



**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ
БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ВСЕРОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ВЕТЕРИНАРИИ ИМЕНИ К.И. СКРЯБИНА
И Я.Р. КОВАЛЕНКО РАН
(ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН)**

**ЯКУТСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА ИМЕНИ М.Г. САФРОНОВА
(ЯНИИСХ)**

**Аскерова С.А., Гулюкин М.И., Гулюкин А.М., Искандаров М.И.,
Лайшев К.А., Слепцов Е.С., Винокуров Н.В., Федоров В.И.,
Захарова О.И., Павлова А.И.**

МОДИФИЦИРОВАННЫЕ МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ БРУЦЕЛЛЕЗА СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ

Монография

Новосибирск
2019

УДК 619:616.98

ББК 48.73

М744

Утвержден к печати протокол №7 от 28 декабря 2018 г.

Ученым советом ФГБНУ ФНЦ «Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко РАН»

Рецензенты:

Найманов А.Х., доктор ветеринарных наук, профессор, заслуженный ветеринарный врач РФ, заведующий лабораторией микобактериозов ФГБНУ ФНЦ «Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко РАН»;

Сочнев В.В., доктор ветеринарных наук, профессор, член-корреспондент РАН, Заслуженный деятель науки РФ, заведующий кафедрой эпизоотологии, паразитологии и ветеринарно-санитарной экспертизы ФГБОУ ВО «Нижегородская государственная сельскохозяйственная академия».

ISBN 978-5-4379-0620-0

Аскерова С.А., Гулюкин М.И., Гулюкин А.М., Искандаров М.И., Лайшев К.А., Слепцов Е.С., Винокуров Н.В., Федоров В.И., Захарова О.И., Павлова А.И.

М744 «Модифицированные методы диагностики бруцеллеза сельскохозяйственных животных»: – Монография. – Новосибирск: Изд. АНС «СибАК», 2019. – 262 с.

В данной монографии изложены материалы многолетних исследований по бруцеллезу сельскохозяйственных животных в Российской Федерации. Обоснованно и убедительно аргументируется ведущая роль методов диагностики для борьбы с данной инфекцией. Большое значение в борьбе с бруцеллезом сельскохозяйственных животных имеет своевременное полное выявление и убой животных. В монографии подробно описаны современные методы диагностики и результаты исследований, где наиболее полно отражены позитивное значение применения розбенгал пробы (РБП), реакции агглютинации (РА), реакции связывания комплемента (РСК), реакция иммунодиффузии (РИД), реакции непрямого гемагглютинации (РНГА) и молекулярно-генетической диагностики, а также целесообразность и перспективное направление дальнейшего поиска и усовершенствования методов диагностики.

Монография адресована сотрудникам научно-исследовательских учреждений и вузов, магистров и аспирантов, занимающихся проблемами бруцеллеза сельскохозяйственных животных.

ISBN 978-5-4379-0620-0

DOI: 10.13140/RG.2.2.31858.56000

ББК 48.73

© Авторский коллектив, 2019

© АНС «СибАК», 2019

СОДЕРЖАНИЕ:

Введение	5
Глава 1. Получение, характеристика и применение поли-Б антигена из бруцелл для дифференциации поствакцинальных и постинфекционных антител	9
1.1. Теоретическая характеристика бруцеллеза сельскохозяйственных животных	9
1.2. Дифференциальная диагностика бруцеллёза сельскохозяйственных животных	31
1.3. Общепринятые методы диагностики бруцеллеза животных	43
1.4. Материалы и методы исследований	81
1.4.1. Изучение штаммов бруцелл, взятых для приготовления препаратов поли-Б антигена	82
1.4.2. Характеристика сывороток, исследованных в процессе работы	83
1.4.3. Методы выделения полисахарида Б	85
1.4.4. Изучение химической структуры полисахарида Б	87
1.5. Результаты исследований	88
1.5.1. Характеристика штаммов бруцелл, используемых для приготовления полисахарида Б	88
1.5.2. Результаты изучения химической структуры и серологических свойств полисахарида Б	89
1.5.3. Испытание специфичности и активности полисахарида Б в эксперименте на морских свинках	98

1.5.4. Результаты сравнительного изучения специфичности и чувствительности реакции радиальной иммунодиффузии с полисахаридом Б и общепринятых серологических реакций (РА, РДСК, РБП)	106
Глава 2. Общая характеристика проблемы бруцеллеза северных оленей с современных эпизоотологических и эпидемиологических позиций	125
2.1. Современные научные положения основных эпизоотологических и эпидемиологических теорий	125
2.2. Некоторые вопросы природной очаговости и современные представления о резервуарах бруцеллезной инфекции северных оленей	130
2.3. Источники бруцеллезной инфекции у северных оленей, пути заражения, клинические и патологоморфологические изменения	138
2.4. Биологическая характеристика возбудителя бруцеллеза северных оленей	142
2.5. Эпидемиологическое значение бруцеллеза северных оленей	147
2.6. Эпизоотология и пути распространения	148
2.7. Характеристика эпизоотического процесса при бруцеллезе	151
2.8. Диагностика бруцеллеза у северных оленей	158
2.9. Исследования общепринятые в серологической диагностике бруцеллёза северных оленей	171
2.10. Результаты исследований	174
Заключение	205
Список литературы	225

ВВЕДЕНИЕ

Важнейшим условием подъема животноводства и обеспечения населения продуктами питания является снижение, а затем искоренение инфекционных болезней сельскохозяйственных животных. Одной из таких болезней, наносящих значительный ущерб экономике страны, является бруцеллез. В инфекционной патологии животных занимает одно из ведущих мест по своей опасности.

Не менее важным, является ликвидация бруцеллеза в эпидемиологическом отношении, так как больные бруцеллезом животные являются источником инфекции для людей.

Однако болезнь представляет большую проблему, требует значительных трудозатрат и материальных средств на проведение комплекса ветеринарно-санитарных и организационно-хозяйственных мероприятий.

В “Основных направлениях экономического и социального развития СССР на 1990 и до 2000 года” в числе важнейших проблем в области естественных наук указывается на развитие физико-химической биологии, научных основ получения физиологически активных веществ для медицины и сельскохозяйственного производства; разработка проблем иммунологии и вирусологии, генетики и селекции, а также методов и средств профилактики, диагностики и лечения наиболее распространенных заболеваний.

Бруцеллез крупного рогатого скота регистрируется во всем мире, за исключением нескольких стран, которым удалось его ликвидировать. Распространение бруцеллеза овец и коз более ограничено, хотя болезнь встречается в Средиземноморском бассейне, Азии, Африке, Центральной и Южной Америке.

Вызывая значительные потери в хозяйствах и препятствуя торговле и обмену животными как в национальном, так и в международном масштабах, бруцеллез является серьезной экономической проблемой. Существующие на территории страны очаги бруцеллеза среди животных представляют настоящую угрозу здоровью людей.

Современная система профилактики и борьбы с бруцеллезом основывается на проведении общих ветеринарно-санитарных мероприятий, выявлении и изъятии из неблагополучных стад больных животных с последующим убоем их на мясо, а также на применении средств специфической профилактики.

В комплексе противобруцеллезных мероприятий, как и при других хронических заболеваниях животных, решающее значение имеет диагностика заболевания. От того, насколько своевременно и полно будут выявлены больные животные, зависят размеры экономического ущерба и сроки ликвидации этой болезни.

Из диагностических тестов, пригодных для массового исследования животных, наиболее удобны серологические и аллергические. При изучении бруцеллеза были испытаны и предложены для практики ряд диагностических реакций. Существование множества различных методов диагностики свидетельствует, прежде всего, о недостатках каждого из них в отдельности. Среди большого числа диагностических тестов отсутствует надежный способ выявления в короткие сроки всех зараженных животных в неблагополучном по бруцеллезу стаде. Сложность разрешения этой задачи обусловливается, прежде всего, особенностями самой инфекции, при которой иммунологическое состояние организма животного (содержание в сыворотке крови различных иммуноглобулинов, аллергическая реактивность и др.) на протяжении переболевания бруцеллезом постоянно меняется, а показания диагностических реакций, которыми располагает современная наука, становятся позитивными только через 6-45 и более дней после заражения. Кроме того, реакции могут временно выпадать, то есть не обнаруживаться при исследовании в зависимости от общего состояния организма животного.

Особую сложность для диагностики представляют поствакцинальные антитела, образующиеся в организме животных, иммунизированных вакцинами из штаммов 19 и Рев-1, применяющихся в Советском Союзе с целью специфической профилактики бруцеллеза крупного рогатого скота и овец.

Разработкой методов дифференциации реакций, связанных с вакцинацией, от таковых у животных, зараженных бруцеллезом, занимались многие исследователи. Однако все предпринимавшиеся попытки остались на уровне экспериментальных исследований и в практике широкого признания не получили.

Исследованиями последних лет показана возможность дифференциации больных бруцеллезом и вакцинированных против него животных при помощи реакции радиальной иммунодиффузии с полисахаридом Б. Отсутствие данных о природе полисахарида Б сдерживает проведение широкомасштабных исследований по дифференциации поствакцинальных и постинфекционных антител на основе его применения.

Бруцеллез северных оленей на Азиатском Севере Российской Федерации имеет широкое распространение и является значительным сдерживающим фактором дальнейшего развития оленеводства.

Ряд исследователей Якутии, Таймыра, Ямала и Магаданской области (И.М. Голосов, 1956; В.А. Забродин, 1957, 1973; Н.Н. Давыдов, 1967; А.Ф. Пинигин, 1970; А.В. Лысков, 1981; Р.Б. Вашкевич, 1975; К.А. Лайшев, 1990, 1998; А.А. Хоч, 1996; Е.С. Слепцов, 1999 и др.)

провели изучение распространения, методов диагностики, средств и способов специфической профилактики бруцеллеза северных оленей. Однако, несмотря на многолетний опыт борьбы с бруцеллезом северных оленей путем проведения общих организационно-хозяйственных и специальных ветеринарно-профилактических мероприятий, заболевание, по-прежнему, часто регистрируется в оленеводческих хозяйствах. Особо следует отметить, что заболевание осложняется наличием природных очагов бруцеллеза в регионах, где обитают популяции диких северных оленей.

Важное значение в борьбе с бруцеллезом северных оленей имеет своевременное полное выявление и убой больных животных. В настоящее время из предложенных серологических методов диагностики наиболее широко используется розбенгал проба (РБП), реакция агглютинации (РА), реакция связывания комплемента (РСК), реакция иммунодиффузии (РИД) с 0-полисахаридным антигеном. Однако их существенным недостатком является не полное выявление инфицированных животных, что вызывает необходимость разработки высокочувствительных методов диагностики, обеспечивающих полное выявление животных на любой стадии болезни.

Для диагностики бруцеллеза у животных используют бактериологический, серологический и аллергический методы исследований с учетом клинических признаков болезни и эпизоотологических данных.

Серологический метод является основным, а иногда и единственным критерием оценки благополучия животных по бруцеллезу, так как при проведении бактериологического исследования больных не всегда удается выделить культуру возбудителя.

В условиях оленеводства особое внимание должно придаваться поствакцинальной диагностике. Прежде всего важно, чтобы она была своевременной (обеспечивающей максимальное использование провоцирующих свойств вакцин) и достаточно простой.

В последние годы значительное количество исследований посвящено изысканию новых методов диагностики, которые позволили бы отличить поствакцинальные бруцеллезные антитела от антител, образованных в результате спонтанной инфекции.

В качестве дифференциального теста положительно зарекомендовала себя РИД с О-ПС антигеном (В.М. Чекишев с соавт. 1993).

Таким образом, на основании вышеизложенного, очевидна необходимость изыскания рациональных схем поствакцинальной диагностики в целях повышения эффективности системы противобруцеллезных мероприятий при бруцеллезе северных оленей.

В настоящее время для диагностики ряда бактериальных и вирусных болезней широко применяется реакция непрямой гемагглютинации (РНГА). Целесообразность применения этой диагностической реакции при бруцеллезе животных обоснована в работах П.М. Грабовского (1970); Д. Акмаммедова (1972); М.И. Чернышевой с соавт. (1973); И.А. Касьянова (1980); Э.А. Алиева (1984); М.П. Иванова (1985); С.Г. Хаирова (2001); К.В. Шумилова, В.Г. Ощепкова (2003); О.Д. Склярова (2005); Л.В. Дегтяренко с соавт. (2005), которые установили специфичность и более высокую чувствительность РНГА по сравнению с РА и РСК.

Следует также отметить, что для проведения РНГА выпускается стандартизированный коммерческий диагностикум, что значительно облегчает постановку реакции. На основании вышеизложенного был поставлен вопрос о возможности использования РНГА для диагностики бруцеллеза у северных оленей. В этом направлении были проведены определенные исследования.

Обзор доступной отечественной и зарубежной научной литературы показывает, что изыскание серологических методов диагностики бруцеллеза животных и северного оленя являются актуальной проблемой в России и в странах ближнего и дальнего зарубежья. Из вопросов касающихся объяснения этой проблемы, наиболее полно изучены диагностические методы как РБП, РА, РСК, РИД с ОПС-антигеном. Вместе с тем, до настоящего времени недостаточно изучены и определены, диагностикумы РНГА с антигеном бруцеллезным эритроцитарным для диагностики бруцеллеза северных оленей.

По мнению некоторых авторов, внедрение в ветеринарную практику РНГА, как дополнительного серологического метода диагностики бруцеллеза животных, позволяет повысить эффективность диагностических исследований, сократить материальные и трудовые затраты за счет уменьшения расходов на основные компоненты многочисленных серологических реакций.

Вместе с тем, на основании вышеизложенного, очевидна необходимость изыскания рациональных схем поствакцинальной диагностики в целях повышения эффективности системы противобруцеллезных мероприятий при бруцеллезе северных оленей. Таким образом, вопросы разработки новых способов диагностики и критерии их оценки при бруцеллезе северных оленей остаются актуальными на сегодняшний день и требуют своего разрешения.

*Аскерова С.А., Гулюкин М.И., Гулюкин А.М., Искандаров М.И.,
Лайшев К.А., Слепцов Е.С., Винокуров Н.В., Федоров В.И.,
Захарова О.И., Павлова А.И.*

Монография

МОДИФИЦИРОВАННЫЕ МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ БРУЦЕЛЛЕЗА СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ

DOI: 10.13140/RG.2.2.31858.56000

Подписано в печать 29.05.19. Формат бумаги 60x84/16.
Бумага офсет №1. Гарнитура Times. Печать цифровая.
Усл. печ. л. 16,375. Тираж 550 экз.

Издательство АНС «СибАК»
630049, г. Новосибирск, Красный проспект, 165, оф. 4.
E-mail: mail@sibac.info

Отпечатано в полном соответствии с качеством предоставленного
оригинал-макета в типографии «Allprint»
630004, г. Новосибирск, Вокзальная магистраль, 3.

16+