику, специфическую профилактику и возможное применение антибактериальных препаратов с целью купирования бруцеллезной инфекции.

Охрана благополучных хозяйств (ферм, подворий) от заноса в них возбудителя бруцеллеза осуществляется путем строгого выполнения карантинных, ветеринарно – санитарных и зоогигиенических правил [1].

Оздоровление неблагополучных пунктов сводится к ликвидации эпизоотических очагов бруцеллезной инфекции и осуществляется, в

основном, тремя методами: 1 - путем полной замены неблагополучного поголовья здоровыми не инфицированными животными;

2 - систематическими диагностическими исследованиями с последующей ликвидацией положительно-реагирующего скота; 3 – с применением средств специфической профилактики и последующих диагностических исследований и проведения работ по уничтожению возбудителя болезни во внешней среде.

Полная замена неблагополучного поголовья здоровыми животными не всегда приемлема в условиях нашей страны. Оздоровление хозяйствующих субъектов путем систематических диагностических исследований, как показал практический опыт, зачастую так же не дает желаемых результатов, так как на фоне достигнутого успеха вновь появляются очаги бруцеллезной инфекции.

В зоне с широким распространением бруцеллезной инфекции наиболее эффективно достигается снижение заболеваемости животных путем применения противобруцеллезных вакцин. Диагностика бруцеллеза осуществляется на основе данных эпизоотологии, клинической картины, патоморфологических изменений, результатов аллергических и лабораторных исследований.

В процессе эпизоотологического исследования пользуются различными приемами и способами, в совокупности составляющими эпизоотологический метод. При этом осуществляют сбор анамнестических данных (опрос людей, изучение документов), проводят обследование неблагополучной территории, устанавливают границы эпизоотического очага и неблагополучного пункта, определяют возможные пути заноса инфекции, факторы передачи возбудителя болезни, наличие иммунного фона среди обследуемого поголовья. Клиническое проявление бруцеллеза у животных не характерно, аналогичная картина может быть и при других заболеваниях заразной и не заразной этиологии. Наиболее выраженным клиническим проявлением бруцеллеза у животных, как уже отмечалось выше, являются аборты у самок или рождение нежизнеспособного плода, сопровождающиеся задержанием последа, патологическими истечениями из влагалища, эндометритами и другими осложнениями, локализующимися, в основном, в генитальном аппарате.

Патоморфологические изменения у больных бруцеллезом животных не носят специфического характера. У абортировавших животных нередко отмечаются признаки гнойно-катарального метрита, поражение почек селезенки, печени, суставов. У самок наблюдаются маститы, софариты, кисты в яичниках.

Аллергическое исследование проводится с помощью аллергенов: бруцеллин, бруцеллоовин, бруцеллизат и др. При этом препараты вводят внутрикожно (в подхвостовую складку) или подкожно нижнего века (интрапальпебральная проба). Техническое исполнение этого метода исследования не вызывает особых затруднений.

Лабораторная диагностика бруцеллеза животных включает бактериологические (проведение бактериоскопии, выделение культуры и постановка биопробы), серологические исследования (РА, РСК (РДСК), РБП, КР с молоком, ИФА) и молекулярно-генетические исследования (ПЦР).

Лабораторная диагностическая работа проводится согласно соответствующим инструктивным положениям и наставлениям [15].

Для специфической профилактики бруцеллеза сельскохозяйственных животных применяют зарегистрированные в Республике Казахстан противобруцеллезные вакцины. Для иммунизации крупного рогатого скота рекомендованы: живая сухая вакцина против бруцеллеза из штамма *B. abortus* 19, вакцина из слабоагглютиногенного штамма *B. abortus* № 82 и из неагглютиногенного штамма *B. abortus* RB – 51 живая сухая. Для иммунизации мелкого рогатого скота рекомендованы: живая сухая вакцина против бруцеллеза из штамма *B. abortus* 19, вакцина из штамма *B. melitensis* Rev-1.

Агглютиногенные вакцины (*B. abortus* 19, *B. melitensis* Rev-1) целесообразно использовать для профилактики заболевания бруцеллезом молодняка сельскохозяйственных животных. Взрослое поголовье можно вакцинировать только сниженными дозами указанных вакцин или использовать для этой цели конъюнктивальный метод аппликации живых профилактических препаратов.

Слабоагглютиногенные и неагглютиногенные вакцинные препараты рекомендованы для иммунизации взрослого поголовья крупного рогатого скота.

Последующие диагностические исследования проводить в строгом соответствии с наставлениями по применению указанных вакцин. Заслуживает внимание разрабатываемый нами метод одновременного контроля и профилактики бруцеллеза мелкого рогатого скота. Предлагаемая нами аллерген - вакцина как при внутрикожном, так и подкожном ее введении создает достаточно напряженный иммунитет и позволяет выявлять больных бруцеллезом животных по проявлению аллергической реакции.

В заключении следует отметить, что отсутствие случаев заболевания человека и животных не дают основания думать о полной ликвидации инфекции. Необходимо помнить, что наличие инфекции, в том числе и бруцеллезной, связано с существованием возбудителя как вида в определенном нозоареале. Руководители и специалисты хозяйств, владельцы животных должны заострить внимание к недопущению заноса возбудителя инфекции в оздоровленные фермы (хозяйства) и заболевания животных при попадании возбудителя из внешней среды.

Выводы 1. К бруцеллезу восприимчивы многие виды наземных и водных животных, представители дикой фауны, что побуждает проводить крупномасштабные противоэпизоотические мероприятия по уничтожению возбудителя во внешней среде.

2. Вариабельность бруцелл диктует необходимость учитывать данное явление при использовании диагностических препаратов, постановке диагноза, выделении культур и их дифференциации.

3. Наиболее восприимчивы и чувствительны к бруцеллезной инфекции парнопалые молодые половозрелые женские особи, что требует уделять особое внимание этому контингенту животных при проведении противоэпизоотических мероприятий.

4. Из организма больных бруцеллезом коров возбудитель болезни наиболее длительно выделяется с секретом молочной железы.

5. Пути заноса возбудителя бруцеллезной инфекции в хозяйства и дальнейшее ее распространение разнообразны, но главное значение имеет контакт здоровых животных с больными.

6. Борьба с бруцеллезной инфекцией (охрана благополучных по бруцеллезу хозяйств и оздоровление неблагополучных) должна осуществляться комплексно, одновременно воздействуя на все три звена эпизоотической цепи (ликвидация источника инфекции, уничтожение возбудителя во внешней среде, повышение устойчивости организма восприимчивых животных к заболеванию).

Литература

1 Иванов Н.П. Бруцеллез животных и меры борьбы с ним. Алматы, 2007. - 610с.

2 Белобаб В.И. Образование сероводорода и аммиака бруцеллами и влияние этих продуктов на организм морских свинок //Дисс.канд.вет.наук.// Алма-Ата, 1971. - 214с.

3 Первушин Б.П. Вопросы микробиологической и иммунологической диагностики бруцеллеза у человека. М. «Медгиз», 1962. - 246с.

4 Косилов И.А. Изменчивость бруцелл и ее значение в проблеме бруцеллеза с/х животных // Дисс.докт.вет.наук //, Омск, 1974.- 384с

5 Потапов Н.М. Некоторые особенности бруцеллеза крупного рогатого скота в Приморье в связи с изменчивостью бруцелл. //Автореф. дисс. канд. вет. наук // Троицк, 1974. - 28с.

6 Жованик П.Н. Бруцеллез. Киев. - Урожай, 1975. - 222с.

7 Иванов Н.П. Разработка диагностических препаратов из различных форм бруцелл. // Дисс.докт.вет.наук // Алма-Ата, 1985. - 610с.

8 Измайлов И.А. Течение и клиническая картина экспериментального бруцеллеза у собак // Научные труды Львовского ветзооинститута //1951. - Вып. 4.

9 Шумилов К.В. Калмыков В.В. Михайлов Н.А и др. Свойства штамма бруцелл, выделенного из абортированного плода собаки // тр. ВГНКИвет. препаратов //М. 1995. – Т. 57. – С. 179-187.

10 Gwatkin K. Incidence of B.abortus in the fetal membranes of the full tame reacting cows //Cornell Vet/- 1932-22p

11 Тарасов И.А. Вершилова П.А. Опыт массового бактериологического исследования абортированных плодов при овечьем бруцеллезе //бруцеллез. Труды экспедиции ВИЭМ 1936.

12 Бабкин А.Ф. Бруцеллез, бруцеллооносная и иерсионная инфекции (эпизоотический мониторинг, диагностика, профилактика) //Автореф.докт. дисс.// Киев- 199-35с.

13 Lundervold.M., Ivanov N.P, et all.A serological survey of Food and Mouth Disease and Brucellosis in saiga antelopes in Kasakstan //Proceeding of the 7thInternational Symposium on Veterinary Epidemiology and Economics, Paris, June, 1997-45. p

14 Барамова Ш.А. Иммунологические показатели организма сайги, диагностика и патология при бруцеллезе.// Автореф. дисс. докт. биол. наук.// Алматы, 2004 – 50с.

15 Инструкция по диагностике бруцеллеза животных. - Астана, 2010. - 20с.

Түйін

БРУЦЕЛЛЕЗДЕГІ ЭПИЗООТИЯҒА ҚАРСЫ ШАРАЛАР

Иванов Н.П.

«Қазақ ғылыми – зерттеу ветеринария институты» ЖШС

Бруцеллез індетіне қарсы іс шаралар індеттен аман шаруашылықты қорғауға және індеттен сау емес шаруашылықтарды сауықтыруға арналған және эпизоотиялық қатардың барлық үш саласына (індет көзін жою, сыртқы ортада қоздырғышты жою, сезімтал жануарлардың ағзасының ауруға шалдығуға тұрақтылығын арттыру) бір уақытта бірдей әсер ету арқылы барлық үш буынына деген кешенді жұмыстар жүзеге асады. Бұл жұмыс малдардың бруцеллезбен ауруынан, аурудың қоздырғышының өзгергіштігінен, індеттің жұғу жолдарының көптігінен биология, ветеринария, медицина мамандарының қатыспауынан, еңбек және қаржының тапшылығынан қиындайды.

Summary

ANTI-EPIZOOTIC MEASURES IN BRUCELLOSIS

Ivanov N.P.

Anti-epizootic events with brucellosis infection can be reduced to the protection of prosperous farms and brucellosis reviving the harsh and implemented by complex simultaneous action on all three parts of the epizootic chain (elimination of the source of infection, the destruction of the pathogen in the environment, increase the body's resistance to disease susceptible animals). This work is complicated by susceptibility to brucellosis many living species, the variability of the pathogen, the presence of a large number of pathogenic factors transmit start, need the participation of specialists of biological, veterinary and medical areas, large financial and labor costs.

УДК 616.981

НАДЕЖНАЯ ДИАГНОСТИКА – ВАЖНЫЙ КОМПОНЕНТ ЭФФЕКТИВНОЙ БОРЬБЫ С БРУЦЕЛЛЕЗОМ

Каральник Б.В., Денисова Т.Г., Жунусова Г.Б.

Научный центр гигиены и эпидемиологии им. Х. Жуматова, г. Алматы

Резюме В статье обобщена и дана комплексная оценка результатов экспериментальных и клинико-диагностических исследований для обоснования одного из возможных путей совершенствования диагностики бруцеллеза по показателям антиген специфического иммунного ответа.

Бруцеллез – тяжелое хроническое заболевание, приводящее больных к инвалидности. В Казахстане бруцеллез – распространенная инфекция, как людей, так и животных. Этиотропное лечение больных на основе эффективной диагностики, особенно ранней, снижает риск инвалидизации и преждевременной смерти людей.

Цель работы – обобщение и комплексная оценка полученных нами результатов экспериментальных и клинико-диагностических исследований для обоснования одного из возможных путей совершенствования диагностики бруцеллеза по показателям антигенспецифического иммунного ответа.

В обычно применяемых методах такой диагностики – агглютинационных (Райта, Хаддлсона, реже РНГА) и иммуноферментных

определяют антитела. Для их формирования в диагностических значениях требуется определенное время, что затрудняет раннюю диагностику. Кроме того, эти методы не обеспечивают надежных подходов к дифференциации антительного ответа на естественное инфицирование и вакцинацию. Даже после эффективной терапии антитела сохраняются довольно долго, что не позволяет надежно интерпретировать результаты их определения (таблица 1).

Мы также обнаружили, что у здоровых беременных часто получают ложноположительные результаты реакции Хаддлсона и ИФА в IgG тест-системе (таблица 1). В целом эти данные отражают недостаточную надежность диагностики по антителам, особенно в диагностике хронического бруцеллеза (таблица 2).

В течение длительного времени мы используем другой принцип диагностики различных инфекций по регистрации иммунного ответа. Этот принцип реализуется в тесте антигенсвязывающих лимфоцитов (АСЛ), то есть лимфоцитов с рецепторами к антигену возбудителя. При помощи разработанных иммунореагентов в сотрудничестве с другими исследователями проведены диагностические исследования в эксперименте и клинике.

Таблица 1 - Сравнительная эффективность различных тестов при обследовании больных бруцеллезом, переболевших и здоровых беременных

Диагноз	Частота положительного результата теста								
	а. Хаддлсона			б. ИФА			с. АСЛ		
	Abc	%	P _{a,b}	Abc	%	P _{a,c}	abc	%	P _{b,c}
Бруцеллез	17/23	73.9±9.2	0.262	17/22	77.3±8.9	0.043	22/23	95.7±1.8	0.074
Переболевшие бруцеллезом	9/11	81.8±11.6	0.262	10/10	100.0	0.0009	1/11	9.1±8.7	0.0009
Беременные здоровые	3/5	60.0±21.9	0.417	4/5	80.0±17.9	0.083	0/5	0.0	0.024
P	P _{1,2}		0.305			0.131			8.84·10 ⁻⁷
	P _{1,3}		0.325			0.445			6.11·10 ⁻⁵
	P _{2,3}		0.302			0.333			0.688

Примечание: P_{a,b}; P_{a,c}; P_{b,c} - сравнение разных методов в одной и той же группе обследованных.

P_{1,2}; P_{1,3}; P_{2,3} – сравнение разных групп обследованных одним и тем же методом.

Таблица 2 - Соответствие результатов определения АСЛ результатам выявления антител

Выявление антител	Частота выявления АСЛ		P
	abc	%	
1. Реакция Райта			0.018
+	10/10	100.0	
-	29/46	63.4±7.1	
2. Реакция Хаддлсона			0.013
+	10/10	100.0	
-	24/40	60.0±7.7	

Примечание: P – вероятность нуль-гипотезы при сравнении групп больных с положительным и отрицательным результатом выявления антител

Даже распределение результатов реакции Хаддлсона по интенсивности агглютинации оказалось практически идентичным у больных и здоровых (рисунок 1).



Рисунок 1 - Распределение результатов реакции Хаддлсона по степени агглютинации у больных бруцеллезом (А) и переболевших (Б).

По оси X - степень агглютинации в крестах; по оси Y - частота результата.

В таблице 3 показана динамика выявления АСЛ в крови морских свинок, зараженных *Brucella melitensis*. АСЛ обнаружены уже через 7 дней после заражения (первый срок исследования), затем их содержание последовательно уменьшается. Это означает, что через 7 дней достигнут максимум содержания АСЛ, а их формирование началось раньше. Полученные нами при иммунизации различными антигенами данные подтверждают такое соображение. В крови морских свинок АСЛ обнаруживаются даже через 2 – 3 месяца после заражения.

Результаты определения АСЛ при помощи иммунореагентов оптимальной и субоп-мальной чувствительности позволили рассчитать показатель авидности таких лимфоцитов в отношении гомологичного антигена. Обнаруженное увеличение показателя авидности демонстрирует селекцию более авидных АСЛ в динамике иммунного ответа.

Известно, что ЛПС *B. melitensis* и *Y. enterocolitica* серовара 9 антигенно очень близки. Поэтому для оценки специфичности определения АСЛ в наиболее жестких условиях сопоставили динамику выявления АСЛ при помощи приготовленных из ЛПС этих бактерий иммунореагентов оптимальной чувствительности.

Таблица 3 - Выявление и оценка специфичности АСЛ в динамике ответа морских свинок на заражение *V. melitensis*

Иммунореагент специфичности	Чувствительность иммунореагента	Показатель	Дни после заражения				
			7	14	21	30	60-90
<i>V. melitensis</i>	Оптимальная	Среднее содержание АСЛ, %	18.3	12.1	9.7	7.3	4.3
	субоптимальная		8.0	4.9	5.4	5.4	4.0
<i>Y. enterocolitica</i> O9	Оптимальная		11.8	7.2	4.5	4.1	1.6
	субоптимальная		4.0	3.5	3.1	2.7	0.8
<i>V. melitensis</i>		Авидность АСЛ*	0.44	0.40	0.56	0.74	0.93
<i>V. melitensis</i>	Оптимальная	Специфичность АСЛ**	1.0	1.2	1.2	1.3	1.7

Примечания: Авидность характеризуется соотношением АСЛ, выявляемых субоптимальным и оптимальным иммунореагентам. ** - Специфичность характеризуется соотношением уровней ингибиции бруцеллезных АСЛ липополисахаридами *V. melitensis* и *Y. enterocolitica*O9

Показано, что рассчитанный на основе этого показатель специфичности также возрастает в динамике иммунного ответа (таблица 3). Различие в темпах прироста показателей avidности (на 111 %) и специфичности (на 70 %). Различие обусловлено тем, что увеличение специфичности в динамике выявлено при использовании иммунореагентов, приготовленных из очень антигенно близких ЛПС. В целом динамика этих характеристик АСЛ отражает положительную селекцию таких лимфоцитов по специфичности в раннюю фазу антигенспецифического ответа на патоген.

Специфичность теста АСЛ дополнительно подтверждена тем, что при положительных результатах реакций Райта и Хаддлсона у больных бруцеллезом АСЛ выявлены достоверно чаще, чем при отрицательных (таблица 4).

Таблица 4 - Соответствие между выявлением АСЛ и клиническими симптомами у больных хроническим бруцеллезом

Симптом	Частота выявления АСЛ при симптоме				Р
	положительный		отрицательный		
	abc	%	abc	%	
Повышение температуры	24/27	88.9±6.0	15/29	51.7±9.3	0.002
Интоксикация	38/40	95.0±3.4	1/16	6.2±6.0	1.27·10 ⁻¹⁰
Лимфоаденопатия	29/33	87.9±5.6	10/23	43.5±10.3	4.78·10 ⁻⁴
Гепатомегалия	30/34	88.2±5.5	9/22	40.9±10.5	2.35·10 ⁻⁴

Примечание: Р – вероятность нуль-гипотезы при сравнении частоты больных с наличием и отсутствием симптома

Таблица 5 - Частота положительных результатов диагностических тестов и наличие клинических симптомов у больных

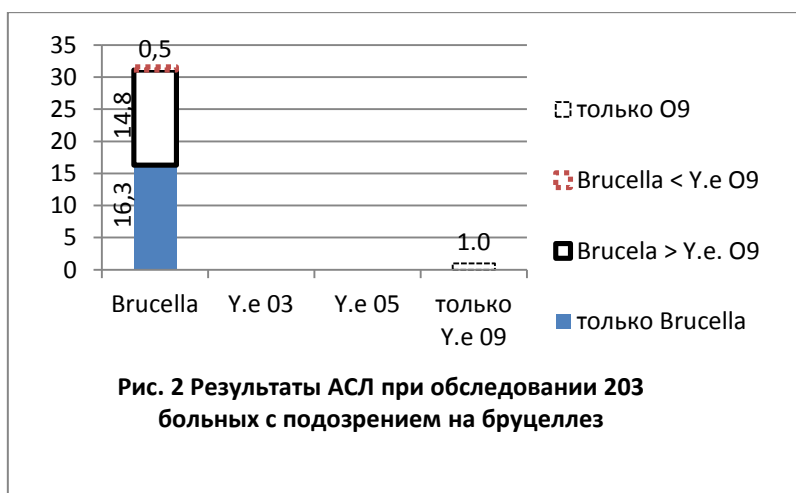
Частота результатов диагностических тестов*				Частота наличия клинических симптомов**				
АСЛ	р.Рай-та	р.Хад-длсона	гемокультуры	лихорадка	интоксикация	гепатомегалия	полиартро-нейроми-алгия	очаговые проявления
16/16	10/15	8/14	3/8	13/16	14/16	13/16	11/16	10/16

Примечания: * - в знаменателе - количество обследованных больных, в числителе – количество больных с положительным результатом теста; ** - в знаменателе - количество обследованных больных, в числителе – количество больных с наличием симптома

При наличии клинических симптомов, часто регистрируемых при бруцеллезе, АСЛ также обнаружены чаще ($P < 0.002$), чем при отсутствии такой симптоматики (таблица 5).

Оценка чувствительности разных методов диагностики бруцеллеза по регистрации иммунного ответа (таблицы 1 и 2) показала существенно более высокую чувствительность теста АСЛ в сравнении с реакциями Райта, Хаддлсона и ИФА. Специфические АСЛ обнаружены несколько чаще такого симптома как полиартромиалгия (таблица 5).

Поскольку ЛПС *B. melitensis* и *Y. enterocolitica* O9 весьма близки по специфичности, важно изучить, могут ли и насколько часто возникать ошибки в диагностике этих инфекций методом АСЛ. Для этого таким методом с параллельным использованием иммунореагентов специфичности *B. melitensis*, *Y. enterocolitica* O3, O5 и O9 обследовали 302 больных с подозрением на бруцеллез (203) и иерсиниоз *Y. enterocolitica*, вызванный наиболее распространенными сероварами O9, O3 и O5 (182). Приведенные на рисунке 2 результаты такого исследования больных с подозрением на бруцеллез показали следующее.



Из числа обследованных на бруцеллез у 16,3 % выявлены АСЛ только бруцеллезной специфичности, а у 15,3 % одновременно обнаружены АСЛ бруцеллезной и иерсиниозной серовара O9 специфичности. При этом из пациентов с одновременным наличием АСЛ двух специфичностей у большинства (14,8 %) содержание АСЛ бруцеллезной специфичности достоверно превышало содержание АСЛ иерсиниозной O9 специфичности. На этом основании этим больным, как и пациентам с АСЛ только специфичности бруцелл, поставлен диагноз бруцеллеза. Таким образом, диагноз бруцеллеза при подозрении на эту инфекцию подтвержден у 31,1 % пациентов. Но у одного больного (1 %) при выявлении АСЛ обеих специфичностей (*Brucella* и *Y. enterocolitica*O9) содержание АСЛ иерсиниозной серовара O9 значительно превышало содержание АСЛ бруцеллезной специфичности: поставлен диагноз иерсиниоза, вызванного бактериями серовара 9. У двух из обследованных на бруцеллез обнаружены АСЛ только иерсиниозной серовара O9 специфичности. Полученные

результаты показывают, что подозрение на бруцеллез подтверждено у 31.1 %, а у 1.5 % пациентов выявлен иерсиниоз *Y. enterocolitica*, вызванный бактериями серовара О9. Иерсиниоз, обусловленный *E. enterocolitica* сероваров О3 и О5, не выявлен ни у одного из обследованных больных этой группы.

При обследовании больных с подозрением на иерсиниоз (рис. 3) у 20.8% обнаружены АСЛ специфичности *Y. enterocolitica* О3 и у 15.4 % - специфичности серовара О5. У этих больных не были обнаружены АСЛ специфичности иерсиний других сероваров и бруцелл. У 16.5 % больных определены АСЛ специфичности иерсиний серовара О9 и у 9.9 % - одновременно иерсиниозной серовара О9 и бруцелл, но у пациентов с одновременным выявлением АСЛ двух специфичностей у большинства 8.8 % содержание АСЛ иерсиниозной О9 специфичности достоверно превышало содержание АСЛ бруцеллезной специфичности. Поэтому им был поставлен диагноз иерсиниоза серовара О9. У 2 больных (1.1 %) содержание АСЛ бруцеллезной специфичности было достоверно выше содержания АСЛ специфичности иерсиний О9. У 3 пациентов с подозрением на иерсиниоз (%) выявлены АСЛ только бруцеллезной специфичности. Таким образом, при подозрении на иерсиниоз, вызванный бактериями 3 наиболее распространенных сероваров, диагноз подтвержден в целом у 61.5 % пациентов, в том числе у 9.9 % пациентов была необходима дифференциация между этими инфекциями по статистическому сравнению содержания АСЛ разной специфичности. 4 пациентам из группы с подозрением на иерсиниоз (2.2 %) на основании параллельного определения АСЛ специфичности *Y. enterocolitica* и *Brucella* поставлен диагноз бруцеллеза.

Подводя итоги проведенных исследований, отметим, что метод АСЛ при обследовании на бруцеллез обладает более высокой чувствительностью, чем методы определения антител, позволяет раньше диагностировать заболевание и дифференцировать диагнозы бруцеллеза и иерсиниоза *Y. enterocolitica*, а также исключать ложноположительные результаты определения антител, нередко получаемые у беременных. Наряду с этим нужно отметить, что сегодняшняя технология определения АСЛ достаточно трудоемка, требует высокой подготовки персонала. Поэтому нашей очередной задачей является ее модификация.

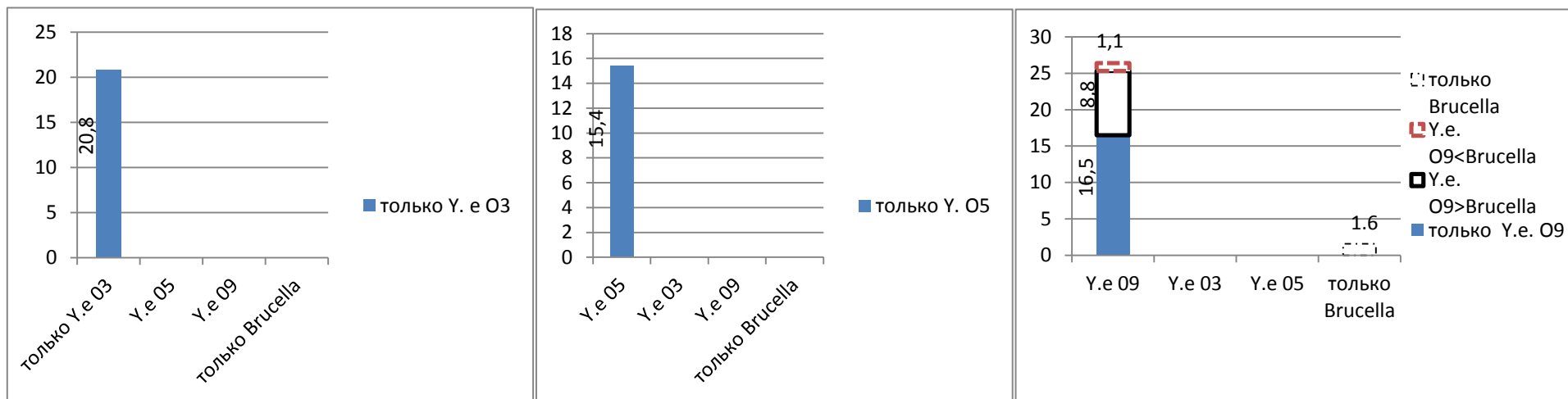


Рисунок 3 - Результаты АСЛ при обследовании 182 больных с подозрением на иерсиниоз *Y. enterocolitica*

Нам представляется, что в диагностике бруцеллеза методом АСЛ у сельскохозяйственных животных целесообразно выяснить следующие вопросы: позволяет ли использование АСЛ дифференцировать иммунный ответ на инфекцию и вакцинацию и, если при суягности мелкого/стельности крупного рогатого скота в крови животных имеются, факторы, как у человека, вызывающие ложноположительные результаты определения антител, можно ли с помощью метода АСЛ такие результаты «отбраковывать».

Түйін

СЕНІМДІ БАЛАУ – БРУЦЕЛЛЕЗБЕН КҮРЕСУДІҢ МАҢЫЗДЫ КОМПОНЕНТЫ

Каральник Б.В., Денисова Т.Г., Жунусова Г.Б.

Х. Жуматов атындағы Гигиена және эпидемиология ғылыми Орталығы,
Алматы қ.

Мақалада антигенспецификалық иммундық жауап көрсеткіштері негізінде бруцеллез диагностикасын жетілдіру мақсатында жүргізілген тәжірибелер және клиникалық- балаулық зерттеулер нәтижелері баяндалады.

Summary

RELIABLE DIAGNOSIS – IMPORTANT COMPONENT OF EFFECTIVE PREVENTION AGAINST BRUCELLOSIS

Karalnik B.V., Denisova T.G., Junusova G.B.

Scientific centre of hygiene and epidemiology after H.Jumatov in Almaty

The article summarized and there is given a comprehensive evaluation of the results of experimental and clinical diagnostic studies to justify one of the possible ways to improve the diagnosis of brucellosis in terms of antigen specific immune response.

ЭПИЗООТИЧЕСКАЯ СИТУАЦИЯ ПО БРУЦЕЛЛЕЗУ КРУПНОГО И МЕЛКОГО РОГАТОГО СКОТА НА ПРИМЕРЕ ХОЗЯЙСТВ СЕВЕРО - КАЗАХСТАНСКОЙ ОБЛАСТИ

Минжасов К.И., Аубакирова А.К., Алимбаева М.Р., Притчин Е.В.

ТОО «Северо-Казахстанский НИИ животноводства и растениеводства»

Резюме В статье анализируется эпизоотическая ситуация по бруцеллезу крупного и мелкого рогатого скота в разрезе хозяйств Северо-Казахстанской области, рекомендована создание иммунитета у животных на бруцеллез путем использования противобруцеллезных вакцин.

В СНГ с целью изысканий специфических средств профилактики и ликвидации бруцеллеза крупного рогатого скота и овец изучалось более 40 штаммов и 27 вакцин, в том числе инактивированных и иннаглютиногенных, которые подвергались испытанию.

Иннаглютиногенные и инактивированные вакцины не нашли широкого применения из-за недостаточности их иммуногенности. В СНГ применяют вакцины из штаммов Br.abortus 19, 104-М и 82 для иммунизации крупного рогатого скота и Rev-1 для вакцинации овец. Вакцинные штаммы 19, 104-М и Rev-1 относятся к агглютиногенным антигенам, после их применения у животных в сыворотке крови длительное время сохраняются поствакцинальные антитела.

Штамм Br.abortus 82 является слабо агглютиногенным диссоциантом, содержащим SR-антигеном, поэтому поствакцинальные антитела сохраняются непродолжительное время.

Несмотря на эти качества, вакцины из диссоциированных штаммов бруцелл обладают пониженной антигенностью в сравнении с иннаглютиногенными [1-3].

Совершенствование средств диагностики и профилактики бруцеллеза крупного рогатого скота позволило бы стабилизировать эпизоотическую ситуацию по бруцеллезу и оздоровить хозяйства в более короткие сроки с минимальными экономическими потерями.

Исследования ученых в этом направлении продолжаются, путем усовершенствования существующих вакцин, а также средств и методов их ведения, что будет способствовать повышению эффективности вакцинопрофилактики при бруцеллезу крупного рогатого скота с учетом особенностей проявления инфекции.

Однако, за последние годы в Казахстане в связи с вступлением в ВТО вынуждены отказаться от вакцинопрофилактики животных от бруцеллеза и проводить лишь диагностические исследования на бруцеллез, путем исследования сывороток крови в ИФА. Этот метод оказался

высококочувствительным и иногда под этот метод стали реагировать сомнительные животные, что позволило дополнительно исследовать животных в общепринятых методах исследования на бруцеллез в РА и РСК для исключения недостоверных результатов.

В ходе проведения мониторинговых исследований эпизоотической ситуации по бруцеллезу крупного и мелкого рогатого скота в хозяйствах области установлена тенденция к распространению заболеваний, несмотря на системный подход в решении этой проблемы.

В 2009 году при исследовании 456,6 тыс. голов сывороток крови крупного рогатого скота положительно реагировали - 2634, что составило 0,57%.

Наиболее высокое заболевание скота бруцеллезом удерживается в районах: Акжарском -7,0% и Тайыншинском -1,0%.

В 2010 году при исследовании сывороток крови крупного рогатого скота в количестве 422,3 тыс. голов 99,2% к плану выделено положительно реагирующих на бруцеллез - 2315 голов (0,54%), наибольшее количество положительно реагирующих животных на бруцеллез выделено в Уалихановском районе – 48,3%.

В 2011 году в районах области исследовано 541,4 тыс. голов, что составляет 100% к плану, при этом выделено положительно реагирующих животных - 2151 гол. В том числе в Айыртауском районе – 239 гол, Акжарском -241 гол., Тайыншинском -318 гол. Наибольшее количество положительно реагирующих животных на бруцеллез выделено в Уалихановском районе – 1098 гол.

Во всех районах области в 2012 году исследовано на бруцеллез 462,25 тыс. гол., 100% к плану, из них положительно реагирующих – 1927 голов. В районе им. М. Жумабаева -321гол. Наибольшее количество положительно реагирующих в Уалихановском районе – 1037 гол.

Исследовано на бруцеллез в 2013 году во всех районах области 260,147 тыс. гол.к 100% плану, из них положительно реагирующих 585 гол. (0,2%) в Тайыншинском – 17,2%, Акжарском -23,5%, районе им. М. Жумабаева - 26,6%.

По ИФА было исследовано во всех районах области на бруцеллез 78,084 тыс. гол, из них положительно реагирующих выявлено 4 головы. В Уалихановском районе в неблагополучных пунктах в 2013 году исследовано -6648 голов крупного рогатого скота, выделено положительно реагирующих на бруцеллез – 181 голов.

Из вышеизложенного эпизоотическая ситуация в области по бруцеллезу крупного рогатого скота остается напряженной и требует проведения неотложных мер по ликвидации очага инфекции и сохранения ветеринарного благополучия хозяйств от бруцеллеза.

В 2009 году в районах области исследовано 283,1 тыс. голов овец, выделение положительно реагирующих на бруцеллез мелкого рогатого скота достигало - 0,003%, наибольшее количество в г. Петропавловск – 63,6%.

2010 году исследовано 350,9 тыс. голов, положительно реагирующих животных составило - 0,008% в районах Шал акына -56,6%.

В 2011 году было исследовано 504,9 тыс. голов из них положительно реагирующих - 0,03%, наибольшее количество положительно реагирующих на бруцеллез овец в Уалихановском районе составило – 62,2%.

В 2012 году исследовано 360,85 тыс. голов, положительно реагирующих - 0,009%.

В 2013 году исследовано 342783 голов, положительно реагирующих – 0,023%.

Все реагирующие животные на бруцеллез были выявлены, изолированы и сданы на убой, согласно Инструкции.

Таким образом, анализируя эпизоотическую ситуацию по бруцеллезу крупного и мелкого рогатого скота в разрезе хозяйств Северо-Казахстанской области необходимо отметить, что несмотря на проведение в течение года 2-х разовых диагностических исследований на бруцеллез, эпизоотическая ситуация остается напряженной, считаем необходимым создать иммунитет у животных на бруцеллез путем использования противобруцеллезных вакцин с целью купирования инфекции и проведения противобруцеллезных мероприятий путем оздоровления хозяйств от указанной инфекции.

Литература

1 Антюхов В.М. Докторская диссертация «Противобруцеллезные мероприятия в стадах крупного рогатого скота мясного направления», Алматы, 2005. - 230с.

2 Шумилов К.В. Испытание иммунитета у телок, привитых вакцинами из бруцелл разных видов и Труды ВИЭВ, т.47, 1979. - С. 63 - 70.

3 Орлов Е.В., Уласевич П.С., Иванов М.М. Изучение иммунитета у овец, вакцинированных различными штаммами бруцелл. Труды ВИЭВ, т. 39. - С. 6 - 9.

Түйін

СОЛТҮСТІК ҚАЗАҚСТАН ОБЛЫСЫНЫҢ ШАРУАШЫЛЫҚТАРЫНДАҒЫ ІРІ ҚАРА МЕН ҰСАҚ МАЛДЫҢ БРУЦЕЛЛЕЗІ БОЙЫНША ЭПИЗООТИЯЛЫҚ ЖАҒДАЙ

Минжасов К.И., Аубакирова А.К., Алимбаева М.Р., Притчин Е.В.

«Солтүстік Қазақстан малшаруашылығы және өсімдік ҒЗИ» ЖШС

Мақалада СҚО-да жануарлар бруцеллезі бойынша індеттік ахуал талданып, жағдайды түзету мақсатында бруцеллезге қарсы вакциналарды пайдалану қажеттігі ұсынылады.

Summary

EPIZOOTIC SITUATION IN BRUCELLOSIS OF CATTLE AND SMALL RUMINANTS ON THE EXAMPLE OF NORTH KAZAKHSTAN FARMS

Minzhasov K.I., Aubakirova A.K., Alimbaeva M.P., Pritchkin E.B.

LTD «North Kazakhstan Scientific-Research Institute of livestock and crop»

In the article analysed the epizootic situation in brucellosis of cattle and small ruminants in North Kazakhstan farms, recommended the establishment of immunity in animals for brucellosis by use of vaccines antibrucellar.

УДК 619:616.981.42-07/084

ЭФФЕКТИВНОСТЬ СОВРЕМЕННЫХ МЕТОДОВ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ ПРИ ОЗДОРОВЛЕНИИ НЕБЛАГОПОЛУЧНОГО ПУНКТА ОТ БРУЦЕЛЛЕЗА СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ

Мустафин Б.М., д.в.н., Чужебаева Г.Д., к.в.н., Байсеев Г.А.

Филиал «Костанайская научно-исследовательская ветеринарная станция»

Резюме В статье приведены результаты сравнительных лабораторных исследований при бруцеллезе сельскохозяйственных животных, приведен анализ причин ложноположительных и ложноотрицательных результатов при исследованиях методом ИФА.

Эффективность противобруцеллезных мероприятий, бесспорно, связана с качеством применяемых современных средств диагностики. Однако, особенности течения бруцеллезной инфекции, несмотря на многообразие применяемых средств и методов диагностики, не позволяют при однократном исследовании выявить всех больных бруцеллезом животных [1]. Серологическая диагностика осложняется антигенным родством между бруцеллами и другими микроорганизмами, в частности *Yersinia enterocolitica*, что обуславливает получение ложноположительных реакций, кроме того, она не позволяет дифференцировать антитела, синтезированные на полевые культуры и вакцинные штаммы бруцелл [2]. Традиционно применяемые диагностические методы не позволяют оперативно дифференцировать бруцеллы на уровне видов и штаммов, что затрудняет проведение эпизоотологического анализа [3].

Целью настоящей работы является определение эффективности современных методов лабораторной диагностики в комплексе специальных

ветеринарных мероприятий при оздоровлении неблагополучного пункта от бруцеллеза сельскохозяйственных животных.

В работе использовали биоматериал от сельскохозяйственных животных: кровь, сыворотку крови, от убитых животных - лимфатические узлы и внутренние органы. Серологические реакции, бактериологические исследования ставили согласно «Наставлению по диагностике бруцеллеза у животных, 1999 г.».

Для культивирования микроорганизмов использовали агаровые питательные среды. Биологические исследования выделенных культур проводились на морских свинках.

ПЦР проводили с использованием Тест-системы "БРУ-КОМ" для диагностики бруцеллеза методом полимеразной цепной реакции (ЦНИИ Эпидемиологии Министерства здравоохранения РФ, Россия) согласно наставлению производителя.

Для исследования методом ПЦР каждый образец патологического материала от животных отбирали отдельным набором инструментов.

Пробы цельной крови отбирали в пробирки с трилоном Б (ЭДТА) в соотношении 10:1 и использовали для выделения ДНК. Для выделения ДНК из суспендированных бактериальных клеток брали по 10 мкл суспензии, для выделения ДНК из образцов патологического материала по 100 мкл обработанного материала.

Непрямой ИФА проводили с применением «Тест-системы для диагностики бруцеллеза животных» производства ТОО «Бицентр» г. Степногорска.

В 2007 году в селе Сосновка Аулиекольского района Костанайской области начались выделения серологически положительно реагирующих на бруцеллез животных. Были исследованы сыворотки крови от 1926 голов крупного рогатого скота и подтверждено 55 случаев бруцеллеза (2,9%). Клинические признаки бруцеллеза проявились абортами. Процент зараженности на конец года составил 4%.

В 2008 году было исследовано крупного рогатого скота 3992 головы и выделено 164 (4,1%), мелкого рогатого скота 4764 - из них среагировало 14 (0,3%), лошадей- 204 подтверждено положительных -10 (4,9%). Серологические исследования проводились классическими методами: РА, РСК, РБП. В Костанайской облветлаборатории было исследовано 3 аборт - плода и во всех случаях выделены культуры бруцелл. Данный населенный пункт был объявлен неблагополучным по бруцеллезу крупного рогатого скота. Оздоровление поголовья наряду с основными ветеринарно-санитарными мероприятиями, проводилось путем тщательных лабораторных исследований с использованием новых утвержденных методов исследования (ИФА, ПЦР). За год поголовье было исследовано 9 раз (таблица 1).

Таблица 1 – Результаты исследований поголовья сельскохозяйственных животных в с. Сосновка в 2008 году

Исследовано																	
1		2		3		4		5		6		7		8		9	
КРС	МР	КРС	МР	КРС	МР	КРС	МРС	КРС	МР	КРС	МР	КРС	МР	КРС	МР	КРС	МР
466	693	436	647	401	613	366	1016	317	979	343	-	277	-	388	376	-	-
Положительно реагировало																	
76	9	16	1	25	2	19	2	14	-	8	-	6	-	-	-	-	-
Процент зараженности																	
16,3	1,3	3,7	0,15	6,3	0,3	5,2	0,2	4,4	-	2,3	-	2,2	-	-	-	-	-

Как видно из таблицы 1, процент положительных результатов по результатам кратных исследований поголовья снизился с 16,3 %, 3,7%, 6,3%, 5,2%, 4,4%, 2,3% до 2,2% - в седьмой раз. При исследованиях на восьмой и девятый раз были дважды получены отрицательные результаты. Аборты среди маточного поголовья прекратились.

Все серопозитивные (в РБП, РА и РСК) на бруцеллёз животные, забивались, комиссионно отбирался биоматериал для лабораторного бактериологического исследования и исследования методом полимеразной цепной реакции с целью дифференциации бруцеллёза, хламидиоза, иерсиниоза, сальмонеллёза - возбудителей, имеющих единый О - антиген. Динамика исследований приведена в таблице 2.

Таблица 2 – Результаты сравнительных и дифференциальных лабораторных исследований поголовья крупного рогатого скота в с. Сосновка

Инвен тарн. Номер	Воз раст	Серологические методы			ИФА	ИФА диффе р.	Иерсениоз серологи чески	ПЦР	Бактериологические исследования		
		РБП	РА	РСК					бруцел.	иерс.	сальмон.
3875	4				+	+	+	+			
1204	9	+++	1:600	1:160	+	+	+	+	+		
1093	10	++	1:200	1:40	+		+	+	+		
4966	1				+	+					
4813	1				+	+					
1307	8				+		+	+			
4982	6			1:5	+	+	+	+	+		
5020	1	+++	1:100	1:10	+	+		+	+		
4850	1				+	+					
5026	1	++	1:100	1:5	+	+		+			
4867	2				+	+					
4807	1	+	1:100	1:5	+	+		+	+		
4909	1				+	+		+	+		
5024	1	+		1:5	+	+	+	+	+		
5068	1				+	+					
1131	3				+	+					
962	6	++	1:100	1:20	+	+	+	+	+		
4933	1				+	+					
4930	1				+	+					
4314	3				+	+					

Как видно из таблицы 2, при повторных серологических исследованиях 20 голов, положительно реагировавших при первичном исследовании в РБП, РА, РСК, выявили 8 положительных проб (40%). Методом ИФА из этого числа выявлено 20 (100%), ИФА дифференциальным -18 (90%). Иерсениоз серологически выявлен в 7 пробах (3,3%). Исследования методом ПЦР дали положительную реакцию у 11(52%) голов животных. Полное бактериологическое исследование позволило выделить 8 культур.

Важно отметить, что среди неблагополучного поголовья могут быть скрытые бруцеллоносители, не дающие позитивных результатов при их исследовании классическими методами. В настоящее время исследователями доказана большая вариабельность бактерии рода *Brucella*, в организме животных, измененные формы возбудителя болезни не вызывают выработки антител, улавливаемых стандартными биофабричными антигенами [4,5]. С целью выявления таких животных использовали метод ИФА. Процент выявления больных животных с использованием ИФА относительно классических методов исследования более высок. Для дифференциации полевого штамма от вакцинного использовали тест систему для ИФА DIA-*Brucella* ab.-combi-

Удифференциальный Набор Т1-12, выявленные в результате исследований штаммы отнесены к полевым.

Недостатком иммуноферментных тест систем, используемых при диагностике бруцеллеза, является невозможность дифференциации бруцеллеза и кишечного иерсиниоза, так, как оба микроорганизма имеют общие участки в антигенной структуре.

При исследованиях методом ИФА нами были выявлены случаи ложноположительных реакций. При выяснении причин случаев получения ложноположительных результатов нами было установлено, что после инкубации конъюгата, удаление содержимого лунок отсасыванием вместо стряхивания планшета, с последующей промывкой вошером, а также заполнение лунок до уровня 300 мкл вместо 200 мкл, позволяют избавиться от ошибочных результатов. При инкубации раствора ОФД в некоторых лунках наблюдалось окрашивание раствора при стекании небольших капель с боковых поверхностей. Окрашивание наблюдалось в месте контакта капель с раствором. Использование колбы ловушки с вакуум – отсосом позволило исключить эти погрешности, искажающие результаты анализа.

Кроме того, ложноположительные реакции отмечали при исследовании гемолизированной сыворотки крови и при обеззараживании спиц для обводки проб крови карболовой кислотой.

Поэтому при исследовании биоматериала от некоторых контрольно забитых животных, получены отрицательные результаты методами ПЦР и бактериологического исследования.

Заключение. Для оздоровления хозяйства от бруцеллеза наряду с комплексом противоэпизоотических мероприятий должны проводиться специальные ветеринарные мероприятия, включающие проведение диагностических исследований классическими методами и методами ИФА, ПЦР.

Литература

1 Григорьева Г. И., Сочнев В. В., Бацанов Н. П., Филиппов Н. В. Бруцеллы и бруцеллез : Микробиология, иммунология, биотехнология // Под общ.ред. В. В. Сочнева; Нижегород. гос. с.-х. акад., Н. Новгород, 1998. - 244 с.

2 Желудков М.М., Павлова И.П. Умнова Н.С.Эффективность иммуноферментного анализа при диагностике бруцеллеза у людей. /В сб.Актуальные вопросы иммунодиагностики особо опасных инфекций. Тез.докл., всесоюз.н.-практ. конф. Ставрополь.- 2006.-Ч. I.- С. 96-98.

3 Тен В.Б., Даугалиева С.Т., Алпысбаева С.Е., Мустафин Б.М. и др. Рекомендации по профилактике и ликвидации бруцеллеза крупного рогатого скота // ТОО «КазНИВИ». - Алматы, 2009. – 16с.

4 Пионтковский В.И., Мустафин М.К., Мустафин Б.М. Методическая рекомендация. Комплексная программа противоэпизоотических мероприятий при лейкозе, туберкулезе, бруцеллезе и хламидиозе КРС в племенных,

фермерских и личных подсобных хозяйствах граждан Костанайской области до 2015 года .- Костанай, 2009.- 80 с.

5 Дентовская С.В., Гаранина С.Б., Куличенко А.Н. и др. ПЦР-диагностика бруцеллеза сельхозживотных // Полимеразная цепная реакция в диагностике и контроле лечения инфекц. заболеваний: 2-ая Всерос. науч.-практ. конф. 20-22 янв. 1998 г. -М., 2008. -С.111-112.

Түйін

БРУЦЕЛЛЕЗДЕН ҚОЛАЙСЫЗ ПУНКТТЕРДЫ АУЫЛ ШАРУАШЫЛЫҚ МАЛДАРЫНЫҢ БРУЦЕЛЛЕЗИНЕН САУЫҚТЫРУ КЕЗІНДЕГІ ЗАМАНАУИ ЗЕРТХАНАЛЫҚ ӘДІСТЕРМЕН БАЛАУДЫҢ ТИІМДІЛІГІ

Мустафин Б.М., Чужебаева Г.Д., Баисеев Г.А.

«Қостанай ғылыми-зерттеу ветеринария станциясы» филиалы

Шаруашылықты бруцеллез ауруынан сауықтыру үшін індетке қарсы алдын алу шаралары, сонымен қатар арнайы ветеринарлық шаралар, сондай-ақ, дәстүрлі ИФТ және ПТР зерттеу әдістерімен балау жүргізілу туралы баяндалады.

Summary

THE EFFECTIVENESS OF MODERN METHODS OF LABORATORY DIAGNOSTICS AT RECOVERING THE UNFAVORABLE BRUCELLOSIS POINT FARM ANIMALS

Mustafyn B.M., Chuzhebaeva G.D., Baiseev B.G.

«Kostanay Research Veterinary Station» branch

This paper presents the results of comparative laboratory research with brucellosis farm animals, an analysis of the causes of false-positive and false-negative results in studies by ELISA.

ЭКОЛОГИЧЕСКИ БЕЗОПАСНЫЙ ПРЕПАРАТ, СОЗДАЮЩИЙ СПЕЦИФИЧЕСКУЮ УСТОЙЧИВОСТЬ. ПЕРСПЕКТИВЫ ЕГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

Мухаметова В.Д., к.б.н.

ТОО «Северо-Казахстанский НИИ животноводства и растениеводства»

Резюме Приводятся результаты экспериментального изучения экологически безопасного препарата КазНИВИ, создающий специфическую устойчивость. Препарат позволяет поддерживать перманентность противобруцеллезного иммунитета (напряженность до 80 % в течение 1 года), корректирует иммунный статус организма животных.

Важнейшей стратегической задачей сельскохозяйственной отрасли экономики Казахстана является обеспечение его продовольственной независимости и вхождение во Всемирную Торговую Организацию. В рамках этой организации существуют иные требования к качеству животноводческой продукции. Особенно это касается вопросов, связанных с вакцинированием животных и птиц. Последнее приобретает все большую актуальность в настоящее время, когда проблемным вопросом в стране является постепенный, начиная с 2007 года, отказ от иммунопрофилактики инфекционных заболеваний, в том числе бруцеллеза животных, и это на фоне неутешительной статистики в области, регистрирующей за последнюю трехлетку рост заболеваемости животных этим социально значимым антропоозоозом. При этом регламентированной остается лишь кольцевая иммунизация животных вокруг очага с применением живых вакцин. [1]

Вместе с отказом от иммунизации крайне необходимо усиление мер безопасности для предотвращения вспышек заболеваемости людей и животных бруцеллезом. В этих условиях перед учеными поставлена задача разработки инновационных решений. Ветеринарная наука должна дать четкие критерии постепенного, с расширением границ безиммунной зоны, отхода от иммунизации или снижения ее антигенной нагрузки на организм животных за счет разработки альтернативных экологически безопасных препаратов (ЭБП), которые, прежде всего, лишены недостатков живых вакцин и способны создавать специфическую устойчивость против заболевания.

Одним из таких средств является экологически безопасный препарат, создающий специфическую противобруцеллезную устойчивость (в старом названии - инактивированная компонентная вакцина), состоящий из клеточных стенок ультразвукового дезинтеграта бруцелл и пролонгатора.

Наличие в препарате иммуностимуляторов наделяет его высокими иммунокорректирующими свойствами, что является немаловажным аспектом в проблеме нынешних иммунодефицитов животных, вызванных антигенной нагрузкой применяемых живых вакцин [2,3].

В связи с вышесказанным нами решено было провести работу по апробированию следующих компонентов:

- Клеточные стенки штамм *B. melitensis* Rev-1;
- Клеточные стенки штамма *B. melitensis* Rev-1 + пролангатор;
- Клеточные стенки штамма *B. melitensis* Rev-1 + пролангатор+ стимулятор;

Для испытания было подобрано по принципу аналогов 25 морских свинок, которым вводили:

Первой группе – клеточные стенки выделенные из *B. melitensis* Rev-1 мл;

Второй – клеточные стенки -80%, 20% пролонгатора в объеме одной дозы;

Третьей – клеточные стенки -30% + 20% прологатора + 50% стимулятора (раствор имидазола);

Четвертой полная доза живой вакцины из штамма *B. melitensis* Rev-1;

Пятая – контроль. Результаты проведенной работы представлены в таблице 1.

Таблица 1 - Показатель иммунитета у морских свинок, которым вводили различные компоненты убитой вакцины

№	Группы	Количество				
		Животных	Иssl орг.	Выдел.культур	Противостояло	Иммунитет
1	1	5	45	8	2	40
2	2	5	45	6	3	60
3	3	5	45	2	4	80
4	4	5	45	1	4	80
5	5	5	45	2	-	-

Иммунитет находится в прямой зависимости от дозы протективного антигена.

Поэтому мы использовали одинаковые дозы живой и убитой вакцины (клеточные стенки), при этом разница иммунитета составляла 40%, а при добавлении пролонгатора и иммуномодулятора, она равнялась соответственна группам 60 %, 80%., т.е. приравнивалась по автивности к живой вакцине.

Многие вопросы, задачи и проблемы отказа от вакцинопрофилактики бруцеллеза разрешимы при использовании экологически безопасного препарата. Отойдут на второй план проблемы, касающиеся носительства

возбудителя, миграции микроорганизмов на восприимчивых животных и человека, реверсии вакцинного штамма в патогенную, вирулентную форму.

Вместе с тем гораздо упрощается дифференциальная диагностика, т.к. в состав ЭБП входит определенный тип биополимеров. Сроки исследования переболевших животных или имеющих серологические реакции от живой вакцины, значительно сокращаются за счет отсутствия высоких титров реакций. Например, у привитых телят 3-6-месячного возраста и телок перед осеменением проводить дифференциальную диагностику можно через 1 месяц; у коров, ранее не вакцинированных никакими вакцинами – через 2 месяца; у коров, вакцинированных ранее штаммом Br. abortus 82 – через 3 месяца. В неблагополучных хозяйствах такое сокращение сроков поствакцинальных исследований способствует укреплению оздоровления поголовья, отмене карантинных мероприятий, а в благополучных – сокращению неконтролируемого периода после реиммунизации.

Введение в иммуногенный комплекс иммуномодуляторов исправляет иммунодефицитные состояния, позволяет обходить состояние толерантности, повышает общую резистентность организма, вызывая иммунный тренинг всей системы иммунитета. Варьируя составом иммуногена, дозой введения, способом и сроками применения, можно производить избирательную активацию отдельных звеньев иммунной системы.

Подтверждено, что экологически безопасный препарат, создающий специфическую устойчивость, имеет большую перспективу применения в сложившихся условиях, так как полностью соответствует требованиям ветеринарной практики. Позволяет поддерживать перманентность противобруцеллезного иммунитета (напряженность до 80 % в течение 1, 2 лет), корректирует иммунный статус организма животных, не препятствует ранней дифференциальной диагностике бруцеллеза, патогенно не влияет на органы и системы организма животных и выводится из организма спустя месяц после инъектирования, не контаминируя окружающую среду.

Применение экологически безопасного препарата в целом значительно улучшит эпизоотолого - эпидемиологическую обстановку на севере Казахстана и как следствие, станет реальным насыщение отечественного рынка высококачественной мясной и молочной продукцией с выходом на экспорт и получением экологически чистого сырья для промышленности.

Литература

1. В.С.Бронников Т.Г.Попова Новицкий А.А. Результаты испытания экологически безопасной вакцины НАК – 1 против бруцеллеза КРС // Актуальные проблемы бруцеллеза и туберкулеза животных: Сб. Науч. Тр. ВНИИБТЖ/ ВАСХН Сиботделение. – Омск, 2000. - С. 276-280.

2. Косилов И.А., Аракелян П.К., Димов С.К., Хлыстунов А.Г. Бруцеллез сельскохозяйственных животных. – Новосибирск, 1999. - 244 с.

3. Тен В.Б. Протективные антигены и антибиотики пролонгированного действия. Автореф.....дисс. канд. вет. наук. - Казань, 1988. - 24с.

Түйін

ӨЗІНЕ ТӘН ТҰРАҚТЫЛЫҚТЫ ҚАМТАМАСЫЗ ЕТЕТІН ЭКОЛОГИЯЛЫҚ ТҰРҒЫДАН ҚАУІПСІЗ ПРЕПАРАТ. ОНЫ ҚОЛДАНУДЫҢ ТИІМДІЛІГІ

Мухаметова В.Д.

«Солтүстік Қазақстан малшаруашылығы және өсімдік ҒЗИ» ЖШС

Мақалада ҚазҒЗВИ - де жасалған спецификалық төзімділік қалыптастыруға қабілетті, экологиялық тұрғыдан қауіпсіз препаратты зертхана жағдайында тексеру нәтижелері айтылады. Препарат кернеуі 80% , ұзақтығы 1 жылға жететін иммунитет қалыптастыра алады, әрі ағзадағы иммунитетті түзеуге жәрдемдеседі.

Summary

ECOLOGICAL SAFE PREPARATION, WHICH CREATES SPECIFIC RESISTANCE, PERSPECTIVES OF ITS USE

Muhametova V.D.

LLP «North Kazakhstan scientific research veterinary institute of livestock and crop»

The article gives results of the experimental study environmentally safe preparation of KazSRVI, creating specific resistance. The drug allows to maintain the permanence of immunity antibrucellar (intensity up to 80% within 1 year), corrects the immune status of the animal organism.

РЕЖИМЫ ДЕЗИНФЕКЦИИ ОБЪЕКТОВ ЖИВОТНОВОДСТВА ПРИ БРУЦЕЛЛЕЗЕ ЖИВОТНЫХ

Омарбекова У.Ж., Бакиева Ф.А.

Казахский национальный аграрный университет

Резюме Бактерицидная активность аэрозолей дезинфицирующих препаратов находится в зависимости от плотности микроорганизмов. Новый высокоэффективный препарат «Глюдез» предложен для аэрозольной дезинфекции объектов животноводства при бруцеллезе животных.

Широкая распространенность бруцеллеза среди различных видов сельскохозяйственных животных, экономический ущерб, наносимый животноводству, который включает снижение роста поголовья, количества и качества продуктов животноводства, а также опасность в заражении людей, выдвигает проблему борьбы с бруцеллезом как одну из первоочередных задач для ветеринарной и медицинской науки [1].

В настоящее время борьба с бруцеллезом животных направлена на изыскание эффективных средств диагностики, специфической профилактики и терапии данного заболевания, в том числе четкое и своевременное выполнение комплекса санитарно-дезинфекционных мероприятий на ветеринарных объектах [2,3]. Неотъемлемой частью комплексных мероприятий проводимых как в неблагополучных, так и в благополучных пунктах по инфекционным заболеваниям является дезинфекция. Дезинфекции являются актуальными на предприятиях как неблагополучных, так и благополучных по большинству инфекционных заболеваний. Это объясняется тем, что длительная эксплуатация животноводческих помещений приводит к накоплению микрофлоры, как условно патогенной, так и патогенной [4,5].

Однако, несмотря на имеющиеся достижения в области ветеринарной науки, проблема ликвидации бруцеллезной инфекции остается окончательно не решенной.

Из вышеизложенного возникает необходимость в разработке отечественных дезинфицирующих препаратов для объектов ветеринарного надзора, которые позволяют надежно обезвреживать возбудителей внешней среды и получать продукты животного происхождения высокого санитарного качества. В последнее время активизируется процесс создания новых эффективных дезинфицирующих средств и технологий их применения [5, 6].

На основании экспериментальных исследований предложен новый препарат - «Глюдез». В предыдущих исследованиях установлены

бактерицидные, спорицидные и фунгицидные эффекты препарата, а также низкая коррозионная активность. Разработаны режимы дезинфекции и определена концентрация, норма расхода и время экспозиции препарата для дезинфекции помещений в отсутствие животных аэрозольным способом.

Исследования проводили на базе НПП «Антиген». Исследования по отработке дезинфицирующего препарата «Глюдез» в форме аэрозолей поверхностей помещений, контаминированных тест-микроорганизмами *V. abortus* 19 и *V. abortus* 54 проведены нами в условиях герметизированных камер объемом 7 и 30 м³. Тест-объектами служили деревянные, металлические, кирпичные и бетонные поверхности, размером 10x10 см, которые контаминировали 2 млрд взвесью с содержанием 95-98 % микробных тел из расчета 1 мл на 100 см². Предварительно микроорганизмы смешивали с инактивированной сывороткой крупного рогатого скота или с стерильным навозом (0,3 г/см²); равномерно наносили взвесь на указанные поверхности; подсушили в течение 2-3 часов при комнатной температуре. Затем их размещали в камере в разных позициях (на полу в центре камеры и по углам, на стенах - внизу и на высоте 50-200 см, на потолке - вниз контаминированной поверхностью, а также в укромных местах, защищенных от прямого потока аэрозоля и вводили аэрозоль испытуемого дезинфицирующего средства.

Аэрозоли растворов получали с помощью генератора САГ-1 при 4 атм. Дисперсность аэрозоля характеризовали массовым медианным диаметром, который рассчитывали по известному методу. При этом (d_m) частиц аэрозоля из разных препаратов равнялся 6-8 мкм. В период опытов учитывали температуру и относительную влажность воздуха герметизированных камер.

После окончания обеззараживания с тест-объектов брали пробы стерильными ватными тампонами, смоченными стерильной водой. Тампоны опускали в пробирку с соответствующим нейтрализатором, через 10 мин вынимали их, затем помещали тампоны в пробирку со стерильным физиологическим раствором и тщательно отжимали; взвесь промывали центрифугированием (двукратно по 30 минут при 2500 об/мин). Осадок после второго центрифугирования разбавляли 5 мл стерильного физиологического раствора и высевали на 3-5 ряда чашек Петри с 2% МПА и в пробирки с МПА. Питательные среды помещали в термостат при температуре 37°C. Просмотр чашек проводили в течение 48 часов - 7 суток, пробирки с МПБ - 14 суток.

Контрольные тест-объекты обрабатывали аэрозолем стерильной воды при прочих аналогичных условиях; с контрольных тест-объектов делали высевы так же, как и с опытных. Были испытаны свойства аэрозолей высокоэффективного препарата «Глюдез».

Результаты исследований. При исследовании эффективности аэрозолей 8 %-ного раствора «Глюдез» при расходе 45, 50, 65 мл/м³ с последующей экспозицией 18-36 часов; при степени контаминации 20 млн м. т. на 1 см², обеззараживание не достигнуто; при наименьшей степени плотности

наблюдалось снижение по сравнению с контролем количества жизнеспособных микробных тел исходной тест-культуры. При этом установлено, что эффективность аэрозолей находится в прямой зависимости от факторов внешней среды; наиболее важным, от которого зависит результат дезинфекции, является температура воздуха обрабатываемых поверхностей и от концентрации плотности микроорганизмов. Учитывая результаты предыдущих исследований мы решили выяснить роль плотности контаминирования различных поверхностей микроорганизмами *B. abortus* 19 и 54. Были взяты для испытания следующие плотности: 5, 10 и 20 млн м. т. на 1 см².

В таблице 1 приведены результаты опытов по оценке дезинфекционной активности 8 %-ного раствора глюдез (концентрация раствора по ДВ) в зависимости от плотности обсеменения поверхности. При этом было установлено, что поверхности контаминированные микробными клетками *Brucella abortus* 19 и 54, из расчета 5 млн м.т. на см² обеззараживаются при расходе 45 мл/м³ за 18 часов, а при плотности 10-20 млн м.т. на см² обеззараживание не достигается, только уменьшается количество микробных тел. При расходе препарата 50мл/м³ обеззараживание различных поверхностей, контаминированных из расчета 10млн м.т. /см², достигается за 24 часа; при этом надежное обеззараживание различных поверхностей объектов, контаминированных из расчета 20млн м.т /см² достигается при расходе препарата 65мл/м³ через 36 часов.

Таблица 1 - Дезинфекционная активность аэрозолей 8 % -ного раствора «Глюдеза» по отношению *Brucella abortus* в зависимости от плотности контаминации

Расход раствора мл/м ³	Воздух		Плотность обсеменения поверхностей млн м.к/см ²	Результаты обеззараживания тест - объектов после экспозиции, ч		
	Тем-ра °С	Отн. вл., %		18	24	36
45	14-17	71-89	5	-	-	-
			10	±	-	-
			20	±	±	±
50	17-23	76-85	10	-	-	-
			20	±	±	-
65	17-20	71-98	10	-	-	-
			20	-	±	-

Результаты опытов показывают, что обеззараживание поверхностей, контаминированных микроорганизмами *B. abortus*, аэрозолями дезсредств достигается лишь при значительном расходе препаратов. Объясняется это, вероятно тем, что при обеззараживании поверхностей дезинфицирующие

препараты в значительной части связываются с органическими веществами, которые приводят их к нейтрализации.

Таблица 2 - Дезинфекционная активность аэрозолей 12 % раствора «Глюдез» по отношению *Brucella abortus* в зависимости от плотности контаминации

Расход раствора мл/м ³	Воздух		Плотность обсеменения поверхностей млн м.к./см ²	Результаты обеззараживания тест-объектов после экспозиции, ч	
	Тем-ра °С	Отн. вл., %		18	24
50	14-18	58-72	10	-	-
			20	±	-
60	18-21	66-84	20	-	-

Как видно из данных таблицы 2, обеззараживание поверхностей аэрозолями препарата («Глюдез») зависит от плотности обсеменения их микроорганизмами бруцелл. Так, при контаминации поверхностей тест-объектов их расчета 10 млн м.т. на см² надежное обеззараживание наступает при применении аэрозолей 12 % - ного раствора за 18 часов при расходе 50 мл/м³, температура воздуха камер 14 - 18° и относительной влажности 58 - 72%, а при плотности 20 млн м.т. на см² обеззараживание достигнуто через 24 часа - на 98,7 - 99,9%. Возможно, после оседания капель обеззараживание происходило за счет действия уже не аэрозолей, а в их отложении на поверхностях и паров активнодействующих веществ. При плотности 20 млн м.т. на см² полное обеззараживание поверхностей достигается аэрозолями 12 %-ного раствора «Глюдез» при расходе 60 мл/см³ через 18 часов при температуре 18-21° и относительной влажности 66 - 84%.

Выводы 1. Надежное обеззараживание поверхностей, контаминированных *Brucella abortus* при плотности контаминации до 10 млн спор/ см² достигается аэрозолями 8 % -ного раствора «Глюдеза» при расходе 50 мл/м³ за 24 часа.

2. Полное обеззараживание поверхностей, контаминированных спорами *B. abortus* при плотности контаминации до 20 млн спор/ см² достигается аэрозолями 12 % -ного раствора «Глюдеза», при расходе 50 мл/м³ за 24 часа, а при расходе 60мл/м³ - 18 часов.

Литература

1. Иванов Н.П. Бруцеллез животных и меры борьбы с ним// Алматы , - 2007. – 617 с.

2. А.А. Закомырдин. Научные достижения и перспективы применения аэрозолей в промышленном животноводстве.- Тр. ВНИИВС, 1981, т.70, с.82-90.

3. Д. Б. Полутов, М. А. Улизко Современный подход к выбору дезинфицирующих средств для объектов ветеринарного надзора. Москва. 2007

4. Омарбекова У.Ж. Препараты для неспецифической профилактики заразных болезней./Фундаментальные и прикладные проблемы науки. Материалы VIII Международного симпозиума. 2013, Том 5, Москва.

5. Сидоркин В.А.,Полутов Д. Б., Клищенко О. А., и дрНовый дезинфектант для объектов ветеринарного надзора – Москва, 2008.

Түйін

МАЛ БРУЦЕЛЛЕЗІНДЕ МАЛШАРУАШЫЛЫҒЫ НЫСАНДАРЫН ДЕЗИНФЕКЦИЯЛАУ РЕЖИМДЕРІ

Омарбекова У.Ж., Бакиева Ф.А.

Қазақ ұлттық аграрлық университеті

Мақалада дезинфекциялық препараттар аэрозолинің бактерицидтік белсенділігі микроорганизмдердің тығыздығына байланысты екендігі дәлелденіп, жаңа «Глюдез» тиімді препаратын малшаруашылығы нысандарын бруцеллезге қарсы дезинфекциялағанда қолдануды ұсынылады.

Summary

MODES OF SANITIZING FOR OBJECTS OF LIVESTOCK IN CASE OF ANIMAL BRUCELLOSIS

Omarbekova U.J., Bakiyeva F.A.

Kazakh National Agrarian University

Bactericidal activity of aerosol disinfectants is dependent on the density of microorganisms. A new highly effective drug «Glyudez» proposed for aerosol disinfection facilities livestock brucellosis in animals.

ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА БРУЦЕЛЛЕЗА ЛЮДЕЙ В КАЗАХСТАНЕ

Омашева Г.М., Мырзабекова А.А.

РГКП «Научно-практический центр санитарно-эпидемиологической
экспертизы и мониторинга» КГСЭН МЗ РК

Резюме В статье приводятся результаты исследований по определению уровня заболеваемости людей бруцеллезом в Республике Казахстан и по идентификации выделяемых культур бруцелл.

Бруцеллёз - зоонозное инфекционно-аллергическое заболевание, склонное к хронизации, протекающее с преимущественным поражением опорно-двигательного аппарата, сердечнососудистой и центрально нервной системы.

По международной классификации род *Brucella* состоит из 6 самостоятельных видов, которые подразделяют на ряд биоваров. Бруцеллы отличаются выраженным полиморфизмом: в одном препарате наблюдают кокки и удлинённые палочки. *B. melitensis* чаще представлены кокковидными формами, *B. abortus* и *B. suis* - палочками с закруглёнными концами.

Наиболее часто поражения у человека вызывает *B. melitensis*, представленная 3 биоварами (основные хозяева - овцы и козы). Несколько реже - *B. abortus*, представленная 9 биоварами (основной хозяин - крупный рогатый скот), и *B. suis*, представленная 4 биоварами (основные хозяева - свиньи, зайцы, северные олени). В редких случаях поражения у человека вызывает *B. canis* (основной хозяин - собаки).

Определение видов и биоваров бруцелл на конкретных территориях и в очагах инфекции имеет важное эпидемиологическое и эпизоотологическое значение с точки зрения классификации очагов, оценки степени напряжённости эпидемического и эпизоотологического процессов, установления фактов миграции бруцелл с одного вида животных на другой, выявления путей распространения возбудителя, выбора тактики лечения и др.

В Казахстане основным источником и резервуаром инфекции являются - овцы, козы, крупный рогатый скот и свиньи. Наиболее часто человек заражается бруцеллёзом от мелкого скота, возбудитель которого (*B. melitensis*) вызывает большинство тяжёлых форм заболевания. Довольно часто человек заражается *B. abortus* от крупного рогатого скота, однако в этих случаях - клинически выраженную инфекцию регистрируют в единичных случаях. Болезнь протекает в легкой форме и человек не опасен для окружающих. Однако, в последние годы в связи с миграцией патогенного

вида бруцелл (*B. melitensis*) с мелко рогатого скота на крупный рогатый скот заболеваемость у людей протекает в тяжелой форме.

Чаще всего заражение происходит алиментарным путем при употреблении сырых молочных продуктов (молоко, брынза, сыр, кумыс), при недостаточной термической обработке мяса (строганина, шашлык с кровью, сырой фарш). Человек может заразиться не только через употребление пищи и непосредственный контакт с больным животным, но и через контакт с кожей и шерстью на кожевенном производстве. Бактерии настолько устойчивы к воздействиям внешней среды, что они без труда сохраняют жизнеспособность в почве и в воде до пяти месяцев. В течение полугода бактерии сохраняют свою активность в замороженном мясе, в масле, сметане, сливках. Коровье молоко остается заразным более месяца после дойки, если корова была заражена бруцеллой. Бруцеллы обладают высокой инвазивностью и могут проникать через неповреждённые слизистые покровы. Их относят к внутриклеточным паразитам, но они могут также находиться вне клетки.

Ранее бруцеллез встречался только в сельской местности среди людей, имеющих непосредственный контакт со свиньями, овцами, козами, коровами, лошадьми. Но в последние годы часто бруцеллез встречается и среди городских жителей, что подтверждается исследованиями в референс-лаборатории особо опасных и вновь возникающих инфекций НПЦСЭМ. Возраст заболевших различен, болеют и дети, начиная с 2-х, 3-х лет и часто родители не знают, где и как произошло заражение.

В Республике Казахстан на бруцеллез ежегодно обследуются лица больные или с клиническими проявлениями, не исключаящими бруцеллеза, лица, которые были в контакте с больными и лица с профилактической целью.

В 2013 году при обследовании больных и лиц с подозрением на бруцеллез было выделено 1109 изолятов, высеваемость составила 23%, удельный вес положительных проб составил 21,6%, при обследовании серологическим методом и методом ПЦР было выявлено 15% больных среди обследуемых лиц. При обследовании контактных лиц с больными высеваемость составила 9,1%, серологически подтверждено 7,8%, при обследовании людей с профилактической целью высеваемость составила 1,9%, серологическое подтверждение - 8%.

Наиболее эндемичными регионами в Казахстане по бруцеллезу являются Южно-Казахстанская область, где было выделено 416 культур бруцелл (37,4%), Жамбылская область – 328 культур (24,3%), Алматинская область – 144 культур (19,5%), Восточно-Казахстанская область – 99 (20,8%), Кызылординская область – 43 культур (23,8%).

Серологическим методом по республике было исследовано 7161 проб из внешней среды, антигены выявлены в 405 пробах или 5,6%. Инфицированность выявлена помёта в 25,5%, почвы – 3,8%, подстилки –

8,1%, молока – 6,4%, шерсти и шкур – 2,5%, кормов – 1,7%, мяса – 3,7%, воды водоемов – 1,4%.

Инфицированность объектов внешней среды подтверждается и методом полимеразной цепной реакции (ПЦР).

В лабораторию ООИ НПЦСЭЭМ в 2013 году поступило 696 культур бруцелл, из них идентифицировано 693 или 99,6%. Не подтверждены 3 культуры. Идентифицированы до определения биовара 682 культуры. Все выделенные культуры отнесены к *Brucella melitensis*: к I биовару – 108 (7,5%), ко II биовару – 3 (1,2%), к III биовару – 571 (91,3%). Диссоциированных культур (R-формы) – 11. Таким образом, на территории Республики Казахстан преобладает *Brucella melitensis* биовар III.

Выводы Ежегодно лабораториями особо опасных инфекций Центров санэпидэкспертизы выделяется патогенный вид культур бруцелл для человека (*B. melitensis*). Заболеваемость людей патогенным видом бруцеллеза протекает остро, и не исключаются последствия, которые приводят к инвалидности. Лабораторное подтверждение инфицированности объектов внешней среды бруцеллезом подтверждает высокую концентрацию и циркуляцию возбудителя.

Референс-лабораторией особо опасных и вновь возникающих инфекций НПЦСЭЭМ обеспечивается идентификация и видовое типирование выделяемых культур бруцелл, что позволяет классифицировать территории по степени риска инфицирования людей и скота.

Түйін

ҚАЗАҚСТАНДА АДАМ БРУЦЕЛЛЕЗІН ЗЕРТХАНАЛЫҚ БАЛАУ

Омашева Г.М., Мырзабекова А.А.

«Санитарлық – эпидемиологиялық сараптау мен мониторинг ғылыми – тәжірибелік Орталығы» ҚР ДСМ РМҚК

Мақалада Қазақстан Республикасындағы адамдардың бруцеллезбен ауру денгейі және бөлініп алынған бруцелла өсіндерін идентификациялау нәтижелері туралы сөз болады.

Summary

LABORATORY DIAGNOSIS OF PEOPLE'S BRUCELLOSIS IN KAZAKHSTAN

Omasheva G.M., Myrzabekova A.A.

«Scientific - Practical Center of Sanitary - Epidemiological assessments and monitoring»

Article covers the results of studies to determine the incidence of brucellosis in humans in the Republic of Kazakhstan and the identification of allocated *Brucella* cultures.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ АНТИГЕННОГО ЭРИТРОЦИТАРНОГО ДИАГНОСТИКУМА ДЛЯ СЕРОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ БРУЦЕЛЛЕЗА ЖИВОТНЫХ В РНГА

Оспанов Е.К., к.в.н., Мырзалиев А.Ж., к.в.н., Түсіпқанұлы О., Мәтіхан Н.

ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт»

Резюме В статье приведены способы приготовления высокочувствительного специфического эритроцитарного антигенного диагностикума для серологической диагностики бруцеллеза животных в РНГА.

Экспресс - диагностика болезней животных на основе использования современных высокоэффективных тестов все шире входит в повседневную практическую работу диагностических лабораторий, вытесняя устаревшие громоздкие и трудоемкие методы. Одним из перспективных диагностических тестов является реакция непрямой гемагглютинации (Indirect hemagglutination test) с антигенными диагностикумами. Эта реакция проста по технике постановки и позволяет значительно быстрее выявлять антитела по сравнению с традиционно используемыми реакциями. Сущность указанной реакции заключается в том, что эритроциты животных после адсорбции на их поверхности антигенов различной природы, приобретают новую серологическую специфичность, вследствие чего могут агглютинироваться в присутствии специфических антител. Эта реакция испытана при диагностике ряда бактериальных и вирусных инфекций, в том числе и при бруцеллезе. При этом многие исследователи отмечают ее высокую чувствительность и специфичность [1, 2, 3].

Однако предлагаемые рядом исследователей способы конструирования эритроцитарных диагностикумов и методики постановки РНГА с использованием полученных диагностических препаратов всё еще находятся в рамках лабораторных испытаний, что связано с трудностью получения стабильных высокоактивных антигенных диагностикумов.

В связи с этим возникает необходимость проведения дополнительных изысканий с целью определения наиболее оптимальных параметров их изготовления и включения РНГА в состав серологических тестов, используемых для выявления больных бруцеллезом животных.

Исходя из актуальности существующей проблемы целью наших исследований явилось приготовление антигенного эритроцитарного диагностикума для выявления больных бруцеллезом животных в РНГА в кратчайшие сроки.

Для приготовления эритроцитарных диагностикумов использовали эритроциты барана, которые формализировали по методу Вайнбаха в

модификации Меньшова и Шмутера [4]. Далее формализированные эритроциты обрабатывали танином и сенсibilизировали бруцеллезным антигеном.

Равные объемы раствора танина (1:20000) и 3 % взвеси формализированных эритроцитов(1:1) нагревали в термостате при 37°C, затем тщательно смешивали и выдерживали при этой же температуре 15 минут. После этого обработанные танином эритроциты 3-4 кратно отмывали от избытка танина в шестикратном объеме ФБР (рН 7,2) с помощью центрифугирования при 2000 об/минуту в течение 10 минут. Отмытые от танина эритроциты ресуспендировали до первоначального объема таким же раствором с добавлением 0,4% нормальной лошадиной сыворотки.

Затем формализированные и танизированные эритроциты сенсibilизировали антигеном, которым служил ультразвуковой лизат бруцелл из штамма *B. abortus* 100 (В-0117), полученный путем воздействия ультразвука (УЗДН-2) низкой частоты (22 Гц) и высокой интенсивности (50-100 Вт/см).

Сенсibilизация формализированных танизированных эритроцитов барана проводили разными разведениями антигена. Предварительно готовили последовательные разведения антигена на физиологическом растворе с рН=6,2-6,4 начиная с 1:5 и далее 1:10; 1:20; 1:40; 1:80 до 1:1280, которые были насажены на формализированные танизированные эритроциты. Оптимальным титром антигена считали предельное его разведение, которое обеспечивало агглютинацию сенсibilизированных эритроцитов положительной сывороткой в максимальном разведении. Для сенсibilизации эритроцитов использовали оттитрованный антиген из расчета 4 антигенных единиц на 1,0 см³ 3 % -ной взвеси эритроцитов. С этой целью брали антиген в двойном титре. Допустим, что при титрации получен титр антигена 1:100, для сенсibilизации эритроцитов берут разведение антигена 1:50, то есть в два раза больше и смешивают с эритроцитарной взвесью в соотношении 2:1 (то есть два объема антигена и один объем взвеси эритроцитов).

Приготовленным антигеном сенсibilизацию формализированных танизированных эритроцитов проводили путем их смешивания, тщательного встряхивания и выдерживания поэтапно в водяной бане при температуре 70 °С в течение 10 минут, 25 °С - 2 часа и 4° - 16 часов. За 15 минут до окончания сенсibilизации добавили 0,5% продажного формалина.

По истечении времени сенсibilизации эритроциты трижды отмывали физиологическим раствором рН=7,0 содержащим нормальную лошадиную сыворотку 1:250 от излишек антигена при 3000 об/мин по 15 минут. После консервировали бруцеллезный эритроцитарный антигенный диагностикум 0,1 % раствором азида натрия.

Заключение Таким образом, нами изготовлен высокочувствительный эритроцитарный антигенный диагностикум, дающий реакцию с

бруцеллезной сывороткой до титра в РНГА не ниже чем 1:6400 – 1:12800, то есть на 2-3 разведения выше, чем титр РА.

Литература

1. Садыков С.Ж. Диагностическая эффективность РНГА, РНАТ при бруцеллезе. – Ветеринария, 1975.- № 9.- 89 с.
2. Хаиров С.Г. Изыскание специфического и высокоактивного эритроцитарного диагностикума и его испытание в РНГА при бруцеллезе сельскохозяйственных животных: автореф... канд.вет.наук. - Ставрополь.- 1980.-22с.
3. Жебрунь А.Б. Реакция непрямой агглютинации.- Л.-1981.-Т.56.-С.92-98.
4. Барамова Ш.А. Эритроцитарные антительные диагностикумы для индикации и форм бруцелл: автореф ... канд. вет наук.- Алматы.- 1989.- 135 с.

Түйін

ТІКЕЛІЙ ЕМЕС ГЕМАГГЛЮТИНАЦИЯ РЕАКЦИЯСЫНДА МАЛ БРУЦЕЛЛЕЗІН СЕРОЛОГИЯЛЫҚ БАЛАУ ҮШІН АНТИГЕНДІ ЭРИТРОЦИТАРЛЫҚ БРУЦЕЛЛЕЗДІК ДИАГНОСТИКУМДЫ ӘЗІРЛЕУ ТӘСІЛІ

Оспанов Е.К. Мырзалиев А.Ж. Түсіпқанұлы О., Мәтіхан Н.
«Қазақ ғылыми – зерттеу ветеринария институты» ЖШС

Мақалада жануарлар бруцеллезін серологиялық балау үшін ТЕГАР-да қолданылатын жоғары сезімтал эритроцитарлық антигенге тән диагностикум дайындау әдістемесі келтірілген.

Summary

PREPARATION WAYS OF ANTIGENE ERYTHROCYTIC DIAGNOSTICUM INTENDED FOR SEROLOGICAL DIAGNOSTICUM OF BRUCELLOSIS OF ANIMALS IN IRIH

Ospanov E., cand.of veter. sciences, Myrzaliyev A., cand.of veter. sciences,
Tussipkanuly O., Matikhan N.
«Kazakh scientific research veterinary institute» LLP

The article presents preparation ways of high-sensitive specific erythrocytic antigen diagnosticum, intended for serological diagnostics of a brucellosis of animals in IHAT (Indirect hemagglutination test) are resulted.

ИММУНОМОНИТОРИНГ ПРИ БРУЦЕЛЛЕЗЕ

Плотникова Э.М., Иванов А.В., Панкова Е.В.

ФГБУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности», г. Казань

Резюме В статье приводятся данные, что иммуноферментный анализ с использованием разработанных авторами иммуноферментных конъюгатов позволял обнаруживать антиген бруцелл в патологическом материале, полученном как от экспериментально, так и спонтанно зараженных лабораторных и сельскохозяйственных животных.

Существующая система мониторинга при бруцеллезе предполагает контроль за появлением и развитием бруцеллезной инфекции с использованием серологических (РА, РСК, РНГА, РИД с о - ПС антигеном, РБП) и бактериологических методов исследований, выявления больных животных и удалением их из стада. Однако методы и средства для осуществления иммунологического контроля за динамикой появления и развития эпизоотического процесса еще не совершенны.

С учетом изложенного нами были проведены настоящие исследования, целью которых являлась разработка схемы иммуномониторинга при бруцеллезе.

В работе использовали 9 штаммов бруцелл, в том числе 3 вирулентных (*B.abortus* 54, *B.suis* 1330, *B.melitensis* 102-Н), 5 вакцинных (*B.abortus* 19, 82, 99, R-1096, 82-Пч) и 4 гетерологичные культуры (*Iersinia enterocolitica* O-9, *Salmonella* Dublin, *Chlamydiales*, *Francisella tularensis*), полученные из музея штаммов ВГНКИ и музея лаборатории ВНИВИ.

Полученные иммуноферментные конъюгаты на основе моно - и поликлональных антител в дальнейших опытах использовали в качестве основных иммунологических компонентов в ИФА – тест-системе для проведения иммуномониторинга бруцеллеза путем выявления поствакцинальных и постинфекционных антител у иммунизированных и зараженных возбудителем инфекции лабораторных и с.-х. животных, а также индикации возбудителя в биологическом материале и объектах ветеринарного надзора.

Эффективность использования предлагаемой тест-системы для проведения иммуномониторинга при изучаемой инфекции проверяли в производственных условиях на крупном и мелком рогатом скоте в неблагополучных по бруцеллезу хозяйствах.

Результаты изучения активности и специфичности нативных и лиофилизированных вариантов конъюгатов в динамике показали, что они

проявляли различную серологическую активность в зависимости от срока хранения.

Полученные серии ИФА-конъюгатов в дальнейшем, с целью выявления поствакцинальных антител, были апробированы на сельскохозяйственных животных. Опыты проводили на 95 кроликах и 150 морских свинок, которых иммунизировали вакциной из шт. *V.abortus* 82. После иммунизации через 7, 14, 21, 30, 60, 90, 120 сутки брали пробы крови и определяли содержание противобруцеллезных антител с использованием общепринятых (РА, РСК) и разрабатываемой (ИФА) тест- систем. В качестве специфических антигенов в указанных реакциях использовали единый бруцеллезный антиген (ЕБА) и антиген из гамма - облученных бруцелл (ГОАГ).

Результаты опытов показали, что иммунизация животных вакциной из шт.82 сопровождалась синтезом противобруцеллезных антител, содержание которых определяли всеми испытываемыми тест- системами (РА, РСК и ИФА). Установлено, что динамика накопления их в сыворотке крови зависела как от используемой тест- системы, так и вида антигена. Так, максимальные титры, ($4 \log_2$) в РСК с единым бруцеллезным антигеном обнаружены на 14-е сутки в ИФА ($13,3 \log_2$) -на 21-е сутки опыта. Результаты параллельного определения содержания противобруцеллезных антител в указанных сыворотках с использованием радиоантигена показали, что титры антител в РА при этом превышали таковые с ЕБА в 1,14 раза ($10,2 \log$), а титры ИФА- 1,13 раза ($14,0 \log_2$ против $13,5 \log_2$ ЕБА).

Таким образом, при использовании обеих тест - систем (РА и ИФА) из испытанных антигенов наиболее высокую серологическую активность проявлял антиген из гамма - облученных бруцелл (ГОАГ), антитела диагностические против IgG, быка и кролика меченные пирофосфатазой.

Опыты проводили на 12 телятах и 21 овцематке, которые были подкожно однократно иммунизированы вакциной из шт.*V.abortus* 82, а через 120 суток после иммунизации телята были заражены культурой вирулентного штамма *V. abortus* 54, а овцы - культурой штамма *V.melitensis*-102-Н в дозе 75 тыс.м.к., равной 5-кратной МИД.

Результаты определения противобруцеллезных антител в сыворотке крови животных в динамике с использованием традиционных (РА, РСК) и разрабатываемой (ИФА) тест-системы показали, что максимальное накопление антител у привитых животных в РСК и ИФА наступало на 21-сутки после иммунизации, составляя $4,5 \log_2$ и $13,2 \log_2$, соответственно. В отличие от первых, при использовании РА- теста максимум накопления антител обнаружено на 17-е сутки, когда титр их составил $9,8 \log_2$. Следовательно, чувствительность ИФА по сравнению с РСК была в 2,94 раза, а с РА-1,42 раза выше. Аналогичная же закономерность наблюдалась при проведении серологического анализа сывороток крови в РА, РСК и ИФА с использованием гамма - антигена из *V. abortus* шт.19. При этом обнаружено, что максимальные титры антител в РСК обнаружены на 60-е сутки ($5,0 \log_2$

против $4,3 \log_2$ при применении ЕБА), в РА - на 23-е ($10,5 \log_2$ против $9,8 \log_2$ ЕБА) и 28-е сутки ($14,0 \log_2$ против $13,2$ с ЕБА) после иммунизации.

Сопоставительный анализ результатов сравниваемых тест- систем показал, что между ними существует определенная корреляционная связь. Коэффициент корреляции (r) для тест- систем ИФА-РА равен $0,90$ ($p < 0,01$), для ИФА-РСК- $0,87$ ($p < 0,05$) при использовании в качестве антигена ЕБА. При использовании в тест- системах гамма - антигена (ГОАГ) коэффициент корреляции для ИФА-РА составлял $0,92$ ($p < 0,01$), а для ИФА-РСК- $0,3$ ($p > 0,05$).

Результаты определения постинфекционных антител у экспериментально зараженных КРС и МРС вирулентным штаммом в динамике с использованием вышеуказанных тест- систем и антигенов показали, что на 14-е сутки после заражения у вакцинированных животных в ИФА были получены отрицательные результаты, а через 30 суток титры антител в ИФА с ЕБА составляли в пределах $8,7 \log_2$, а с гамма-антигеном- $7,7-11,3 \log_2$.

В неблагополучных по бруцеллезу хозяйствах указанных регионов нами были взяты пробы крови, секретов и экскретов, а также биоматериал от крупного рогатого скота. Всего в неблагополучных по бруцеллезу хозяйствах было подвергнуто серологическому исследованию 1200 сывороток крупного рогатого скота. Результаты серологических исследований показали, что титры антител в РА были равны $9,2 \log_2$; РСК- $6,4$, а ИФА - $10,3 \log$.

Результаты индикации показали, что разработанные способы отбора и подготовки проб к исследованию и последующий иммуноферментный анализ позволили обнаруживать в течение 6-7 часов бруцеллезный антиген в пробах воды при концентрации 100 м.к./ мл, зернофуража- 1000 , грубых кормов – 10000 м.к./ г и в пробах аэрозолей бруцелл в концентрациях 60 и более микробных клеток в литре аэрозоля. Разработанные иммуноферментные наборы обеспечивают специфическую индикацию бруцелл в объектах ветнадзора без биологического обогащения.

Результаты индикации бруцелл в пробах из органов и тканей зараженных вирулентным штаммом возбудителя бруцеллеза и иммунизированных вакцинными штаммами крупного и мелкого рогатого скота с использованием бактериологического и серологического (ИФА) методов показали, что из исследованных 272 проб в ИФА реагировали положительно – 129 , а высеваемость бруцелл из этих проб составляла 28 (47%) случаев, что на 37% ниже, чем при серологической индикации.

Проведенные исследования по определению оптимальных условий постановки сэндвич – варианта ИФА для количественного выявления антигенов возбудителя бруцеллеза, по разработке и внедрению в производство технологии изготовления иммуноферментных тест-систем для диагностики бруцеллеза показали, что тест-система (ИФА) с использованием полученных по разработанной нами технологии противобруцеллезных иммуноферментных диагностикумов позволяет проводить контроль

иммунного статуса животных по бруцеллезу в благополучных по этой инфекции хозяйствах на фоне противобруцеллезной вакцинации, выявлять больных животных и обнаруживать возбудителя инфекции с использованием прямого и непрямого вариантов ИФА.

Таким образом, приведенные данные убедительно показали, что иммуноферментный анализ с использованием разработанных нами иммуноферментных конъюгатов позволял обнаруживать антиген бруцелл в патологическом материале, полученном как от экспериментально, так и спонтанно зараженных лабораторных и сельскохозяйственных животных.

Литература

1. Временная инструкция по изготовлению контролю набора диагностических препаратов для индикации возбудителя бруцеллеза методом ИФА – Утв. ГУВ МСХ СССР 12.02.90г.
2. Методические указания по применению иммуноферментного анализа (ИФА) для серодиагностики бруцеллеза. - Утв. ВНИВИ, 15.03.2003г.
3. Способ дифференциальной диагностики бруцеллеза крупного рогатого скота и способ получения препарата для его осуществления: Патент на изобретение № 2300107- 2007г. /Авторы Иванов А.В., Салмаков К.М., Плотникова Э.М., Низамов Р.Н.

Түйін

БРУЦЕЛЛЕЗДЕГІ ИММУНОМОНИТОРИНГ

Плотникова Э.М., Иванов А.В., Панкова Е.В.

«Токсикологиялық, радиациялық және биологиялық қауіпсіздіктің федеральдік орталығы» ФМБМ, Казань қ.

Мақалада авторлар жасап шығарған иммуноферментті конъюгатының бруцеллезбен залалданған тәжірибедегі зертханалық және ауылшаруашылық жануарларынан алынған патологиялық материалдардарының бруцеллаларды анықтауға жарамды екені баяндалады.

Summary

IMMUNOMONITORING AT BRUCELLOSIS

Plotnikova E.M., Ivanov A.V., Pankova E.V.

FSNO «Federal center toxicological, radiation, biological safety», Kazan

The test system developed by us with use antybrucellosis immunoenzyme diagnosticums allows to carry out the control of the immune status of animals on brucellosis in safe on background of farms antybrucellosis vaccination, to reveal of sick animals and to find out the activator of an infection with the ELISA.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ МЕТОДА ИССЛЕДОВАНИЯ МОЛОКА КОЗ НА БРУЦЕЛЛЕЗ

Саримбекова С.Н., магистрант

Казахский Национальный аграрный университет

Резюме Проведенные исследования показывают, что среди коз на территории Казахстана обнаруживается наличие бруцеллезной инфекции.

Молоко, полученное от этого вида животных в ветеринарных лабораториях необходимо подвергать исследованию на бруцеллез. При получении положительного результата продукт подвергать обеззараживанию.

В последнее время в нашей стране и за рубежом большое распространение получило использование молока коз для пищевых целей. В том числе и для приготовления из него молочных продуктов [1].

Козье молоко по химическому составу и некоторым свойствам имеет сходство с коровьим, но при этом в нем больше жира (4,5%), белка и минеральных веществ.

Жировые шарики молока коз мельче, чем в коровьем, благодаря чему оно намного легче всасывается стенками кишечника[2].

Известный русский ученый И.И.Мечников выделил из скисшего козьего молока (болгарский йогурт) грибок-лактобациллин, окисляющий молоко и обогащающий его весьма ценными целебными свойствами[3].

Важно отметить, что сдоенное козье молоко обладает антибактериальными свойствами, благодаря которым оно может сохраняться в свежем виде, не скисая, при комнатной температуре в течение относительно длительного времени[3].

Все полезные свойства козьего молока относятся к продукту, если оно получено от здорового животного.

К настоящему времени в Казахстане насчитывается около 2 млн.коз. Большая часть дойных животных находится в подворье[4].

Получение качественного безопасного при употреблении продукта питания, каким является молоко, может быть достигнуто только от здорового животного[5].

Данные литературы свидетельствуют о случаях заражения коз инфекционными заболеваниями, в частности, бруцеллезом[6].

Следует отметить, что при заселении бактериями ткани молочной железы в секрете появляются антитела, обнаружение которых позволяет ставить диагноз и решить вопрос о пригодности данного продукта в пищу.

В литературе имеется сообщение о возможности и целесообразности исследования молока коз на бруцеллез[4].

Нами проведена сравнительная оценка методов диагностики бруцеллеза путем исследования сывороток крови и молока коз.

При этом исследованию подвергнуто 22 лактирующих козوماتки, в том числе 9 из крестьянского хозяйства „Теректы” Кокпектинского района Восточно-Казахстанской области, 8 из ТОО „Байсерке” Талгарского района Алматинской области и 5 животных из частных подворий Карасайского района Алматинской области.

Молоко подвергнуто исследованию путем постановки осадочной реакции по методике, предложенной Тайтубаевым М.К.2010.

Сыворотку крови исследовали общепринятыми серологическими тестами (РА, РБП, РСК). Полученные нами данные сведены в таблице 1.

Таблица 1 - Результаты исследования на бруцеллез сыворотки крови и молока коз

№ п/п	Хоз-во	Кол-во жив-х	Позитивные показания диагностических тестов			
			РБП	РСК	ОР с мол.	Всего реакир.
1	«Теректы», ВКО	9	3/33,3	5/55,5	3/33,3	5/55,5
2	«Байсерке-Агро», Алмат.обл.	8	-	-	-	-
3	Подворье, Алмат.обл.	5	-	-	-	-
Итого		22	3/13,6	5/22,7	3/13,6	5/22,7

Из таблицы 1 следует, что при исследовании молока коз неблагополучного по бруцеллезу стада, в трех случаях получены позитивные показания осадочной реакции с цветным антигеном.

Важно знать степень совпадения результатов иммунологических реакций при исследовании сыворотки крови и молока. Данные анализа этих результатов приведены в таблице 2.

Таблица 2 – Сравнительная оценка результатов исследования сыворотки крови и молока коз

Показания серологических тестов	Показания осадочной реакции с молоком			
	положительно	сомнительно	отрицательно	Итого по серолог.
Положительно	2/9,1	-	3/13,6	5/ 22,7
Сомнительно	-	-	-	-
Отрицательно	1/ 4,5	-	16/ 72,7	17/77,2
Итого по ОР(м)	3/13,6	-	19/ 86,3	22/100
Примечание: В дробных числах: числитель - абсолютное количество, знаменатель – проценты.				

Из приведенных в таблице 2 данных видно, что полное совпадение результатов исследований сыворотки крови и молока наблюдается 81,85% случаев. Не совпадение данных серологических тестов и показаний ОР(м) отмечается 18,15% от числа исследованных проб.

Вышеизложенное свидетельствует о возможной выработке антител в отдельных органах, в частности молочной железе. Важно отметить, что из трех положительно реагирующих на бруцеллез проб молока только в 2-х случаях выделены культуры возбудителя болезни.

Результаты проведенных исследований позволяют сделать следующие выводы:

1 Среди коз на территории Казахстана обнаруживается наличие бруцеллезной инфекции. Заболеваемость этого вида животных в течение года по отдельным не благополучным областям колеблется от 0,3 до 1.

2 Диагностика бруцеллеза у коз базируется на постановке серологических тестов. Молоко, полученное от этого вида животных в ветеринарных лабораториях не подвергается исследованию на бруцеллез.

3 Молоко, получаемое от больных бруцеллезом коз, дает позитивные результаты с цветным антигеном, предназначенным для постановки кольцевой реакции.

4 В молоке больных бруцеллезом коз 33,3% случаев обнаруживается возбудитель болезни.

Практические предложения 1 Молоко, получаемое от коз, необходимо подвергать исследованию на бруцеллез с помощью ОР (м).

2. Постановку ОР (м) осуществлять с цветным антигеном, предназначенным для постановки кольцевой реакции.

Литература

1. Терентьев Б.Ф. Домашнее овцеводство и козоводство. Алма-Ата, 1987. - 21с.
2. Горбатова К.К. Биохимия молока и молочных продуктов. Гиорд. 2010. - 336с.
3. http://www.treeland.ru/article/kopoba/koze_moloko.htm
4. Тайтубаев М.К. Разработка метода исследования молока коз на бруцеллез // Автореф. дисс. канд. вет. наук. - Алматы, 2010. - 20с.
5. Иванов Н.П. Бруцеллез животных и меры борьбы с ним. - Алматы, 2007. - 610с.
6. Арзымбетов Д. Е. Определение оптимальных доз вакцин из шт. Brucella abortus 19,104 м и Brucella melitensis Rev-1. // дисс. канд. вет. наук. - Алматы, 1990. - 102с.

Түйін

ЕШКІЛЕРДІҢ СҮТІН БРУЦЕЛЛЕЗГЕ ЗЕРТТЕУ ӘДІСІНІҢ ТИІМДІЛІГІ

Саримбекова С.Н.

Қазақ ұлттық аграрлық университеті

Зерттеулердің нәтижелерінен Қазақстанда бруцеллез індетінің кездесетінін көруге болады. Ешкі сүтін ветеринарлық зертханаларда бруцеллезге тексерілуі шарт. Бруцеллезге оң нәтиже болған жағдайда, сүтті залалсыздандыру керек.

Summary

EFFECTIVE METHODS OF INVESTIGATION GOAT MILK FOR BRUCELLOSIS

Sarimbekova S.N.

Kazakh National agricultural university

Research shows that among the goats on the territory of Kazakhstan is detected the presence of brucellosis infection. Milk, obtained from this type of animals in the veterinary laboratories should be research on brucellosis. When you receive a positive result a product subjected to decontamination.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИЗУЧЕНИЯ ПРЕПАРАТА «ИММУНОФАРМ» ПРИ БРУЦЕЛЛЕЗЕ ЖИВОТНЫХ

Султанов А.А., д.в.н., профессор, Барамова Ш.А., д.б.н., профессор, Сарбаканова Ш.Т., к.б.н., Абуталип А., д.в.н., Канатбаев С.Г., д.в.н., Аманжол Р.А., к.в.н., Панферов В.И., Ласкавый В.Н.

ТОО «Казахский научно – исследовательский ветеринарный институт»
Саратовский НИВИ

Резюме В статье приводятся результаты исследований по влиянию препарата «Иммунофарм» на клеточное и гуморальное звено иммунитета и его профилактической эффективности при бруцеллезе животных в экспериментальных и производственных условиях.

В настоящее время животноводство Республики Казахстан развивается путем образования частных подворий, кооперативных и фермерских хозяйств, где содержится основное поголовье всех видов сельскохозяйственных животных. Это создает новые сложности в борьбе с бруцеллёзом. Изменения технологии ведения животноводства, организация мелких фермерских хозяйств требует совершенно других подходов при организации и проведении противобруцеллезных мероприятий.

В связи с этим изучение профилактической эффективности противобруцеллезных препаратов является весьма актуальной задачей.

Учитывая это, согласно приказов 18-02/177 по МСХ РК от 07.04.2011 г. и № 85 КГИ в АПК МСХ РК от 21.04.2011 г. на базе лабораторий ТОО «КазНИВИ» проведена апробация иммуномодулирующего средства «Иммунофарм», разработанного ГНУ «Саратовский научно-исследовательский ветеринарный институт» Россельхозакадемии, определено влияние препарата на клеточное и гуморальное звено иммунитета лабораторных и сельскохозяйственных животных; проведены испытания профилактической эффективности препарата при бруцеллезе животных в экспериментальных и производственных условиях.

Проведена проверка показателей качества и органолептических свойств «Иммунофарма» путем определения внешнего вида, цвета, запаха, механических примесей и содержания в нем активных веществ.

При определении острой токсичности (30 мышей) и подострой токсичности (15 телят и 30 крыс) было установлено, что препарат «Иммунофарм» не обладает токсичностью и является безвредным.

При изучении влияния иммуностимулирующего препарата «Иммунофарм» на клеточный иммунитет белых мышей, наблюдалось заметное изменение индекса воспаления, что указывает на повышенную местную воспалительную реакцию при введении препарата в дозе 10 мл/кг.

В дозе 3 мл/кг, наблюдалось увеличение титра антител уже на 7 день после его введения, что указывает на более раннюю и продолжительную производительную стадию гуморального иммунитета. Определено, что в первые сроки наблюдений на 7 и 15 день спустя с начала введения препаратов «Иммунофарм» с аллергеном «КазНИВИ» животные всех трёх групп (ягнята, телята и морские свинки) реагировали повышением фагоцитарного индекса, эти изменения более выражены после заражения бруцеллёзом. Проведённые исследования иммуностимулирующих препаратов «Иммунофарм» и «КазНИВИ» на организм опытных животных, установили, что введённые вместе с бруцеллезным аллергеном в первые 10 дней после рождения животных оба препарата оказывали стимулирующее действие на клеточный иммунитет, усиливали эффективность фагоцитоза бактерий и выработку Т- и В- лимфоцитов.

Для определения профилактической эффективности препарата телята и ягнята, строго в возрасте до 9 дней, подвергались иммунизации опытными препаратами (аллергеном и препаратом «Иммунофарм», предоставленными автором), которые в последующем находились возле своих матерей в условиях хозяйств (ягнята на участке «Кур-Озек» Жамбылского района Алматинской области, а телята в к/х «Жаксылык» Балхашского района Алматинской области) до достижения 2-х месячного возраста, после чего они были переведены в стационар ТОО «КазНИВИ». Иммунизации опытными препаратами также подвергались морские свинки, которые содержались в стационарных условиях ТОО «КазНИВИ» (таблица 1).

Таблица 1 – Схема иммунизации животных в условиях хозяйств

Вид животных	Кол/во животных в группе	Наименование вводимого опытного препарата
Ягнята		
1 группа	10	бруцеллезный аллерген в/мышечно в дозе 2 мл, а через 35 мин 2,5 мл препарата «Иммунофарм»
2 группа	10	препарат «КазНИВИ» (контроль)
3 группа	10	контроль (никакой препарат не вводился)
Телята		
1 группа	5	бруцеллезный аллерген в/мышечно в дозе 3 мл, а через 35 мин 5 мл препарата «Иммунофарм»
2 группа	5	препарат «КазНИВИ» (контроль)
3 группа	5	контроль (никакой препарат не вводился)
Морские свинки		
1 группа	10	бруцеллезный аллерген в/мышечно в дозе 0,1 мл, а через 35 мин 0,5 мл препарата «Иммунофарм»
2 группа	10	препарат «КазНИВИ» (контроль)
3 группа	10	контроль (никакой препарат не вводился)

На 7, 15, 30, 60, 90 сутки после иммунизации испытуемыми препаратами от всех ягнят и телят, а также морских свинок опытных групп, были взяты пробы крови для серологических исследований на бруцеллез в РА, РДСК, РБП и ИФА.

Результаты серологических тестов во все сроки исследований ягнят, телят и морских свинок, иммунизированных препаратом «Иммунофарм» с аллергеном (1 группа), а также животных контрольной группы (3 группа), не подвергавшихся иммунизации, были отрицательными. Животные, иммунизированные препаратом «КазНИВИ» (2 группа), реагировали позитивно в РА, РДСК, РБП и ИФА. Позитивные результаты серологических исследований животных 2-ой группы, объясняются тем, что взятый в качестве контроля препарат «КазНИВИ» получен из бруцеллезного антигена, на введение которого в организме привитых животных вырабатываются специфические антитела.

Через 3 месяца после введения опытных препаратов находящиеся в эксперименте в стационарных условиях «КазНИВИ» телята всех 3-х групп были подвергнуты экспериментальному заражению 10-кратной инфицирующей дозой штамма *B.abortus* 544 подкожно в среднюю треть шеи.

Ягнята всех 3-х групп в возрасте 4 месяца были инфицированы 10-кратной инфицирующей дозой штамма *B.melitensis* 565 подкожно в левый пах.

Морские свинки также всех 3-х групп были заражены 10-кратной инфицирующей дозой штамма *B.abortus* 544 подкожно в область левого паха.

В течение месяца за зараженными ягнятами, телятами и морскими свинками вели наблюдения и через каждые 7, 15, 21 и 30 дней брали кровь для серологических и иммунологических исследований.

Полученные данные показывают, что на 7 сутки после заражения из числа иммунизированных «Иммунофармом» с аллергеном телят в РА реагировало позитивно – 2 животных в титрах 1:50, препаратом «КазНИВИ» также 2 особи реагировали в титрах 1: 100, а из числа находящихся в контроле – 4 головы (2 голов-1:100, 2 голов-1:200). В последующие сроки исследований сывороток крови титры РА доходили до пределов - 1:200 у телят, иммунизированных «Иммунофармом» и препаратом «КазНИВИ» (на 30 сутки), а у контрольных телят аналогичные титры были уже на 15 сутки после заражения.

На 7 сутки в РДСК телята всех 3-х групп реагировали отрицательно, а результаты ИФА и РБП совпадали и были позитивными в 4-х случаях. Во все последующие сроки (на 15, 21 и 30 сутки) показания всех серологических тестов были положительными, как при исследовании телят, иммунизированных российским и казахстанским препаратами, так и контрольных групп.

Предельные титры специфических антител животных всех трех групп в РДСК на 15 и 21 сутки не превышали 1:20, которые у телят, иммунизированных «Иммунофармом» и препаратом «КазНИВИ»,

увеличились на 30 сутки до 1:40. Максимальные титры комплементсвязывающих антител отмечались в сыворотке крови контрольных телят на 30 сутки после заражения (у 2-х животных 1:160 и у 3-х животных 1:80).

Мониторинг иммунного ответа животных после заражения бруцеллёзом проводили при помощи следующих тестов: розеткообразования и опсоно-фагоцитарной реакции (ОФР). Результаты исследования клеточного иммунитета животных после заражения свидетельствуют, что при заболевании молодняка КРС бруцеллёзом, опсоно-фагоцитарный индекс (ОФИ) на 7 день опыта значительно повысился в опытных группах ($16 \pm 2,6$ – в первой и $18 \pm 3,0$ – во второй), чем в контроле ($7 \pm 1,4$) и был выше чем до заражения. Процент Т-лимфоцитов был выше у животных, иммунизированных «Иммунофармом» с аллергеном, во всех опытах. Количество В-лимфоцитов в опытных группах примерно находилось на одном уровне. Наиболее низкий уровень ОФИ отмечен на 30 день. Так, в опытных группах (препарат «Иммунофарм» и «КазНИВИ») он снизился до $11 \pm 4,4$ % и 10 ± 9 %. Число Т-лимфоцитов на 15 день увеличивалось, и составило $61 \pm 12,3$ % и $58 \pm 14,6$ %, на 30 опытный день их процент составил до $60 \pm 20,5$ % и $35 \pm 2,4$ %. Процент В-лимфоцитов к 15-30 дню опыта в контрольной и во второй опытной группе также увеличился.

Ягнята всех 3-х опытных групп на 7 сутки после заражения штаммом *B. melitensis* 565 реагировали отрицательно по всем серологическим тестам. Показания РА, РБП, РДСК и ИФА были положительными во всех случаях на 14, 21 и 30 сутки после заражения, т.е. ягнята всех 3-х групп реагировали положительно все без исключения.

Пик титров агглютинирующих антител (1:400) отмечался в сыворотке крови только одного ягненка, иммунизированного «Иммунофармом», на 30 сутки исследований. Остальные животные этой группы на 15 и 21 сутки реагировали в РА в предельных титрах 1:200.

Ягнята, которым до заражения вводился препарат КазНИВИ, положительно реагировали с максимальным титром агглютининов 1:200 на 15, 21 и 30 сутки исследований.

У контрольных ягнят агглютинирующие антитела достигали наибольшего титра также, как и у телят, на 15 сутки после заражения – 1:200.

Результаты иммунологических тестов после заражения ягнят бруцеллёзом показали, что после заражения на 7-15 день опыта в опытных группах ОФИ увеличился по сравнению с контролем. К 30 дню опыта наблюдалось снижение ОФИ как в опытных, так и в контрольной группах. При этом процент Т-лимфоцитов в опытных группах (препараты «Иммунофарм» и «КазНИВИ») составил $28 \pm 11,0$ %, $64 \pm 2,0$ %, В-лимфоцитов (Еас-РОК) $14,5 \pm 3,4$ % и $43 \pm 4,0$ %, а к 30 дню: Т-лимфоцитов - $75 \pm 5,5$ % и $57 \pm 11,0$ %, В- лимфоцитов - $28 \pm 4,2$ % и $26 \pm 4,0$ %, что было значительно выше чем в контроле.

Полученные данные свидетельствуют, что испытуемые препараты оказывают активное действие на функциональные качества нейтрофилов после заражения на 7-30 день опыта, стимулируют клеточный и гуморальный иммунитет, что подтверждает иммунизирующие свойства препаратов.

Таким образом, сравнительное изучение иммуностимулирующих свойств: приготовленного из формальдегида российского препарата «Иммунофарм» и вакцинного препарата «КазНИВИ» на молодняке КРС и МРС в возрасте до 9 дней, показало повышение устойчивости их организма при проникновении возбудителя бруцеллезной инфекции.

Морские свинки всех 3-х опытных групп на 7 сутки после заражения штаммом *V.abortus* 544 реагировали негативно по всем серологическим реакциям. На 14 сутки из числа иммунизированных «Иммунофармом» с аллергеном реагировало положительно в РА, РБП, ИФА – по 9, в РДСК – 2 морские свинки, а на 21 сутки в РА, РБП и ИФА по 10 гол, а в РДСК – 9 голов. При исследовании сывороток крови зараженных животных на 30 сутки во всех случаях в РА, РБП, РДСК и ИФА наблюдались позитивные реакции. На 7 день опыта установлено увеличение опсоно-фагоцитарного индекса и Т-лимфоцитов во всех трёх группах (ОФИ - $10\pm 1,4$; $16\pm 2,4$; $14\pm 1,8$; Т-лимфоцитов (Е-РОК) $34\pm 4,8\%$; $40\pm 5,0\%$; $38\pm 4,6\%$) соответственно. Также, начиная с 30 дня опыта наблюдалось снижение данных показателей, при этом ОФИ составил $9\pm 1,6$; $6\pm 1,2$; $8\pm 1,8$; Т-лимфоцитов (Е-РОК) - $30\pm 2,0\%$; $39\pm 2,3\%$; $34\pm 1,7\%$; В-лимфоцитов (Еас-РОК) - $13\pm 1,2\%$; $6,3\pm 2,4\%$; $19\pm 4,5\%$. Спустя месяц после заражения бруцеллезом находящиеся в эксперименте телята, ягнята и морские свинки были убиты для бактериологических исследований. Из анализа результатов исследований установлено, что из числа экспериментально инфицированных животных, иммунизированных российским препаратом «Иммунофарм», противостояло заражению 40% ягнят, 60% телят и 20% морских свинок.

Контрольные группы ягнят, телят и морских свинок, не подвергавшиеся перед заражением инъекциям каким-либо профилактическим препаратом, заразились бруцеллезом в 100%-ах случаев.

У телят, ягнят и морских свинок, иммунизированных до заражения препаратом «КазНИВИ», эти показатели равнялись 30% у ягнят, 40% у телят и 60% у морских свинок. Таким образом, противобруцеллезный иммунитет ягнят и телят, получивших препарат «КазНИВИ» до экспериментального заражения, был заметно ниже такового у названных видов животных, иммунизированных «Иммунофармом». Вероятно, более низкая профилактическая эффективность препарата «КазНИВИ» нежели «Иммунофарма» связано с тем, что он является вакцинным препаратом, приготовленным из протективного антигена и составляющих компонентов, который предназначен для иммунизации животных с уже сформированной иммунной системой. В противовес «Иммунофарму», которым иммунизируется молодняк только до 9 дней жизни, для активизации клеточного звена иммунитета (завершенный фагоцитоз) препарат

«КазНИВИ» прививается телятам и ягнятам в возрасте 3-5 месяцев для стимуляции гуморальных антител.

Как видно из результатов испытаний профилактической эффективности опытных препаратов, «Иммунофарм» оказал заметное иммуностимулирующее действие на организм телят, предохраняя их в 60%-ных случаях от заражения. Более низкий процент противостоящих заражению бруцеллезом ягнят (40%), нежели телят (60%), при ведении «Иммунофарма» возможно связан с высокой вирулентностью опытного заражаемого штамма *V.melitensis* 565, который является высокопатогенным не только для своего хозяина (МРС), но и для всех других видов животных.

Таким образом, сравнительное изучение иммуностимулирующих свойств российского препарата на молодняке КРС и МРС в возрасте до 9 дней показало повышение устойчивости их организма при проникновении возбудителя бруцеллезной инфекции.

При сравнительном испытании эффективности испытуемого («Иммунофарм») и контрольного (неживая вакцина «КазНИВИ») препаратов на морских свинках первый значительно уступал второму. Так, из 10 морских свинок, повергнувшихся иммунизации препаратом «КазНИВИ», не заразилось 6 особей, что свидетельствует противостоянию 60% животных заражению, тогда как из 10 свинок, инъецированных «Иммунофармом», не заразилось всего 2 (20%) и заразилось 8 (80%) голов. Эти данные свидетельствуют о достаточно высокой профилактической эффективности вакцинного препарата «КазНИВИ» при введении животным со зрелой иммунной системой. Наибольший индекс высеваемости бруцелл отмечен из органов контрольных групп всех трех видов животных (ягнят – 38,5%, телят – 45,7% и морских свинок – 43,3%). Индекс инфицированности у ягнят и телят, иммунизированных «Иммунофармом», равнялся 10,0 и 7,14%, соответственно, против 17,1 и 11,4%, отмеченных у животных, получивших препарат «КазНИВИ». И, наоборот, индекс инфицированности у морских свинок, иммунизированных «Иммунофармом», был гораздо выше такового показателя у животных, которым вводился препарат «КазНИВИ» (26,6 против 5,5%, соответственно). Кроме того, заложены опыты по производственному испытанию препарата «Иммунофарм», которые проводились в хозяйствах Западно-Казахстанской и Восточно-Казахстанской областей. В частности, испытание профилактических свойств препарата «Иммунофарм» проводилось в производственных условиях Западно - Казахстанской области - в благополучных и неблагополучных хозяйствах по бруцеллезу крупного рогатого скота и мелкого рогатого скота.

Опыт 1. В неблагополучном по бруцеллезу крупного рогатого скота крестьянском хозяйстве «Нур» Бурлинского района ЗКО 25 телятам в возрасте 1-9 дней был введен препарат «Иммунофарм» согласно утвержденной схеме испытаний препарата (внутримышечно инъецированы 3 мл бруцеллезного аллергена и через 35 мин 5 мл опытного препарата

«Иммунофарм»), а остальные 25 телят оставлены в качестве контрольных животных.

Опыт 2. В благополучном по бруцеллезу КРС к/х «Асем» Акжайкского района ЗКО привито опытным препаратом «Иммунофарм» 25 телят в возрасте 1-9 дней, 25 телят оставлены в качестве контроля.

Опыт 3. В отделении № 1 производственного кооператива «Жана турмыс» ЗКО, где имеется неблагополучная с 2009 года по бруцеллезу отара мелкого рогатого скота, препаратом «Иммунофарм» иммунизировано 50 ягнят в возрасте 1-9 дней, параллельно создана опытная группа ягнят из числа здоровых особей (50 голов).

Опыт 4. В отделении № 2 производственного кооператива «Жана турмыс» ЗКО, где имеется благополучная по бруцеллезу отара мелкого рогатого скота, препаратом «Иммунофарм» иммунизировано 50 ягнят в возрасте 1- 9 дней, параллельно создана опытная группа ягнят из числа здоровых особей (50 голов). Животные всех четырех опытных хозяйств были исследованы серологически (РБП, РА, РСК) через 3,6 месяцев и 1, 2 года после иммунизации испытуемым препаратом.

Таблица 2 - Результаты серологических исследований телят на бруцеллез к/х «Нур», иммунизированных препаратом «Иммунофарм»

п/п	Характеристика групп	Количество голов	Результаты серологических исследований			
			30 дн.	60дн.	1 год	2 года
1	Иммунизированная группа	25	-	-	-	-
2	Контрольная группа	25	-	-	-	1

Как видно из таблицы 2 через 2 года среди контрольных животных выделено 1 голова (4%) с положительными реакциями на бруцеллез.

Результаты серологических исследований на бруцеллез телят опытной и контрольной группы к/х «Асем», иммунизированных препаратом «Иммунофарм», во все сроки исследования были отрицательными.

Таблица 3 - Серологические исследования ягнят неблагополучной отары на бруцеллез в отд. № 1 п/к «Жана турмыс», иммунизированных препаратом «Иммунофарм»

п/п	Характеристика групп	Количество голов	Результаты серологических исследований			
			30 дней	60 дней	1 год	2 года
1	Иммунизированная группа	49	-	-	-	-
2	Контрольная группа	47	-	-	-	1

Представленные в таблице 3 материалы свидетельствуют о том, что результаты серологических исследований иммунизированных препаратом «Иммунофарм» ягнят через различные сроки в РБП, РА и РСК были

отрицательными, тогда как среди контрольных групп 1 голова через 2 года положительно реагировала на бруцеллез (3%).

При серологическом исследовании ягнят благополучной отары на бруцеллез в отд. №2 п/к «Жана түрмыс», иммунизированных препаратом «Иммунофарм», и ягнят контрольной группы через различные сроки в РБП, РА и РСК все животные реагировали отрицательно.

Результаты этих производственных опытов показывают, что при наличии контакта с неблагополучным поголовьем животные контрольных групп, (не обработанные препаратом «Иммунофарм»), на 2-й год опыта заразились бруцеллезом (4% телят и 3% ягнят). Поголовья телят и ягнят, иммунизированные изучаемым препаратом «Иммунофарм», во всех опытных хозяйствах, во все сроки исследования реагировали на бруцеллез отрицательно, что свидетельствует о профилактической эффективности препарата.

Таким образом, полученные нами результаты экспериментальных исследований и производственных наблюдений позволяют заключить, что предлагаемый российский препарат имеет перспективу использования в качестве профилактического препарата для стимуляции иммуногенеза у телят и ягнят ранних сроков жизни с целью повышения эффективности профилактических и оздоровительных мероприятий.

Түйін

МАЛ БРУЦЕЛЛЕЗІНДЕ «ИММУНОФАРМ» ПРЕПАРАТЫН ЗЕРТТЕУДІҢ НӘТИЖЕЛЕРІ

Султанов А.А., Барамова Ш.А., Сарбаканова Ш.Т., Абуталип А., Канатбаев С.Г., Аманжол Р.А., Панферов В.И., Ласкавый В.Н.

«Қазақ ғылыми – зерттеу ветеринария институты» ЖШС
Саратов ФЗВИ

Мақалада «Иммунофарм» препаратының иммунитеттің жасушалық және гуморальдық буынына әсері және оның тәжірибе мен өндіріс жағдайында жануарлар бруцеллезіне қарсы профилактикалық тиімділігі жөнінде сөз болады.

Summary

RESULTS OF STUDIES ON THE DRUG "IMMUNOFARM" IN ANIMAL BRUCELLOSIS

Sultanov A.A., Baramova Sh.A., Sarbakanova Sh.T., Abutalip A.A., Kanatbaev S.G., Amanjol A.R., Panferov V.I., Laskavyi V.N.

The article gives results of studies on the influence of the drug "Immunofarm" on cellular and humoral immunity and its prophylactic efficacy in animal brucellosis in experimental and production conditions.

УДК 610:616.98:579.841.93-076

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИММУНОМОДУЛЯТОРОВ ПРИ БРУЦЕЛЛЕЗЕ ЖИВОТНЫХ

Тен В.Б., д.в.н., профессор, Мустафин Б.М., д.в.н., Аманжол Р., к.в.н.,
Давлетьярова А.

ТОО «Казахский научно- исследовательский ветеринарный институт»

Резюме В статье показана эффективность применения различных иммуномодуляторов при профилактике бруцеллеза животных.

В настоящее время животноводство находится на качественно новом этапе – крупные предприятия перешли в частное пользование. В связи с этим становится сложнее проводить организационно-хозяйственные, ветеринарно-санитарные, гигиенические мероприятия, а регламентированные для практики мероприятия не всегда возможно применить из-за отсутствия необходимых условий. Известно, что основой развития животноводства является полноценное кормление, нормальные условия содержания, однако они пущены на самотек, т.к. отсутствуют комбинаты по формированию полноценных кормов, фермеры не всегда в состоянии построить типовые помещения, иметь технику, оборудование.

Усиление движения транспорта, как внутреннего, так и международного, миграция людей, экспорт, импорт кормов, животных, продуктов питания, могут нести в себе долю распространения особо опасных патогенов (ООП). Вышеперечисленные факторы, а также глобальные экологические катастрофы приводят организм животных, человека к иммунодефициту.

Поэтому борьба с ООП может давать эффект только в том случае, если учитывать воздействие целого букета негативных факторов, влияющих на снижение естественной резистентности.

В связи с этим, в профилактике бруцеллеза животных важно применять иммуностропные препараты, т.е. препараты у которых лечебный эффект связан с их преимущественным действием на иммунную систему макроорганизма. В борьбе с ООП (бруцеллезом) наиболее перспективными

иммунотропными препаратами являются иммуномодуляторы, иммуностимуляторы – вещества, восстанавливающие или усиливающие функции иммунной системы животного.

Стимуляторы воздействуют на функцию макрофагальной системы, которая является не только индуктором, но и регулятором иммунного ответа, результатом которого является искусственное влияние на иммунную систему.

Многие исследователи считают, что организм вполне может противостоять болезням. Но для этого нужны «помощники» в виде корректоров иммунного статуса. Поэтому нами были испытаны некоторые стимуляторы и иммуномодуляторы, которые должны были усиливать активность препаратов и продолжительность их действия в организме.

Материалы и методы С этой целью нами были приготовлены стимуляторы из тимуса, смеси тимуса и селезенки (1:1), смеси тимуса и лимфатических узлов (1:1) крупного рогатого скота. Препараты решено было испытать в двух концентрациях: 1% и 5%.

Полученные препараты вводились четырехкратно с интервалом 6 дней морским свинкам по 1 см³ подкожно в область брюшка. Одновременно с первым введением препарата морские свинки были заражены 10-кратной инфицирующей дозой вирулентной культуры V.abortus 54.

Через 30 дней после заражения все свинки были убиты для бактериологического исследования органов с целью определения бруцеллоносительства. Результаты проведенных исследований представлены в таблице 1.

Таблица 1 - Стимуляция резистентности организма морских свинок к возбудителю V.abortus с помощью препаратов из тимуса и смеси тимуса и селезенки

№ гр.	Наименование препарата	Кол-во исследованных		Выделено культур		Противостояло	
		ж-х	органов	ж-х	органов	кол-во	%
1	Тимус 1%	10	90	8	27	2	20
2	Тимус 5%	10	90	6	18	4	40
3	Тимус+ селезенка 1%	10	90	7	24	3	30
4	Тимус+ селезенка 5%	10	90	6	12	4	40
5	Тимус+ лимфатические узлы 1%	10	90	7	21	3	30
6	Тимус+ лимфатические узлы 5%	10	90	4	11	5	50
7	Контроль	10	90	10	41	-	-

Как видно из таблицы 1 в отношении устойчивости к заражению бруцеллами вида *B.abortus* стимулятор, приготовленный только из тимуса, уступает по активности стимулятору, приготовленному из смеси тимуса и селезенки. Причем применение 1% монопрепарата способствует защите организма только на 20%, в то время как смешанный препарат из тимуса и селезенки способствует защите организма на 30%. Применение стимуляторов в 5% концентрациях превосходит активность 1% препаратов и достигает 40% противостояния заражению. Наряду с этим препарат, приготовленный из комплекса тимуса и лимфатических узлов, показал наибольшую активность, превышая способность к защите организма первых двух препаратов в 1% концентрации на 10% - 20% и в 5% концентрации достигая 50% противостояния заражению.

Далее были подобраны по принципу аналогов овцы, козы, коровы, которым по группам согласно наставлению по их применению вводили тканевые, растительные, синтетические стимуляторы, повышающие неспецифическую защиту организма:

Тималин, препарат из тимуса, препарат из тимуса и селезенки, экстракт элеутерококка, экстракт левзеи, экстракт эхинацеи, полиоксидоний, левамизол, РНК натриевая соль.

Для испытания вышеуказанных препаратов было создано 10 групп, овец и коз - по 5 голов и по 3 коровы в группе, которым согласно группам вводили препараты (в вышеуказанном порядке) подкожно в области правого паха четырехкратно с интервалом 5 дней в дозе: овцам, козам – 1 см³, коровам – 4 см³. Инфицирование проводили следующим образом: овцам, козам – штамм *B.melitensis Rew-1* в дозе 2 млн. м.к.; коровам – штамм *B. abortus 82* в дозе 1 млрд. м.к.

Важно отметить, что инфицирование проводили вакцинными штаммами, а не вирулентными из-за опасения загрязнения окружающей среды, заражения людей, животных.

Введение препарата и инфицирование животных проводили одновременно, а через 5 дней всех убивали для бактериологического исследования органов с целью определения защиты организма от инфицирования. Результаты проведенных работ представлены в таблице 2.

Таблица 2 - Влияние стимуляторов на неспецифическую защиту организмов овец, коз и коров

Группы	Кол-во исследований		Выделено культур		Противостояло заражению		И.и.
	животных	органов	всего	на 1 голов	всего	%	
Овцы							
I	5	60	7	1,4	2	40	11,7
II	5	60	2	0,4	4	80	3,3
III	5	60	4	0,8	3	60	6,7
IV	5	60	9	1,8	1	20	15,0
V	5	60	12	2,4	1	20	20,0
VI	5	60	8	1,6	2	40	13,3
VII	5	60	1	0,2	4	80	1,7
VIII	5	60	5	1,0	3	60	8,3
IX	5	60	6	1,2	2	40	10,0
X (контр.)	5	60	21	4,2	-	-	35,0
Козы							
I	5	60	8	1,6	2	40	13,3
II	5	60	3	0,6	3	60	5,0
III	5	60	6	1,2	2	40	10,0
IV	5	60	11	2,2	1	20	18,3
V	5	60	13	2,6	1	20	21,7
VI	5	60	8	1,6	2	40	13,3
VII	5	60	2	0,4	4	80	3,3
VIII	5	60	6	1,2	3	60	10,0
IX	5	60	10	2,0	2	40	16,7
X (контр.)	5	60	24	4,8	-	-	40,0
Коровы							
I	3	36	6	2	1	33,3	16,6
II	3	36	-	-	-	100,0	-
III	3	36	4	1,3	2	66,7	11,1
IV	3	36	10	3,3	1	33,3	27,8
V	3	36	11	3,7	1	33,3	30,5
VI	3	36	9	3,0	1	33,3	25,0
VII	3	36	-	-	-	100,0	-
VIII	3	36	5	1,7	2	66,7	13,8
IX	3	36	7	2,3	1	33,3	19,4
X (контр.)	3	36	16	5,3	-	-	44,4

Из данных таблицы 2 видно, что наиболее активными для стимуляции неспецифической защиты организма животных и для коррекции его иммунного статуса являются препараты: для овец - тимус, полиоксидоний - 80%, тимус и селезенка, левамизол - 60%; для коз - тимус, левамизол - 60%,

полиоксидоний - 80%; для коров - тимус, полиоксидоний - 100%, тимус и селезенка, левамизол - 66,7%.

Заклучение Полученные результаты позволяют сделать вывод о том, что приготовленные стимуляторы из тимуса, тимуса и селезенки, тимуса и лимфатических узлов крупного рогатого скота, а также использование левамизола и полиоксидония помогает животным усилить защитный потенциал (иммунную систему) и противостоять бруцеллезной инфекции.

Түйін

ИММНОМОДУЛЯТОРЛАРДЫҢ МАЛ БРУЦЕЛЛЕЗІНДЕГІ ТИІМДІЛІГІ

Тен.В.Б., Мустафин Б.М., Аманжол Р., Давлетьярова А.

«Қазақ ғылыми – зерттеу ветеринария институты» ЖШС
«Қостанай ғылыми – зерттеу ветеринария станциясы» филиалы
«Батыс – Қазақстан ғылыми – зерттеу ветеринария станциясы» филиалы

Мақалада жануарлар бруцеллезінің алдын алуға қолданылатын әртүрлі иммуностимуляторлардың тиімділігі туралы баяндалады.

Summary

EFFICIENCY OF IMMUNOMODULATOR IN ANIMAL BRUCELLOSIS

Ten V.B., Mustafin B.M., Amanjol R., Davletiyarova A.

LLP «Kazakh Scientific - Research Veterinary Institute»
Branch «Kostanai Scientific - Research Veterinary Station»
Branch «West – Kazakhstan Scientific - Research Veterinary Station»

The article describes the efficiency of various immunomodulators for the prevention of animal brucellosis.

СПЕЦИФИЧЕСКАЯ ПРОФИЛАКТИКА БРУЦЕЛЛЕЗА ЖИВОТНЫХ

Тен В.Б., д.в.н., профессор, Абуталип А.А., д.в.н., Султанов А.А., д.в.н., профессор, Иванов Н.П., д.в.н., академик НАН РК, Мустафин Б.М. д.в.н.

ТОО «Казахский научно- исследовательский ветеринарный институт»

Резюме В статье приводится сравнительная характеристика живых и инактивированных вакцин и их эффективность при бруцеллезе животных.

История разработки спецпрофилактического препарата начинается с 1987 года. В этом году была опубликована работа датского ученого Банга, который выделил из околоплодной жидкости абортировавшей коровы мелкие микроорганизмы, подобрал среду и оптимальные условия их культивирования и путем заражения здоровых животных доказал, что этот микроорганизм является возбудителем инфекционного аборта. Это привело ученого к мысли о наличии иммунитета при данном заболевании. Таким образом, Банг сделал вывод о возможности и необходимости изыскания средств специфической профилактики бруцеллеза. Работать в этом направлении стали многие ученые, и в первую очередь сам Банг.

Открытие возбудителя бруцеллеза привело исследователей к поиску путей предотвращения аборта.

1 этап. В 1906 Банг начал иммунизировать животных вирулентной культурой бруцелл (двукратно с интервалом 2-3 недели) за 2 месяца до осеменения и предотвращал возникновение абортов.

1909 году Банг впервые применил внутривенные прививки живых культур в полевых условиях, в результате чего получил определенную степень иммунитета. Начиная с 1910 года в Англии, Германии, Дании, США, Аргентине для массовых прививок нетельных коров и молодняка в благополучных и неблагополучных хозяйствах по бруцеллезу использовали агаровые культуры возбудителя. Хотя при этом число абортов несколько снижалось, но в целом вред от абортов и бесплодия оказался таким же, как и до прививок.

В нашей стране прививки крупному рогатому скоту против бруцеллеза проводил в 1924-1925 годах В.И. Стольников. В 1931 Зиглер, Тайхман также получили положительные результаты.

Однако серьезным недостатком прививок вирулентной культурой было то, что животные долгие годы были носителями бруцелл.

В связи с этим от иммунизации животных вирулентной культурой бруцелл отказались.

Как указывают М.И. Иванов, С.К. Кожакин, К.П. Студенцов, широкое применение в разных странах вирулентных культур вызывало аборты у

стельных животных и фактически приводило к массовому перезаражению животных. Вакцинированные животные представляли собой эпизоотическую и эпидемиологическую опасность. В связи с этим прививки вирулентных штаммов животных запретили.

2 этап. Поиск препарата, предотвращающего аборт начался в 30 годы после того, что вирулентные штаммы бруцелл (вакцины) заражали иммунных животных, а они в свою очередь распространяли инфекцию. Поиск ослабленных (авирулентных, слабовирулентных культур).

Американские исследователи Buck (1930), Cotton и Buck (1931), Cotton, Buck и Smith (1933, 1934), предложили для иммунизации молодняка КРС слабовирулентную культуру *B. abortus* 19.

Иммуногенные свойства вирулентных и авирулентных штаммов бруцелл изучали американские ученые W.E.Cotton, и J.M.Buck, H.E.Smith (1933, 1934). Они исследовали штамм *B. abortus* 19, который выделил в 1923 году J.M.Buck из молока коровы в период третьего отела. В результате хранения при комнатной температуре более одного года вирулентность исходной культуры значительно снизилась. Из этого штамма W.E.Cotton, и J.M.Buck, H.E.Smith в 1934 году отобрали наиболее иммуногенную и стабильную культуру, которую стали впоследствии называть *Brucella abortus* B-19 (от слова Buck). С этого времени начинается следующий этап в разработке противобруцеллезных вакцин.

Многие авторы отмечали высокую эффективность вакцины из штамма 19. Она безвредна, резко снижает число аборт и количество положительно реагирующих животных. Правда обеспеченный ею иммунитет, как и всех других противобруцеллезных вакцин, не является абсолютным.

В СССР штамм 19 доставили из США в 1943 году, его свойства впервые изучали М.К. Юсковец (1944, 1950), Е.С. Орлов (1946), О.И. Морякова (1957), А.В. Селиванов (1962) и многие другие. Было доказано, что штамм 19 стабилен по морфологическим, культуральным, вирулентным, антигенным свойствам. Вакцина безвредна для морских свинок, кроликов, овец и крупного рогатого скота, не вызывает абортов у привитых животных, не снижает удоев, штамм не мигрирует от привитых на не привитых животных. Вакцина предохраняет животных от естественного заражения, хотя в стадах с острым течением бруцеллеза иммунитет может быть недостаточен.

В нашей стране начали широко применять вакцину из штамма 19 с 1952 года для иммунизации телок, а с 1955 года – взрослого крупного рогатого скота (телки старше одного года, нетели и коровы). По данным Н.В. Сафронова (1963), Н.С. Вожаева (1963), А.Я. Львова (1963), П.П. Григоренко (1967), А.А. Хоч (1967) и многих других, широкое применение вакцины в различных регионах страны позволило значительно снизить распространение заболевания и оздоровить многие районы, области и республики страны от бруцеллеза крупного рогатого скота.

Вакцину из штамма 19 успешно используется в нашей стране и в настоящее время для профилактики и ликвидации бруцеллеза крупного рогатого скота и овец. Широкое применение показало ее основной недостаток – длительная серопозитивность, так, 5-ти кратное освеживание штамма через организм экспериментального животного приводило его к исходному состоянию вирулентности.

При встрече с полевыми изолятами она может:

- трансформировать;
- конъюгировать;
- трансдуцировать.

Кроме того вакцину можно вводить животному двукратно это связано с тем, что она длительное время сохраняет серопозитивность.

Многие ученые (К.А. Кашкинбаев, 1984; М.М. Ломинешвили и соавт.,1984; А.Н. Касьянов и соавт.,1985; О.С. Лазуревская, Л.М. Ворожищева, 1985; G.G.Alton,1980;1981; N.Cotrins,R.Martinez, 1984; L.A.Corner, G.G.Alton, 1981; D.Deyocetal., 1979; P. Nicoletti, 1978, 1981, и др.) отмечали, что пониженные дозы вакцины из штамма 19 у коров и телок создают иммунитет такой же прочности, как и стандартные дозы, не мешают нормальному течению беременности и вызывают кратковременную серопозитивность у привитых животных.

С.Е. Bartonetal (1980) сообщали, что поголовная вакцинация крупного рогатого скота в неблагополучных стадах пониженными дозами вакцины из штамма 19 является эффективной.

По данным П.С. Уласевича и В.А. Ромахова (1983), в США, Австралии и Франции достигнуты значительные успехи по иммунизации крупного рогатого скота подкожно пониженными дозами вакцины из штамма 19. М.И. Искандеров (1986) отмечает, что телки, привитые малыми дозами вакцины из штамма 19 по фону иммунизации их полной дозой этой же вакцины, оказались устойчивыми к заражению их вирулентной культурой бруцелл.

А.Г. Хлыстунов и соавт.,(1988) установили, что поствакцинальные антитела в сыворотке крови телок, привитых вакциной из штамма 19 в дозе 3 млрд м.к., угасают через 5 мес после ревакцинации.

С.К. Димов и соавт.,(1995) в опытах на телках, ревакцинированных-перед случкой вакциной из штамма 19 в дозе 3 млрд м.к. по фону иммунизации полной дозой этой вакцины, при экспериментальном заражении получили напряженный иммунитет.

К.И. Минжасов (1986) в опытах на телках показал, что поствакцинальные антитела полностью исчезают в сыворотке крови животных через 5 мес и диагностические серологические исследования можно проводить через 6 мес после ревакцинации.

Таким образом эффективность вакцины из 19 зависит от метода применения (п/кожно, внутрикожно, конъюнктивально) дозы.

При введении малой дозы (3 млрд.) наблюдается низкая серопозитивность, достаточно высокая иммуногенность. Подобными свойствами

обладает вакцина при иммунизации конъюнктивальным, внутрикожным методами.

В дальнейшем для изготовления вакцин стали применять штаммы с ослабленными вирулентными свойствами: *B.suis* 5, *B.suis* 22, *B.abortus* 68, *B.suis* 61, *B.abortus* 70 и др. Для снижения вирулентности пользовались различными, химическими, физическими и биологическими факторами: облучением вирулентных штаммов ультрафиолетовыми лучами (С.К. Кожакин, 1939; В.С. Рягузов, 1960 и др.) воздействием антибиотиков (S.S.Elberg, K.J. Faunee, 1953), шестикратными пассажами через организм ядовитых змей (П.А. Буланов, Е.Н. Наурызбаев, 1959), выращиванием культуры бруцелл на глицериновом бульоне с добавлением желчи и формалина (Н.Л. Кричевский, 1949), пассажированием через куриные эмбрионы (Л.В. Кириллов, 1964), длительным культивированием при температуре 42⁰С (И.Н. Невский, 1959), путем целенаправленной селекции (Е.С. Орлов, 1948, К.М. Салмаков, 1960, И.А. Косилов, 1966, П.Н. Жованик, 1967, И.П. Никифоров, 1990, К.В. Шумилов, В.В. Калмыков, 1990).

Однако после иммунизации сохраняются агглютинины и комплементсвязывающие антитела, которые выявляются стандартными антигенами, что не позволяет отличать больных бруцеллезом животных от вакцинированных и дать объективную оценку эпизоотической обстановки в хозяйствах, регионе.

Следует отметить тот положительный факт, что в 1994 году В.М. Чекишев (ИЭВ Сибири и Дальнего Востока) предложил ОПС (О-полисахаридный) антиген, позволяющий в реакции иммунодиффузии (РИД) проводить дифференциацию поствакцинальных антител от постинфекционных в сыворотках крови крупного и мелкого рогатого скота. Указанный метод внедрен в настоящее время в ветеринарную практику.

Этим самым сняли проблему, стоящую годами перед ветеринарными специалистами по определению эпизоотического статуса стад и отар в связи с вакцинацией их против бруцеллеза вакцинами, изготовленными из штаммов в S-форме.

Так, американскими исследователями М. Херцбергом и С. Эльбергом (1953) был предложен в качестве вакцинного штамма *B.melitensis* Рев-1. Выращивая культуру вида *B.melitensis* 6056, выделенную Кастанеда в 1952 году в Мексике от человека на среде Альбими с добавлением стрептомицина при этом они получили стрептомицинзависимый вариант с ослабленной вирулентностью. Культивируя стрептомицинзависимый штамм (6065) на средах с небольшим содержанием стрептомицина и далее без него, они обнаружили рост отдельных колоний чувствительных к стрептомицину. Полученный из этих колоний штамм был обозначен авторами как реверсионный мутант и назван *B.melitensis* Рев-1. Последующее изучение показало, что он является стабильным, обладает хорошо выраженными антигенными и иммуногенными свойствами.

Д. Альтон, применив для вакцинации коз на острове Мальта вакцину из штамма *V.melitensis* Rev-1, установил, что она безопасна для суягных коз, не снижает удоев молока, а местные реакции на ее введение незначительны.

Многие исследователи Alton, Elberg, Султанов А.А., Шумилов К.В. указывали на высокую ее иммуногенную активность. Введение ее животным вызывала продолжительную серологическую реакцию, что могла затруднить проведение дифференциации иммунизированных от зараженных (Султанов А.А., Иванов Н.П., Д.Е. Арзымбетов).

Инфицирующее свойство вакцины из штамма Rev-1 достаточно высоко. Независимо от дозы (полная доза, малая доза) она приживается в организме животных от 1-2 месяцев у овец и 2-3 месяца у коз.

Несмотря на то, что вакцина их штамма *V.melitensis* Rev-1 по утверждению многих авторов (Султанов А.А., Д.Е. Арзымбетов и др.) вызывает в организме доброкачественные патолого-морфологические изменения, названная вакцина не имела постоянного применения, в частности это место имеет и в Республике Казахстан (для иммунизации мелкого рогатого скота применяли вакцины из штамма *V. abortus* 19 и *V.melitensis* Rev-1). Кроме того, имеются противоречивые мнения о безопасности ее (вакцина из штамма Rev-1) для животных и людей. При этом важно отметить, что все специалисты, применявшие ее, подтверждают об ее высокой патогенности. У суягных овцематок иммунизированных названной вакциной могут происходить поствакцинальные аборт, штамм может выделяться с молоком, тем самым загрязнять окружающую среду и быть источником инфекции, как животных, так и людей.

Необходимо отметить, что остаточная вирулентность её выше, чем у вакцинного штамма *V.abortus* 19. При подкожном введении КРС, МРС вакцины из штамма *V.melitensis* Rev-1 достигается более высокая степень иммунитета по сравнению с вакциной из штамма *V. abortus* 19.

Многие исследователи сходятся в одном мнении, что вакцина из штамма *V.melitensis* Rev-1 обладает рядом недостатков:

- сероконверсия;
- вызывает выкидыш у беременных животных;
- вариации штаммов различных производителей;
- патогенность для людей;
- реверсия;
- персистенция;
- миграция.

Салмаковым К.В. разработана вакцина, находящаяся в SR-форме. Согласно Казахстанских, Киргизских, Российских и др. ученых:

- В.И. Пионтковского и др. в Костанайской области;
- В.Б. Бельгенко и др. в Карагандинской области;
- Н.Назарова и др. в Семипалатинской области;
- Н.И.Ким и др. в условиях Киргизии;
- Н.Х. Хасанова и др. в условиях Таджикистана;

- А.К. Лукина и др. в Саратовской области;
- А.П. Ростова и др. в Куйбышевской области;
- К.М. Салмакова и др. в Татарстане они отмечают, что в первые 5 лет после ее внедрения (1974-1978г), в регионах резко снизилась заболеваемость животных, а количество абортос – в 2 раза.

Некоторые исследователи (А.А. Новицкий и др. Н.Н. Маскаев и др.) утверждают, что животные, привитые по фону вакцины из штамма 19, имеют более высокий иммунитет, чем животные, привитые по гомологичному фону.

Недостатком данной вакцины является:

- вариации штаммов различных производителей;
- реверсия;
- трансформация;
- трансдукция;
- миграция;
- персистенция;
- абортосгенность.

Некоторые исследователи успешно применяли дробный метод введения 82 вакцины, которая заключалась в том, что первое введение - 1/100 или 1/50 часть дозы проводили за 2 месяца до введения полной дозы.

Серьезный недостаток это не полное соблюдение технологии изготовления при этом важным является то, что при окраске колоний по Уайт-Вилсону; 3-х суточная культура, высушенная в термостате должна иметь фиолетовый ободок и светло-желтый центр. На 4-5 сутки колонии окрашивались (колонии полностью окрашиваются, с вкраплениями). Отобрать чистые S- или R- колонии не возможно. Культуры стабильно находятся в SR- форме, агглютинабельны, при постановки пробы с трипофлавином положительная, термоагглютинации - отрицательная.

Кроме того, изменение технологического цикла изготовления вакцины привело к тому, что такие вакцины создавали у иммунных животных длительную серопозитивность, которая наблюдалась у 15-30% животных, что могло привести к отрицательным экономическим потерям. Так же причиной длительной серопозитивности ее может быть длительная персистенция и трансформация.

В.В. Сочнев (1980), Е.Б. Оразбеков отмечают в стадах привитых вакциной из штамма 82 спустя 10 месяцев положительную реакцию у животных против ящура, сибирской язвы ... (25%).

Поэтому А.А. Новицкий (1983) в качестве контроля благополучия молочных комплексов рекомендует использовать РА с сывороткой молока (в благополучных хозяйствах антитела в сыворотке молока не обнаруживаются).

3 этап. Вакцины из штамма, находящиеся в R- форме. Мнение об этих вакцинах также разнообразно. Однако заслуживает особого внимания высказывания П.А. Триленко (1975), А.С. Мангазеева и др. (1974) Н.П.

Иванова (1979) о том, что инактивированная вакцина активно провоцирует скрытое бруцеллоносительство, латентные формы бруцеллеза.

Другие исследователи считают, что вакцина из R- формы (дуфавак) не провоцирует образование агглютининов.

Согласно нашим данным (В.Б. Тен, Н.П. Иванов, М.Б. Базарбаев, Б.А. Улубаев) убитая вакцина из R-формы в чистом эксперименте не вызывает образование S- антител, а в условиях производства проявление S- антител зависит от эпизоотической ситуации хозяйства.

В благополучном хозяйстве, которое было оздоровлено 2-4 года назад (срок наблюдения) могут выявляться положительно реагирующие животные (КРС, МРС). Несмотря на то, что в течение 2-4 лет, реагировавших на бруцеллез животных не наблюдалось, т.е. в этом случае срабатывает феномен

- иммунная память.

Вакцины имеют ряд недостатков:

- персистенция;
- реверсия;
- миграция;
- серопозитивность;
- трансформация;
- трансдукция;
- абортотгенность;
- относительная иммуногенность.

Таким образом, живые вакцины, разработанные в прошлом веке, имеют ряд положительных свойств (сохранение благополучия, ускоренное оздоровление неблагополучных хозяйств), они также имеют отрицательные свойства:

- патогенность;
- трансформация;
- персистенция;
- индукция;
- реверсия;
- миграция;
- вариации штаммов различными производителями.

Кроме того, новое ведение животноводства (разукрупнение крупных животноводческих комплексов) создает определенные сложности применения живых вакцин, которые связаны с тем, что мелкие сельхозформирования, хозяйства расположенные в подворьях не в состоянии полноценно проводить организационно-хозяйственные, ветеринарно-санитарные мероприятия. Вакцинация животных, находящихся в подворьях невозможна по причине миграции в организм не иммунных животных, человека, сложностей правил учета, миграции, содержания различных видов животных, различного возраста, пола.

Түйін

МАЛ БРУЦЕЛЛЕЗИН СПЕЦИФИКАЛЫҚ АЛДЫН АЛУ

Тен В.Б., Абуталип А.А., Султанов А.А., Иванов Н.П., Мустафин Б.М.

«Қазақ ғылыми – зерттеу ветеринария институты» ЖШС

Мақалада жануарлар бруцеллезіне қарсы қолданылатын тірі және инактивтелген вакциналардың сипаттамасы және профилактикалық тиімділігі жөнінде сөз болады.

Summary

SPECIAL PROPHYLAXIS OF BRUCELLOSIS IN ANIMALS

Ten V.B., Abutalip A.A., Sultanov A.A., Ivanov N.P., Mustafin B.M.

Kazakh Scientists Research Veterinary Institute

The article gives a comparative description of live and inactivated vaccines and their effectiveness in brucellosis in animals.

УДК 610:616.98:579.841.93-076

МЕРЫ БОРЬБЫ С БРУЦЕЛЛЕЗОМ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ В ЮЖНО-КАЗАХСТАНСКОЙ ОБЛАСТИ

Тоганаев Ж.К., к.в.н., Жанбырбаев М, к.в.н.

Филиал «Южно – Казахстанская научно – исследовательская ветеринарная станция»

Резюме В статье приведены результаты мониторинга эпизоотической ситуации по бруцеллезу в ЮКО и производственного испытания убитой вакцины против бруцеллеза животных. Установлено, что убитая вакцина против бруцеллеза активно защищает животных от заражения.

Одним из факторов сдерживающих рост и развитие животноводства являются инфекционные болезни, среди которых особое место занимает бруцеллез.

Эта инфекция наносит хозяйствам ощутимый экономический ущерб и создает опасность заражения людей.

В последние годы проблема бруцеллеза среди сельскохозяйственных животных в Южно-Казахстанской области остается напряженной, особенно среди мелкого и крупного рогатого скота.

Результаты анализа материалов официальной Гос.вет.отчетности и проведенного нами согласно графика научно-исследовательских работ по мониторингу эпизоотической ситуации бруцеллеза животных за 2013 год показали, что по области происследовано серологически на бруцеллезную инфекцию 4246,087 голов мелкого рогатого скота. При этом выделено 2336 голов положительно реагирующих животных на бруцеллезный антиген с общей зараженностью к числу исследованных животных 0,06%. За этот же период также серологически (РСК, РБП, ИФА) было происследовано 947099 голов крупного рогатого скота. Из которых 332 голов оказались зараженными бруцеллезной инфекцией, что составляет 0,04% зараженности по области.

Телки текущего года рождения (5-6 мес.) исследованы методом ИФА в количестве 238338 голов, из которых в 21 пробах были получены серопозитивные результаты которые составляют 0,01% зараженности, что является не характерным для данного региона. Более того, в Сузакском районе в 23 пробах сыворотки крови верблюдов были установлены положительные реакции на бруцеллезный антиген. Кроме того, положительные результаты были зафиксированы среди свиней и плотоядных животных соответственно 1 и 4 случаях.

Среди сельских округов наиболее высокий процент зараженности бруцеллезом крупного рогатого скота по области колеблется от 0,20% до 0,38% (Алимтау-0,20%, Каратобе-0,21%, Састобе-0,24%, Шардара-0,25% и Узын-Ата-0,38%), а среди мелкого рогатого скота от 0,18% до 0,42% (Тулькубас-0,18%, Алмалы-0,20%, Шарбулак-0,21%, Жанабазар и Карабау -0,24%, Балыкты-0,28% и Асык-Ата -0,42%).

Анализ данных заболеваемости бруцеллезом животных последних лет показывает увеличение динамики зараженности среди мелкого, крупного рогатого скота, верблюдов и собак. Динамика заболеваемости крупного и мелкого рогатого скота, а также заболеваемости людей представлены на рисунке 1. Из данных рисунка видно, что в настоящее время в Южно-Казахстанской области на фоне стабилизации эпизоотической обстановки по бруцеллезу среди лошадей, свиней и снижения пораженности бруцеллезом крупного рогатого скота, наблюдается тенденция к повышению заболеваемости мелкого рогатого скота, верблюдов, а также людей.

Заболеваемость населения последние годы проявляет устойчивую тенденцию к возрастанию. Наибольшее число случаев впервые выявленного бруцеллеза людей регистрируется в Казыгуртском (28), Ордабасинском (21) и Сайрамском (20) районах.

Что касается выделения эпизоотических культур бруцелл из абортированных плодов, то необходимо отметить, что последние годы практически прекратились бактериологические исследования абортплодов из-за отсутствия доставки патматериалов ветспециалистами участков. В результате чего выделить культуры бруцелл не удастся.

Для предотвращения распространения бруцеллеза среди животных области необходимо проводить строгий контроль за абортплодами бруцеллезной этиологии с помощью бактериологического метода.

7401

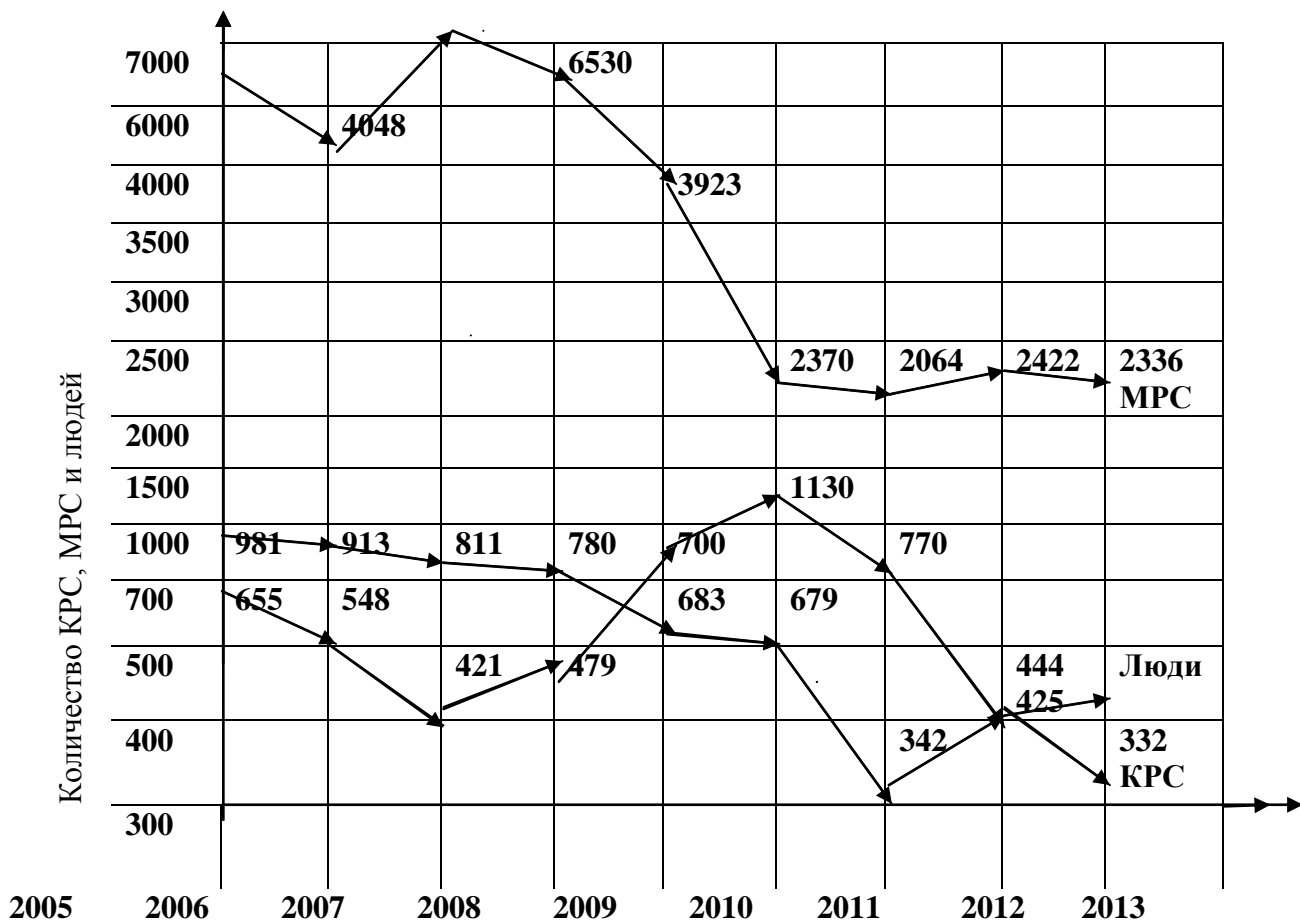


Рисунок 1 - Динамика заболеваемости бруцеллезом крупного, мелкого рогатого скота и людей в Южно-Казахстанской области за 2005-2013 годы

Самым достоверным и окончательным методом диагностики бруцеллеза животных считается бактериологический метод, а основным источником заражения животных и людей являются абортированные плоды, содержащие бруцеллы в больших количествах.

Результаты бактериологических исследований абортплодов представлены в таблице 1.

Таблица 1 - Количество поступивших абортплодов животных для бактериологического исследования в ЮКОФ «РВЛ» с 2001 по 2013 годы.

Годы	Количество доставленных аборт плодов	Кол-во выделенных культур	Кол-во положительно реагирующих КРС	Кол-во положительно реагирующих МРС
2001	414	6	906	1072
2002	31	6	754	1348
2003	116	11	529	1284
2004	230	22	732	4989
2005	165	27	655	6507
2006	186	22	548	4048
2007	377	14	421	7401
2008	77	7	479	6530
2009	34	-	780	3923
2010	6	-	1330	2370
2011	37	-	707	2064
2012	20	-	444	2422
2013	18	-	332	2336

Из данных таблицы 1 видно, что в 2013 году в 21 раз сократились доставка абортплодов для бакисследования по сравнению с 2007 годом, в результате чего прекратилось выделение культуры бруцелл, тогда как количество положительно реагирующих животных из года в год не уменьшается.

В связи со сложившейся в последние годы эпизоотической ситуацией на территории Южно-Казахстанской области, где бруцеллезная инфекция укоренилась давно, особенно среди мелкого и крупного рогатого скота, необходимо принимать соответствующие ветеринарно-санитарные и специальные меры при борьбе с этой коварной антропозоонозной инфекцией.

Несмотря на определенные результаты в области по изучению бруцелл, как самостоятельный токсономический патогенный микроорганизм и особенно в области специфической профилактики и диагностики бруцеллеза, а также принимаемые меры согласно ветеринарных правил, темпы снижения заболеваемости животных в области остаются еще очень медленными, а сроки оздоровления хозяйств затягиваются, что вызывает озабоченность специалистов и работников животноводства области.

Этот вопрос был поднят в режиме Onlain на республиканском уровне, где акцентировали на необходимости срочной ликвидации этой инфекции в нашем регионе.

Проблемой бруцеллеза Южного региона заинтересовались известные ученые, в частности доктор наук Аластер МакМиллан. Он в своем заключении рекомендовал для качественного обеспечения результатов серологического тестирования необходимость определенных образцов сыворотки крови животных, особенно из неблагополучных хозяйств подвергать повторному исследованию в других альтернативных исследовательских лабораториях (типа НИВИ, НИВС и др.) с применением официально рекомендованных МЭБ методов диагностики, а также апробированных комплексных диагностических тестов.

Практика показывает, что аналогичный эксперимент был проведен в 2006 году на базе Южно-Казахстанской НИВС. Было исследовано 420 тыс. проб сыворотки крови крупного и мелкого рогатого скота из 4 районов области, в результате чего удалось ликвидировать и оздоровить от бруцеллеза 12 неблагополучных хозяйств области.

Поэтому, в настоящее время, для ликвидации бруцеллеза в тех неблагополучных хозяйствах, где практикуется смешанное содержание нескольких видов животных, необходимо на наш взгляд проводить диагностические исследования согласно постановления Правительства РК от 9 августа 2013 года за №814 «Об утверждении Ветеринарных (ветеринарно-санитарных) правил» с учетом рекомендации по контролю бруцеллеза доктора МакМиллана, а также передового опыта борьбы с бруцеллезом.

Такой подход дает возможность разработать систему подтверждающего тестирования для обеспечения достоверности и идентичности диагностических результатов, что позволит своевременно ликвидировать бруцеллез среди животных в Южно-Казахстанской области.

Для ликвидации бруцеллезной инфекции в зонах наибольшего его распространения, где практикуется смешанное содержание разных половозрастных видов животных с разными иммунологическими фонами и без них, а также где происходит контакт поголовья скота с больными бруцеллезом животными при совместном содержании их на пастбищах и водопоях, многие зарубежные и отечественные ученые предлагают перспективность иммунизации сельскохозяйственных животных неживыми вакцинами против бруцеллеза, так как они отличаются от живых вакцин более высокой степенью безвредности, стабильности, а также экологической безопасностью (П.А.Ворошилова с соавт.1974, 1982; Г.Е.Игнатов 1981, Е.А.Драновская и др. 1981, 1982; В.И.Белобаб 1998, В.Б.Тен, 1996; В.Б.Тен, А.А.Султанов и др. 2002г.; М.К.Мустафин 2004 и др.). Согласно этому, научными сотрудниками лаборатории бруцеллеза разработана и предложена для практического использования неживая вакцина против бруцеллеза животных.

Предварительно неживая вакцина апробирована сначала в лабораторных условиях. Для испытания активности неживой вакцины против бруцеллеза были созданы 6 групп морских свинок: 1,2 группам животных вводили неживую вакцину; 3 и 4 - вводили вакцину из шт. 82, Rev-1;

5,6 служили контролем. Спустя 2 месяца все животные были инфицированы. Результаты проведенной работы представлены в таблице 2.

Таблица 2 - Индекс иммунитета морских свинок иммунизированных вакцинами: неживой вакциной против бруцеллеза животных, шт. 82, Rev-1.

п/н	№ гр.	Наименование Вакцин	Количество					
			инфици. шт.	исслед. жив.	органов	реагир.	противос т.	иммунитет %
1	I	Неживая Вакцина	Ab	10	90	1	9	90
2	II	Неживая Вакцина	Mel	10	90	2	8	80
3	III	шт.82	Ab	10	90	2	8	80
4	IV	шт.Rev-1	Mel	10	90	-	-	100
5	V	контроль 1	Ab	10	90	10	-	100
6	VI	контроль 2	Mel	10	90	10	-	100

Согласно полученным данным, неживая вакцина против бруцеллеза животных не уступает по активности таковым из живых штаммов.

Для широкого производственного испытания неживой вакцины против бруцеллеза животных, согласно приказа Главного государственного ветеринарного инспектора Республики Казахстан №08-1/1275 от 16 ноября 2001 года была создана комиссия, которой был разработан рабочий план «Производственного испытания неживой вакцины против бруцеллеза животных в хозяйствах Южно-Казахстанской области». Перед проведением опыта по широкому производственному испытанию неживой вакцины было проведено ее испытание на иммуногенную активность, безвредность, реактогенность и абортотенность. При этом неживая вакцина оказалась слабо реактогенной, безвредной и достаточно иммуногенной и не обладала абортотенным свойством.

Работа по производственному испытанию неживой вакцины против бруцеллеза крупного рогатого скота в Южно-Казахстанской области была проведена на базе крестьянского хозяйства «Диханбай» Сайрамского района. Предварительно в двух гуртах было происследовано все поголовье крупного рогатого скота в возрасте от 2 до 5 лет на бруцеллез в РА и РСК. Затем отрицательно реагирующие 76 голов крупного рогатого скота были иммунизированы неживой вакциной против бруцеллеза серии №2, контроль №3. Вакцина применялась путем подкожного введения в дозе 3 мл в область шеи с правой стороны. Через каждые 30 дней после вакцинации, подопытных животных исследовали серологически, для определения динамики накопления и угасания поствакцинальных агглютининов и комплементсвязывающих антител. Данные представлены в таблице 3.

Таблица 3 - Результаты накопления и угасания титров агглютининов и комплементсвязывающих веществ в сыворотке крови крупного рогатого скота иммунизированных неживой вакциной.

Сроки исследования после вакцинации	Крупный рогатый скот							
	Реагирующих в РА	%	Средний титр	Реагирующих в РСК	%	Средний титр	Реагирующих РБП	%
30 дней	30	39,4	120,0	16	21	60,0	33	43,4
60 дней	76	100	88,5	76	100	54,0	76	100
90 дней	48	63,1	56,3	76	100	14,4	40	32,6
120 дней	3	3,9	15,6	46	60,5	8,5	4	5,4
150 дней	2	2,6	7,0	29	3,8	3,2	1	1,3
180 дней	-	-	-	-	-	-	-	-

Как видно из таблицы 3, максимальное накопление титра агглютининов наступает с 30 по 90 дни после иммунизации. При этом 100% животных реагировало в РА и РБП на 60 день со средним титром в РА 88,5. Начиная с 60 дня после вакцинации наблюдается угасание титров агглютининов в РА с последующим полным исчезновением к 180 дню.

Комплементсвязывающие вещества накапливаются позже, но начиная с 60 по 90 дни наступает пик со 100% реагированием. Необходимо отметить, что комплементсвязывающие вещества задерживаются в организме опытных животных в малом количестве до 150 дней, после чего наступает снижение до полного их исчезновения.

Животных, иммунизированных неживой вакциной, подвергли комиссионным исследованиям 2 раза через 6 и 12 месяцев. При этом показания трех тестов (РБП, РА, РСК) были отрицательными. После первичной вакцинации все животные были реиммунизированы неживой вакциной против бруцеллеза животных по гомологическому фону. Установлено, что однократное применение неживой вакцины против бруцеллеза животных позволяет сократить зараженность бруцеллезом неблагополучных по бруцеллезу хозяйствах и способствует оздоровлению от этой инфекции. Аналогичные данные были получены и в Западно-Казахстанской и Костанайской областях, где с помощью неживой вакцины удалось сократить зараженность от 3 до 4% в неблагополучных хозяйствах.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что иммунизация крупного рогатого скота неживой вакциной в условиях Южно-Казахстанской области имеет хорошую перспективу, является надежным иммуногенным вакцинным препаратом, который отвечает всем требованиям ветеринарной практики и может применяться в ветеринарии для иммунизации крупного рогатого скота против бруцеллеза.

Такая же работа по апробации неживой вакцины на мелком рогатом скоте были проведены на базе К/Х «Ушбулак» Казыгуртского района. При этом были получены очень хорошие данные.

Исходя из выше изложенных данных по применению неживой вакцины в условиях Южно-Казахстанской области, где почти во всех хозяйствах практикуется смешанное содержание разных видов и половозрастных животных, считаем при оздоровлении от бруцеллеза крупного рогатого скота целесообразным применение неживой вакцины в комплексе противобруцеллезных мероприятий вместо живых вакцинных препаратов, а также с целью специфической профилактики мелкого рогатого скота иммунизировать вакциной из штамма Rev-1, которая повысит эффективность противобруцеллезных мероприятий и позволит успешно провести оздоровительные работы от бруцеллеза в неблагополучных хозяйствах области.

Заклучение Проведенный мониторинг эпизоотической ситуации по бруцеллезу в ЮКО показывает, что активной тенденции снижения заболеваемости животных не наблюдается, а неживая вакцина испытанная на лабораторных и производственных животных показывает высокую иммуногенную активность. В связи с этим перспективнее в ЮКО для создания перманентного иммунитета применять неживую вакцину против бруцеллеза.

Литература

1. Студенцев К.П. Бруцеллез животных /Кайнар-Алма-Ата 1975.-236с./
2. Иванов Н.П. с соавт. Состояние иммунитета к бруцеллезу у коров, привитых вакцинами из шт.19,104 М и 82. Ст.науч.трудов КазНИВИ.- Алматы,1994.-С.77-85.
3. Тен В.Б. Методологические основы изготовления и совершенствования профилактических противотуберкулезных препаратов и диагностических средств. Автореф. дис...докт.вет.наук:16.00.03.- Алматы,1966. - 45с.
4. Мустафин М.К. Специфическая профилактика бруцеллеза крупного рогатого скота: автореф...докт.вет.наук:30.09.04.-Алматы, ДГП НИВИ 2004-44с.

Түйін

ОҢТҮСТІК ҚАЗАҚСТАН ОБЛЫСЫНДА АУЫЛШАРУАШЫЛЫҚ МАЛДАРЫНЫҢ БРУЦЕЛЛЕЗІМЕН КҮРЕСУ ШАРАЛАРЫ

Тоганаев Ж.К., Жанбырбаев М.

«Оңтүстік Қазақстан ғылыми-зерттеу ветеринария станциясы» филиалы

Мақалада Оңтүстік Қазақстан облысы малдары арасындағы бруцеллез індетінің эпизоотологиялық ахуалы және індетін алдын алу үшін зертханалық және өндірістік жағдайда тірі емес вакцинасын қолданудың тиімділігі баяндалған.

Summary

EVENTS OF PREVENTING BRUCELLOSIS OF FARM ANIMALS IN SOUTH - KAZAKHSTAN

Toganaev Zh.K., Zhanbyrbaev M.

Branch «South - Kazakhstan Scientific - Research Veterinary Station»

The article presents the results of the monitoring of the epizootic situation on brucellosis in South - Kazakhstan and production test killed vaccine against brucellosis animals. It was established that the killed vaccine against brucellosis actively protects animals from infection.

УДК 616.981

АЛЬТЕРНАТИВНЫЕ МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ БРУЦЕЛЛЕЗА

Тюлегенов С.Б., Абдрахманов Т.Ж., Байкадамова Г.А., Сытник И.И., Сейдахметова Р.Д., Карибаев Т.Б., Кожаев А.Н.

АО «Казахский агротехнический университет им. С.Сейфуллина»,

РГП «Национальный референтный центр по ветеринарии» КВКиН МСХ РК

Резюме В статье приводятся результаты сравнительного анализа исследований сыворотки крови крупного рогатого скотана бруцеллез в РБП, РСК и ФПА (флуоресцентно-поляризационный анализ), которые показывают высокую чувствительность метода флуоресцентного поляризационного анализа.

За последние годы возросла эпизоотическая значимость заболевание животных бруцеллезом, оказывая существенное влияние на их благополучие и производительность, что обуславливает необходимость оптимизации системы эпизоотологического надзора и иммунологического контроля бруцеллеза среди животных на территории Республики Казахстан.

Как показывают данные генетических и иммунологических исследований, все представители рода *Brucella* близкородственны между

собой; предлагалось (хотя это предложение пока и не принято Подкомитетом по таксономии) считать все формы этого рода одним видом, в рамках которого все традиционно выделяемые виды (*B. abortus*, *B. melitensis* и т. д.) имели бы лишь статус биоваров [1]. У основных разновидностей есть, заметные различия в отношении предпочитаемых видов хозяев и эпидемиологии, а также геномные особенности, выявляемые на молекулярном уровне. С практической точки зрения удобно придерживаться прежней классификации с традиционным делением на шесть номинальных видов: *Brucella abortus*, *B. melitensis*, *B. suis*, *B. neotomae*, *B. ovis* и *B. canis*. Первые три из них подразделяются еще и на биовары, выделяемые по особенностям культуры и серологическим свойствам. Однозначный вывод о присутствии бруцелл может дать только выделение и идентификация возбудителя, но в ситуациях, где бактериологическое исследование трудноосуществимо, диагноз следует ставить серологическими методами. Не существует какого-то одного метода, позволяющего надежно отнести бактерию к роду *Brucella*. Обычно определение делается с применением комплекса культуральных, бактериологических и серологических методов.

Согласно действующей стратегии по контролю за бруцеллезом для скрининга стад и отдельных особей в Республики Казахстан при проведении массовых диагностических исследований отдельных видов животных на бруцеллез применяют: РА, РСК (РДСК), РИД с О-ПС антигеном, РБП, ИФА, аллергический и бактериологический (с постановкой биопробы) или ПЦР [2]. Вместе с тем, не существует такого серологического метода, который был бы равно пригоден во всех без исключения ситуациях [3,4]. Поэтому позитивные результаты, полученные в пробах при скрининге, необходимо проверять по установленной схеме подтверждения.

В качестве альтернативного подтверждающего метода возможно применение в рамках новой стратегии по контролю за бруцеллезом на территории Республики Казахстан флуоресцентного поляризационного анализа (далее ФПА), который рекомендован Международным эпизоотическим бюро (МЭБ).

ФПА – простой метод количественной оценки взаимодействия антигена с антителом, который можно применять как в лаборатории, так и на местах. Реакция происходит в однородной смеси без разделения исследуемых веществ, поэтому анализ выполняется очень быстро.

В основе метода лежит явление случайного вращения молекул в растворе. Скорость вращения определяется прежде всего размером молекулы и находится от него в обратной зависимости, т. е. маленькая молекула вращается быстрее большой. Если прикрепить к молекуле метку – флюорохром, – можно узнать время поворота на $68,5^\circ$, измерив интенсивность поляризованного света в вертикальной и горизонтальной плоскостях. При этом молекула покрупнее будет испускать больше света в одной плоскости (поляризация сильнее), чем мелкая молекула, которая вращается быстрее и испускает более деполаризованный свет.

В большинстве методик ФПА берут антиген с небольшим молекулярным весом (меньше 50 кДа), метят его флюорохромом и вносят в сыворотку или иную жидкость, исследуемую на присутствие антител. Если антитело в материале есть, оно свяжет на меченый антиген и тем самым замедлит его вращение, а это замедление можно измерить.

Для диагностики бруцеллёза небольшой (печати 22 кДа) фрагмент О-полисахарида (ОПС) из гЛПС *B. abortus* метят изотиоцианатным флюоресцином (FITC) и используют в качестве антигена. Этот антиген вносят в разбавленную сыворотку или в цельную кровь и примерно через 2 мин (в случае сыворотки) или 15 с (в случае крови) снимают показания на поляризационном флюориметре, получая тем самым данные о содержании антител [5].

ФПА можно проводить в стеклянных пробирках или на 96-луночном планшете. Бычью сыворотку разводят 1:100, а если исследуют кровь, обработанную ЭДТА – 1:50 (если кровь обработана гепарином, результаты пробы будут давать большой разброс). Для разведения используется трис-буфер (рН 7,2) следующего состава: 0,01 М трис (1,21 г), 0,15 М хлористый натрий (8,5 г), 0,05% Igepal CA630 (500 мкл) (прежнее обозначение – NP40), 10 ммоль ЭДТА (3,73 г) на литр дистиллированной воды. Приготовив смесь, делают исходный замер на поляризационном флюориметре (ПФМ). Вносят оттитрованный антиген с соответствующей меткой (обычно дающий интенсивность порядка 250000–300000), смешивают и примерно через 2 мин (в случае сыворотки) или 15 сек (в случае крови) делают второй замер на ПФМ. На позитивную реакцию указывают значения (показатель выражен в миллиединицах поляризации – mP), превышающие заданный пороговый уровень. Обычно его устанавливают на уровне 90–100 миллиединиц поляризации, но методику следует откалибровать на месте по стандартным сывороткам международного класса. В качестве контроля необходимо включать резкопозитивную, слабопозитивную и негативную сыворотки, а также сыворотку с вакцином S19.

По литературным данным зарубежных ученых диагностическая чувствительность и избирательность в отношении бруцеллёза метод ФПА очень близок к твердофазному иммуноферментному анализу (ELISA). Оба вида анализа изначально разрабатывались для работы с антигенным препаратом гЛПС бруцелл, поэтому тот и другой исходно применялись для диагностики *B. abortus*, *B. melitensis* и (или) *B. suis*. В одном из недавних исследований сравнивались перспективы применения гЛПС (О-полисахаридной части) и шЛПС (область ядра) в виде единого антигенного препарата в ФПА и непрямом варианте ELISA, чтобы можно было одной пробой определять в материале как гладкие виды бруцелл, так и *B. ovis*, и *B. canis*. Собачья сыворотка дала в пробе ФПА разноречивые результаты; вместе с тем, комбинированный антигенный препарат ОПС и ядра дал очень высокую чувствительность (91-100%) и избирательность (98,8-100%) при обследовании животных, зараженных гладкими

или шероховатыми штаммами бруцелл. В будущем комбинированный диагностический антиген подобного рода может оказаться очень полезным в проведении ФПА при скрининге.

Для изучения эффективности метода ФПА с октября по декабрь 2013 г. совместно с сотрудниками РГП «Национальный референтный центр по ветеринарии» Комитета ветеринарного контроля и надзора Министерства сельского хозяйства (далее НРЦВ) были отобраны 199 проб сыворотки крови от крупного рогатого скота в неблагополучных по бруцеллезу районах Алматинской и Жамбылской области. Кровь отбиралась из яремной вены в верхней трети шеи с использованием вакутайнеров, шерсть на месте взятия крови предварительно выстригали, а кожу дезинфицировали спиртом. После взятия кровь была помещена в автомобильный термостат для отделения сыворотки в течение 2-х часов при температуре 37 °С.

В последующем данные пробы были исследованы в лаборатории НРЦВ методом РБП - реакции роз бенгал пробы, РСК- реакция связывания комплемента и ФПА - флюоресцентно-поляризационный анализ. Испытания проводились согласно методических рекомендаций и наставлений по применению диагностических реагентов и тест систем.

При проведении серологических исследований были получены следующие результаты по Алматинской области при проведении РБП из 96 проб были выявлены 22 положительные, эти же пробы были подтверждены методом РСК и ФПА (см. Таб.1). В Жамбылской области из 103 проб методом РБП было выявлено 5 положительных, РСК и ФПА подтверждены лишь 4 пробы.

Таблица 1 - Результаты лабораторных исследований в разрезе районов Алматинской области

№	Алматинская область	Кол-во проб	Серологические исследования					
			РБП		РСК		ФПА	
			полож	%	полож	%	полож	%
1	Алакольский район	36	16	44	16	44	16	44
2	Сарканский район	36	0	0	0	0	0	0
3	Енбекшиказахский район	24	6	25	6	25	6	25
	Всего	96	22		22		22	

Таблица 2 - Результаты лабораторных исследований в разрезе районов Жамбылской области

№	Жамбылская область	Кол-во проб	Серологические исследования					
			РБП		РСК		ФПА	
			полож	%	полож	%	полож	%
1	Моинкумский район	77	4	5,2	3	3,9	3	3,9

2	Шуйский район	26	1	3,8	1	3,8	1	3,8
		103	5		4		4	

Для полноценного сравнительного анализа в 2014 планируется продолжить исследования 2000 проб сыворотки крови которые будут отобраны в неблагополучных регионах республики. А также будет дополнительно использован метод иммуноферментного анализа.

Литература

1. Moreno E. et al. 2002. Brucella evolution and taxonomy // Vet. Microbiol., 90, 209–227 [Морено Э. и др. Эволюция и таксономия бруцелл]
2. О внесении дополнений в постановление Правительства Республики Казахстан от 9 августа 2013 года № 814 «Об утверждении Ветеринарных (ветеринарно-санитарных) правил»
3. Godfroid J. et al. 2002. How to substantiate eradication of bovine brucellosis when aspecific serological reactions occur in the course of brucellosis testing. Vet. Microbiol., 90, 461–477 [Годфруа Ж. и др. Как обосновать меры по искоренению бруцеллёза крупного рогатого скота, если пробы на бруцеллёз дают аспецифичные серологические реакции]
4. Nielsen K. 2002. Diagnosis of brucellosis by serology // Vet. Microbiol., 90, 447–459 [Нильсен К. и др. Диагностика бруцеллёза серологическими методами]
5. Nielsen K. et al. 1996. A homogenous fluorescence polarisation assay for detection of antibody to Brucella abortus // J. Immunol. Methods, 195, 161–168 [Нильсен К. и др. Гомогенная флюоресцентная поляризационная проба на антитела к B. abortus]

Түйін

БРУЦЕЛЛЕЗДІ БАЛАУДЫҢ АЛЬТЕРНАТИВТІ ӘДІСТЕРІ

Тюлегенов С.Б., Абдрахманов Т.Ж., Байкадамова Г.А., Сытник И.И., Сейдахметова Р.Д., Карибаев Т.Б., Кожаев А.Н.

«С.Сейфуллин ат. Қазақ агротехникалық университеті» АҚ
РМК «Ветеринария ұлттық референттік Орталығы» ҚР АШМ ВБжҚК

Мақалада розбенгал сынамасы, комплемент байланыстыру әдісі және флуоресцентті поляризациялық талдау әдісі арқылы сиыр қанын бруцеллезге салыстырмалы зерттеу қорытындыларын талдағанда флуоресцентті поляризациялық талдау әдісінің жоғары сезімталдылық көрсеткені баяндалады.

Summary

ALTERNATIVE METHODS OF DIAGNOSIS OF BRUCELLOSIS

Tiulegenov S.B., Abdrahmanov T.J., Baikadamova G.A., Sitnic I.I., Seydahmetova R.D., Karibaev T.B. , Kojayev A.N.

«Kazakh Agro Technical University after S.Seifullin»
«National Reference Center for Veterinary Medicine»

The article presents the results of a comparative analysis study researches the serum of cattle for brucellosis in rose bengal test, complement fixation test and fluorescently - polarization analysis, which show a high sensitivity of fluorescence polarization assays.

УДК 619:616.9-07-036:636.32/38

СРАВНИТЕЛЬНЫЕ ПОКАЗАНИЯ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ ПРИ ИССЛЕДОВАНИИ НА БРУЦЕЛЛЕЗ МОЛОКА И СЫВОРОТКИ КРОВИ ВЕРБЛЮДОВ

Узбеков М.Б., магистрант

Казахский Национальный аграрный университет

Резюме В статье приведены данные по заболеваемости бруцеллезом верблюдов и о результатах исследования молока от больных бруцеллезом верблюдов с цветным бруцеллезным антигеном.

Развитие верблюдоводства в РК, как одной из отраслей животноводства, имеет важное народно-хозяйственное значение, так как при этом получают мясо, молоко и шерсть. Кроме того, во многих случаях это животное используют в качестве тягловой силы [1].

В Казахстане и сопредельных государствах СНГ разводят две разновидности верблюдов – бактрианов (двугорбые) и дромедаров (одногогорбые). Имеющиеся в мире безгорбые верблюды – ламы обитают преимущественно в прериях Южной Америки. В нашей стране их не содержат (кроме зоопарков). Общая численность верблюдопоголовья составляет около 12 млн. животных, в том числе 1,7 млн. в нашей стране [2].

Успешное развитие верблюдоводства может быть достигнуто только при условии ветеринарного благополучия [3].

Казахский бактриан имеет две породы, в частности, казахский и калмыцкий. Дромедары представлены также двумя породами – туркменской и казахской [4].

Селекция верблюдов ведется по трем основным направлениям продуктивности: мясо-шерстная, мясо-молочная и молочная. В среднем от каждого животного, в зависимости от породы и направления хозяйственного содержания, за 12 месяцев получают от 6 до 11 кг шерсти от 1500 до 4000 кг молока и от 500 до 800 кг мясной продукции.

Особенно ценным продуктом питания является верблюжье молоко, которое обладает ценными вкусовыми качествами и целебными свойствами. Имеется данные литературы, благодаря большому содержанию в молоке верблюдов иммуноглобулинов, оно помогает в борьбе со СПИДом, гепатитом С, болезнью Альцгеймера, онкологическими заболеваниями и т.д. Молоко верблюдов содержит много антиоксидантов, витамина С, кальция и других ценных веществ, омолаживающих организм человека.

Однако употребление молока верблюдов и молочных продуктов требует контроля качества указанных продуктов, особенно в отношении патогенной микрофлоры, вызывающие болезни общие для животных и человека.

Из числа заразных болезней, зарегистрированных среди сельскохозяйственных животных на территории РК, наибольшее распространение получила бруцеллезная инфекция.

Диагностику бруцеллеза верблюдов осуществляют серологическими реакциями РА, РСК и РБП. Имеются данные литературы (Р.Ж. Сейдахметова, 1994) о возможности применения для этой цели аллергической пробы.

Согласно данным ветеринарной отчетности в 2013 году было исследовано более 200 тысяч проб сыворотки крови верблюдов, при этом выявлено около 300 положительно реагирующих, что составляет 1,5 %.

При получении молока оно не подвергается дополнительному исследованию, так как, к настоящему времени отсутствует узаконенный метод контроля молока на бруцеллез.

В специальной литературе имеются отрывочные данные о возможности проверки верблюжьего молока на бруцеллез с помощью цветного антигена, предназначенного для исследования молока коров [6]. При этом отсутствуют сведения о результатах исследования секрета молочной железы верблюдиц, находящихся в различном физиологическом состоянии и стадий лактационного периода.

Нами проведены соответствующие исследования проб молока, взятых от животных в различные сроки после выжеребки, с помощью антигена из убитых нагреванием бруцелл и окрашенных гемотоксилином. При этом имело место проявление реакции осадочного типа. Полученные нами данные приведены в таблице 1.

Таблица 1 - Результаты исследования на бруцеллез проб молока и сыворотки крови верблюдов в различные сроки после выжеребки

Сроки после выжеребки (мес.)	Кол-во проб молока и сыв. крови	Позитивные показания				
		РБП	РА	РСК	РМ	Всего
5	14/41,1	2/5,9	-	-	2/5,9	2/5,9
7	9/26,5	1/2,9	1/2,9	1/2,9	1/2,9	1/2,9
10	11/32,3	1/2,9	2/5,9	-	-	2/5,9
Итого	34/100	4/11,8	3/8,8	1/2,9	3/8,8	5/14,7

Примечание: В дробных числах - числитель – абсолютное количество, знаменатель - проценты.

Из данных таблицы 1 видно, что из 34 исследованных проб позитивные показания получены в 5-ти случаях, в том числе 3 из них – при исследовании молока. Во всех случаях положительные показания реакции с молоком совпали с результатами серологических исследований. При этом нами не отмечено каких-либо отличительных особенностей при исследовании молока верблюдиц в различные сроки лактационного периода.

Совпадение результатов исследований на бруцеллез биоматериала от животных неблагополучного табуна верблюдов, в определенной мере, свидетельствует о специфичности показаний иммунологического теста при исследовании молока.

Проведенные исследования позволяют сделать следующие выводы:

1. Среди верблюдов на территории Казахстана имеет место бруцеллезная инфекция. Заболеваемость этого вида животных в течение года в целом по Республике составляет 1,5 %.

2. Диагностика бруцеллеза верблюдов базируется на проведении серологических исследований.

3. В Республике Казахстан молоко, получаемое от верблюдов, не подвергается проверке на бруцеллез, что не обеспечивает пищевую безопасность получаемого продукта.

4. Молоко, получаемое от больных бруцеллезом верблюдов, дает позитивную реакцию с цветным бруцеллезным антигеном, что может быть использовано при контроле бруцеллеза среди верблюдоматок.

Практические предложения 1. Молоко, получаемое от верблюдоматок, необходимо подвергать проверке на бруцеллез с помощью цветного бруцеллезного антигена.

2. Для контроля молока верблюдиц на бруцеллез использовать цветной антиген, предназначенный для постановки кольцевой реакции.

Литература

- 1 Коспаков Ж.К. Микробиологические и цитологические исследования молока верблюдиц и разработка санитарно-гигиенических режимов его получения // дисс. канд. вет.наук, М.-1976-165с.
- 2 Жакибаева М. kazakhzerno.ansaaaaaa@gmail.com
- 3 Иванов Н.П. Бруцеллез животных и меры борьбы с ним. - Алматы.2007-610 с.
- 4 Сейдахметова Р.Ж. Аллергический метод диагностики бруцеллеза верблюдов //Автореф. дисс. канд. вет. наук. Алматы, 1994 – 17с.
- 5 Баймуканов Д.А., Баймуканов А., Турумбетов Б.С. Генефондверблюдов Казахстана //Верблюдоводство Казахстана XXI века (к 70-летию профессора Асылбека Баймуканова). - Алматы: Бастау, 2009. – С.20-34.
- 6 Чичибабин Е.С.Сравнительная эффективность методов диагностики бруцеллеза верблюдов. // Автореф.дисс.канд.вет.наук. Белая Церковь, 1968 – 17с.

Түйін

ТҮЙЕЛЕРДІҢ СҮТІ МЕН ҚАН САРЫСУЫН ЗЕРТТЕУ БАРЫСЫНДА ИММУНОЛОГИЯЛЫҚ РЕАКЦИЯЛАРДЫҢ САЛЫСТЫРМАЛЫ КӨРСЕТКІШТЕРІ

Узбеков М.Б.

Қазақ ұлттық аграрлық университеті

Мақалада түйе малының бруцеллез ауруына шалдығу деңгейі және бруцеллезбен ауырған түйеден алынған сүтті түрлі-түсті арнайы бруцеллез антигенімен зерттеу нәтижелері баяндалады.

Summary

COMPARATIVE MEASUREMENTS OF IMMUNOLOGICAL REACTION TO TESTS FOR BRUCELLOSIS MILK AND BLOOD SERUM OF CAMELS

Uzbeks M.B.

Kazakh National Agrarian University

The article presents data on brucellosis camels and findings from patients with brucellosis milk camels with color brucella antigen.

УДК:619:616.988:614.47.

ЦВЕТНОЙ БРУЦЕЛЛЕЗНЫЙ АНТИГЕН ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ БРУЦЕЛЛЕЗА СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ

Хамдамов Х.А., Мавланов С.И., Яраев Р.Г.

Узбекский научно-исследовательский институт ветеринарии,
г. Самарканд

Резюме В статье приводятся результаты сравнительных исследований цветного бруцеллезного антигена производства УзНИИВ при серологическом исследовании сывороток крови животных из различных эпизоотических групп.

Ликвидация бруцеллеза животных представляет собой одну из актуальных задач ветеринарии и здравоохранения, так как эта болезнь причиняет значительный ущерб животноводству и представляет угрозу здоровью населения.

Основу борьбы с бруцеллёзом животных составляет система организационно - хозяйственных и ветеринарно - санитарных мероприятий направленных на предупреждение заноса инфекции, своевременную диагностику, выделения больных животных и проведения надёжной дезинфекции. Одним из основных звеньев в общем комплексе противобруцеллезных мероприятий является диагностика, осуществление которой в настоящее время проводится, в основном, с помощью бактериологических и серологических методов исследования. При этом наиболее достоверным при получении положительного результата является бактериологический, так как обнаружение культуры бруцелл является неоспоримым доказательством наличия инфекции. Однако по частоте выявления возбудителя болезни, трудоемкости исполнения и затратам, этот метод значительно уступает серологическому.

Серологический метод является более доступным для проведения массовых исследований, достаточно чувствительным, специфичным. Успех проведения серологических методов во многом зависит от использования качественных диагностикумов.

Изготовление высокочувствительных и наиболее полноценных в антигенном отношении диагностикумов имеет чрезвычайно большое значение для полного выявления больных бруцеллезом животных, установление иммунологической характеристики стада, определения некоторых свойств вакцинных препаратов, кроме того, получение высокоэффективных реакций антигенов важно для изучения родственных связей различных видов бруцелл и других микроорганизмов, так как антигенная структура их в известной мере, отражает генетические взаимоотношения между ними.

Получение высокоэффективных и специфичных препаратов для выявления бруцеллезных инфекций в различных формах её проявления возможны при знании соответствующих биологических свойств

используемых для этих целей штаммов бруцелл, установление локализации различных антигенов в микробной клетке, разработке способов их извлечения, определения физико-химической характеристики специфических начал и оптимальных условий проявления их действий.

В настоящее время во всех странах, в том числе и в Узбекистане, для проведения успешной борьбы с бруцеллезом животных в качестве основных методов диагностических исследований применяют серологические реакции, такие как РБП (Роз бенгал проба), пробирочная РА (реакция агглютинации), РСК или РДСК (реакции связывания и длительного связывания комплемента) и КР (кольцевая реакция с молоком).

При проведении выше указанных исследований решающее значение имеет качество диагностических препаратов с высокой чувствительностью и специфичностью.

До настоящего времени бруцеллезные диагностикумы в Узбекистан завозились из России и были связаны с огромными материальными затратами и непредвиденными сложностями, поэтому, в связи с возросшими требованиями предъявляемыми практикой к биологическим препаратам, в том числе и к бруцеллезным антигенам, назрела настоятельная необходимость в разработке отечественных средств серологической диагностики бруцеллеза с последующим представлением в биопромышленность Узбекистана нового «Цветного бруцеллезного антигена для пластинчатой реакции агглютинации при диагностике бруцеллеза животных».

Роз Бенгал антиген, импортируемый из России в Узбекистан, производится из штамма-19 *Brucella abortus*. После установления независимости страны, наши исследования были посвящены разработке нового цветного бруцеллезного антигена для пластинчатой реакции агглютинации (ПРА), который обладал бы более высокой антигенностью и агглютинабельностью по сравнению с цветным бруцеллезным антигеном из вакцинного штамма-19 *Brucella abortus*. Основными преимущественными критериями нашего цветного бруцеллезного антигена, является его специфичность и более удобные качества вакцинного штамма 104-М *Brucella abortus* по росту на питательных средах для производственной технологии промышленного выпуска антигена.

Мы использовали вакцинный штамм 104-М в качестве антигена для пластинчатой реакции агглютинации (ПРА), из-за его высоких антигенных и агглютинабельных свойств.

Трех суточная культура штамма 104-М *Brucella abortus* выращенная на плотной питательной среде была в дальнейшем инактивирована при 80 °С с титрацией буферным раствором и последующим окрашиванием бактериальной массы в розовый цвет. Этот цветной бруцеллезный антиген был испытан на активность и специфичность. Активность нового цветного бруцеллезного антигена была испытана на 40 пробах сывороток крови крупного рогатого скота, экспериментально зараженных бруцеллезом.

Результаты показали, что сыворотки крови экспериментально зараженных животных реагируют с новым цветным бруцеллезным антигеном в течение 4 минут как крупно зернистый агглютинат и этот антиген не уступает по активности бруцеллезному антигену из штамма-19 Brucella abortus российского производства.

Специфичность бруцеллезного антигена разработанного в Узбекском НИИ Ветеринарии была испытана на 407 пробах сывороток крови крупного рогатого скота, включая 30 проб скота, вакцинированного против эмфизематозного карбункула, 50 проб против сибирской язвы, против туберкулеза – 30 проб, против ящура -15 проб, телята до двух месячного возраста свободные от бруцеллеза - 20 проб, 162 - пробы от условно здорового крупного рогатого скота индивидуального сектора и 60 проб от молодняка крупного рогатого скота 3-6 месячного возраста, содержащегося на специализированной ферме, до его вакцинации. Результаты показали, что цветной бруцеллезный антиген производства УзНИИВ дал отрицательную реакцию с сыворотками крови животных из различных эпизоотических групп.

За последние более 10 лет, цветной бруцеллезный антиген для пластинчатой реакции агглютинации (ПРА) выпускается в лабораторных условиях УзНИИВ для реализации в ветеринарную практику. В настоящее время годовой выпуск цветного бруцеллезного антигена доведен до 100 литров, что позволяет удовлетворить потребности ветеринарии Республики Узбекистан в исследовании более 17 млн. проб крови от животных.

Түйін

АУЫЛШАРУАШЫЛЫҒЫ МАЛДАРЫНЫҢ БРУЦЕЛЛЕЗІН БАЛАУ ҮШІН ТҮСТІ БРУЦЕЛЛЕЗДІ АНТИГЕН

Хамдамов Х.А., Мавланов С.И., Яраев Р.Г.

Өзбек ғылыми – зерттеу ветеринария институты, Самарқанд қ.

Мақалада Өзбек ҒЗВИ жасалынған түрлі-түсті бруцеллез антигенімен әр түрлі эпизоотикалық топтарға жататын жануарларды серологиялық тәсілмен зерттеудің салыстырмалы нәтижелері келтірілген.

Summary

COLOR BRUCELLA ANTIGENS FOR DIAGNOSIS OF FARM ANIMALS' BRUCELLOSIS

Hamdamov H.A., Mavlanov S.I., Yaraev R.G.

The article presents the results of comparative studies of color Brucella antigen production from UzSIV for serological study of blood serum of animals from different epizootic groups.

УДК: 57.083.18

ОПРЕДЕЛЕНИЕ БРУЦЕЛЛ, ЦИРКУЛИРУЮЩИХ СРЕДИ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ АК-ТАЛИНСКОГО РАЙОНА, ДО ВИДОВОЙ ПРИНАДЛЕЖНОСТИ

Чегиров С.Б., Дарданов Б.Э., к.в.н.

Кыргызский научно - исследовательский институт ветеринарии
имени А. Дуйшеева

Резюме Массовая вакцинация ярок вакциной Рев-1 в течение последних 4 лет позволила более чем вдвое снизить зараженность овец и крупного рогатого скота бруцеллезом. Подтверждена доминирующая роль бруцеллы мелитенсис среди других видов бруцелл. Установлена миграция бруцелл среди нетиповых хозяев.

Борьба с бруцеллезом сельскохозяйственных животных является одной из самых актуальных проблем мировой ветеринарной науки. Эта болезнь наносит огромный экономический ущерб хозяйствам по разведению крупного рогатого скота, овец и свиней. У больных животных снижается продуктивность, не исключены аборт и мертворождение приплода. Больные животные и полученные от них продукты являются основным источником заражения людей.

По данным Объединенного комитета экспертов ФАО/ВОЗ по бруцеллезу (шестой доклад, 1986), бруцеллез сельскохозяйственных животных распространен практически во всех странах мира.

В Кыргызской Республике бруцеллез регистрируется практически среди всех видов сельскохозяйственных и домашних животных. Наиболее важное эпизоотологическое и эпидемиологическое значение имеет бруцеллез крупного и мелкого рогатого скота. Высокий уровень заболеваемости населения наблюдается в Иссык-Кульской, Нарынской, Таласской, Чуйской областях. Особую тревогу вызывает тот факт, что 25% из числа заболевших составляют дети и подростки до 18 лет. В этой связи поиски новых средств и методов борьбы с бруцеллезом остается актуальной задачей для ветеринарной науки. Несовершенство традиционных методов диагностики бруцеллеза обуславливает актуальность проблемы по изучению и освоению молекулярно-генетических экспресс - методов, как полимеразная цепная реакция (ПЦР) и анализ полиморфизма длины рестрикционных фрагментов.

Не менее актуальной задачей является идентификация и классификация бактерий бруцелл, вызывающих инфекционное заболевание.

Знание циркулирующих типов возбудителей бруцеллеза крайне важно для организации эпизоотического и эпидемиологического надзора, проведения противоэпидемических мероприятий, краткосрочного и долгосрочного прогнозирования. При изучении биологии возбудителя использован клинический материал, патматериал, сыворотки крови. Исследование материала проводилось с помощью молекулярно-генетических и иммунно-серологических методов. Иммуносерологические реакции проводились по методикам, описанным в методических указаниях по профилактике и лабораторной диагностике бруцеллеза.

Для идентификации бруцелл до вида взяты образцы крови КРС, МРС, яков, свиней и собак из неблагополучных хозяйств разных регионов Кыргызской Республики с неизвестной историей вакцинации или инфекции. Образцы исследованы серологическим методом (РБТ) для выявления специфических антител. До постановки ПЦР анализа от положительно реагирующих животных взяты образцы крови с добавлением ЭДТА. Цельную кровь брали в пробирки объемом 5-10 мл с предварительно добавленным антикоагулянтом (3% раствор ЭДТА из расчета 10:1). ДНК бруцелл выделяли из клеток крови с использованием набора для экстракции ДНК из венозной крови DNeasy Blood Kit (“Qiagen”, Германия).

При статистической обработке результатов использованы методы математической статистики, принятые в биологии и медицине (Ашмарин И.П., Воробьев А.А., 1962).

Согласно принятой в республике стратегии борьбы с бруцеллезом с 2008 г. применяется массовая вакцинация ярочного поголовья вакциной Рев-1 конъюнктивально.

Таблица 1 - Инфицированность с.х. животных бруцеллезом по материалам, взятым в Ак-Талинском районе, 2012 г.

№	Вид ж-х	Исследовано проб	Из них положительных проб по				В них обнаружены по ПЦР			
			РБТ		ИФА		B.melitensis		B.abortus	
1	МРС	4580	340	7,4%	298	6,5%	285	95,6%	13	4,4%
2	КРС	1027	5	0,49%	4	0,39%	2	50%	2	50%
3	Лошади	982	5	0,51%	5	0,51%	1	20%	4	80%
4	Итого	6589	350	5,3%	307	4,6%	288	93,4%	19	6.6%

По результатам серологических исследований методом РБТ и ИФА положительно реагирующих животных в результате применения вакцины Рев-1 сократилось среди овец и коз до 6,5%, среди КРС до 0,4%. В целом по Ак-Талинскому району в течение 3-х лет инфицированность животных сократилась с 9 до 4,7 %.

Из 307 проб в 288 случаях обнаружены B.melitensis, в 19 - B.abortus. По видам животных соответственно МРС – 285 и 19; КРС 2 и 2, лошади 1 и 4.

Следовательно, преобладающим видом бруцелл является *B.melitensis*, а среди КРС и овец наблюдается миграция *B.abortus*.

Таблица 2 - Серологические исследования овец на бруцеллез в разрезе сёл Ак-Талинского района, 2012год

№ п/п	Наименования поселков	Исследовано проб	Из них положительных проб по		В них обнаружены по ПЦР	
			РБТ	ИФА	<i>B.melitensis</i>	<i>B. abortus</i>
1	Көш-Дөбө	250	4	4	4	0
2	Жерге-Тал	250	44	33	31	2
3	Кызыл-Белес	250	19	17	16	1
4	Байгончок	241	17	13	13	0
5	Чолок-Кайын	256	7	7	6	1
6	Коңорчок	250	25	21	19	1
7	Кара-Бүргөн	250	10	8	8	0
8	Ак-Чий	350	23	22	21	1
9	Жаңы-Тилек	250	11	11	11	1
10	Терек	250	32	31	30	1
11	Баетов	250	7	7	7	0
12	Кайыңды-Булак	250	31	29	27	2
13	Үгут	230	21	18	18	1
14	Ак-Тал	251	18	17	17	2
15	Ак-Кыя	252	21	17	16	1
16	Көк-Жар	250	11	11	11	1
17	Жаңы-Талап	250	10	6	6	0
18	Кара-Ой	250	29	26	24	1
19	Всего	4580	340	298	285	13

Данные таблицы 2 подтверждают доминирующую роль бруцеллы мелитензис, а также миграцию *B.abortus* среди овец в 0,3% случаев. Всего положительных проб из числа исследованных (4580) оказалось 298, или 6,5%, что ниже исходной зараженности овец (11,4%) почти вдвое. Это результат применения вакцины Рев-1 на маточном поголовье овец.

Таблица 3 - Серологические исследования коров на бруцеллез в разрезе сёл Ак-Талинского района, 2012год

№ п/п	Наименования поселков	Исследовано проб	Из них положительных проб по		В них обнаружены по ПЦР	
			РБТ	ИФА	<i>B.melitensis</i>	<i>B. abortus</i>
1	Жерге-Тал	55	2	2	1	1
2	Ак-Кыя	56	1	1	0	1
3	Кара-Ой	56	1	1	1	0
4	Другие села	860	0	0	0	0
5	Всего	1027	5	4	2	2

Таким образом, в результате реализации стратегии борьбы с бруцеллезом путем применения вакцины Рев-1 зараженность коров бруцеллезом снижена до 0,4% против 1,6% в 2008 г. По результатам ПЦР анализа обнаружена миграция возбудителя бруцелла мелитензис среди коров.

Таблица 4 - Серологические исследования лошадей на бруцеллез по Ак-Талинскому району, 2012 год

№ п/п	Наименование поселков	Исследовано проб	Из них положительных проб по		В них обнаружены	
			РБТ	ИФА	<i>B.melitensis</i>	<i>B. abortus</i>
10	Терек	55	5	5	1	4
18	Другие сел	977	0	0	0	0
19	Всего	982	5	5	1	4

Уровень зараженности лошадей бруцеллезом самый минимальный и сохранился прежним за истекшие 4 года. Обнаружена миграция возбудителя бруцелла мелитензис среди лошадей.

Борьба с бруцеллезом является важной проблемой здравоохранения в развивающихся странах. Бруцеллез является основной причиной, тормозящей развитие животноводства, совершенствования племенных качеств и продуктивных скота. Для борьбы с бруцеллезом в эндемичных регионах знание эпидемиологической и эпизоотологической ситуации имеет большое значение. Наукой установлено, что разные виды бруцелл имеют своих хозяев. Так, *B.melitensis*, в основном, поражает овец. Основным хозяин *B.abortus* является крупный рогатый скот. Эпизоотологическая информация может помочь контролировать наличие или отсутствие инфекции у овец,

крупного рогатого скота, а также среди населения. Основные приемы борьбы с бруцеллезом это высокоспецифическая диагностика и вакцинация мелкого рогатого скота, выбраковка инфицированного поголовья.

Борьба с бруцеллезом начинается с обнаружения болезни у животных путем массового серологического обследования. Далее проводится надлежащая безопасная вакцинация восприимчивых животных. С учетом экологических различий между видами бруцелл, регистрируемых на территории конкретной зоны, подбирается наиболее соответствующая и безопасная вакцина, а также время вакцинации. Также следует учесть, что некоторые вакцинные штаммы Рев-1 могут заражать человека. Вакцинация может вызывать остановку развития плода у овец и коров. Поэтому подбор наиболее соответствующей вакцины, близкой по биологическим свойствам циркулирующим типам бруцелл, имеет большое значение.

Согласно пилотной программы борьбы с бруцеллезом в течение 2008-2012 гг. проводилась массовая вакцинация ярок вакциной Рев-1. Это позволило сократить инфицированность крупного рогатого скота с 1,6 до 0,4%, овец с 9 до 4,7%.

Нами впервые в ветеринарной науке Кыргызстана проведено молекулярно - генетическое типирование 2-х типов бруцелл (*B.abortus*, *B.melitensis*) и степень их видового родства и разнообразия. Исследования указывали на миграцию возбудителей бруцеллеза на нетиповых хозяев.

Литература

1. Гребенникова Т.В., Грабовецкий В.В. и др. Дифференциальная диагностика микобактерий методом ПЦР // Ветеринария, 1999. - №3. - С.17-20.
2. Поляков И.В., Соколова Н.С. Практическое пособие по медицинской статистике. - Л.: Медицина. 1975. - С.55-58.
3. Складов О.Д. и др. Молекулярное типирование м.о. // Сб. тезисов 4-й Всероссийской научно-практической конф. - М., 2002. - 240с.
4. Складов О.Д. и др. Молекулярные механизмы генотипирования патогенов // Сб. науч. тр. ВГНКИ. - М., 2003. - 64с.
5. Шумилов К.В. и др. Новейшие методы диагностики бруцеллеза // Ветеринария, 1996. - С.12.
6. Moreno E, Cloeckaert A, Moriyon I (2002). *Brucella* evolution and taxonomy. *Vet Microbiol*, 90 (1-4): 209-27.
7. Rodriguez A, Abad R, Orduna A (1992). Species and biovars of the genus *Brucella*. Etiology of human brucellosis in Spain. *Enferm Infec Microbiol Clin*, 10(1): 43-8.
8. Boschioli ML, Foulongne V, O'Callaghan D (2001). Brucellosis: a worldwide zoonosis. *Curr Opin Microbiol*, 4(1): 58-64.

9. Zinsstag J, Roth F, Orkhon D, Chimed-Ochir G, Nansalma M et al. (2005). A model of animal-human brucellosis transmission in Mongolia. *Prev Vet Med*, 69(1-2): 77-95.

10. Wallach JC, Giambartolomei GH, Baldi PC, Fossati CA (2004). Human infection with M- strain of *Brucella canis*. *Emerg Infect Dis*, 10(1): 146-48.

11. Godfroid J, Cloeckaert A, Liautard JP, Kohler S, Fretin D, Walravens K et al. (2005). From the discovery of the Malta fever's agent to the discovery of a marinemammal reservoir, brucellosis has continuously been a re-emerging zoonosis. *Vet Res*, 36(3): 313-26.

12. Taleski V, Zerva L, Kantardjiev T, Cvetnic Z, Erski-Biljic M, Nikolovski B et al. (2002). An overview of the epidemiology and epizootology of brucellosis in selected countries of Central and Southeast Europe. *Vet Microbiol*, 90(1-4): 147-55.

13. Garin-Bastuji B, Blasco JM, Grayon M, Verger JM (1998). *Brucella melitensi* infection in sheep: present and future. *Vet Res*, 29(3-4): 255-74.

14. Ocholi RA, Kwaga JK, Ajogi I, Bale JO (2005). Abortion due to *Brucella abortus* in sheep in Nigeria. *Rev Sci Tech*, 24 (3): 973-9.

Түйін

АК – ТАЛИН АУДАНЫНЫҢ АУЫЛШАРУАШЫЛЫҒЫ МАЛДАРЫНЫҢ АРАСЫНДА ЖҮРЕТІН БРУЦЕЛЛАЛАРДЫҢ ТҮРГЕ ЖАТАТЫНДЫҒЫН АНЫҚТАУ

Чегиров С.Б., Дарданов Б.Э.

А. Дуйшеев ат. Қырғыз ғылыми – зерттеу ветеринария институты

Мақалада қозыларды соңғы 4 жыл бойы Рев-1 вакцинасымен егу бруцеллезбен ауру деңгейін екі есе азайтқандығы және бруцеллалардың типке жатпайтын иелерде кездескені, көбінесе бруцеллалардың мелитензис түрі бөлініп алатындығы баяндалады.

Summary

DEFINING OF BRUCELLA, CIRCULATING AMONG LIVESTOCK SPECIES IN AK- TALIN REGION

Chegirov S.B., Dardania B.E.

Kyrgyz Research Institute of Veterinary after A. Duisheeva

Mass vaccination bright Rev -1 vaccine in the past 4 years has allowed more than halve the infection of sheep and cattle brucellosis. Confirmed the dominant role of *Brucella melitensis* among other *Brucella* species . Established migration of atypical *Brucella* hosts.

ДЕТЕКЦИЯ БАКТЕРИЙ РОДА БРУЦЕЛЛ С ПОМОЩЬЮ ПЦР – ПДРФ АНАЛИЗА

Чегиров С.Б.

Кыргызский научно-исследовательский институт ветеринарии
имени А. Дуйшеева

Резюме С помощью ПЦР-ПДРФ анализа впервые в Кыргызстане бруцеллез исследован до видовой принадлежности возбудителя

Традиционными серологическими методами можно диагностировать бруцеллез, но практически невозможно идентифицировать бруцеллы до видовой принадлежности. Для точного определения вида возбудителя бруцеллеза и его регионального распространения нами применена полимеразная цепная реакция. Для этого в неблагополучных по бруцеллезу хозяйствах взято 120 образцов крови, из них выделена геномная ДНК, содержащая штаммы бруцелл.

Из выделенной геномной ДНК проведена амплификация генома *omp2* с использованием специфических праймеров. ПЦР продукты подвергнуты электрофорезу с окрашиванием бромидом этидия. Провели рестрикционный анализ с применением *PstI* фермента. После рестрикции ПЦР продуктов 112 проб из 120 имели одинаковый размер – 1100 bp, соответствующий *Brucella melitensis*, Таким образом было установлено, что в 112 образцах крови содержались возбудители вида *Brucella melitensis*, а в 8 пробах бруцелла абортус. Следовательно, биотип *Brucella melitensis* не является единственным на территории республики, наряду с ним регистрируется также и бруцелла абортус. Это необходимо учитывать при организации противобруцеллезных мероприятий.

С разработкой PCR-RFLP появилась возможность изучения полиморфизма в ряде генов, включая *omp2*, *dnaK*, *htr*, и *ery* (16), большинства наружных белков мембран (OMP) *Brucella* spp. Данный метод первоначально был применен в 1980 году при классификации генома бактерий в соответствие с их средней молекулярной массой. Определяя гены *omp2a* и *omp2b*, представилась возможность отличить шесть видов *Brucella* и некоторые их биовары. И как показывают эпизоотические мониторинги, вполне вероятно проникновение новых штаммов *Brucella* в разные регионы республики. Сведения о наличии видов *Brucella* в регионе необходимы для организации целенаправленных мер профилактики и лечения заболевания. С помощью молекулярно-биологических методов было установлено, что единственный биовар *Brucella melitensis* на территории в Кыргызстана был биовар 3.

В данной работе нами применена PCR-RLFP для изучения видов и биоваров, зарегистрированных на территории Кыргызской Республики.

Работа с возбудителем *Brucella* достаточно опасная, поэтому для предотвращения передачи болезни персоналу лаборатории должны применяться строгие меры 3-го уровня биологической безопасности.

Отбор проб. Для идентификации *Brucella* spp. нами использовано биотипирование и серотипирование. Для этого было исследовано 120 проб бруцелл выделенных из разных регионов Кыргызстана. Все образцы были перепроверены на базе Жайылского государственного межрайонного центра ветеринарной диагностики и Кыргызского НИИ ветеринарии им. А. Дуйшеева, Республиканском центре ветеринарной диагностики и экспертизы, подтверждена их принадлежность к *brucella*. Штаммы бруцелл из крови и абортированных плодов были культивированы на агаре и на триптическом соевом агаре при 37 °C в течение 48 ч традиционными методами.

Выделение ДНК Чтобы извлечь хромосомные ДНК, культивированные бактерии *Brucella* были смыты с пластин в 5 мл фенол/солевого раствора (0,1% вес/объем и 0,85% вес/объем, соответственно). Обработанные бактерии были подвергнуты инкубации при 68 °C в течение 2 ч с последующим центрифугированием 20 минут при 5000 оборотах в минуту. Затем бруцеллы были инкубированы в растворе лизоцима (4 мг/мл) в течение 30 мин при 4 °C. Далее в рабочий раствор был добавлен додецилсульфат натрия (0,5% в/о) и протеиназа К (200 мг/мл) и продолжено инкубирование при 37 °C в течение 1 часа. Для очистки экстрагированной ДНК от белковых фракций, клеточного лизата применен однократно фенол-хлороформ-изоамиловый спирт (25:24:1) и однократно смесь хлороформ-изоамиловый спирт (24:1). Для повышения концентрации выделенной и очищенной ДНК был применен этанол. Осажденную ДНК промывали 70% этанолом. Качество и количество извлеченного ДНК определяли УФ спектрофотометрией (OD 260/280). Далее провели электрофорез в 1% агарозном геле с применением TAE буфера и бромид этидия (0.5µg/мл) для окрашивания, ДНК затем хранили при 4 °C до использования.

ПЦР-амплификация. *Brucella omp2a* ген был использован в качестве ДНК-мишени для ПЦР-амплификации. Специфические олигонуклеотиды были использованы для простого многократного увеличения числа копий генного локуса (20). Последовательности из прямого и обратного праймеров были: *omp2a* F 5'-ССТТCAGССААТCAGААТG-3', *omp2a* R 5'-GGTCAGCАТААААAGCАAGC-3', Праймеры были синтезированы в ОДО «Праймтех» (Беларусь) с использованием синтезатора Alf ДНК. Реакционная смесь для ПЦР-амплификации содержала 50 mM KCl, 1,75 mM MgCl₂, 0,1%(масса/объем) Тритон X-100, 0,2 мг/мл BSA и 10 mM Трис-HCl (pH 8,5), 10 mM каждого из четырех дНТФ, 100 нг ДНК образца, 1 пМоль каждого соответствующего олигонуклеотидной затравки и 1 U Taq ДНК-полимеразы (Promega США). Условием постановки ПЦР был 1 цикл продолжительностью 45 сек при 95 °C для предварительной ДНК

денатурации с последующими 35 циклами, состоящими из 30 сек 95 °С в течение денатурации ДНК, 1 мин при 50 °С и 1 мин при 72 °С для полимеразы-опосредованного удлинения затравки с одним последним циклом при 72 °С в течение 7 мин. ПЦР была выполнена в Eppendorf Термоциклере, затем 10 мкл продукта ПЦР амплификации был проанализирован с помощью электрофореза в агарозном (1,5%) геле.

Рестрикционный анализ ПЦР-продукта Далее ПЦР-продукты были подвергнуты рестрикционному анализу с использованием нуклеазы рестрикции *PstI*. Рестрикционный анализ проводился в соответствии с инструкцией изготовителя (Fermentas). К 20 мкл реакционной смеси, содержащей 8 мкл продукта ПЦР, добавляли 2 мкл соответствующего буфера, 10 мкл ddH₂O. Реакционную смесь инкубировали при 37 °С 2 часа, результаты ферментации считывали на электрофорезе в агарозном геле (2%) и окраской бромидом этидия.

Из 120 образцов крови и аборт плодов успешно выделена геномная ДНК бруцелл, в среднем около 100 мкг ДНК высокой чистоты. Из каждого образца извлеченную ДНК подвергали ПЦР амплификации, как описано выше. У ПЦР продуктов всех 120 проб был один и тот же размер 1100 bp. Далее ПЦР продукты были исследованы с использованием рестриктазы *PstI*, результаты рестрикционного анализа проанализированы с помощью электрофореза в агарозном геле. Характер исчерченности PCR-RFLP для 112 штаммов был аналогичным характеру исчерченности биовара 3 *Brucella melitensis*, у 8 образцов характер исчерченности аналогичный *B. abortus* (рис. 1). Из 120 проб 95 (80%) взяты из абортированных плодов и 25 (20%) из гемокультур. Указанные 25 положительных образцов были получены путем культивирования более чем 400 образцов крови. Около 25% гемокультур были положительными. Из 95 фетус образцов в 92 (97%) случаев было доказано наличие *B. melitensis* биотипа 1 и только в 3-х образцах (3%) установлено наличие *B. abortus*. Из 25 положительных гемокультур 24 (96%), содержали *B. melitensis* биотипа, 1 образец (4%) *B. abortus*.

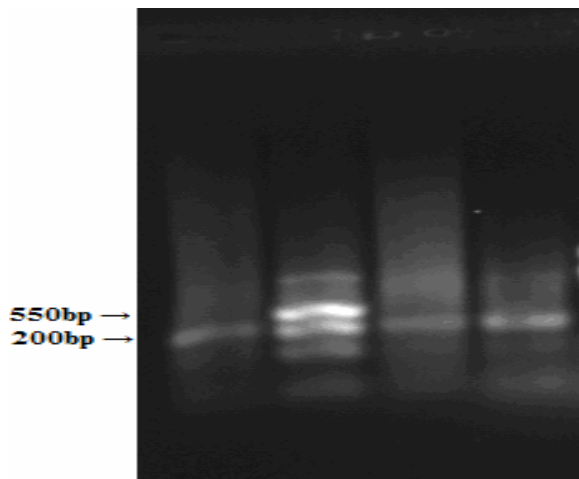


Рисунок 1 - PstI рестрикция расщепления продуктов ПЦР из 1100 bp области гена *omp2a*. Полоса 1 - *B. melitensis* биотипа 1, стандартный штамм, предоставленный Кырг. НИИВ, Кыргызстан. Полоса 2 - *B. abortus*. Полосы 3 и 4 - *B. melitensis* биотипа 1. Полосы 2, 3 и 4 - наши клинические образцы.

Возбудитель бруцеллеза ежегодно поражает большое число людей, является важной проблемой здравоохранения в развивающихся странах. Бруцеллез также является основной причиной, тормозящей развитие животноводства, совершенствование племенных качеств скота. Поэтому для борьбы с этой болезнью в эндемичных регионах эпидемиологическая и эпизоотологическая информация имеет большое значение. Следует отметить, что разные виды бруцелл имеют своих хозяев. Так, *B. melitensis* в основном, поражает овец, основной хозяин *B. abortus* является крупный рогатый скот. Эпизоотологическая информация может помочь контролировать наличие или отсутствие инфекции у овец, крупного рогатого скота, а также человека. Основные приемы борьбы с бруцеллезом вакцинация мелкого рогатого скота, и выбраковка от инфицированного поголовья.

Борьба с бруцеллезом начинается с обнаружения болезни у животных т.е. массового серологического обследования. Далее проводится надлежащая безопасная вакцинация восприимчивых животных. С учетом экологических различий между видами бруцелл, характеристики типа бруцелл в конкретной зоне подбирается наиболее соответствующая и безопасная вакцина, а также время вакцинации. Также следует учесть, что некоторые вакцинные штаммы Рев-1 могут заражать человека, вызывать остановку развития плода у овец и крупного рогатого скота. Поэтому изучение происхождения носителя инфекции имеет также большое значение.

Полимеразная цепная реакция все чаще используется в качестве дополнительного метода диагностики бруцеллеза. Молекулярный подход биотипирования был предложен учеными на основе рестриктазы полиморфизма в генах, кодирующих основные 25- и 36-кДа наружные белки мембран бруцеллы. В патогенных для человека бруцеллах есть 2 гена *omp1* и *2* в этом локусе. Ген *omp2a* существует в виде локуса двух практически

гомологичных повторяющихся копий, которые слегка отличаются от *Brucella* spp. и биотипами, называемыми *omp2a* и *omp2b*. В нашем исследовании для идентификации *Brucella* spp., регистрируемой в ряде регионов применили PCR-RFLP. При этом использовали генетический полиморфизм *omp 2a* и *omp 2b*. Этот локус был также использован, для различия видов и штаммов *Brucell*. Установлено, что использование полиморфизма в конкретном локусе является мощным инструментом для генотипирования бруцеллы. В нашей работе 1100 bp части *omp 2a* были усилены и продукты ПЦР были сделаны с использованием Pst1 рестриктазы.

В процессе исследований удалось обнаружить различие между видами бруцелл и биотипов с применением Pst1 ферментов. Было обнаружено два типа бруцелл - *B. Melitensis* биовар 3 и *B. abortus*. В районах, где нет надлежащего контроля за перемещением овец и крупного рогатого скота между областями и даже странами, проникновение новых видов, биоваров бруцелл реально возможно. Следовательно, чтобы быть в курсе эпизоотической ситуации о типах бруцелл, регистрируемых в конкретном районе, необходим постоянный системный контроль. Основываясь на характере исчерченности PCR-RFLP *omp2a* фрагмента, можно установить какой биотип бруцелл зарегистрирован в конкретном районе. Так, согласно предыдущих исследований в республике регистрировались *B. melitensis* биовар 3. Нашими исследованиями установлено, что *B. abortus* биовар 2 также присутствует в эндемичных регионах республики. Определение типа бруцелл является очень важным условием в организации целенаправленных мер профилактики и лечения болезни.

Литература

1. Гребенникова Т.В., Грабовецкий В.В. и др. Дифференциальная диагностика микобактерий методом ПЦР // Ветеринария. - 1999. - № 3. - С. 17-20.
2. Поляков И.В., Соколова Н.С. Практическое пособие по медицинской статистике. - Л.: Медицина. - 1975. - С. 55-58.
3. Скляр О.Д. и др. Молекулярное типирование м.о. // Сб. тезисов 4-й Всероссийской научно-практической конф. - М., 2002. – 240 с.
4. Скляр О.Д. и др. Молекулярные механизмы генотипирования патогенов // Сб. науч. тр. ВГНКИ. - М. - 2003. – 64 с.
5. Шумилов К.В. и др. Новейшие методы диагностики бруцеллеза // Ветеринария. - 1996. - С. 12.
6. Moreno E., Cloeckaert A., Moriyon I (2002). *Brucella* evolution and taxonomy. Vet. Microbiol, 90(1-4):209-27.
7. Rodriguez A., Abad R., Orduna A. (1992). Species and biovars of the genus *Brucella*. Etiology of human brucellosis in Spain. Enferm. Infecc. Microbiol. Clin., 10(1):43-8.

8. Boschioli M.L., Foulongne V., O'Callaghan D. (2001). Brucellosis: a worldwide zoonosis. *Curr. Opin. Microbiol.*, 4(1):58-64.

9. Zinsstag J., Roth F., Orkhon D., Chimed-Ochir G., Nansalma M. et. al. (2005). A model of animal-human brucellosis transmission in Mongolia. *Prev. Vet. Med.*, 69(1-2):77-95.

10. Wallach J.C., Giambartolomei G.H., Baldi P.C., Fossati C.A. (2004). Human infection with M-strain of *Brucella canis*. *Emerg. Infect. Dis.*, 10(1):146-48.

11. Godfroid J., Cloeckert A., Liautard J.P., Kohler S., Fretin D., Walravens K. et. al. (2005). From the discovery of the Malta fever's agent to the discovery of a marine mammal reservoir, brucellosis has continuously been a reemerging zoonosis. *Vet. Res.*, 36(3):313-26.

12. Taleski V., Zerva L., Kantardjiev T., Cvetnic Z., Erski-Biljic M., Nikolovski B. et. al. (2002). An overview of the epidemiology and epizootology of brucellosis in selected countries of Central and Southeast Europe. *Vet. Microbiol.*, 90(1-4):147-55.

Түйін

ПТР – ПДРФ ТАЛДАУ АРҚЫЛЫ БРУЦЕЛЛА ТҰҚЫМЫНЫҢ БАКТЕРИЯЛАРЫН ДЕТЕКЦИЯЛАУ

Чегиров С.Б.

А. Дуйшеев ат. Қырғыз ғылыми – зерттеу ветеринария институты

Мақалада Қырғызстанда алғаш рет ПТР көмегімен бруцеллез қоздырғышы түрге дейін жіктеліп анықталғаны жөнінде баяндалады.

Summary

DETECTIONS OF BACTERIA OF BRUCELLA WITH THE HELP OF RFLPANALYSIS

Chegirov S.B.

Kyrgyz Research Institute of Veterinary after A. Duisheev

For the first time in Kyrgyzstan by PCR analysis diagnosed with brucellosis to kind of agent.

РЕЗОЛЮЦИЯ

Международной научно-практической конференции «Научные и практические основы борьбы с бруцеллезом животных»

г. Алматы

12-13 февраля 2014 г.

12-13 февраля 2014 года в городе Алматы, на базе Казахского научно-исследовательского ветеринарного института, состоялась международная научно-практическая конференция на тему *«Научные и практические основы борьбы с бруцеллезом животных»*.

В работе конференции приняли участие депутаты Мажилиса Парламента РК, представители МСХ РК, ветеринарные специалисты областных управлений сельского хозяйства и территориальных инспекций, руководители хозяйств агропромышленного комплекса РК в области животноводства, ученые в области ветеринарии, занимающиеся проблемой бруцеллеза.

При этом обсуждены вопросы по стратегии и тактике борьбы с бруцеллезной инфекцией в РК, изложены научные основы разработки средств и методов борьбы с бруцеллезом животных, показана эффективность профилактических мероприятий при различной эпизоотической и эпидемической ситуации по бруцеллезу в РК.

Отмечена действенность ветеринарной службы и эффективность ветеринарных лабораторий, а также система профилактических и оздоровительных мероприятий.

А также выявлены причины недостаточной эффективности оздоровительных противобруцеллезных мероприятий.

Участниками внесены следующие предложения:

1. Принять за основу стратегию и тактику борьбы с бруцеллезом в РК, предложенную Казахским НИВИ, согласно приложению к резолюции, в том числе:

- проект типового комплексного плана по оздоровлению неблагополучных по бруцеллезу пунктов на уровне района;

- правила проведения санитарного убоя МРС, КРС для последующей его переработки;

- порядок применения, с профилактической целью и для оздоровления поголовья животных от бруцеллеза, противобруцеллезных вакцин, в рамках действующего законодательства, рекомендовать хозяйствующим субъектам применение иммуностимулирующих препаратов для повышения резистентности организма. Последующие поствакцинальные диагностические исследования проводить в строгом соответствии с наставлением по применению той или иной вакцины до получения двукратных групповых отрицательных результатов, постановки на контроль и проведения исследований перед снятием ограничений;

- осуществление идентификации животных с учетом их миграции и на основе требований стандартов по прослеживанию продукции от фермы до стола;

- наложение ограничений по бруцеллезу животных на неблагополучные хозяйства проводить без регистрации в органах юстиции МИО.

2. Комитету ветеринарного контроля и надзора МСХ РК:

- рекомендовать внести одобренную стратегию и тактику борьбы с бруцеллезом на рассмотрение и утверждение научно-технического совета МСХ РК;

- по итогам принятого решения внести соответствующие изменения в нормативно-правовые акты РК.

3. МСХ РК

- предусмотреть финансирование научных программ в необходимом объеме, имеющих важное прикладное значение в современных условиях, способствующих повышению эффективности оздоровительных противобруцеллезных мероприятий.

4. Казахскому НИВИ:

- продолжить научные исследования по определению рисков возникновения и дальнейшего распространения бруцеллезной инфекции среди сельскохозяйственных животных на территории РК, а также выявлению причин недостаточной эффективности проводимых профилактических и оздоровительных мероприятий;

- представить рекомендации по санитарной оценке мясопродуктов КРС и МРС от больных бруцеллезом животных, а также рекомендации по дальнейшему использованию продукции завозного происхождения согласно международным требованиям и возможности транспортировки туш и полутуш с мест уоя животных до перерабатывающих предприятий;

- представить рекомендации по проведению диагностических исследований в организованных хозяйствах со 100% охватом имеющегося поголовья животных;

- при предоставлении со стороны РВЛ выделенных культур микроорганизмов направлять их в НИВСы (филиалы КАЗНИВИ) для типизации и идентификации на договорной основе;

- оказывать научно-методическую помощь при проведении противобруцеллезных мероприятий;

- повысить инновационную деятельность в области разработки технологических приемов системы ветеринарного обслуживания животноводства, применения новых средств и методов борьбы с бруцеллезной инфекцией, промышленного освоения и выпуска новых, более эффективных высокотехнологичных диагностических и профилактических противобруцеллезных препаратов;

- предусмотреть обучение специалистов (повышение квалификации) по диагностике и системе организации оздоровительных мероприятий в современных условиях;

- усилить работу по подготовке научных кадров;
- материалы международной научно-практической конференции **«Научные и практические основы борьбы с бруцеллезом животных»** опубликовать в виде сборника для ознакомления и руководства в практической ветеринарной деятельности при проведении противоэпизоотических мероприятий.

5. Местным исполнительным органам;

- рекомендовать выпуск наглядных материалов по бруцеллезу, утвержденные на НТС МСХ РК, для последующего проведения разъяснительной работы среди населения;

- изучить опыт работы передовых хозяйств, в частности ТОО «Восток молоко», как пилотный проект, с целью дальнейшего распространения.

Настоящая Резолюция обсуждена участниками заседания, окончательный вариант утвержден Рабочей группой с учётом всех замечаний и предложений.

Предложения Казахского НИВИ к стратегии и тактике борьбы с бруцеллезом животных в Республике Казахстан

К настоящему времени вызывает обоснованную тревогу значительное распространение бруцеллеза среди сельскохозяйственных животных. Однако степень распространения бруцеллезной инфекции на территории РК не носит равномерного характера. Так, наибольшее число неблагополучных пунктов и количество больных животных среди крупного рогатого скота отмечается в северных и центральных регионах страны, а мелкий рогатый скот чаще поражен на юге и юго-востоке Республики. В некоторых областях возрастает число случаев заболевания людей (см. эпизоот. карту).

Данное явление свидетельствует о недостаточности проведения противоэпизоотических мероприятий, которые должны быть комплексными, своевременными и реально выполнимыми и направлены на разрыв эпизоотической цепи, основными звеньями которой являются источник инфекции (больное животное), механизм передачи возбудителя болезни (факторы передачи и переносчики инфекта) и восприимчивый к нему организм (здоровое животное, человек) (Н.П.Иванов, 2007).

Противобруцеллезные мероприятия **стратегически** слагаются из комплекса организационно-хозяйственных, ветеринарно-санитарных и специальных ветеринарных мер, выполнение которых обеспечит достижение конечной цели - ликвидации бруцеллезной инфекции.

В современных условиях главными из **организационно-хозяйственных** мер являются **идентификация** сельскохозяйственных и домашних животных и соблюдение **технологических** приемов животноводства, способствующих разрыву эпизоотической цепи.

Комплекс **ветеринарно-санитарных** мер, включающий **дезинфекцию, дератизацию и дезинсекцию**, направлен на ликвидацию второго звена эпизоотической цепи. При бруцеллезной инфекции основные силы при этом должны быть направлены на проведение дезинфекционных и дератизационных работ. Для проведения этой работы учеными предложено значительное множество средств и методов ее проведения, выбор которых определяется эффективностью, стоимостью и безопасностью для человека, животных и окружающей среды.

Специальные противобруцеллезные мероприятия включают своевременную и качественную диагностику, в особых случаях применение средств специфической профилактики и антибактериальных препаратов (Н.П.Иванов, 2007, В.Б.Тен, 2009).

Для выявления источника инфекции (первое звено эпизоот.цепи), с целью последующей его ликвидации, используют различные диагностические приемы, в частности, РА, РСК (РДСК), РБП, КР, ИФА **аллергопроба**. Имеются и другие тесты, которые находятся в рамках лабораторных или производственных испытаний (И.А. Косилов, В.Г. Ощепков, 1976, П.А. Триленко, 1976, Н.П. Иванов, 1986, А.А. Новицкий, 1986, В.И. Белобаб, К.И. Минжасов, 1991, Т.С. Сайдуллин, 1992, Н.П. Иванов, 2007).

Все указанные методы (серологические и аллергическая проба) диагностики заразных болезней (в т.ч. бруцеллеза) базируются на иммунологических реакциях. При этом чувствительность диагностических тестов во многом зависит от реактивности организма, т.е. его способности отвечать изменениями процессов жизнедеятельности на воздействие факторов внешней среды. Эта способность совершенствовалась по мере развития видов живых существ и отдельных животных, что достаточно убедительно показано в классических трудах многих ученых (И.П.Павлов, 1938; К.П.Студенцов, 1961; J.Bordet, 1885 и т.д. и т.д.). Особенно ярко выражена ответная реакция в форме изменений внутреннего состава организма у высших животных с высокоразвитой иммунной системой (А.А. Конопаткин, 1984 и др.)

Применительно к инфекционной патологии и иммунному ответу наличие **реактивного взаимодействия** между макро- и микроорганизмом является основным условием возникновения патологического (иммунопатологического) процесса или иммунного ответа (П.Ф. Здродовский, 1953; 1963, А.А. Конопаткин, 1984; и др.).

Следует особо отметить, что иммунологическая реактивность животных тесно связана с видовыми, индивидуальными и **возрастными** особенностями организма.

Наиболее чувствительными и восприимчивыми к бруцеллезной инфекции являются парнопалые, половозрелые, но относительно молодые, особи, на пике их гормональной активности (половозрелые телки, ярки,

козочки, нетели или первотельные и беременные животные) (П.Н. Жованик, 1975; Н.П. Иванов, 2007).

Половозрелые животные бурно реагируют (в силу высокой реактивности организма) на воздействие патогенного агента, вырабатывается большое количество антител, обнаружение которых может быть достигнуто любыми даже относительно малочувствительными диагностическими приемами. С возрастом реактивность организма животных снижается. Нередко, когда среди «старого» поголовья много больных, имеющих отрицательные показания диагностических реакций.

В этой связи, названные выше тесты достаточно информативны и позволяют достоверно определять наличие (или отсутствие) инфекции среди обследуемого поголовья. Эти методы признаны МЭБ и рекомендованы для применения с целью проведения мониторинга эпизоотической ситуации, контроля благополучия стада и дифференциации больных бруцеллезом животных. К тому же их можно использовать для выявления инфицированного поголовья через определенное время в поствакцинальный период.

Из числа названных тестов RBT и CFT, или РБП и РСК в принятой у нас транскрипции, являются к тому же диагностическими приемами, рекомендованы для контроля благополучия при осуществлении международной торговли (Normes Manual. Ed. OIE, Paris, 2012, р. xii-xiii (Руководство МЭБ, Париж, 2012, стр. xii-xiii)).

Особого внимания в диагностической работе, благодаря высокой разрешающей способности, заслуживают тест ELISA (ИФА) и полимеразоцепная реакция (ПЦР).

Однако ELISA-TEST (ИФА), наряду с высокой чувствительностью, не может быть применен для дифференциации больных животных и вакцинированных (Normes Manual. Ed. OIE, Paris, 2012, р. xii-xiii (Руководство МЭБ, Париж, 2012, стр. xii-xiii)). Показания этой реакции свидетельствуют о наличии (или отсутствии) иммунного фона у животных к антигену бруцелл. В этом случае при постановке ИФА рекомендовано использовать OPS, LPS (липополисахариды), цитозольные антигены или тиоцианат калия и другие приемы, что обеспечивает (но не всегда!) отсутствие перекрестных реакций.

Поэтому тест ELISA может быть использован только при исследовании сыворотки крови интактных (к бруцеллам) животных, в данном случае это молодняк всех видов, взрослое благополучное по бруцеллезу поголовье, ранее неиммунизированное противобруцеллезными вакцинами, содержащими S-антиген.

В старых эпизоотических очагах с вяло протекающей бруцеллезной инфекцией многие исследователи рекомендуют осуществлять провокацию латентных форм течения болезни путем инъекции взвесей цельных бруцелл (П.А. Триленко, 1975; В.Л. Иванов, 1967, В.С. Рягузов, 1967 и др.) или их

дериватов в качестве алергопробы. (Е.С. Орлов, 1964, В.М. Красов, Цуверкалов 1940, Н.П. Иванов, 1968 и др.).

К тому же, за весь продуктивный период животного в его организм попадает (может попадать) большое число другой (как патогенной, так и условно патогенной) микрофлоры (в т.ч. родственной в антигенном отношении бруцеллам или в форме иммунизирующей субинфекции), индуцирующей появление антител, которые могут быть обнаружены при использовании высокочувствительных диагностических тестов. Не случайно, при использовании ИФА как высокочувствительного метода, среди такого поголовья отмечалось большое количество не подтвержденных при послеубойном бактериологическом исследовании случаев позитивных реакций.

В условиях сложной эпизоотической ситуации по бруцеллезу нередко возникает необходимость иммунизации животных противобруцеллезными вакцинами. Сроки возможных поствакцинальных исследований животных с помощью ИФА или других высокочувствительных методов диагностики остаются не изученными, что так же затрудняет использование этих методов на взрослом поголовье.

Иная картина, в аспекте разбираемого здесь вопроса, наблюдается у молодняка животных, когда иммунологическая реактивность их значительно ниже, нежели у взрослого (половозрелого) поголовья. Такие особи более устойчивы к бруцеллезной инфекции (П.Н. Жованик, 1975, К.П. Студенцов, 1975 и мн. др.). В их организме бруцеллы не находят столь богатых условий для роста и развития (отсутствует эритролит, активизируется в силу большой силовой нагрузки аденозинтрифосфат, аденозиндифосфат, аденозинмонофосфат и др. факторы) (Б.Ф. Резников, 1969).

Иммунная система у молодых животных не достаточно сформирована и выработка антител на патогенное воздействие бруцелл (и др. микроорганизмов) сравнительно снижена (А.А. Конопаткин, 1984). Не случайно многие ученые рекомендуют иммунизацию животных в молодом (неполовозрелом) возрасте проводить большими дозами вакцин или высоко антигенными препаратами с последующей проверкой титра антител (А.А. Новицкий 1990, А.А. Султанов, 1991; К.И. Минжасов 1995 и др.).

Обнаружение антител к полевым культурам бруцелл у животных в молодом возрасте (до полового созревания) максимально может быть достигнуто высокочувствительными методами, одним из которых является тест Elisa (ИФА). Имеются и другие диагностические приемы, например, Р.Кумбса, иммуно - радиологический, реакция непрямой (пассивной) гемагглютинации (РНГА), реакция нейтрализации антител (РНат), реакция связывания конглютинирующего комплекса, реакция иммунофлюоресценции (РИФ) и т.д.

Нами рекомендован для этой цели (исследование молодых неполовозрелых, интактных по отношению к бруцеллам животных) иммуноферментный анализ в силу сложившейся ситуации, а именно: в ветеринарных лабораториях имеется соответствующее оборудование, реактивы, специалисты, которые ранее проводили эту реакцию и умеющие давать правильную оценку полученным результатам.

Не заслуженно убрана из числа диагностических приемов при обследовании сельскохозяйственных животных аллергопроба, основанная на повышенной чувствительности и появлении воспалительной реакции у больных животных в месте введения бруцелл или их дериватов.

Проведение этой реакции как экспресс-метода осуществляется на месте содержания животных, без каких-либо затрат на приобретение дополнительных диагностических компонентов. Весьма важно отметить, что используемый при этом аллерген не обладает сенсibiliзирующими свойствами и обеспечивает провокацию латентных форм течения бруцеллеза. Отсюда вытекает порядок проведения иммунологических реакций, а именно: вначале проводят аллергопробу, затем через 15-20 дней животных подвергают серологическим исследованиям и, при выявлении положительно реагирующих, уточняют диагноз с помощью бактериологических приемов и ПЦР.

Кроме того, нами (Н.П.Иванов, А.А.Султанов, В.Б.Тен, Ф.А. Бакиева 2014) предложен препарат, с помощью которого представляется возможным проводить одновременно контроль бруцеллеза и осуществлять профилактику заболевания животных.

Во всех случаях, где предусмотрена постановка аллергопробы и проведение вакцинации можно использовать аллерген-вакцину, согласно соответствующим рекомендациям.

Уместно отметить, что в современных условиях особого внимания заслуживает так называемый «конъюнктивальный» метод иммунизации. Известно, что через слизистую оболочку конъюнктивы глаза в организм могут поступать различные вещества, в том числе и антигены. Кроме того, наличие в ней развитой сети лимфатических сосудов и рецепторов создает благоприятные условия для быстрой мобилизации и активации функций мононуклеарнофагоцитарной системы.

При конъюнктивальном методе иммунизации, как показали результаты исследований, благодаря проникновению антигена по слезно-носовому каналу в носовую полость, площадь его всасывания резко увеличивается, что обеспечивает индукцию иммунитета, не уступающего таковому при подкожном методе вакцинации. При этом резко снижается период циркуляции в крови антител, улавливаемых стандартными антигенами, что позволяет своевременно проводить диагностические исследования и, безусловно, выгодно отличает этот метод от других.

Другим важным звеном противоэпизоотических мероприятий при бруцеллезе является подъем специфической резистентности организма животных к заболеванию.

Опыт борьбы с бруцеллезной инфекцией показывает, что в регионах с широким распространением болезни оздоровление неблагополучных хозяйств без средств специфической профилактики (вакцинации) весьма затруднительно.

Повсеместное прекращение иммунизации ведет к повышению заболеваемости и увеличению других количественных показателей эпизоотического процесса.

К настоящему времени существует три группы противобруцеллезных вакцин, различающихся по антигенности, иммуногенности, реактогенности.

Первая группа вакцин включает препараты из высоко агглютиногенных штаммов бруцелл. К ним относятся вакцины из шт.шт. **V. abortus 19, V. abortus 104 M, V. melitensis Rev -1, V. melitensis H-38** и др. Сюда же примыкают инактивированные вакцины, изготовленные из агглютиногенных культур бруцелл.

Особенно ценной по иммуногенности является вакцина из штамма Rev -1, предназначенная для иммунизации мелкого рогатого скота.

Преимущество использования этой вакцины в системе мер борьбы с бруцеллезом мелкого рогатого скота очевидно и по ряду других причин, описанных в специальной литературе (Н.П. Иванов, А.А.Султанов, 1992).

Вторая группа профилактических, специфических противобруцеллезных препаратов объединяет вакцины, обладающие слабой агглютиногенностью, меньшей иммуногенностью. Некоторые из них характеризуются высокой реактогенностью. К вакцинам с такой характеристикой относят **V. abortus 82, V. abortus 45/20, V. melitensis H-12** и др.

Третья группа противобруцеллезных вакцин содержит препараты, не вызывающие посывакцинальных антител к стандартным S - антигенам.

Эти вакцины являются неагглютиногенными и слабоиммуногенными. Однако, их применение в ряде случаев выгодно отличается от препаратов выше названных групп тем, что после их введения животных можно исследовать в любое время поствакцинального периода. Кроме того, эти вакцины в организме животных вызывают провокацию латентных форм бруцеллеза, что позволяет более полно выявлять больных животных при последующих диагностических исследованиях. К этой группе вакцин относят **V. abortus RB-51, V. abortus 16, V. abortus 16/4, V. melitensis K-24** и др.

Сюда же включаются и неживые вакцины, приготовленные из указанных штаммов бруцелл, которые находятся в рамках лабораторных и производственных испытаний.

Применение указанных профилактических препаратов и методов иммунизации диктуется эпизоотической ситуацией, выбором способа

оздоровления, физиологической характеристикой контингента иммунизирующих животных и рядом других обстоятельств.

Для выработки предложений по иммунизации животных, **на первом этапе необходимо разработать кадастр по эпизоотической ситуации, наличие иммунного фона от ранее использованных противобруцеллезных вакцин.**

Содержать невакцинированное поголовье к настоящему времени возможно только при отсутствии угрозы заражения животных. Это хозяйства (населенные пункты), где истинное благополучие сохраняется не менее трех лет.

В других хозяйствующих субъектах должна быть предусмотрена иммунизация молодняка (после предварительного сероаллергического исследования) и возможна ревакцинация половозрелых животных за 2-3 месяца до осеменения.

При этом во всех случаях использовать вакцины и методы их применения, разрешенные для иммунизации животных на территории Республики Казахстан.

Резюмируя вышеизложенное, предлагаем следующую схему специальных противобруцеллезных мероприятий и ее описание.

А. В хозяйствующих субъектах по содержанию крупного рогатого скота.

1. БЛАГОПОЛУЧНЫЙ ПУНКТ

(нет выявлений реагирующих на бруцеллез животных не менее 3 лет, **отсутствует угроза заноса возбудителя болезни**)

1.1 Молодняк с 4-8 месячного возраста исследовать ИФА, со 100% охватом.

1.2 Взрослое маточное поголовье (коров) и быков исследовать дважды в год (РБП РСК), со 100% охватом.

Животные вакцинации не подвергаются.

2. БЛАГОПОЛУЧНЫЙ ПУНКТ

(нет выявлений реагирующих на бруцеллез животных, **но имеется прямая угроза заноса возбудителя болезни**)

2.1 Молодняк исследовать ИФА.

Отрицательно реагирующих иммунизировать вакциной из штамма 19 (с последующей проверкой на титр) или вакциной из штамма 82 или другими (в том числе инактивированной) вакцинами, регламентированными к применению на территории РК.

2.2 Половозрелых телок исследовать за 2-3 месяца до осеменения РА, РСК, РБП, со 100% охватом.

Отрицательно реагирующих иммунизировать вакциной из штамма 82 или другими (в том числе инактивированной), не вызывающими длительной поствакцинальной серопозитивности (по эпизоотологическим показателям).

2.3. Коров исследовать после отела, и далее все взрослое поголовье дважды в год – РСК, РБП, со 100% охватом.

Животных ревакцинации не подвергать.

3. НЕБЛАГОПОЛУЧНЫЙ ПУНКТ

(низкая заболеваемость - не более 2% и доказано наличие инфекции путем обнаружения возбудителя болезни бактериологически или ПЦР)

3.1 Все поголовье исследовать аллергически и через 15-20 дней серологически принятыми в РК тестами.

3.2 Молодняк исследовать серологически – ИФА. Отрицательно реагирующих иммунизировать вакциной из штамма 19 (с последующей проверкой на титр) или вакциной из штамма 82 или другими профилактическими препаратами (в том числе инактивированной), не вызывающими длительной поствакцинальной серопозитивности.

3.3 Половозрелых телок исследовать за 2-3 месяца до осеменения РСК, РБП (согласно соответствующему наставлению). Отрицательно реагирующих иммунизировать вакциной из штамма 82 или другими (в том числе инактивированной), не вызывающими длительной поствакцинальной серопозитивности (по эпизоотологическим показателям).

3.4 Коров исследовать после отела РСК, РБП, до получения дважды подряд отрицательного результата с последующей постановкой на контроль и проведением закрепительных мероприятий (дезинфекция, дератизация).

В каждом конкретном случае ветеринарной службой разрабатывается план профилактических и оздоровительных мероприятий.

4. НЕБЛАГОПОЛУЧНЫЙ ПУНКТ

(заболеваемость составляет более двух процентов)

4.1 Все поголовье исследовать аллергически и через 15-20 дней серологически принятыми в РК тестами.

4.2 Молодняк исследовать серологически – ИФА. Отрицательно реагирующих иммунизировать вакциной из штамма 19 (с последующей проверкой на титр) или вакциной из штамма 82 или другими (в том числе инактивированной), не вызывающими длительной поствакцинальной серопозитивности.

4.3 Половозрелых телок исследовать за 2-3 месяца до осеменения РА, РСК, РБП. Отрицательно реагирующих иммунизировать вакциной из штамма 82 или другими (в том числе инактивированной), не вызывающими длительной поствакцинальной серопозитивности (по эпизоотологическим показателям).

4.4 Коров исследовать после отела РСК, РБП, отрицательно реагирующих ревакцинировать вакциной из штамма 82 или другими (в том числе инактивированной), не вызывающими длительной поствакцинальной серопозитивности (по эпизоотологическим показателям), с последующим исследованием согласно наставлению по применению вакцины.

В каждом конкретном случае ветеринарной службой разрабатывается план профилактических и оздоровительных мероприятий.

Б. В хозяйствующих субъектах по содержанию мелкого рогатого скота.

Имеющиеся научные сведения и данные практических наблюдений позволяют рекомендовать следующий порядок проведения специальных противобруцеллезных мероприятий.

1. БЛАГОПОЛУЧНЫЙ ПУНКТ

(нет выявлений реагирующих на бруцеллез животных не менее 3 лет, *отсутствует угроза заноса возбудителя болезни*)

1.1 Молодняк с 4-6 месячного возраста исследовать ИФА, со 100% охватом.

1.2 Взрослое поголовье подвергать исследованию по РСК, РБП со 100% охватом.

Животные вакцинации не подвергаются.

2. БЛАГОПОЛУЧНЫЙ ПУНКТ

(нет выявлений реагирующих на бруцеллез животных, *имеется угроза заноса возбудителя болезни*)

2.1 Молодняк исследовать ИФА. Отрицательно реагирующих иммунизировать вакциной из штамма Рев-1 полной дозой вакцины.

2.2 Половозрелых ярок исследовать за 2-3 месяца до осеменения РСК, РБП, аллергопробой.

2.3 Отрицательно реагирующих животных ревакцинировать **подкожно малой дозой** или **конъюнктивально** вакциной из **штамма Рев-1**. Можно использовать для одновременной аллергодиагностики и профилактики бруцеллеза аллерген-вакцину согласно соответствующим рекомендациям.

2.4 Овцематок исследовать РСК, РБП, аллергопробой после окота, и далее ежегодно за 2-3 месяца до осеменения.

Данное поголовье животных ревакцинации не подвергать.

3. НЕБЛАГОПОЛУЧНЫЙ ПУНКТ

(*доказано наличие инфекции путем обнаружения возбудителя болезни бактериологически или ПЦР*)

3.1 Молодняк исследовать ИФА. Отрицательно реагирующих животных иммунизировать вакциной из штамма Рев-1 полной дозой (или использовать аллерген - вакцину)

3.2 Половозрелых ярок исследовать за 2-3 месяца до осеменения РСК, РБП, аллергопробой. Отрицательно реагирующих животных ревакцинировать **подкожно малой дозой** или **конъюнктивально** вакциной из **штамма Рев-1** (или использовать аллерген – вакцину).

3.3 Овцематок исследовать, РСК, РБП, аллергопробой после окота, и далее ежегодно за 2-3 месяца до осеменения.

Отрицательно реагирующих ревакцинировать **подкожно малой дозой** или **конъюнктивально** вакциной из **штамма Рев-1** (или использовать аллерген – вакцину).

В. В хозяйствующих субъектах, где содержат верблюдов.

В благополучных по бруцеллезу хозяйствующих субъектах, где содержится верблюдопоголовье, противоэпизоотические мероприятия осуществляют аналогично таковым, что предусмотрены в пунктах крупного рогатого скота.

Оздоровление от бруцеллеза поголовья верблюдов можно проводить методом систематических исследований (сероаллергическим комплексом: ИФА с сывороткой крови молодняка, РА, РСК, РДСК, РБП и аллергопроба у взрослого животных, со 100% охватом. При этом за диагностический титр в РА принимать разведение сыворотки 1:50, дающее агглютинацию на ++ и выше, а в РСК 1:5 при задержке гемолиза эритроцитов 50% и более, используемых в индикаторной системе. Аллергопробу целесообразно проводить путем введения аллергена в кожу медиальной поверхности бедра. Иммунизацию против бруцеллеза этого вида животных осуществлять при прямой угрозе заражения или выявлении положительно реагирующих особей. Для иммунизации использовать вакцину из штаммов *B. abortus* 82 и 19, согласно наставлению по их применению.

Г. В свиноводческих пунктах.

В благополучных пунктах по содержанию свиней проводят диагностические исследования с помощью РСК.

При этом основных свиноматок и хряков-производителей исследуют один раз в год, со 100% охватом;

ремонтный молодняк, текущего года рождения, используемый для дальнейшего воспроизводства так же один раз в год, со 100% охватом.

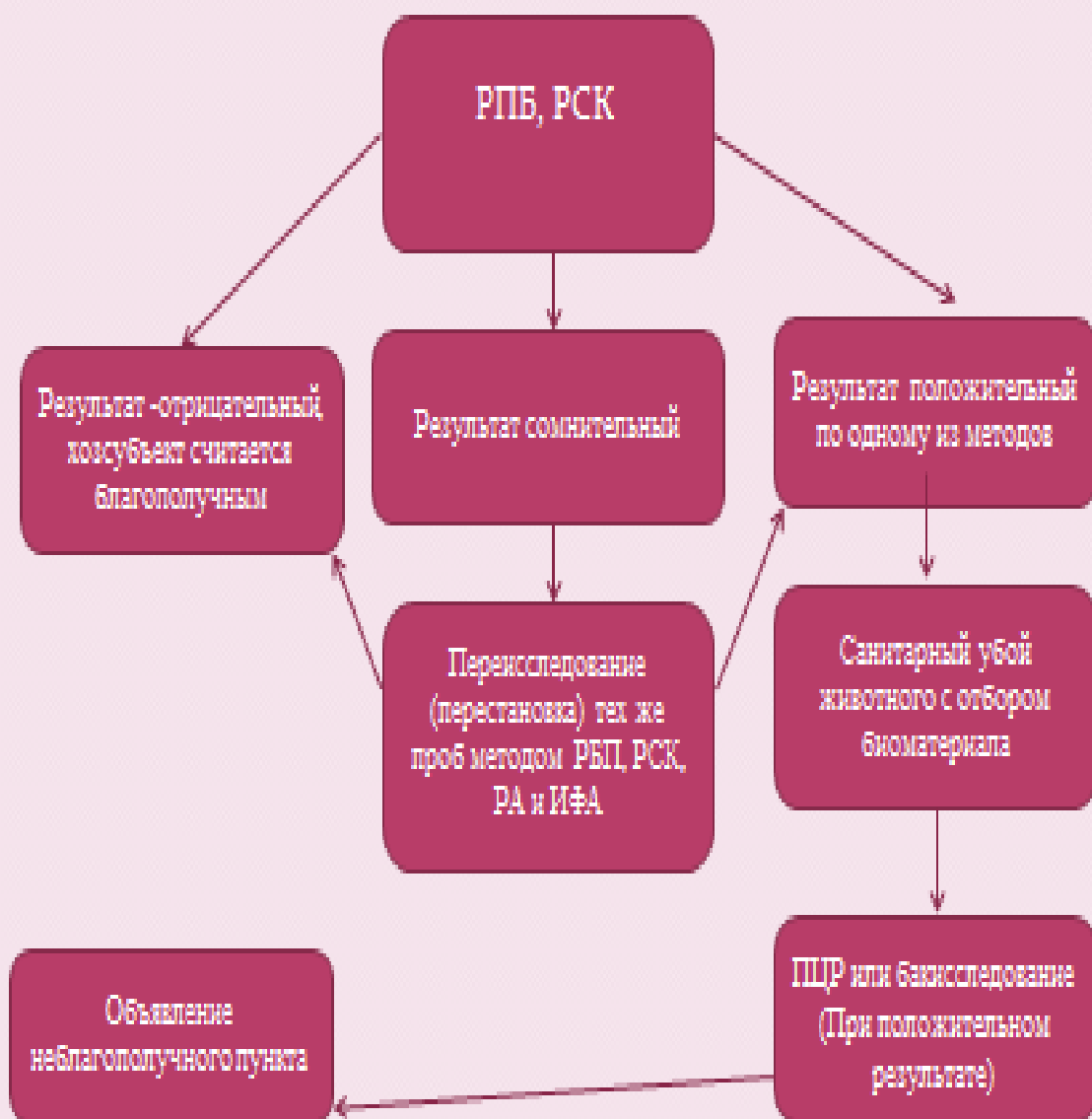
При наличии абортосов их подвергают бактериологическому исследованию с постановкой биопробы или ПЦР, абортировавших свиноматок – РСК.

В случае выявления положительно реагирующих животных оздоровление свиноголовья проводят путем полной его заменой новым благополучным и проведения закрепительных мероприятий. Нами рекомендовано при диагностике бруцеллеза у свиней проводить аллергопробу. При этом можно использовать безыгольный инъектор «Овод» со специальными дополнительными насадками (шайбами). Аллерген необходимо вводить в кожу ушной раковины, а читку реакции осуществлять через 48 часов после инъекции диагностикума.

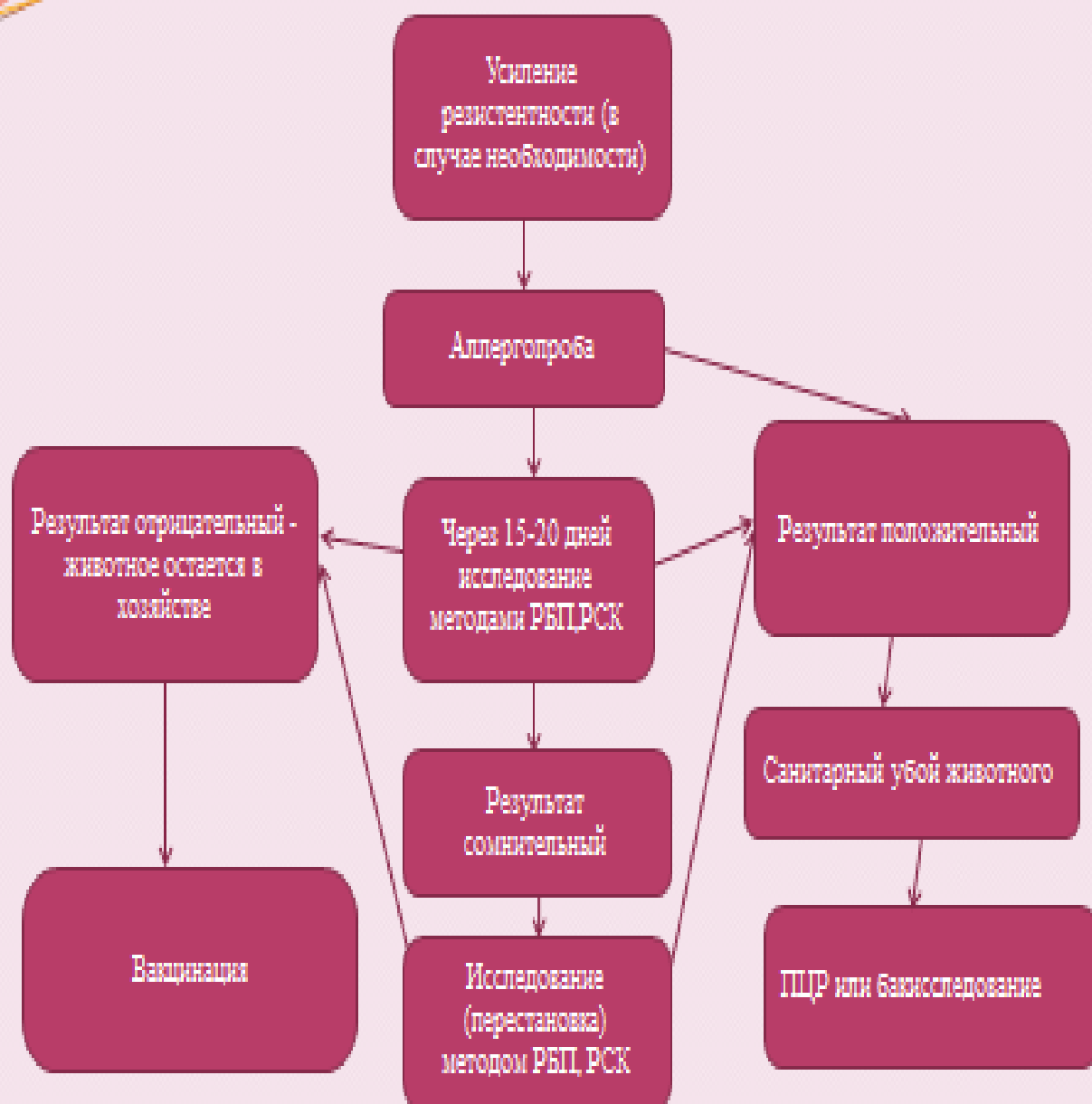
Для создания единого иммунного фона при вакцинации животных, какой-либо вакциной целесообразно предварительно устанавливать их иммунологическую реактивность и с учетом полученных результатов определить дозу вводимого препарата (Ш.Ж.Садыкова, 1997).

В заключение важно и необходимо отметить, что отсутствие случаев заболевания человека и животных не дают основания думать о полной ликвидации инфекции. Наличие последней связано с существованием возбудителя как вида в определенных нозоареалах. В этой связи со стороны руководителей и специалистов, имеющих отношение к данному вопросу, должно быть усилено внимание к недопущению заноса возбудителя инфекции в благополучные хозяйства (фермы, стада, подворья) и заболевания животных при попадании возбудителя из внешней среды.

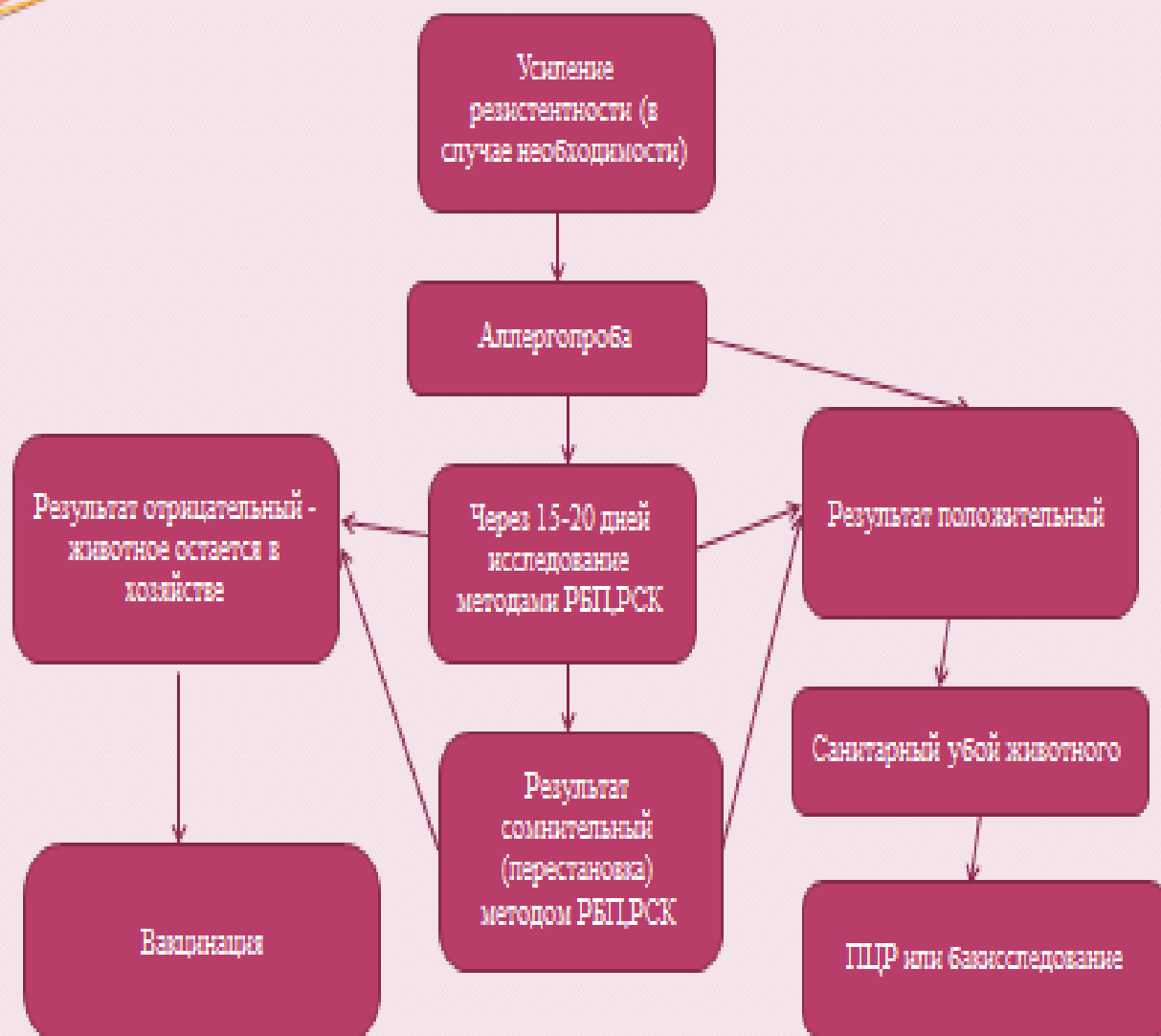
1. Мероприятия против бруцеллеза крупного, мелкого рогатого скота, верблюдов (благополучный пункт) исследовать 2 раза в течение года.



2. Мероприятия против бруцеллеза крупного рогатого скота, (н/б пункт).



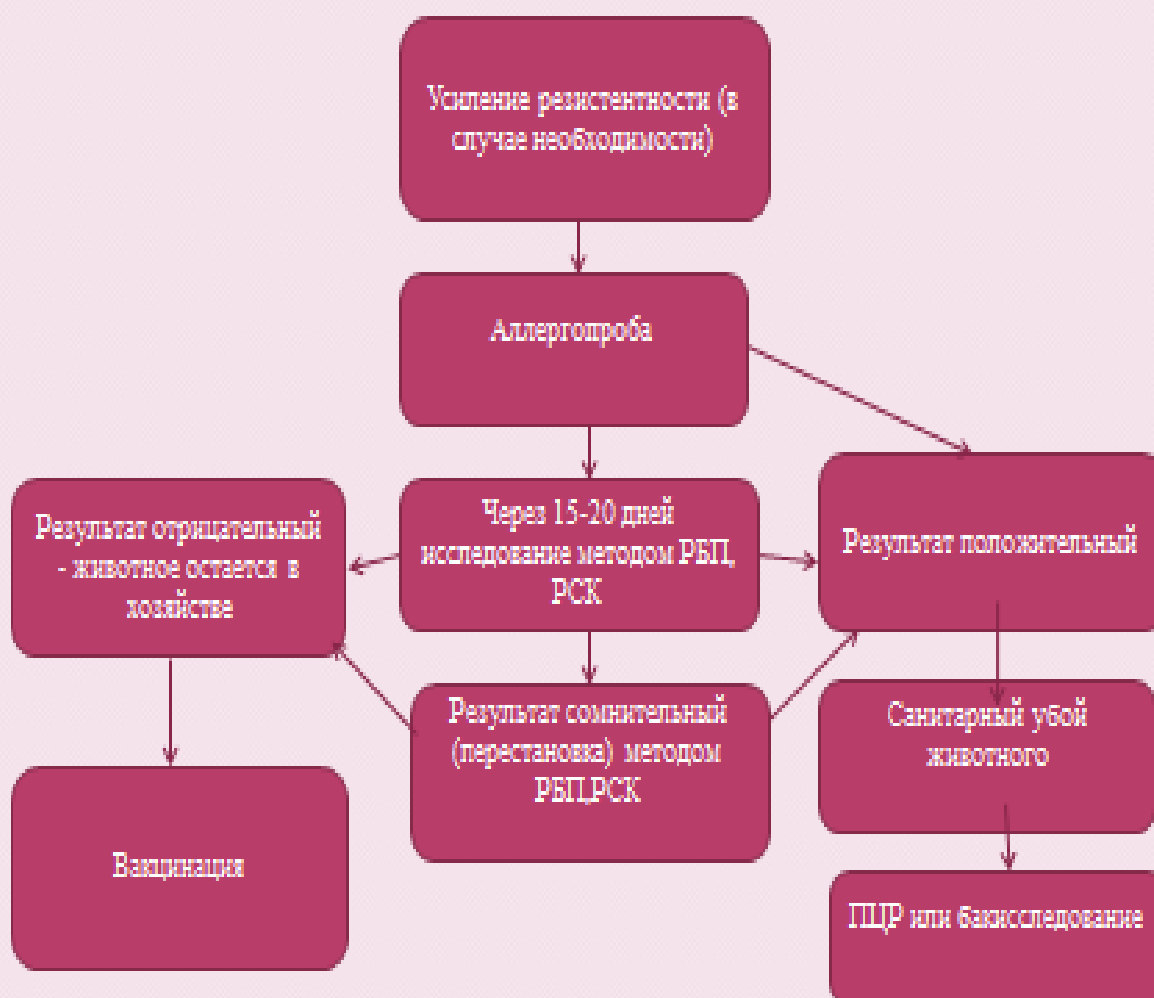
3. Мероприятия против бруцеллеза мелкого рогатого скота, (н/б пункт).



4. Мероприятия для молодняка КРС, МРС до вакцинации



5. Мероприятия против бруцеллеза животных, (н/б пункт- мрс, крс, верблюды и др.).



6. Меры по предотвращению заболевания людей бруцеллезом.



СОДЕРЖАНИЕ

Слайды участников международной конференции «Научные и практические основы борьбы с бруцеллезом животных»	3
Тайтубаев М.К. , зам. председателя КВКиН МСХ РК	
Проблемы профилактики и диагностики бруцеллеза сельскохозяйственных животных	3
Тайтубаев М.К. , зам. председателя КВКиН МСХ РК	
Рекомендации международных экспертов по стратегии вакцинации животных против бруцеллеза в Республике Казахстан.....	7
Ибрагимов П.Ш. , директор РГП «Республиканская ветеринарная лаборатория»	
Диагностика заболеваний бруцеллеза сельскохозяйственных животных в Казахстане	19
Сытник И.И. , директор РГП «Национальный референтный центр по ветеринарии»	
Международный опыт борьбы с бруцеллезом. Рекомендации МЭБ.....	25
Выступления участников международной конференции	
Султанов А.А. , генеральный директор ТОО «Казахский научно – исследовательский ветеринарный институт»	
Казахский НИВИ в обеспечении ветеринарного благополучия животноводства республики.....	28
Абсатиров Г.Г., Гусманов М.Г. Западно - Казахстанский аграрно - технический университет имени Жангир хана.	
Проблема борьбы и профилактика бруцеллеза в Западно - Казахстанской области.....	33
Жандосов Ш.У., Мырзабекова А.А., Усенов У.Б., Дайрабекова А.Т., Мырзабеков А.М. РГКП «Научно - практический центр санитарно – эпидемиологической экспертизы и мониторинга» КГСЭН МЗ РК	
Казахский национальный медицинский университет им. С.Д. Асфендиярова	
Эпидемическая ситуация по бруцеллезу в Республике Казахстан и принимаемые меры по его профилактике.....	37
Сайлаубаев С. , директор ТОО «Восток молоко»	
Ситуация по бруцеллезу крупного рогатого скота в ТОО «Восток молоко».....	41
Сейсенов Б. С. , председатель комитета Ассоциации ветеринарных врачей Казахстана по г. Астана	
О ситуации с бруцеллезом сельскохозяйственных животных в Республике Казахстан.....	47
Токтасынов К.А. , руководитель Восточно-Казахстанской областной территориальной инспекции КВКН МСХ РК	
Эпизоотическая ситуация по бруцеллезу сельскохозяйственных животных и меры борьбы в Восточно - Казахстанской области.....	49
Улубаев Б. , директор Кербулакской районной ветеринарной станции Алматинской области	
Предложения по проведению специальных ветеринарных мероприятий, направленных на ликвидацию бруцеллеза	

животных.....	53
Султанов А.А., Абуталип А., Барамова Ш.А. Научные основы разработки диагностических и профилактических препаратов при бруцеллезе животных	58
Абуталип А., Искаков М. Ш., Базарбаев М. Ветеринарно-санитарные мероприятия на фермах при бруцеллезе сельскохозяйственных животных....	69
Аманжол Р. А., Туяшев Е. К., Канатбаев С. Г. Эпизоотический мониторинг бруцеллеза крупного и мелкого рогатого скота в Западно – Казахстанской области.....	75
Барамова Ш.А., Даугалиева А.Т., Адамбаева А. Идентификация бруцелл методом полимеразно - цепной реакции (ПЦР) в сравнении с общепринятыми методами лабораторной диагностики.....	80
Барамова Ш.А., Мырзалиев А.Ж., Түсіпқан О., Шманова Б. Жануарлардың бруцеллезін және жүкпалы эпидидимитін серологиялық балау үшін S – R -антиген дайындаудың тәсілін жасау.....	88
Барамова Ш.А, Абуталип А., Мырзалиев А.Ж. Диагностика бруцеллеза животных в современных условиях.....	97
Базарбаев М., Тен В.Б. Эффективность иммуномодулятора для коррекции иммунологического статуса организма животных и средств специальной профилактики при оздоровлении хозяйств неблагополучных по бруцеллезу крупного рогатого скота.....	105
Гордиенко Л.Н., Гуськова Т.В., Еланцева Н.Б., Гайдуцкая Г.М., Куликова Е.В. Особенности проявления инфекционного и эпизоотического процессов при бруцеллёзе крупного рогатого скота мясного направления.....	110
Горелов Ю.М. Повышение резистентности организма животных к заболеванию бруцеллезом.....	115
Дудоладова Т.С., Еланцева Н.Б., Гонохова М.Н.*, Секин Е.Ю. Сравнительная характеристика степени патогенности s и l-форм <i>V. RANGIFERI</i> морфометрическим методом на лабораторных животных.....	125
Иванов А.В., Салмаков К.М., Фомин А.М., Сафина Г.М., Косарев М.А., Салмакова А.В. Разработка и испытание средств и методов усовершенствования специфической профилактики и ликвидации бруцеллеза крупного рогатого скота.....	131
Иванов А.В., Юсупов Р.Х., Салмаков К.М., Фомин А.М., Косарев М.А., Сафина Г.М., Федорова Н.Ю. Изучение иммунологической эффективности противобруцеллезной вакцины из слабоагглютиногенного штамма <i>V. ABORTUS</i> 82 на морских свинках и овцах.....	137
Иванов Н.П. Противоэпизоотические мероприятия при бруцеллезе.....	144
Каральник Б.В., Денисова Т.Г., Жунусова Г.Б. Надежная диагностика – важный компонент эффективной борьбы с бруцеллезом.....	152
Минжасов К.И., Аубакирова А.К., Алимбаева М.Р., Притчин Е.В. Эпизоотическая ситуация по бруцеллезу крупного и мелкого рогатого скота на примере хозяйств Северо - Казахстанской области.....	162
Мустафин Б.М., Чужебаева Г.Д., Байсеев Г.А. Эффективность современных методов лабораторной диагностики при оздоровлении неблагополучного пункта	

от бруцеллеза сельскохозяйственных животных.....	165
Мухаметова В.Д. Экологически безопасный препарат, создающий специфическую устойчивость. Перспективы его использования.....	171
Омарбекова У.Ж., Бакиева Ф.А. Режимы дезинфекции объектов животноводства при бруцеллезе животных.....	175
Омашева Г.М., Мырзабекова А.А. Лабораторная диагностика бруцеллеза людей в Казахстане.....	180
Оспанов Е.К., Мырзалиев А.Ж., Түсіпқанұлы О., Мәтіхан Н. Приготовление антигенного эритроцитарного диагностикума для серологической диагностики бруцеллеза животных в РНГА.....	183
Плотникова Э.М., Иванов А.В., Панкова Е.В. Иммуномониторинг при бруцеллезе.....	186
Саримбекова С.Н. Эффективность метода исследования молока коз на бруцеллез.....	190
Султанов А.А., Барамова Ш.А., Сарбаканова Ш.Т., Абуталип А., Канатбаев С.Г., Аманжол Р.А., Панферов В.И., Ласкавый В.Н. Результаты изучения препарата «Имунофарм» при бруцеллезе животных.....	194
Тен.В.Б., Мустафин Б.М., Аманжол Р., Давлетьярова А. Эффективность иммуномодуляторов при бруцеллезе животных.....	202
Тен В.Б., Абуталип А.А., Султанов А.А., Иванов Н.П., Мустафин Б.М. Специфическая профилактика бруцеллеза животных.....	207
Тоганаев Ж.К., Жанбырбаев М. Меры борьбы с бруцеллезом сельскохозяйственных животных в Южно-Казахстанской области.....	214
Тюлегенов С.Б., Абдрахманов Т.Ж., Байкадамова Г.А., Сытник И.И., Сейдахметова Р.Д., Карибаев Т.Б., Кожаев А.Н. Альтернативные методы диагностики бруцеллеза.....	222
Узбеков М.Б. Сравнительные показания иммунологических реакций при исследовании на бруцеллез молока и сыворотки крови верблюдов.....	227
Хамдамов Х.А., Мавланов С.И., Яраев Р.Г. Цветной бруцеллезный антиген для диагностики бруцеллеза сельскохозяйственных животных.....	231
Чегиров С.Б., Дарданов Б.Э. Определение бруцелл, циркулирующих среди сельскохозяйственных животных Ак-Талинского района, до видовой принадлежности.....	234
Чегиров С.Б. Детекция бактерий рода бруцелл с помощью ПЦР-ПДРФ анализа.....	240
Резолюция	246
Предложения Казахского НИВИ к стратегии и тактике борьбы с бруцеллезом животных в Республике Казахстан	248