

*На правах рукописи*

**Димова Алеся Сергеевна**

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

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

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
доктора ветеринарных наук

Ставрополь – 2018

Работа выполнена в Институте экспериментальной ветеринарии Сибири и Дальнего Востока ФГБУН Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий РАН

**Научный консультант:** **Аракелян Петрос Карапетович**  
доктор ветеринарных наук, профессор

**Официальные оппоненты:** **Девришов Давуд Абдулсемедович**  
доктор биологических наук, профессор,  
член-корреспондент РАН,  
ФГБОУ ВО Московская государственная академия  
ветеринарной медицины и биотехнологии –  
МВА им. К. И. Скрябина, заведующий кафедрой  
иммунологии и биотехнологии

**Искандаров Марат Идрисович**  
доктор ветеринарных наук,  
Федеральный научный центр Всероссийский  
научно-исследовательский институт  
экспериментальной ветеринарии им. К. И. Скрябина  
и Я. Р. Коваленко РАН, главный научный сотрудник  
лаборатории хронических инфекций

**Власенко Василий Сергеевич**  
доктор биологических наук, доцент,  
ФГБНУ Омский аграрный научный центр, главный  
научный сотрудник лаборатории эпизоотологии  
и мер борьбы с туберкулезом отдела ветеринарии

**Ведущая организация:** **ФГБНУ «Прикаспийский зональный научно-исследовательский ветеринарный институт»**

Защита состоится 19 октября 2018 г. в 10.00 часов на заседании диссертационного совета Д 220.062.02 при ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет» по адресу: 3555017, г. Ставрополь, пер. Зоотехнический, 12.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет» и на официальном сайте организации [www.stgau.ru](http://www.stgau.ru)

Автореферат разослан «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2018 года и размещен на сайте: ВАК Министерства образования и науки РФ <http://www.vak.ed.gov.ru>.  
«\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2018 г., ФГБОУ ВО «Ставропольский ГАУ» <http://www.stgau.ru>  
«\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2018 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета  
кандидат ветеринарных наук

**Дьяченко Юлия Васильевна**

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

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

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

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

В современных условиях в ряде регионов страны эпизоотическая ситуация по бруцеллезу резко осложнилась в связи с начавшейся еще в 90-е годы реструктуризацией животноводства (Авилов В. М. с соавт., 2012; Гулюкин М. И. с соавт., 2013; Искандаров М. И., 2012). В процессе стихийного формирования и перестроения хозяйств их эпизоотическое состояние по бруцеллезу не всегда учитывалось. Более того, стала преобладать практика содержания в одном стаде (отаре) животных различных половозрастных групп. Поэтому исчезла возможность использования необходимого в противоэпизоотическом отношении принципа планомерного вытеснения скомпрометированного поголовья. В этих новых условиях ранее технологичные средства и методы контроля эпизоотического процесса постепенно превратились в нетехнологичные, а зоны приуроченности болезни среди крупного и мелкого рогатого скота стали расширяться (Аракелян П. К., Димов С. К., 2013).

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

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

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

Живые слабоагглютиногенные вакцины (в нашей стране это вакцинные штаммы *B. abortus* 82 и 75/79-AB) в регламентированных дозах на благополучном по

бруцеллезу в зрелом поголовье крупного рогатого скота обеспечивают угасание РА и РСК с антигенами, изготовленными из типичных S-форм бруцелл, обычно к 6 месяцам, РИД с О-ПС антигеном – к 1,5 месяцам после вакцинации. Это в определенной мере позволяет рассчитывать в диагностике на провоцирующие свойства вакцин. Их иммуногенность оказалась вполне достаточной при многократных иммунизациях животных с интервалом 1–2 года (Авилов В. М., 1997; Косилов И. А. с соавт., 1999; Никифоров И. П., 1996; Салмаков К. М., 1977).

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

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

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

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

Диагностика бруцеллеза животных включает в себя массовую скрининговую экспресс-диагностику, максимальное выявление скрытого бруцеллоносительства, объективную дифференциацию серологических реакций вакцинной и инфекционной природы, оценку уровня эпизоотической и эпидемической опасности животных, видовую дифференциацию выделенных культур бруцелл и т. д. (Дегтяренко Л. В., 2005; Косилов И. А. с соавт., 1999; Юсупов О. Ю. с соавт., 2015 и др.). Технологичность ее средств заключается в их специфичности, оптимальном числе, простоте и скорости применения, минимальных затратах на производство и др.

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

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

В задачи исследований входило:

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

**Научная новизна:**

- комплексно обоснована необходимость осуществления контроля эпизоотического процесса бруцеллеза с обязательным использованием вакцин на основе принципа технологичности схем их применения;
- экспериментально доказана возможность купирования бруцеллезной инфекции с помощью рациональной схемы применения пролонгированного антибиотика тетрациклинового ряда Нитокс-200 в сочетании с последующей конъюнктивной иммунизацией вакциной из штамма 19 в уменьшенной дозе (Патент № 2501567 «Способ профилактики бруцеллеза животных» от 20 декабря 2013 г.);
- доказана эффективность новой тест-системы ИФА в осуществлении массовой скрининговой экспресс-диагностики бруцеллеза у невакцинированного крупного рогатого скота, а также в инструктивные сроки после иммунизации живыми вакцинами из слабоагглютиногенных штаммов *V. abortus* 82 и 75/79-AB;
- доказана возможность применения новой тест-системы ИФА для массовой скрининговой экспресс-диагностики бруцеллеза у невакцинированного мелкого рогатого скота, а также после конъюнктивной иммунизации живой вакциной из агглютиногенного штамма *V. abortus* 19 в уменьшенных дозах;
- получены результаты, свидетельствующие о перспективах использования в качестве экспресс-метода дифференциальной диагностики бруцеллеза крупного рогатого скота ИФА с О-ПС антигеном по специально разработанной методике, более эффективного, чем официально принятая для этих целей РИД с О-ПС антигеном (Патент № 26635515 «Способ дифференциальной экспресс-диагностики бруцеллеза крупного рогатого скота» от 13 ноября 2017 г.);
- доказаны преимущества использования в комплексе эпизоотической оценки по бруцеллезу стад крупного рогатого скота, иммунизированного живыми вакцинами из слабоагглютиногенных штаммов *V. abortus* 82 и 75/79-AB, R-антигена, изготовленного из природной R-формы бруцелл – *V. ovis*, перед R-антигеном, изготовленным из R-формы *V. abortus* (Патент № 2518308 «Способ дифференциальной эпизоотической оценки по бруцеллезу стад крупного рогатого скота, иммунизированного живыми вакцинами из диссоциированных штаммов бруцелл» от 10 июня 2014 г.);
- доказана эффективность новых схем получения дифференцирующих видовых сывороток anti-melitensis и anti-abortionus (Патент № 2613901 «Способ получения бруцеллезной моноспецифической сыворотки anti-melitensis» от 21 мар-

та 2017 г.; Патент № 2639127 «Способ получения бруцеллезной моноспецифической сыворотки anti-abortionus» от 19 декабря 2017 г.);

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

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

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

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

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

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

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

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

Широкое внедрение в ветеринарную практику разработанной с учетом полученных научных результатов концепции оптимизации специфической профилактики и поствакцинальной диагностики бруцеллеза животных в современных условиях их содержания на основе технологичных схем использования различных средств и методов позволяет в значительной мере повысить эффективность систем противобруцеллезных мероприятий за счет ускорения сроков оздоровле-

ния неблагополучных стад (отар) и своевременного предотвращения вспышек болезни.

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

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

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

9 – методические рекомендации, положения и пособия, утвержденные в 2006–2014 годах секцией инфекционной патологии отделения ветеринарной медицины Россельхозакадемии, подсекцией «Инфекционная патология животных в регионе Сибири и Дальнего Востока» отделения ветеринарной медицины Россельхозакадемии и отделения сельскохозяйственных наук РАН.

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

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

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

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

В работе были использованы: аналитический, эпизоотологический, бактериологический, серологический и другие методы исследований; известные, а также

новые диагностические, вакцинные и другие препараты ветеринарного назначения; лабораторные и сельскохозяйственные животные, биологический материал; вакцинные, полевые и эталонные культуры возбудителей бруцеллеза.

**Основные положения, выносимые на защиту:**

– Эффективный контроль эпизоотического процесса бруцеллеза предусматривает обязательное использование вакцин на основе принципа их технологичности, заключающегося в обеспечении не только высокого уровня иммунитета, но и беспрепятственной диагностике в целях выявления бруцеллоносителей в максимально возможные ранние сроки после вакцинации. У крупного рогатого скота достичь такого эффекта удается путем рационального использования живых вакцин из слабоагглютиногенных штаммов 82 и 75/79-AB и последующей дифференциальной диагностики в сочетании с общими организационно-хозяйственными и санитарными мероприятиями, при относительной однородности сформированных стад в возрастном, эпизоотическом и иммунном отношении. В мелких хозяйствах, где формирование однородных стад становится невозможным, эти схемы вакцинации и поствакцинальной диагностики превращаются в нетехнологичные.

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

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

– В разработанной концепции оптимизации специфической профилактики и поствакцинальной диагностики бруцеллеза животных на основе технологичных схем использования различных средств и методов ведущая роль принадлежит конъюнктивной иммунизации животных вакциной из штамма V. abortus 19 в уменьшенных дозах в сочетании с рациональной поствакцинальной диагностикой с доказанной противозооотической эффективностью.

**Степень достоверности.** Достоверность результатов обусловлена большим объемом экспериментального материала, использованием современных методик исследований, производственным испытанием и статистической обработкой



данных. Результаты исследований опубликованы в рецензируемых источниках и апробированы на специализированных научных конференциях.

**Апробация работы.** Материалы диссертации доложены и обсуждены:

– на Международной научно-практической конференции «Проблемы стабилизации и развития сельскохозяйственного производства Сибири, Монголии и Казахстана в XXI веке» (Новосибирск, 1999);

– научной конференции молодых ученых СО РАСХН (Краснообск, 2001);

– Всероссийской научно-практической конференции по проблемам хронических инфекций (бруцеллез, туберкулез) (Омск, 2001);

– Международной научной конференции, посвященной 175-летию аграрной науки Сибири «Эпизоотология, диагностика и профилактика хронических инфекционных болезней» (Омск, 2003);

– Международной научно-практической конференции «Аграрная наука Сибири, Монголии, Казахстана и Башкортостана – сельскому хозяйству» (Новосибирск, 2003);

– Международной научной конференции «Современные проблемы эпизоотологии» (Новосибирск, 2004);

– Сибирском ветеринарном конгрессе «Актуальные вопросы ветеринарной медицины» (Новосибирск, 2005);

– Всероссийской научно-практической конференции, посвященной памяти профессора И. А. Косилова «Современные проблемы диагностики и профилактики хронических зооантропонозных инфекций» (Новосибирск, 2009);

– Сибирском ветеринарном конгрессе «Актуальные вопросы ветеринарной медицины» (Новосибирск, 2010);

– Международной научно-практической конференции, посвященной 70-летию со дня основания Института экспериментальной ветеринарии Сибири и Дальнего Востока «Актуальные вопросы ветеринарной медицины Сибири» (Новосибирск, 2010);

– Международной научно-практической конференции, посвященной памяти выдающегося организатора сибирской ветеринарной науки А. В. Копырина «Актуальные проблемы инфекционных и незаразных патологий животных» (Омск, 2010);

– Международной научно-практической конференции, посвященной 90-летию СибНИВИ-ВНИИБТЖ «Инфекционная патология животных», (Омск, 2011);

– X, XI, XII, XIV сибирских ветеринарных конференциях «Актуальные вопросы ветеринарной медицины» (Новосибирск, 2011, 2012, 2013, 2015);

– Международной научно-практической конференции «Современные проблемы пастбищного животноводства в аридной зоне Центрально-Азиатского региона» (Кызыл, 2015);

– Международной научно-практической конференции, посвященной 110-летию Казахского научно-исследовательского ветеринарного института «Интеграция науки и практики в обеспечении ветеринарного благополучия» (Алматы, 2015);

– научно-практической конференции преподавателей, студентов, магистрантов и аспирантов, посвященной 80-летию Новосибирского ГАУ (Новосибирск, 2016).

**Публикации результатов исследований.** По материалам диссертации опубликованы 65 научных работ, в которых изложены основные положения выполненной работы, в том числе 24 изданы в периодических изданиях, входящих в Пере-

чень ведущих рецензируемых научных журналов, утвержденных ВАК Министерства образования и науки России и рекомендованных для публикации основных научных результатов диссертации на соискание ученой степени («Ветеринария», «Достижения науки и техники АПК», «Ветеринария и кормление», «Сибирский вестник сельскохозяйственной науки»), 5 патентов и 10 методических рекомендаций, положений и пособий.

**Объем и структура работы.** Диссертация изложена на 315 страницах компьютерного текста и включает: введение, обзор литературы, материалы и методы, собственные исследования, заключение, выводы, практические предложения, список литературы, приложения.

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

## **1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ**

В первом разделе обзора литературы раскрыты теоретические основы контроля эпизоотических процессов (современные представления об эпизоотическом процессе и концепция управляемых инфекций как теоретическая основа контроля эпизоотических процессов).

Второй раздел обзора литературы посвящен эпизоотическому процессу бруцеллеза и методам его контроля. В нем изложены особенности эпизоотического процесса бруцеллеза и дана ретроспективная оценка эффективности его различных методов.

Третий раздел обзора литературы содержит результаты ретроспективного анализа проблем технологичности использования различных средств и схем специфической профилактики и диагностики в системах контроля эпизоотического процесса бруцеллеза.

## **2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ**

### **2.1. Материалы и методы**

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

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

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

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

№ 0779-2014-0102 «Изучение современных особенностей патогенеза хронических и зооантропонозных болезней сельскохозяйственных живот-

ных, разработка эффективных систем диагностики и методологии контроля рисков возникновения и распространения эпизоотических очагов» (2014–2016 гг.).

В исследованиях использовали следующие методы: *аналитический и монографический* – при анализе научной литературы по проблеме бруцеллеза животных, написании учебно-методических пособий и рекомендаций, включающих материалы диссертации; *эпизоотологический* – при анализе эпизоотической ситуации по бруцеллезу; *бактериологический* (по общепринятым методикам); *серологический* (по общепринятым методикам).

В работе использовали официальные противобруцеллезные вакцины (живые из штаммов *B. abortus* 19, 82, 75/79-AB, RB-51 и *B. melitensis* Rev-1; убитую из штамма *B. abortus* KB-17/100), а также экспериментальные вакцинные препараты, изготовленные из различных штаммов бруцелл по различным технологиям, в том числе с использованием адьювантов. Вакцины применяли подкожным и конъюнктивальными методами в различных дозах.

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

Оценка технологичности применения различных противобруцеллезных вакцин у разных видов животных (более 60 тыс. гол.) была проведена по материалам ветлабораторий, отчетных данных госветучреждений регионов, собственных комплексных серологических исследований сывороток крови от животных различных половозрастных групп (более 30 тыс. проб) с разным иммунным и эпизоотическим статусом, эпизоотологических обследований хозяйств.

В экспериментах и производственных опытах было задействовано в общей сложности более 12 тыс. голов крупного рогатого скота, более 3 тыс. овец, 200 морских свинок, 18 кроликов.

Комплексные серологические исследования сывороток крови от животных проводили с S-бруцеллезными антигенами в РБП, РА, РСК, РНГА, ИФА, а также с официальным О-ПС антигеном, изготовленным из *B. abortus*, в РИД.

Кроме того, в РСК использовали R-антигены (официальный овисный диагностикум, изготовленный из природной R-формы бруцелл – *B. ovis*; R-антиген, изготовленный по аналогичной методике из R-формы *B. abortus*); в РИД – О-ПС антиген, изготовленный по аналогичной методике из *B. melitensis*; в ИФА – различные варианты тест-систем.

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

Постановку ИФА с использованием О-ПС антигена осуществляли по общепринятой методике с тем отличием, что для исследования каждой сыворотки крови использовали две лунки полистирольного планшета с сорбированным на их поверхность антигеном, изготовленным из суточной культуры типичных бруцелл штамма *B. abortus* 19. В обе лунки вносили одинаковое количество сыворотки крови от обследуемого животного и инкубировали при 37 °С в течение 30–60 мин при регулярном встряхивании. При этом во вторую из них для конкурентного анализа дополнительно вносили ОП-С антиген (входящий в официально утвержден-

ную и выпускаемую НПЦ «ВетБиоТест» тест-систему для диагностики бруцеллеза крупного рогатого скота и северных оленей в РИД) в количестве, эквивалентном антигену, сорбированному на поверхность лунок планшета. В качестве универсального конъюгата применяли препарат на основе рекомбинантного белка G.

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

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

На морских свинках изучали проявление серологических реакций и иммунитета к искусственному заражению культурой вирулентного штамма *B. melitensis* (4 опытные группы по 10 гол. и контрольная группа 5 гол.) через 90 дней после подкожного и конъюнктивного введения им вакцин, изготовленных на основе живой культуры штамма *B. abortus* 19, с различным количеством микробных клеток, а также через 90 дней после подкожного введения им вакцин, изготовленных на основе убитой культуры штамма *B. abortus* 19 (S-форма), с различным количеством микробных клеток, совместно с адъювантом MONTANIDE™ ISA 61 VG.

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

В целях поиска технологичной схемы купирования бруцеллезной инфекции были проведены два опыта на морских свинках (40 гол.).

Схемы отдельных опытов более подробно описаны в соответствующих разделах диссертации.

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

## **2.2. Результаты исследований**

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

Метод контроля эпизоотического процесса бруцеллеза, основанный на полной сдаче на убой всего неблагополучного по бруцеллезу поголовья животных

в сочетании с комплексом общих ветеринарно-санитарных и организационно-хозяйственных мер, противоэпизоотически эффективен, но экономически не приемлем для широкого использования.

На рисунке 1 концептуально показана невозможность надежного контроля эпизоотического процесса даже с помощью комплексной диагностики из-за ее несовершенства, а также из-за реального существования на неиммунном фоне процессов реверсии атипичных форм бруцелл в типичные и инфицирования интактных животных.

Концептуальная модель, представленная на рисунке 2, в отличие от концептуальной модели, представленной на рисунке 1, обосновывает возможность прекращения процесса выявления инфицированных животных за счет наличия в популяциях перманентного иммунитета, препятствующего возможности реверсии возбудителя и обеспечивающего тенденцию к его элиминации.

Однако принципиальное значение в этой связи имеет уровень технологичности вакцин.

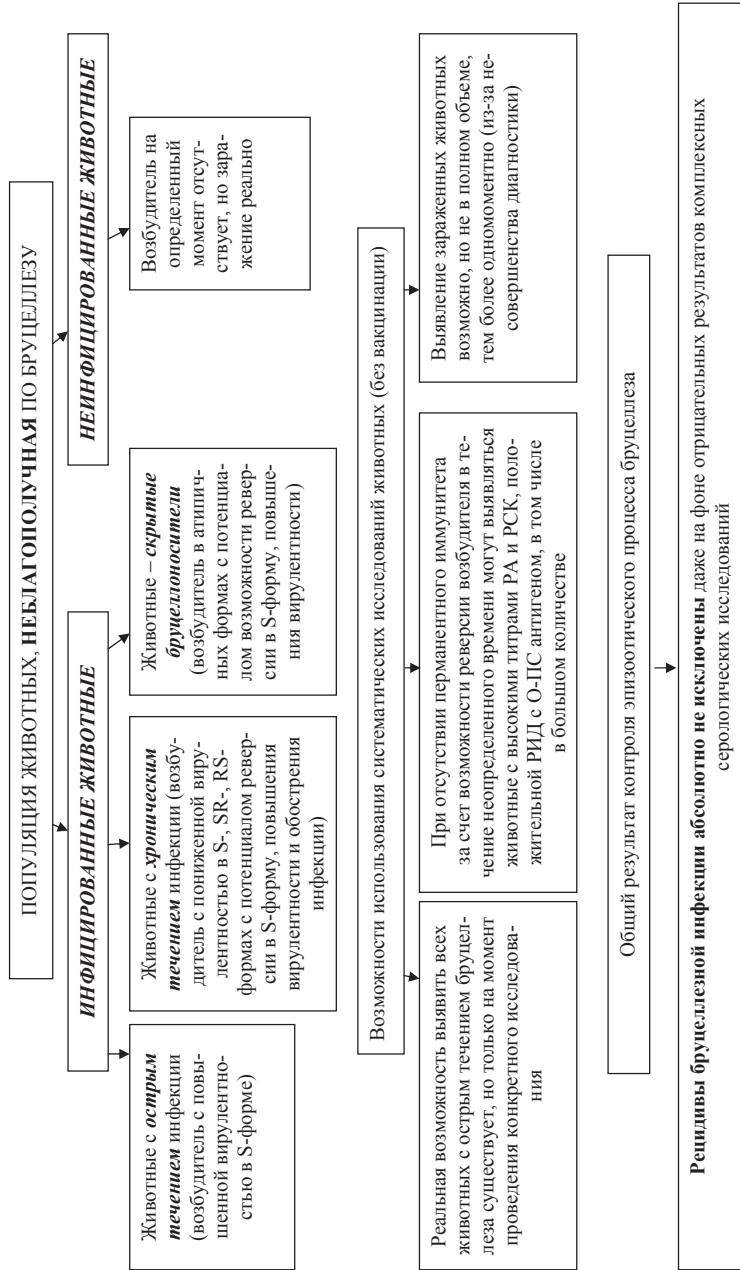
Живые инагглютиногенные вакцины, обеспечивая возможность диагностических исследований животных на бруцеллез в любые сроки после иммунизации, обладают весьма низким уровнем иммуногенности: в наших опытах на морских свинках у инагглютиногенной вакцины из штамма *V. abortus* RB-51 через 3 мес. он был 60 %, а через 6 месяцев – 0 %.

Живые агглютиногенные вакцины, напротив, на мировом уровне признаны самыми иммуногенными. Уровень их иммуногенности в экспериментах, в том числе наших, достигал во многих случаях 100 %. Однако, из-за издержек, связанных с поствакцинальной диагностикой, их использование при подкожном методе введения в официально регламентированных дозах (крупному рогатому скоту – 80 млрд м.к., мелкому рогатому скоту – 40 млрд м.к.) оказалось возможным лишь при однократной иммунизации молодняка (поствакцинальные реакции в этом случае угасают в течение 10 месяцев).

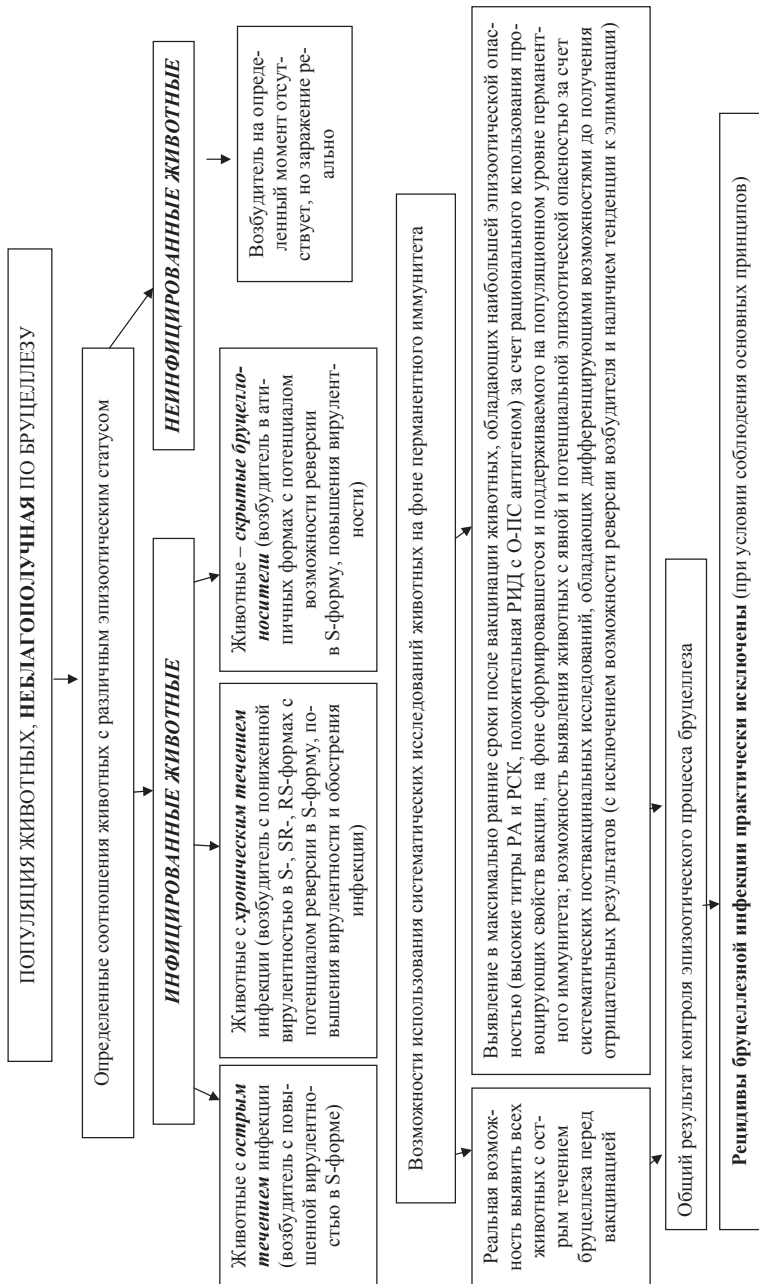
Живые слабоагглютиногенные вакцины явились компромиссным вариантом между живыми инагглютиногенными и агглютиногенными вакцинами.

Так, в масштабах одного из регионов Сибири (при наличии 532 ферм, неблагополучных по бруцеллезу крупного рогатого скота) за счет разработки и внедрения рациональных схем применения живых вакцин из слабоагглютиногенных штаммов *V. abortus* 82 и 75/79-AB, в том числе на фоне однократной иммунизации молодняка живой вакциной из агглютиногенного штамма *V. abortus* 19, и поствакцинальной диагностики (в том числе и дифференциальной), с 1974 года по 2004 год удалось добиться его полного оздоровления к 2005 году. С 2005 года по 2009 год у выявляемого незначительного числа положительно реагирующих животных подтверждали вакцинную природу реакций. В 2010–2016 годах происходили единичные вспышки бруцеллезной инфекции, но только среди неиммунных животных.

Противоэпизоотический эффект живых слабоагглютиногенных вакцин наблюдали и в других регионах. Так, в период с 2012 года по 2016 год благодаря внедрению рациональных схем специфической профилактики, основанной на использовании вышеперечисленных вакцин, и поствакцинальной диагностики в сочетании с общими организационно-хозяйственными и ветеринарно-санитарными мерами удалось оздоровить от бруцеллеза 8 неблагополучных по бруцеллезу ферм 5 хозяйств.



**Рисунок 1** – Концептуальная модель контроля эпизоотического процесса бруцеллеза только на основе диагностики (без вакцинации)



**Рисунок 2** – Концептуальная модель контроля эпизоотического процесса бруцеллеза на основе перманентного иммунитета, создаваемого в популяции животных с помощью вакцин, в сочетании с рациональной поствакцинальной диагностикой

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

В последние годы в стадах крупного рогатого скота, иммунизированного вакцинами из штаммов 82 или 75/79-AB, где бруцеллез эпизоотологическим методом не подтверждался, стали чаще отмечать сомнительные и даже положительные серологические реакции на указанную болезнь, требующие их объективной дифференциальной оценки.

Было доказано, что основным критерием, подтверждающим эпизоотическую опасность реагирующих животных, является положительная РИД с О-ПС антигеном.

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

На этой основе был разработан комплекс дифференциально-диагностических исследований, включающий в себя 5 этапов:

1. Эпизоотологическое обследование хозяйств, подтверждающее или исключающее наличие в них бруцеллеза.

2. Комплексные серологические исследования сывороток крови от реагирующих на бруцеллез коров.

3. Бактериологическое исследование биоматериала от убитых с диагностической целью животных.

4. Оценка эпизоотической ситуации на основе результатов, полученных при предыдущих этапах исследований.

5. Оценка эпизоотического статуса реагирующих животных.

Нами в 2013–2016 годах в условиях 68 хозяйств 24 административных районов с помощью указанного комплекса удалось объективно доказать их благополучие, в том числе предотвратить необоснованную сдачу на убой реагирующих животных.

Исключением из описанной ситуации явились случаи единичного реагирования в РИД с О-ПС антигеном, при отсутствии эпизоотологических оснований считать данные хозяйства неблагополучными по бруцеллезу. Их благополучие подтвердили отрицательными результатами бактериологического исследования биоматериала от животных с положительной РИД.

В процессе комплексного эпизоотологического обследования таких стад были выявлены различные факторы, способствующие проявлению у животных поствакцинальных реакций с S-диагностикумами (совместное содержание иммунизированного и неиммунизированного поголовья, первичная иммунизация животных во взрослом состоянии, нарушения интервалов между иммунизациями и др.).

Отдельного внимания в качестве одного из возможных факторов, наряду с вышперечисленными, заслуживает и наличие в выпускаемых биопредприятиями слабоагглютиногенных вакцинах бруцелл с антигенной структурой, тяготеющей к S-компоненту. Так, при исследовании 4 серий вакцины из штамма В. abortus 75/79-AB колонии в S-форме обнаружили у 92,9–99,8 % из их общей структуры. При исследовании 9 серий вакцины из штамма В. abortus 82 колонии в S-форме составляли в отдельных сериях до 57,4 %.



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

Так, в одном из благополучных хозяйств при плановом исследовании на бруцеллез 150 коров, многократно иммунизированных против бруцеллеза вакциной из штамма 82 (последний раз – 1 год назад), было выявлено 13 животных с РА и РСК различного характера, в том числе 5 из них – с положительной РИД (у всех регистрировали высокие титры РСК с S-антигеном при низких титрах РСК с R-антигеном). Выяснилось, что за 14 дней до взятия крови указанным животным вводили вакцины против сибирской язвы и эмкара, а также аллерген туберкулин. При повторном взятии крови от указанных 5 животных через 14 дней после предыдущего РИД была отрицательной во всех исследованных пробах; РСК с S-антигеном в разведении 1:20 и РА в титре 100 МЕ была в одной пробе; в остальных пробах титры РА и РСК с S-антигеном не превышали 50 МЕ и 1:10, тогда как РСК с R-антигеном во всех 5 пробах была положительной в разведении 1:20. Результаты бактериологического исследования биоматериала от убитого в диагностических целях животного с максимальными титрами РА и РСК были отрицательными.

В другом благополучном хозяйстве угрожаемой зоны в 4 маточных стадах крупного рогатого скота мясного направления провели исследование на бруцеллез через 2 года после последней иммунизации вакциной из штамма 82 на фоне проведенной 14 дней назад иммунизации адъювант-вакциной против ящура.

В двух стадах коров в возрасте 5–6 лет (количество вакцинаций против бруцеллеза не превышало 4 раз) из общего числа исследованных 261 гол. было выявлено 37 реагирующих (14,1 %), в том числе в высоких титрах РА и РСК не было. РИД была отрицательной во всех случаях.

В двух стадах коров в возрасте 8–11 лет (количество вакцинаций против бруцеллеза составляло 6 и более раз) из общего числа исследованных 237 гол. было выявлено 119 реагирующих (50,2 %), в том числе в высоких титрах РА и РСК – 12 гол., из них у 4-х была положительной РИД.

Практическое угасание поствакцинальных реакций у ранее реагировавших животных произошло через 4 мес.

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

На фоне создания крупных молочных скотоводческих комплексов в масштабах страны продолжают существовать многочисленные мелкие хозяйства, в которых допускается совместное содержание животных разных половозрастных групп, а поступление новых животных недостаточно контролируется. В них стало невозможным применять живые слабоагглютиногенные вакцины из-за серьезных препятствий в объективной дифференциальной поствакцинальной диагностике бруцеллеза. Не случайно на ряде территорий среди неиммунного поголовья стали возникать многочисленные острые вспышки бруцеллеза. В этой связи необходимость новых, технологичных применительно к современным условиям схем специфической профилактики и поствакцинальной диагностики бруцеллеза животных стала очевидной.

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

#### **2.2.3.1. Экспериментальная оценка адьювант-вакцин**

Ранее нами была доказана нетехнологичность адьювант-вакцин, изготовленных на основе одного из пяти нереактогенных масляных адьювантов (3310 М ВНИИЗЖ) из штаммов *B. melitensis* Рев-1 и *B. abortus* 82 у мелкого и крупного рогатого скота соответственно (по причине резко выраженной у них агглютиногенности), а также официальной адьювант-вакцины из штамма *B. abortus* KB-17/100 (по причине резко выраженной реактогенности).

В дальнейшем на морских свинках изучали вакцины, изготовленные на основе нового масляного адьюванта MONTANIDE ISA 61 VG из инактивированных штаммов бруцелл вида *abortus* в S- и R-формах с различной концентрацией микробных клеток, а также МДА (микробного дезинтеграта-антигена, изготовленного из *B. abortus* 19 – S-форма) в разных дозах.

Максимально агглютиногенные свойства проявились у животных, иммунизированных адьювант-вакцинами, изготовленными из агглютиногенного штамма *B. abortus* 19 (S-форма) и МДА (микробный дезинтеграт-антиген, изготовленный из *B. abortus* 19 – S-форма).

В частности, у животных, иммунизированных адьювант-вакциной, изготовленной из агглютиногенного штамма *B. abortus* 19, в дозе 500 млн м.к., через 90 дней после иммунизации высокие титры РА и/или РСК с S-антигеном и положительную РИД с О-ПС антигеном наблюдали у 100 % исследованных. Причем кардинальное уменьшение дозы к существенному снижению уровня их проявления не приводило. Иммуногенность вакцин этих типов при искусственном заражении животных культурой вирулентного штамма *B. melitensis* оказалась максимальной и на 90-й день после иммунизации при разных дозах применения была на уровне 40–100 % у адьювант-вакцины из штамма 19 и 20–80 % – у адьювант-вакцины из МДА.

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

Таким образом, все изученные варианты адьювант-вакцин оказались нетехнологичными (большинство из них из-за выраженной агглютиногенности). Варианты адьювант-вакцин на основе R-штамма бруцелл были низко иммуногенными.

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

В эксперименте на морских свинках изучали проявление серологических реакций и иммунитета через 90 дней при подкожном и конъюнктивальном введении живой вакцины из штамма *B. abortus* 19 в сравнении с подкожным введением вакцин на основе убитой культуры штамма *B. abortus* 19

(с различным количеством микробных клеток) и адьюванта MONTANIDE ISA 61 VG.

У животных, иммунизированных живой культурой штамма *V. abortus* 19 в дозе 1 млрд м.к. подкожно, через 90 дней после иммунизации в 100 % случаев были отмечены высокие титры РА и/или РСК с S-антигеном, но отрицательная РИД с О-ПС антигеном. У животных, иммунизированных живой культурой штамма *V. abortus* 19 в дозе 100 млн м.к. конъюнктивально, через 90 дней после иммунизации во всех случаях была отрицательной РИД с О-ПС антигеном и отсутствовали высокие титры РА и/или РСК с S-антигеном. РА была отрицательной в 80 % случаев. РСК была во всех случаях положительной в титрах не выше 1:10.

В группах животных, иммунизированных убитой культурой штамма *V. abortus* 19 в дозах как 100 млн м.к., так и 1 млрд м.к. совместно с адьювантом подкожно, высокие титры РА и/или РСК отмечены в 100 % случаев соответственно, а РИД с О-ПС антигеном была положительной в 70 и 80 % случаев соответственно.

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

- в группе иммунизированных живой культурой штамма *V. abortus* 19 в дозе 1 млрд м.к. подкожно – на уровне 100 %;
- в группе иммунизированных живой культурой штамма *V. abortus* 19 в дозе 100 млн м.к. конъюнктивально – на уровне 80 %;
- в группе иммунизированных убитой культурой штамма *V. abortus* 19 в дозе 100 млн м.к. совместно с адьювантом подкожно – на уровне 80 %;
- в группе иммунизированных убитой культурой штамма *V. abortus* 19 в дозе 1 млрд м.к. совместно с адьювантом подкожно – на уровне 40 %.

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

В ранее проведенных экспериментах на овцах, двукратно привитых вакциной из штамма 19 с интервалом 12 мес. конъюнктивально (4 млрд м.к.) и подкожно (40 млрд м.к.), уровень иммунитета отличался по напряженности незначительно (77,8 и 88,9 % соответственно).

При серологических исследованиях проб сывороток крови 519 овец в первой группе животных (привиты конъюнктивально в малой дозе 4 млрд м.к. – 245 гол.) полное угасание РА наступило уже к 90 дню, а РСК – к 120 дню, тогда как во второй группе (привиты подкожно в полной дозе – 40 млрд м.к. – 274 гол.) даже через 360 дней полного угасания РА и РСК не наступило.

Даже после четырехкратной конъюнктивальной иммунизации овец через 2,5 месяца РИД и РА отсутствовали, а РСК в титре 1:5 была у 1,3 % исследованных животных.

В опыте на 120 гол. здорового крупного рогатого скота различных половозрастных групп благополучного по бруцеллезу хозяйства (таблица 1) поствакцинальные реакции в виде РА и РСК, проявившиеся на 15-й день после конъюнктивальной иммунизации у 13,3–66,6 % из числа исследованных, полностью угасли к 85 дню. РИД с О-ПС антигеном была отрицательной у всех животных во все сроки исследований.

Таблица 1 – Динамика проявления поствакцинальных реакций у здорового крупного рогатого скота разных половозрастных групп, иммунизированного вакциной из штамма *B. abortus* 19 конъюнктивно

Срок после вакцинации, дни	Количество исследованных животных	Число реагировавших животных		
		РА + РСК		РИД
		всего	в высоких титрах	
Коровы				
15	45	22	–	–
30	45	17	–	–
85	45	–	–	–
Нетели				
15	15	10	–	–
30	15	3	–	–
85	15	–	–	–
Телки старше года				
15	30	20	2	–
30	30	14	–	–
85	30	–	–	–
Телки до года				
15	30	4	–	–
30	30	1	–	–
85	30	–	–	–

### 2.2.3.3. Поиск технологичной схемы купирования бруцеллезной инфекции

В первом и втором опытах изучена эффективность антибактериального препарата «Нитокс-200» при купировании экспериментальной бруцеллезной инфекции на морских свинках при самостоятельном применении (таблица 2), а также в сочетании с конъюнктивной иммунизацией вакциной из штамма 19 (таблица 3).

Таблица 2 – Результаты применения различных доз Нитокса-200 при купировании экспериментальной бруцеллезной инфекции (опыт на морских свинках)

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

Примечание:  $P \leq 0,001$ .

Таблица 3 – Результаты сочетанного применения Нитокса-200 и конъюнктивальной иммунизации при купировании экспериментальной бруцеллезной инфекции (опыт на морских свинках)

№ гр.	Кол-во гол.	Заражающий штамм, доза, место введения	Нитокс-200, через 20 дн. после заражения, мг/кг ж.м.	Вакцинация (вакцина, доза) через 8 дн. после введения Нитокса-200	Выявлено бруцеллоносителей через 1 мес. после вакцинации	
					абс.	%
1	5	<i>B. melitensis</i> 16М 100 м.к., п/к	20	–	2	40,0
2	5	<i>B. melitensis</i> 16М 100 м.к., п/к	20	<i>B. abortus</i> 19, конъюнктивально 100 млн м.к.	–	–
3	5	<i>B. melitensis</i> 16М 100 м.к., п/к	–	<i>B. abortus</i> 19, конъюнктивально 100 млн м.к.	4	80,0
4	5	<i>B. melitensis</i> 16М 100 м.к., п/к	–	–	5	100,0

Примечание:  $P \leq 0,001$ .

В первом опыте при введении разных доз препарата «Нитокс-200» морским свинкам, экспериментально инфицированным вирулентной культурой *B. melitensis* 16М, оптимальной дозой, обеспечивающей купирование инфекционного процесса, признана доза 20 мг/кг живой массы. Из 5 животных этой группы, которым ввели Нитокс-200 в указанной дозе через 20 дней после инфицирования, культуру бруцелл в измененной (RS) форме выделили только от одного животного через 10 дней после введения антибактериального препарата.

Во втором опыте при введении инфицированным вирулентными бруцеллами животным «Нитокс-200» в дозе 20 мг/кг живой массы с последующей иммунизацией с интервалом 8 дней вакциной из штамма *B. abortus* 19 конъюнктивально в дозе 100 млн м.к. (1/10 от общепринятой дозы при подкожном введении) через 28 дней после инфицирования не выявлено ни одного инфицированного животного, даже с измененными бруцеллами.

Изученная схема позволяет, таким образом, в значительной степени сократить сроки купирования инфекционного процесса. На нее получен патент.

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

В ранние сроки после вакцинации (ревакцинации) крупного рогатого скота живыми вакцинами из диссоциированных штаммов бруцелл, в связи с их провоцирующими свойствами, использование РИД с О-ПС А-антигеном оказалось весьма эффективным (таблица 4).

Так, при последнем исследовании перед иммунизацией взрослого маточного поголовья крупного рогатого скота (296 гол.) вакциной из штамма *B. abortus* 75/79-АВ было выявлено 1,4 % животных, реагирующих в РИД, через 1,5 месяца после вакцинации – 7,0 %, а через 3 месяца реагирующих в РИД не было. Та-

ким образом, используя провоцирующий эффект вакцин, с помощью РИД с О-ПС А-антигеном удастся убедиться, насколько много в неблагополучном стаде было скрытых бруцеллоносителей, обладающих наибольшей эпизоотической опасностью.

Таблица 4 – Роль РИД с О-ПС антигеном при бруцеллезе крупного рогатого скота в выявлении скрытых бруцеллоносителей, спровоцированных вакциной

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

При комплексных серологических исследованиях сывороток крови мелкого и крупного рогатого скота (2311 и 1291 проба соответственно) было установлено, что РИД с О-ПС антигенами, полностью совпадая с показателями РА и РСК в разных сочетаниях, в диагностическом отношении в значительной степени уступает этому комплексу. Однако О-ПС антигены, изготовленные из бруцелл видов *melitensis* и *abortus* соответственно, оказались способными определять степень активности течения бруцеллезной инфекции в отарах и стадах, в том числе на фоне вакцинации.

Так, в условиях течения бруцеллезной инфекции у овец на фоне их подкожной иммунизации вакциной из штамма *V. abortus* 19 число реагирующих в РИД с О-ПС М-антигеном превышало таковое с О-ПС А-антигеном в 1,9 раза, а на фоне конъюнктивальной иммунизации этой же вакциной – в 3,3 раза.

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

Есть сообщения о полном антигенном родстве между R-формами бруцелл видов *abortus*, *melitensis*, *suis* и бруцеллами видов *ovis* и *canis*, находящимися в природной стабильной R-форме (Дегтяренко Л. В., 2005; Косилов И. А. с соавт., 1999). В этой связи сравнили эффективность использования при дифференциальной диагностике бруцеллеза крупного рогатого скота, иммунизированного живыми слабоагглютиногенными вакцинами, РСК с R-антигенами, изготовленными по одинаковой методике из *V. ovis* и R-формы *V. abortus* (таблица 5).

Таблица 5 – Эффективность овисного диагностикума (R-антигена) в РСК в дифференциальной диагностике бруцеллеза крупного рогатого скота в разные сроки после иммунизации вакциной из штамма *V. abortus* 82

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

Примечание:  $P \leq 0,001$ .

Преимущества антигена из *V. ovis* (официального овисного антигена для диагностики инфекционного эпидидимита баранов) при подтверждении вакцинного характера серологических реакций были в 1,5–4,6 раза.

На вышеуказанный способ получен патент.

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

В процессе испытания в экспресс-диагностике бруцеллеза животных разных видов различных вариантов ИФА, отличающихся использованием различных антигенов, конъюгатов, техникой постановки реакции и т. п., более эффективной оказалась тест-система ИФА на основе антигена только из *V. abortus*. Ее показания были специфичными и полностью совпадали с показаниями РА, РСК и РНГА с эритроцитарным диагностикумом. Доказана возможность ее использования и в условиях иммунизации крупного и мелкого рогатого скота живыми противобруцеллезными вакцинами.

Диагностическую эффективность ИФА с новой диагностической тест-системой, не уступающей комплексу РА+РСК и даже превосходящей его, подтвердили на 969 пробах сывороток неиммунизированного и 301 пробе сывороток

иммунизированного крупного рогатого скота из неблагополучных стад (таблицы 6 и 7) и 500 пробах сывороток иммунизированного крупного рогатого скота из благополучных стад (таблица 8).

Таблица 6 – Диагностическая эффективность новой тест-системы ИФА при бруцеллезе у неиммунизированного крупного рогатого скота неблагополучных стад

№ стада	Кол-во исследованных животных	Реагировало	
		в РА, РСК и ИФА	дополнительно только в ИФА
1	170	74	55
2	159	53	21
3	155	38	48
4	139	41	32
5	201	114	37
6	145	4	1
<b>ИТОГО</b>	<b>969</b>	<b>324</b>	<b>194</b>

Таблица 7 – Диагностическая эффективность новой тест-системы ИФА при бруцеллезе у иммунизированного крупного рогатого скота неблагополучных стад

№ п/п	Инв. № животного	Результаты серологических исследований				
		РА	РСК-S	РСК-R	РИД	ИФА
1	01230	отр.	1:5	отр.	отр.	пол. (1,824)
2	01151	отр.	1:10	отр.	отр.	пол. (1,351)
3	1000	отр.	1:10	отр.	отр.	пол. (1,162)
4	01218	отр.	1:40	отр.	отр.	пол. (1,965)
5	01250	отр.	1:40	отр.	отр.	пол. (1,718)
6	228	50 МЕ	отр.	отр.	отр.	пол. (1,899)
7	01235	50 МЕ	1:10	отр.	отр.	сомн. (0,640)
8	9643	50 МЕ	1:20	1:20	отр.	пол. (1,758)
9	1264	50 МЕ	1:20	1:20	пол.	пол. (01,442)
10	11257	50 МЕ	1:40	отр.	отр.	пол. (1,829)
11	9450	100 МЕ	1:20	1:20	пол.	пол. (1,029)
12	1122	100 МЕ	1:20	1:20	отр.	пол. (1,754)
13	4825	100 МЕ	1:40	отр.	отр.	пол. (1,264)
14	9498	200 МЕ	1:20	1:20	пол.	пол. (1,595)
15	1178	200 МЕ	1:20	1:20	отр.	пол. (1,477)
16	0268	200 МЕ	1:20	1:20	пол.	пол. (0,903)
17	9116	200 МЕ	1:20	1:20	отр.	сомн. (0,698)
18	5958	200 МЕ	1:20	1:20	пол.	пол. (1,689)
19	743	200 МЕ	1:20	1:20	отр.	пол. (1,635)
20	1015	200 МЕ	1:40	отр.	пол.	пол. (1,929)



Аналогичные результаты получены и при комплексных исследованиях сывороток крови животных из других хозяйств.

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

Таким образом, результаты комплексного изучения эффективности ИФА с новой тест-системой для скрининговой экспресс-диагностики бруцеллеза крупного рогатого скота, в том числе в условиях его иммунизации живыми противобруцеллезными вакцинами, показали перспективы его широкого внедрения в ветеринарную практику.

Таблица 8 – Диагностическая эффективность новой тест-системы ИФА при бруцеллезе у иммунизированного крупного рогатого скота благополучных стад

№ п/п	Инв. № животного	Результаты серологических исследований				
		РА	РСК-S	РСК-R	РИД	ИФА
Стадо № 1 (исследовано 187 проб)						
1	0015	отр.	1:10	1:20	отр.	сомн. (0,610)
2	974	отр.	1:5	1:20	отр.	сомн. (0,783)
3	137	отр.	1:20	1:40	отр.	пол. (1,408)
4	544	отр.	отр.	отр.	отр.	сомн. (0,560)
5	354	отр.	отр.	отр.	отр.	сомн. (0,357)
6	328	отр.	отр.	отр.	отр.	сомн. (0,357)
7	31	отр.	отр.	отр.	отр.	сомн. (0,454)
Стадо № 2 (исследовано 313 проб)						
8	1451	отр.	1:5	1:20	отр.	сомн. (0,855)
9	9623	отр.	1:20	1:40	отр.	пол. (1,162)
10	271	отр.	1:20	1:40	отр.	пол. (1,068)
11	210	отр.	отр.	отр.	отр.	сомн. (0,441)
12	9623	отр.	отр.	отр.	отр.	пол. (1,749)
13	038	отр.	отр.	отр.	отр.	пол. (1,030)

В целях дифференциальной экспресс-диагностики бруцеллеза крупного рогатого скота была изучена новая методика постановки ИФА, отличающаяся от общепринятой тем, что для исследования каждой сыворотки крови использовали две лунки полистирольного планшета с сорбированным на их поверхность антигеном, изготовленным из типичных бруцелл штамма *B. abortus* 19 (таблицы 9 и 10).

Таблица 9 – Диагностическая эффективность ИФА с использованием О-ПС антигена при бруцеллезе у иммунизированного крупного рогатого скота благополучных стад

№ п/п	Результаты серологических исследований					Интерпретация результатов ИФА (степень эпизоотической опасности)
	РА	РСК	РИД	ИФА (оптич. плотность)		
				обычный	конкурентный	
1	отр.	1:5	отр.	1,125	0,402	К.эо 0≤K≤60
2	отр.	1:5	отр.	0,767	0,329	К.эо 0≤K≤60
3	отр.	1:5	отр.	0,863	0,489	К.эо 0≤K≤60
4	отр.	1:10	отр.	1,698	0,734	К.эо 0≤K≤60
5	отр.	1:10	отр.	1,628	0,496	К.эо 0≤K≤60
6	отр.	1:10	отр.	1,148	0,369	К.эо 0≤K≤60
7	50 МЕ	отр.	отр.	1,440	0,492	К.эо 0≤K≤60
8	50 МЕ	1:5	отр.	1,475	0,416	К.эо 0≤K≤60
9	50 МЕ	1:5	отр.	1,678	0,461	К.эо 0≤K≤60
10	50 МЕ	1:10	отр.	1,217	0,661	К.эо 0≤K≤60
11	50 МЕ	1:10	отр.	1,253	0,401	К.эо 0≤K≤60
12	50 МЕ	1:20	отр.	1,770	0,474	К.эо 0≤K≤60
13	50 МЕ	1:10	отр.	1,396	0,454	К.эо 0≤K≤60
14	100 МЕ	отр.	отр.	1,657	0,488	К.эо 0≤K≤60
15	100 МЕ	1:5	отр.	1,246	0,479	К.эо 0≤K≤60
16	100 МЕ	1:5	отр.	0,884	0,295	К.эо 0≤K≤60
17	100 МЕ	1:10	отр.	1,793	0,917	К.эо 0≤K≤60
18	100 МЕ	1:10	отр.	1,199	0,591	К.эо 0≤K≤60
19	100 МЕ	1:10	отр.	1,666	0,547	К.эо 0≤K≤60
20	100 МЕ	1:10	отр.	1,026	0,420	К.эо 0≤K≤60

При этом во вторую из них для конкурентного анализа дополнительно вносили ОП-С антиген (входящий в официально утвержденную и выпускаемую НПЦ «ВетБиоТест» тест-систему для диагностики бруцеллеза крупного, мелкого рогатого скота и северных оленей в РИД).

При интерпретации результатов соотношение показателей оптической плотности, измеряемой отдельно в лунке, содержащей ОП-С антиген (конкурентный иммуноферментный анализ), и лунке, не содержащей ОП-С антиген (классический иммуноферментный анализ), выразили в процентах и определили в качестве коэффициента степени эпизоотической опасности (К.эо) по бруцеллезу животного, от которого получен исследованный образец сыворотки крови.

Таблица 10 – Диагностическая эффективность ИФА с использованием О-ПС антигена при бруцеллезе у крупного рогатого скота неблагополучных стад (без вакцинации и с вакцинацией)

№ п/п	Результаты серологических исследований					Интерпретация результатов ИФА (степень эпизоотической опасности)
	РА	РСК	РИД	ИФА (оптич. плотность)		
				обычный	конкурентный	
<b>Животные неблагополучных стад без вакцинации</b>						
1	отр.	отр.	отр.	0,272	0,097	К.эо $0 \leq K \leq 60$
2	отр.	1:20	отр.	–	–	К.эо $0 \leq K \leq 60$
3	50 МЕ	1:20	отр.	0,328	0,101	К.эо $0 \leq K \leq 60$
4	отр.	отр.	отр.	–	–	К.эо $0 \leq K \leq 60$
5	отр.	1:20	отр.	–	–	К.эо $0 \leq K \leq 60$
6	200 МЕ	1:20	пол.	0,308	0,232	К.эо $61 \leq K \leq 100$ и выше
7	200 МЕ	1:20	пол.	0,276	0,221	К.эо $61 \leq K \leq 100$ и выше
8	200 МЕ	1:20	пол.	0,227	0,211	К.эо $61 \leq K \leq 100$ и выше
9	200 МЕ	1:20	пол.	0,556	0,348	К.эо $61 \leq K \leq 100$ и выше
10	200 МЕ	1:20	пол.	0,462	0,673	К.эо $61 \leq K \leq 100$ и выше
<b>Животные неблагополучных стад с вакцинацией</b>						
1	50 МЕ	1:20	отр.	0,330	0,103	К.эо $0 \leq K \leq 60$
2	100 МЕ	1:20	отр.	0,218	0,106	К.эо $0 \leq K \leq 60$
3	отр.	1:20	отр.	0,255	0,111	К.эо $0 \leq K \leq 60$
4	50 МЕ	1:20	отр.	0,319	0,109	К.эо $0 \leq K \leq 60$
5	отр.	1:20	отр.	0,355	0,108	К.эо $0 \leq K \leq 60$
6	200 МЕ	1:20	пол.	0,262	0,236	К.эо $61 \leq K \leq 100$ и выше
7	200 МЕ	1:20	пол.	0,520	0,473	К.эо $61 \leq K \leq 100$ и выше
8	200 МЕ	1:20	пол.	0,230	0,213	К.эо $61 \leq K \leq 100$ и выше
9	200 МЕ	1:20	пол.	0,365	0,825	К.эо $61 \leq K \leq 100$ и выше
10	200 МЕ	1:20	пол.	0,462	0,474	К.эо $61 \leq K \leq 100$ и выше

К.эо составлял во всех случаях при отрицательной РИД с О-ПС антигеном  $0 \leq K \leq 60$ , а при положительной РИД с О-ПС антигеном –  $61 \leq K \leq 100$  и выше.

Полученные результаты свидетельствуют о возможности использования ИФА в предлагаемом варианте (время постановки и учета реакций – 2 часа) вместо официально принятой в дифференциальной диагностике бруцеллеза крупного рогатого скота РИД с О-ПС антигеном, на постановку и учет которой уходит до 48 часов. При исследовании сывороток крови иммунизированного и неиммунизированного поголовья крупного рогатого скота неблагополучных по бруцеллезу стад положительные показания РИД с О-ПС антигеном и ИФА с использованием О-ПС антигена полностью совпали. На данный способ получен патент.

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

Изучали различные схемы получения антивидовых моноспецифических сывороток, необходимых в бактериологической диагностике бруцеллеза, на основе использования убитых культур бруцелл в сочетании с масляным адьювантом MONTANIDE™ ISA 61 VG производства французской фирмы «SEPPIC» (таблицы 11 и 12).

Таблица 11 – Диагностическая активность моноспецифических сывороток anti-melitensis на 28-й день после сенсibilизации (адсорбция сывороток *B. abortus* 3,5 млрд м.к. на 10 мл сыворотки) и через 6 месяцев после хранения

Группа кроликов (штамм, доза и метод сенсibilизации)	№ кро- лика	Сроки взятия крови			
		через 28 дней после введе- ния антигена		через 6 мес. хранения полученной сыворотки	
		РА (МЕ) с <i>B. abortus</i> 544	РА (МЕ) с <i>B. melitensis</i> 16М	РА (МЕ) с <i>B. abortus</i> 544	РА (МЕ) с <i>B. melitensis</i> 16М
Первая группа <i>B. melitensis</i> 16М (живая) 200 млн м.к. внутривенно – «ста- рый» способ	М-1	10 #	320 ++	10 #	160 ++
	М-2	10 +++	160 ++	10 +++	160 ++
	М-3	10 #	320 ++	10 #	320 ++
Вторая группа <i>B. melitensis</i> 16М (инакт.) 200 млн м.к. + адьювант подкожно – новый способ	М-4	20 #	320 +++	10 #	320 +++
	М-5	10 +++	320 ++	10 +++	160 ++
	М-6	10 +++	320 ++	10 +++	320 ++

Было установлено, что сыворотки anti-melitensis и anti-abortus, полученные от кроликов по схемам, предусматривающим их однократную подкожную гипериммунизацию инактивированными культурами бруцелл соответственно видов *melitensis* и *abortus* в дозах 200 млн м.к. в смеси с указанным адьювантом, и адсорбированные взвесью бруцелл гетерологичных видов, сохраняли свою активность (РА в титре не ниже 160 МЕ) в течение не менее 6 месяцев после их получения из крови, взятой через 21, 28, 35 и 60 дней после гипериммунизации.

Таблица 12 – Диагностическая активность моноспецифических сывороток anti-abortus на 28-й день после сенсibilизации (адсорбция сывороток *B. melitensis* 3,5 млрд м.к. на 10 мл сыворотки) и через 6 месяцев после хранения

Группа (штамм, доза и метод сенсibilизации)	№ кро- лика	Сроки взятия крови			
		через 28 дней после введения антигена		через 6 мес. хранения полученной сыворотки	
		РА (МЕ) с <i>B. abortus</i> 544	РА (МЕ) с <i>B. meliten- sis</i> 565	РА (МЕ) с <i>B. abortus</i> 544	РА (МЕ) с <i>B. meliten- sis</i> 565
<b>1-я группа</b> <i>B. abortus</i> 19 (живая + инакт. 1:1) 4 млрд м.к., внутривенно	A-1	160 +++	20 #	160 +++	20 #
	A-2	320 +++	40 #	160 ++	40 ++
	A-3	320 +++	40 #	160 ++	40 ++
<b>2-я группа</b> <i>B. abortus</i> 19 (инакт. + адью- вант) 200 млн м.к., подкожно	A-4	320 +++	10 #	320 #	10 #
	A-5	320 ++	–	320 +++	–
	A-6	320 ++	–	320 +++	–

Новые схемы получения сывороток также обеспечивают снижение трудоемкости производственного процесса, максимальное повышение его противоэпидемической безопасности и повышение объема готовых продуктов. На способы получения видовых моноспецифических сывороток anti-melitensis и anti-abortus получены патенты.

#### **2.2.4. Разработка концепции оптимизации специфической профилактики и поствакцинальной диагностики бруцеллеза животных в современных условиях по пути повышения уровня их технологичности и ее практическая апробация**

С учетом результатов, изложенных в разделе 2.2.2, были усовершенствованы существующие схемы специфической профилактики и диагностики бруцеллеза крупного рогатого скота.

С учетом результатов, изложенных в разделе 2.2.3, признаны технологичными новые методы и средства специфической профилактики и диагностики бруцеллеза животных:

- конъюнктивная иммунизация животных против бруцеллеза живой вакциной из штамма 19 в уменьшенной дозе;
- рациональная схема купирования бруцеллезной инфекции у животных;
- рациональная схема использования О-ПС антигенов в диагностике бруцеллеза животных;
- РСК с R-антигеном, изготовленным из *B. ovis*, в дифференциальной поствакцинальной диагностике бруцеллеза крупного рогатого скота;
- ИФА в экспресс-диагностике бруцеллеза животных.

Кроме того, технологичными были признаны изготовленные по разработанной с нашим участием схеме антивидовые сыворотки anti-abortus и anti-melitensis, предназначенные для использования в бактериологической диагностике бруцеллеза в целях дифференциации видов бруцелл.

На этой основе была разработана концепция оптимизации специфической профилактики и поствакцинальной диагностики бруцеллеза животных в современных эпизоотических и социально-экономических условиях.

Ведущая роль в ней принадлежит конъюнктивной иммунизации животных живой вакциной из агглютиногенного штамма *V. abortus* 19, так как она позволяет беспрепятственно осуществлять раннюю поствакцинальную диагностику с помощью комплекса РА + РСК и РИД с О-ПС антигеном (рисунок 3).

Ниже приведены результаты ее практической апробации:

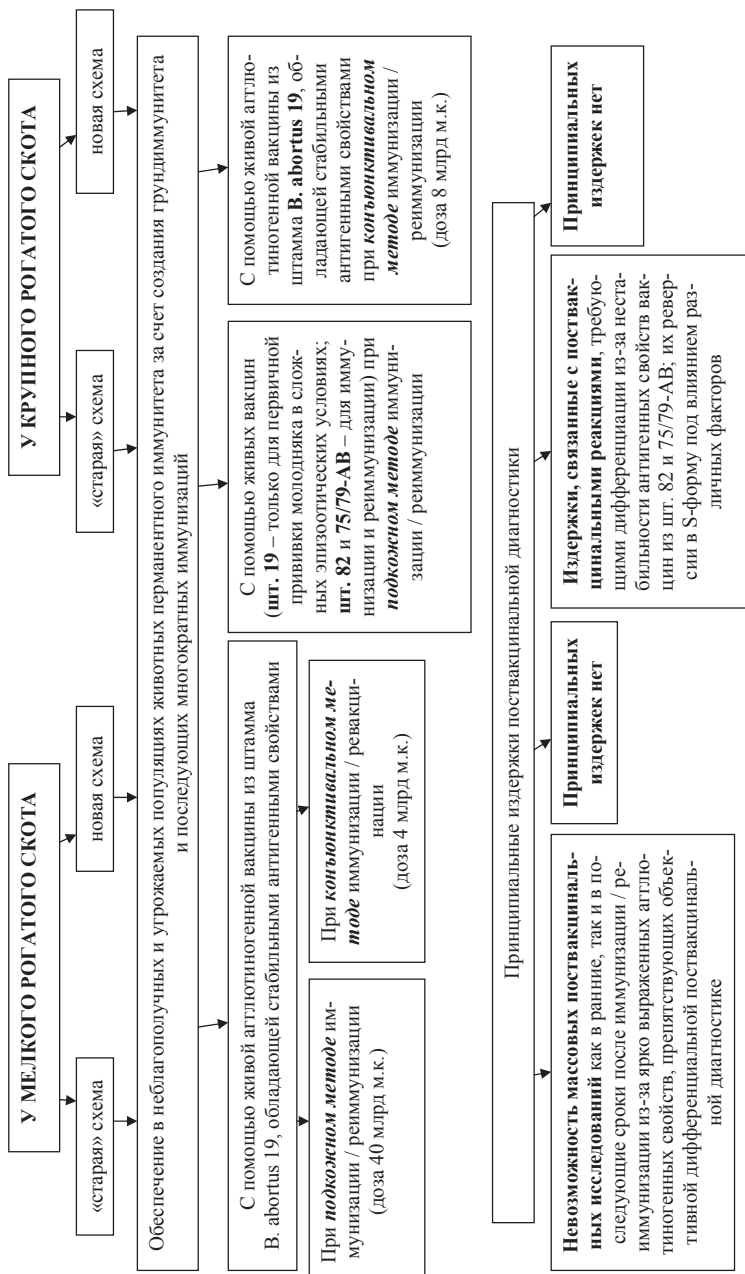
– **при бруцеллезе мелкого рогатого скота:** эффективность использования вакцины из штамма *V. abortus* 19 на мелком рогатом скоте конъюнктивным методом в дозе 4 млрд м.к. в сочетании с рациональной поствакцинальной диагностикой была доказана в масштабах одного из регионов Сибири. Если в 2008 году конъюнктивной иммунизации было подвергнуто 36914 гол. мелкого рогатого скота, то в последующие 2009–2013 годы иммунизируемое этим методом поголовье составляло 44700–65131 гол. Вспышки бруцеллеза мелкого рогатого скота на данной территории возникали в течение 2009–2013 годов только среди неиммунного к возбудителю бруцеллеза поголовья. В одном же из районов, где от вакцинации указанным методом отказались, на неиммунном поголовье овец наблюдали острые вспышки бруцеллеза (в 2009 году – 4, в 2010 – 7, в 2011 – 3, в 2012 – 3, в 2013 году – 3), при этом в эпизоотических очагах отметили заболеваемость бруцеллезом людей;

– **при бруцеллезе крупного рогатого скота:** при серологическом обследовании 208 животных в одном из неблагополучных по бруцеллезу хозяйств у 28 из них в сыворотке обнаружили специфические агглютинирующие и комплемент-связывающие антитела в высоких титрах, а в 3 случаях – преципитины к О-ПС антигену. Положительно реагирующий скот сдали на убой. Остальные 180 голов взрослого крупного рогатого скота конъюнктивно иммунизировали против бруцеллеза вакциной из штамма *V. abortus* 19 в дозе 8 млрд м.к. Через 1,5 месяца благодаря провоцирующим свойствам вакцины удалось выделить и отправить на убой большое количество (32,3 %) скрытых бруцеллоносителей. При последующем исследовании, проведенном через 15 дней, количество эпизоотически опасных животных сократилось более чем в 5 раз.

Таким образом, новый принцип оптимизации специфической профилактики и поствакцинальной диагностики бруцеллеза крупного рогатого скота, основанный на конъюнктивном методе введения вакцины из штамма 19 в дозе 8 млрд м.к., обеспечивает формирование у животных иммунитета достаточной напряженности, а также возможность выявлять даже в ранние сроки после многократных вакцинаций (через 3–4 месяца) эпизоотически опасных животных с использованием РИД с О-ПС А- и М-антигенами и РА и РСК.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные исследования позволили комплексно обосновать необходимость использования при осуществлении контроля эпизоотического процесса бруцеллеза рациональных схем вакцинации и поствакцинальной диагностики болезни с соблюдением принципа технологичности их применения. Указанный принцип заключается в обеспечении беспрепятственной эффективной диагностики в максимально возможные ранние сроки после вакцинации при обязательности обеспечения в неблагополучных и угрожаемых популяциях животных длительного иммунитета необходимого уровня.



**Рисунок 3** – Концепция оптимизации специфической профилактики и поствакцинальной диагностики бруцеллеза животных в современных эпизоотических и социально-экономических условиях

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

Разработана новая концепция оптимизации специфической профилактики и поствакцинальной диагностики бруцеллеза животных в современных условиях их содержания на основе технологичных схем использования различных средств и методов. Ее широкое внедрение в ветеринарную практику позволяет в значительной мере повысить эффективность систем противобруцеллезных мероприятий за счет ускорения сроков оздоровления неблагополучных стад (отар) и своевременного предотвращения вспышек болезни.

## ВЫВОДЫ

1. Эффективный контроль эпизоотического процесса бруцеллеза не возможен без перманентного (непрерывного) иммунитета в неблагополучных и угрожаемых стадах (отарах) и ранней поствакцинальной диагностики. Живые инагглютиногенные вакцины недостаточно иммуногенны, агглютиногенные – при официальных дозах и методе введения препятствуют диагностике. Живые слабоагглютиногенные вакцины из штаммов 82 и 75/79-AB, обеспечивая приемлемые иммунитет и диагностику, достаточно технологичны, но при формировании гуртов из однородного в половозрастном, эпизоотическом и иммунном отношении поголовья.

2. У крупного рогатого скота, иммунизированного вакцинами из штаммов 82 и 75/79-AB, высокие титры РСК с R-антигеном при низких титрах РА и РСК с S-антигеном и отрицательной РИД с O-ПС антигеном, а также отсутствие эпизоотологических оснований являются объективным критерием благополучия таких стад по бруцеллезу. В ряде случаев у вакцинированных животных при наличии единичного реагирования в РА и/или РСК (200 МЕ и 1:20 и выше соответственно) и даже в РИД с O-ПС антигеном бруцеллез исключали не только эпизоотологически, но и бактериологически (возбудителя не выделяли).

3. Гетерогенные препараты (вакцины, диагностикумы и другие биологические средства) при введении крупному рогатому скоту, ранее иммунизированному против бруцеллеза (особенно многократно) живыми слабоагглютиногенными вакцинами, оказались способными в течение 1,5 и более месяцев стимулировать у части животных выработку бруцеллезных антител в РА и РСК (в том числе в высоких титрах) и даже в РИД с O-ПС антигеном. Благополучие стад по бруцеллезу подтверждалось эпизоотологически, угасанием поствакцинальных реакций (включая РИД) и отрицательными результатами бактериологических исследований.

4. Снижению уровня технологичности использования живых слабоагглютиногенных противобруцеллезных вакцин на крупном рогатом скоте способствует реверсия вакцинных штаммов. Колонии в S-форме обнаружили в ряде серий вакцины из штамма 75/79-AB у 92,9–99,8 % из их общей структуры, а вакцины из штамма 82 – до 57,4 %. Кроме того, возрастание в них S-антигенности, усложняющей дифференциальную диагностику, возможно и в условиях мелких хозяйств при совместном содержании животных разных половозрастных групп и контактах вакцинированного и невакцинированного поголовья.



5. Инактивированные адъювант-вакцины, изготовленные на основе различных масляных адъювантов из бруцелл видов *abortus* и *melitensis* в S- и SR-формах, оказались нетехнологичными в результате проявления у животных высоких уровней (вплоть до 100 %) длительно сохраняющейся серопозитивности (РА, РСК, РИД с О-ПС антигеном), а из бруцелл в R-форме – по причине низкой иммуногенности (на уровне 20 % через 90 дней после иммунизации).

6. Конъюнктивальная иммунизация животных разных видов вакциной из штамма 19 в дозе 1/10 от общепринятой подкожной в экспериментах обеспечивает иммунитет к искусственному заражению вирулентными бруцеллами на уровне 77,8–80 %, подкожная – 88,9–100 %. Угасание РА и РСК у животных после конъюнктивальной иммунизации происходит, как правило, не позже чем через 3–4 месяца, РИД – значительно раньше (через 15–30 дней).

7. Экспериментальная модель купирования бруцеллезной инфекции, основанная на введении животным, искусственно зараженным бруцеллезом, антибактериального препарата «Нитокс-200» в дозе 20 мг на кг живой массы при их обязательной последующей иммунизации через 8 дней вакциной из штамма 19 конъюнктивально в дозе 1/10 от общепринятой подкожной, обеспечила через 1 месяц полную элиминацию вирулентных бруцелл. Указанная модель при ее практической реализации открывает перспективы для ускорения оздоровления поголовья животных.

8. Положительная РИД с О-ПС антигенами, уступая показаниям РА и РСК, является индикатором эпизоотической опасности отары или стада. В очаге бруцеллеза, вызванного *V. melitensis*, число реагирующих в РИД с О-ПС М антигеном на фоне иммунизации МРС вакциной из штамма 19 подкожно превышало таковое с О-ПС А-антигеном в 1,9 раза, а конъюнктивально – в 3,3 раза. РИД с О-ПС А-антигеном способна оценивать активность проявления у КРС бруцеллеза, вызываемого *V. abortus*, даже в ранние сроки после иммунизации слабоагглютиногенными вакцинами.

9. У крупного рогатого скота, привитого слабоагглютиногенными вакцинами, в благополучных по бруцеллезу хозяйствах количество выявляемых животных с положительной РСК с R-антигенами превышало таковое с S-антигеном в 2,2–3,3 раза. При этом преимущества овисного антигена (изготовленного из природной R-формы – *V. ovis*) в дифференциальной оценке поствакцинальных реакций были в 1,5–4,6 раза выше, чем у R-антигена из *V. abortus*.

10. Разработанная тест-система ИФА специфична и перспективна для массовой скрининговой экспресс-диагностики бруцеллеза животных, даже в условиях вакцинации. Положительные и сомнительные показания ИФА в 21,1 % исследованных проб полностью совпали с выявленными с положительными и сомнительными РА и РСК, а также положительной РИД, а в 9,8 % – проявились на фоне их отрицательных показаний. В этой связи потребность в классических методах очевидна лишь при переисследовании реагирующих в ИФА проб.

11. При исследовании сывороток крови крупного рогатого скота неблагополучных по бруцеллезу стад (с естественным течением инфекции и на фоне вакцинации) положительные показатели ИФА, осуществленного с О-ПС антигеном по специально разработанной методике, позволяющей затрачивать на постановку и учет реакций 2 часа, полностью совпали с положительными показателями официально принятой РИД с О-ПС антигеном, на постановку и учет которой уходит 48 часов.

12. Получение бруцеллезных антивидовых моноспецифических диагностических сывороток anti-melitensis и anti-abortus по новым схемам на основе однократной подкожной гипериммунизации кроликов инактивированными культурами бруцелл соответствующих видов в смеси с новым масляным адьювантом MONTANIDE™ ISA 61 VG позволяет не только повысить и длительно сохранить их диагностическую активность, но и снизить трудоемкость процесса, максимально повысить его противозидемическую безопасность и объемы получаемых сывороток.

13. Разработана концепция оптимизации специфической профилактики и поствакцинальной диагностики бруцеллеза на основе технологичных схем использования различных средств и методов. Ведущая роль в ней принадлежит конъюнктивной иммунизации животных вакциной из штамма 19 в сочетании с рациональной диагностикой. С ее помощью в угрожаемом по бруцеллезу регионе в 2009–2013 годах удалось предотвратить массовое возникновение очагов бруцеллеза овец (тогда как за этот же период в одном из районов, где от конъюнктивной иммунизации овец отказались, произошло 20 острых вспышек инфекции). В неблагополучном по бруцеллезу регионе был купирован острый очаг бруцеллеза крупного рогатого скота, при этом число выявленных бруцеллоносителей за два поствакцинальных исследования (по сравнению с последним до вакцинации) снизилось в два раза.

## **ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ**

Результаты исследований использованы при разработке следующих нормативно-технических и научно-методических документов:

1. «Проект концепции по оптимизации противобруцеллезных мероприятий у мелкого и крупного рогатого скота, используемый при разработке системы профилактики и ликвидации бруцеллеза сельскохозяйственных животных на территории Российской Федерации» (письмо Департамента ветеринарии МСХ РФ № 25/1148 от 13 мая 2013 г.).

2. «Проект стратегии борьбы с бруцеллезом животных, используемый при подготовке нормативного правового акта, регламентирующего проведение противобруцеллезных мероприятий в современных условиях на территории Российской Федерации» (письмо Департамента ветеринарии МСХ РФ № 25/3377 от 23 ноября 2015 г.).

3. «Концепция обеспечения эпизоотического благополучия по бруцеллезу животноводческих хозяйств, входящих в корпорацию «Восток-Молоко» Восточно-Казахстанской области Республики Казахстан на основе использования в комплексе противобруцеллезных мероприятий у крупного рогатого скота рациональных схем специфической профилактики на долгосрочный период», утвержденная Комитетом ветеринарного надзора и контроля МСХ Республики Казахстан 16 марта 2017 г.

4. «Концепция оптимальной системы контроля эпизоотического процесса бруцеллеза мелкого рогатого скота в новых условиях овцеводства» (утв. подсекцией «Инфекционная патология животных в регионе Сибири и Дальнего Востока» отделения ветеринарной медицины Россельхозакадемии, протокол №3 от 14 сентября 2006 г.).

5. Методические рекомендации «Система контроля эпизоотического процесса бруцеллеза мелкого рогатого скота» (утв. секцией инфекционной патологии от-

деления ветеринарной медицины Россельхозакадемии, протокол № 1 от 21 апреля 2009 г.).

6. Методические рекомендации «Эпизоотологическая диагностика – научно-методическая основа контроля эпизоотических процессов» (утв. подсекцией «Инфекционная патология животных в регионе Сибири и Дальнего Востока» отделения ветеринарной медицины Россельхозакадемии, протокол № 3 от 19 мая 2010 г.).

7. Методические рекомендации «Основные принципы оптимизации противозооотических систем для современных эпизоотических и социальных условий» (утв. подсекцией «Инфекционная патология животных в регионе Сибири и Дальнего Востока» отделения ветеринарной медицины Россельхозакадемии, протокол № 3 от 19 мая 2010 г.).

8. «Концепция контроля рисков возникновения и распространения эпизоотических очагов зооантропонозов» (утв. подсекцией «Инфекционная патология животных в регионе Сибири и Дальнего Востока» отделения ветеринарной медицины Россельхозакадемии, протокол № 2 от 29 апреля 2011 г.).

9. «Концепция новых методов диагностики и специфической профилактики бруцеллеза животных» (утв. подсекцией «Инфекционная патология животных в регионе Сибири и Дальнего Востока» отделения ветеринарной медицины Россельхозакадемии, протокол № 3 от 21 августа 2011 г.).

10. Методические рекомендации «Эффективные в условиях Казахстана противобруцеллезные мероприятия у крупного рогатого скота» (одобрены 12–13 февраля 2014 г. на Международной научно-практической конференции «Научные и практические основы борьбы с бруцеллезом животных с участием руководства МСХ Республики Казахстан в качестве пилотного проекта и рекомендованы для широкого внедрения в Республике Казахстан).

11. Методическое пособие «Экспресс-диагностика бруцеллеза животных с использованием ИФА» (утв. подсекцией «Инфекционная патология животных в регионе Сибири и Дальнего Востока» отделения ветеринарной медицины Россельхозакадемии, протокол № 3 от 19 ноября 2014 г.).

12. Методические положения «Рациональная схема купирования бруцеллезной инфекции у животных» (утв. подсекцией «Инфекционная патология животных в регионе Сибири и Дальнего Востока» отделения ветеринарной медицины Россельхозакадемии, протокол № 3 от 19 ноября 2014 г.).

13. Методические положения «Рациональная схема использования РИД с различными О-ПС антигенами в дифференциальной диагностике бруцеллезе животных» (утв. подсекцией «Инфекционная патология животных в регионе Сибири и Дальнего Востока» отделения сельскохозяйственных наук РАН, протокол № 2 от 10 октября 2014 г.).

## **ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ**

Разработанная концепция оптимизации специфической профилактики и поствакцинальной диагностики бруцеллеза животных является приемлемой для современных условий ведения животноводства и основана:

– на рациональных схемах вакцинации, обеспечивающих в неблагополучных и угрожаемых популяциях животных непрерывный (перманентный) иммунитет и не препятствующих ранней диагностике в целях выявления бруцеллоносителей, спровоцированных вакциной;

– купировании бруцеллезной инфекции с помощью антибактериального средства в сочетании с вакцинацией в целях недопущения формирования эпизоотических вариантов возбудителей бруцеллеза;

– диагностике, обеспечивающей как групповую, так и индивидуальную экспресс-оценку эпизоотического статуса по бруцеллезу, максимальное выявление эпизоотически опасных животных и предотвращение сдачи на убой животных с вакцинной природой реакций.

Она имеет большие перспективы дальнейшего совершенствования по пути как повышения эффективности уже известных, так и поиска новых средств и методов контроля эпизоотического процесса бруцеллеза с соблюдением принципа их технологичности.

## СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

### Статьи в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК

1. Дегтяренко, Л. В. Концептуальная схема оптимизации диагностики болезней, вызываемых у животных бруцеллами, и результаты ее практической реализации [Текст] / Л. В. Дегтяренко, В. Г. Ощепков, С. К. Димов, **А. С. Димова** // Сиб. вест. с.-х. науки. – 2005. – № 1. – С. 84–90.

2. Аракелян, П. К. Сравнительная характеристика эпизоотических процессов и меры борьбы с заболеваниями, вызываемыми у овец бруцеллами видов *melitensis* и *ovis* [Текст] / П. К. Аракелян, И. А. Косилов, С. К. Димов, **А. С. Димова** // Сиб. вест. с.-х. науки. – 2005. – № 2. – С. 12–15.

3. Попова, Т. Г. Диагностическое значение кольцевой реакции с молоком при бруцеллезе крупного рогатого скота [Текст] / Т. Г. Попова, П. К. Аракелян, А. А. Новицкий, С. К. Димов, **А. С. Димова** // Достижения науки и техники АПК. – 2011. – № 9. – С. 61–64.

4. Аракелян, П. К. Оптимизация противобруцеллезных мероприятий у мелкого рогатого скота [Текст] / П. К. Аракелян, О. В. Бондарева, Е. Б. Барабанова, С. К. Димов, **А. С. Димова** // Достижения науки и техники АПК. – 2011. – № 9. – С. 72–75.

5. Аракелян, П. К. РНГА в массовой экспресс-диагностике бруцеллеза мелкого рогатого скота [Текст] / П. К. Аракелян, О. В. Бондарева, Е. Г. Бондарев, С. К. Димов, К. С. Димов, **А. С. Димова** [и др.] // Ветеринария. – 2011. – № 11. – С. 62–68.

6. Аракелян, П. К. Проблемы специфической профилактики бруцеллеза крупного рогатого скота с использованием живых слабоагглютиногенных вакцин [Текст] / П. К. Аракелян, Е. Б. Барабанова, Г. В. Разницына, С. А. Власова, С. К. Димов, **А. С. Димова** [и др.] // Ветеринария. – 2012. – № 11. – С. 6–9.

7. Аракелян, П. К. Антигенные свойства разных серий живых вакцин из диссоциированных штаммов бруцелл [Текст] / П. К. Аракелян, Е. Б. Барабанова, Г. В. Разницына, С. К. Димов, **А. С. Димова** // Сиб. вест. с.-х. науки. – 2013. – № 1. – С. 68–71.

8. Аракелян, П. К. Оценка активности очагов бруцеллеза мелкого рогатого скота с помощью РИД [Текст] / П. К. Аракелян, О. В. Бондарева, С. К. Димов, **А. С. Димова** [и др.] // Ветеринария. – 2013. – № 2. – С. 19–20.

9. Аракелян, П. К. Экспериментальная лабораторная модель купирования бруцеллезной инфекции [Текст] / П. К. Аракелян, О. В. Бондарева, Г. В. Разницына, Е. Б. Барабанова, С. К. Димов, **А. С. Димова** // Ветеринария. – 2013. – № 8. – С. 29–31.

10. Аракелян, П. К. Противоэпизоотическая и противоэпидемическая эффективность рациональных схем специфической профилактики и поствакцинальной диагностики бруцеллеза мелкого рогатого скота [Текст] / П. К. Аракелян, О. В. Бондарева, Е. Б. Барабанова, С. К. Димов, **А. С. Димова** [и др.] // Достижения науки и техники АПК. – 2013. – № 1. – С. 36–39.

11. Димова, А. С. Экспресс-метод массовой диагностики бруцеллеза животных на основе иммуноферментного анализа [Текст] / **А. С. Димова**, А. А. Сизов, С. К. Димов, Г. М. Стеблева [и др.] // Сиб. вест. с.-х. науки. – 2014. – № 4. – С. 84–90.

12. Аракелян, П. К. Агглютиногенные и иммуногенные свойства разных вариантов вакцин из штамма *V. abortus 19* при разных схемах применения [Текст] / П. К. Аракелян, Е. Б. Барабанова, О. В. Бондарева, Г. В. Разницына, С. К. Димов, **А. С. Димова** // Ветеринария. – 2014. – № 8. – С. 23–24.

13. Аракелян, П. К. Эпизоотическая оценка стад крупного рогатого скота, иммунизированного живыми слабоагглютиногенными вакцинами, по бруцеллезу [Текст] / П. К. Аракелян, Г. В. Разницына, Е. Б. Барабанова, С. К. Димов, **А. С. Димова**, Д. П. Мельников // Ветеринария. – 2014. – № 1. – С. 23–27.

14. Аракелян, П. К. Агглютиногенные и протективные свойства разных вариантов адъювант-вакцин против бруцеллеза [Текст] / П. К. Аракелян, Е. Б. Барабанова, О. В. Бондарева, Г. В. Разницына, С. К. Димов, **А. С. Димова** // Ветеринария. – 2014. – № 4. – С. 24–27.

15. Аракелян, П. К. Роль R-антигенов в дифференциальной поствакцинальной диагностике бруцеллеза крупного рогатого скота, иммунизированного живыми слабоагглютиногенными вакцинами [Текст] / П. К. Аракелян, Г. В. Разницына, Т. А. Янченко, О. О. Манакова, С. К. Димов, **А. С. Димова**, В. И. Воробьев // Достижения науки и техники АПК. – 2015. – № 4. – С. 63–66.

16. Аракелян, П. К. Конъюнктивная иммунизация мелкого рогатого скота живой вакциной из штамма *V. abortus 19* [Текст] / П. К. Аракелян, С. К. Димов, **А. С. Димова** [и др.] // Ветеринария. – 2015. – № 3. – С. 17–21.

17. Димова, А. С. Эффективность диагностики бруцеллеза крупного рогатого скота в новой тест-системе ИФА [Текст] / **А. С. Димова**, С. К. Димов, А. А. Сизов, Д. А. Сизов [и др.] // Ветеринария. – 2015. – № 8. – С. 18–20.

18. Гордиенко, Л. Н. Роль сибирских ученых в разработке и совершенствовании стратегии борьбы с бруцеллезом животных [Текст] / Л. Н. Гордиенко, П. К. Аракелян, Т. А. Янченко, Г. В. Разницына, Н. А. Донченко, **А. С. Димова**, С. К. Димов // Ветеринария и кормление. – 2016. – № 2. – С. 34–37.

19. Аракелян, П. К. Диагностическая ценность РИД с разными О-ПС антигенами при бруцеллезе крупного рогатого скота [Текст] / П. К. Аракелян, Г. В. Разницына, Т. А. Янченко, Е. Г. Бондарев, **А. С. Димова** [и др.] // Ветеринария. – 2016. – № 7. – С. 25–29.

20. Аракелян, П. К. Поиск рациональных схем специфической профилактики бруцеллеза крупного рогатого скота [Текст] / П. К. Аракелян, Т. А. Янченко, Г. В. Разницына, А. Н. Трегубов, А. В. Руденко, Н. В. Христенко, **А. С. Димова** [и др.] // Ветеринария. – 2016. – № 10. – С. 14–18.

21. Аракелян, П. К. Сравнительное изучение иммуногенных свойств живых вакцин из штаммов *V. abortus 19*, 82 и RB-51 в опыте на морских свинках

[Текст] / П. К. Аракелян, Т. А. Янченко, Г. В. Разницына, С. К. Димов, **А. С. Димова**, Н. В. Христенко // Ветеринария. – 2017. – № 7. – С. 18–20.

22. Димова, А. С. Эффективность тест-системы ИФА IDEXX для серологической диагностики бруцеллеза КРС в не вакцинированных против данной инфекции стадах [Текст] / **А. С. Димова**, Д. А. Сизов, А. В. Машнин, В. И. Воробьев // Ветеринария. – 2017. – № 10. – С. 14–16.

23. Аракелян, П. К. Новые бруцеллезные антивидовые моноспецифические сыворотки anti-abortus и anti-melitensis [Текст] / П. К. Аракелян, Т. А. Янченко, Г. В. Разницына, **А. С. Димова**, С. К. Димов // Достижения науки и техники АПК. – 2018. – № 1. – С. 43–47.

24. Сизов, А. А. Эффективность использования О-ПС антигена в ИФА для дифференциальной диагностики бруцеллеза крупного рогатого скота [Текст] / А. А. Сизов, **А. С. Димова**, С. К. Димов [и др.] // Ветеринария. – 2018. – № 1. – С. 9–14.

#### *Патенты Российской Федерации на изобретение*

25. Патент 2501567 Российская Федерация, А61К 39/10. Способ профилактики бруцеллеза животных [Текст] / Аракелян П. К., Бондарева О. В., Барабанова Е. Б., Димов С. К., **Димова А. С.**; заявитель и патентообладатель Государственное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский институт бруцеллеза и туберкулеза животных. – № 2012142934/15; заявл. 15.08.2012; опубл. 20.12.2013, Бюл. № 35.

26. Патент 2518308 Российская Федерация, А61К 39/10. Способ дифференциальной эпизоотической оценки по бруцеллезу стад крупного рогатого скота, иммунизированного живыми вакцинами из диссоциированных штаммов бруцелл [Текст] / Аракелян П. К., Разницына Г. В., Барабанова Е. Б., Димов С. К., **Димова А. С.**; заявитель и патентообладатель Государственное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский институт бруцеллеза и туберкулеза животных. – № 2012139953/10; заявл. 18.09.2012; опубл. 10.06.2014, Бюл. № 16.

27. Патент 2613901 Российская Федерация, А61К 39/10, А61К 39/395, А61Р 31/00. Способ получения бруцеллезной моноспецифической сыворотки anti-melitensis [Текст] / Аракелян П. К., Разницына Г. В., Димов С. К., **Димова А. С.**; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский институт бруцеллеза и туберкулеза животных. – № 2016101290; заявл. 18.01.2016; опубл. 21.03.2017, Бюл. № 9.

28. Патент 2635515 Российская Федерация, GON 33/53. Способ дифференциальной экспресс-диагностики бруцеллеза крупного рогатого скота [Текст] / Сизов А. А., Сизов Д. А., Димов С. К., **Димова А. С.**, Аракелян П. К., Чекишев В. М.; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий Российской академии наук. – № 2016146863; заявл. 29.11.2016; опубл. 13.11.2017, Бюл. № 32.

29. Патент 2639127 Российская Федерация, GO1N 33/48. Способ получения бруцеллезной моноспецифической сыворотки anti-abortus [Текст] / Аракелян П. К., Разницына А. В., Янченко Т. А., Димов С. К., **Димова А. С.**; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский институт бруцеллеза и туберкулеза животных. – № 2016115897; заявл. 22.04.2016; опубл. 19.12.2017, Бюл. № 35.

## Материалы, опубликованные в других научных журналах, сборниках НИИ и трудах конференций

30. Аракелян, П. К. Результаты изучения РИД с О-полисахаридным антигеном у овец, многократно привитых вакциной из штамма 19 [Текст] / П. К. Аракелян, Е. Б. Барабанова, Н. А. Ишимова, **А. С. Димова** // Проблемы стабилизации и развития сельскохозяйственного производства Сибири, Монголии и Казахстана в XXI веке (Международная научно-практическая конференция). – Новосибирск, 1999. – С. 150–151.

31. Аракелян, П. К. Влияние разных методов иммунизации овец вакциной из штамма 19 и кратности прививки на проявление серологических реакций (РА, РСК, РИД) [Текст] / П. К. Аракелян, И. А. Косилов, Л. В. Жарова, Н. А. Морозова, **А. С. Димова** // Инфекционная патология животных : сб. / ВНИИБТЖ. – Омск, 2001. – С. 77–80.

32. Достай, С. М. Противозпизоотическая эффективность конъюнктивального метода иммунизации мелкого рогатого скота против бруцеллеза вакциной из штамма 19 [Текст] / С. М. Достай, М. Ш. Арапчор, П. К. Аракелян, С. К. Димов, **А. С. Димова** // Эпизоотология, диагностика и профилактика хронических инфекционных болезней животных : сб. Международной науч. конф., посвященной 175-летию аграрной науки Сибири. – Омск, 2003. – С. 235–239.

33. Аракелян, П. К. Экспериментальное изучение технологичности живой и инактивированной (с адьювантами) вакцин из штамма *V. melitensis* REV-1 [Текст] / П. К. Аракелян, **А. С. Димова** // Аграрная наука Сибири, Монголии, Казахстана и Башкортостана – сельскому хозяйству : труды 6-й Международной науч.-практ. конф. – Новосибирск, 2003. – С. 109–111.

34. Достай, С. М. Технологичность живой вакцины из штамма *V. abortus* 19 овцах для иммунизации и реиммунизации в уменьшенной дозе при конъюнктивальном методе введения [Текст] / С. М. Достай, **А. С. Димова**, П. К. Аракелян, С. К. Димов [и др.] // Аграрная наука Сибири, Монголии, Казахстана и Башкортостана – сельскому хозяйству : труды 6-й Международной науч.-практ. конф. – Новосибирск, 2003. – С. 120–122.

35. Аракелян, П. К. Практическая реализация концепции оптимизации противобруцеллезных мероприятий у мелкого рогатого скота в Сибири [Текст] / П. К. Аракелян, И. А. Косилов, С. К. Димов, **А. С. Димова** [и др.] // Современные проблемы эпизоотологии : сб. матер. Международной науч. конф. – Новосибирск, 2004. – С. 20–23.

36. Димов, С. К. Реализация концепции оптимизации противобруцеллезных мероприятий у крупного рогатого скота в Сибири [Текст] / С. К. Димов, В. Г. Ощепков, Л. В. Дегтяренко, **А. С. Димова** [и др.] // Современные проблемы эпизоотологии : сб. матер. Международной науч. конф. – Новосибирск, 2004. – С. 66–69.

37. Донченко, А. С. Современные проблемы эпизоотологического надзора при бруцеллезе в Сибири [Текст] / А. С. Донченко, С. К. Димов, И. А. Косилов, Г. М. Стеблева, Н. И. Куренская, **А. С. Димова** [и др.] // Актуальные вопросы ветеринарной медицины : сб. матер. Сибирского Международного конгресса. – Новосибирск, 2005. – С. 112.

38. Аракелян, П. К. Экологическое обоснование эпизоотологического анализа эффективности противобруцеллезных мероприя-

тий у мелкого рогатого скота (на примере Республики Тыва) [Текст] / П. К. Аракелян, Ю. С. Барановская, **А. С. Димова** // Омская биологическая школа. Ежегодник : межвузовский сб. науч. тр. – Омск, 2005. – С. 108–111.

39. Димов, С. К. Практический опыт оптимизации системы противобруцеллезных мероприятий у мелкого рогатого скота в экстремальных эпизоотических, эпидемических и социально-экономических условиях [Текст] / С. К. Димов, П. К. Аракелян, С. М. Достай, М. Ш. Арапчор, **А. С. Димова**, К. С. Димов // Вестник с.-х. науки Казахстана. – 2006. – № 6. – С. 40.

40. Донченко, А. С. Концепция оптимизации системы научного обеспечения ветеринарного благополучия животноводства Сибири [Текст] / А. С. Донченко, С. К. Димов, Ю. Г. Юшков, Г. М. Стеблева, **А. С. Димова** и др. // Актуальные проблемы ветеринарного обеспечения животноводства Сибири : сб. науч. тр. ИЭВСиДВ. – Новосибирск, 2006. – С. 69–73.

41. Димов, С. К. Итоги и перспективы научных исследований школы профессора Косилова И. А. по оптимизации системы контроля эпизоотического процесса бруцеллеза [Текст] / С. К. Димов, Г. М. Стеблева, Н. И. Куренская, **А. С. Димова**, П. К. Аракелян, О. В. Бондарева // Современные проблемы диагностики и профилактики хронических и зооантропонозных инфекций : матер. Всероссийской науч.-практ. конф., посвящ. памяти проф. И. А. Косилова. – Новосибирск, 2009. – С. 11–14.

42. Димов, С. К. Технологичность вакцин из штаммов *V. abortus* и *V. melitensis* Rev-1 при бруцеллезе овец [Текст] / С. К. Димов, **А. С. Димова**, Г. М. Стеблева, Н. И. Куренская, П. К. Аракелян, О. В. Бондарева // Актуальные вопросы ветеринарной медицины : матер. II Сибирского ветеринарного конгресса / Новосибирский гос. аграрный ун-т, Ин-т ветеринарной медицины. – Новосибирск, 2010. – С. 325–326.

43. Димов, С. К. Историко-эволюционные аспекты оптимизации системы контроля эпизоотического процесса бруцеллеза в Сибири [Текст] / С. К. Димов, Н. И. Куренская, Г. М. Стеблева, **А. С. Димова**, К. С. Димов, П. К. Аракелян [и др.] // Актуальные вопросы ветеринарной медицины Сибири : матер. Международной науч.-практ. конф., посвящ. 70-летию со дня основания Ин-та экспериментальной ветеринарии Сибири и Дальнего Востока. – Новосибирск, 2010. – С. 13–27.

44. Димов, С. К. Современные проблемы контроля рисков возникновения и распространения эпизоотических очагов зооантропонозов [Текст] / С. К. Димов, **А. С. Димова**, Г. М. Стеблева, Н. И. Куренская, П. К. Аракелян, О. В. Бондарева, Е. Г. Бондарев, В. Т. Вольф // Актуальные проблемы ветеринарной медицины : матер. X Сибирской ветеринарной конф. – Новосибирск, 2011. – С. 23–24. – Библиогр.: с. 24.

45. Аракелян, П. К. Оптимизация противобруцеллезных мероприятий у мелкого рогатого скота в современных эпизоотических и социально-экономических условиях [Текст] / П. К. Аракелян, С. К. Димов, Е. Б. Барабанова, О. В. Бондарева, **А. С. Димова** // Инфекционная патология животных : матер. Международной науч.-практ. конф., посвящ. 90-летию СибНИВИ-ВНИИБТЖ. – Омск, 2011. – С. 10–13.

46. Димов, С. К. Оптимизация противобруцеллезных мероприятий у крупного рогатого скота в современных эпизоотических и социально-экономических условиях [Текст] / С. К. Димов, П. К. Аракелян, В. С. Бронников, Т. Г. Попова, **А. С. Димова**, А. А. Сизов // Инфекционная патология животных : матер. Между-



народной науч.-практ. конф., посвящ. 90-летию СибНИВИ-ВНИИБТЖ. – Омск, 2011. – С. 47–49.

47. Димова, А. С. Проблемы эпизоотической оценки по бруцеллезу стад крупного рогатого скота, иммунизированного живыми слабоагглютиногенными вакцинами [Текст] / А. С. Димова, Н. И. Куренская, Г. М. Стеблева, С. К. Димов [и др.] // Актуальные вопросы ветеринарной медицины : матер. одиннадцатой Сибирской ветеринарной конф. – 2012. – С. 87–88.

48. Димов, С. К. Оптимизация противоэпизоотических и профилактических мероприятий при бруцеллезу крупного рогатого скота в современных условиях [Текст] / С. К. Димов, А. С. Димова, А. А. Сизов, П. К. Аракелян // Аграрная наука – сельскохозяйственному производству Сибири, Монголии, Казахстана и Болгарии : сб. науч. докладов XVII Международной науч.-практ. конф. – 2014. – С. 155–156.

49. Димов, С. К. Современные проблемы специфической профилактики бруцеллеза животных [Текст] / С. К. Димов, А. С. Димова, В. И. Воробьев, П. К. Аракелян // Аграрная наука – сельскохозяйственному производству Сибири, Монголии, Казахстана, Белоруссии и Болгарии : сб. науч. докладов Международной науч.-практ. конф. – 2015. – С. 236–238.

50. Димов, С. К. Современные проблемы управления эпизоотическим процессом бруцеллеза [Текст] / С. К. Димов, А. С. Димова, П. К. Аракелян // Актуальные вопросы ветеринарной медицины : матер. XIV Сибирской ветеринарной конф. – 2015. – С. 28–31.

51. Сайлаубаев, С. Ж. Результаты разработки и внедрения оптимальных противобруцеллезных мероприятий у крупного рогатого скота молочного направления в условиях хозяйств корпорации «Восток-Молоко» / С. Ж. Сайлаубаев, В. И. Воробьев, А. С. Димова [и др.] // Ветеринария (Казахстан). – 2015. – № 1(41). – С. 26–32.

52. Воробьев, В. И. Опыт использования рациональных схем специфической профилактики и поствакцинальной диагностики бруцеллеза крупного рогатого скота в условиях хозяйств корпорации «Восток-Молоко» [Текст] / В. И. Воробьев, С. Ж. Сайлаубаев, С. К. Димов, А. С. Димова, Н. И. Куренская, П. К. Аракелян // Интеграция науки и практики в обеспечении ветеринарного благополучия : матер. Международной науч.-практ. конф., посвящ. 110-летию Казахского НИВИ. – 2015. – С. 83–88.

53. Аракелян, П. К. Особенности контроля эпизоотического процесса бруцеллеза на неблагополучных и угрожаемых территориях с круглогодичным пастбищным содержанием животных [Текст] / П. К. Аракелян, Е. Г. Бондарев, С. К. Димов, А. С. Димова, М. Ш. Арапчар, Г. О. Керимова // Современные проблемы пастбищного животноводства в аридной зоне центрально-азиатского региона : матер. Международной науч.-практ. конф. – Кызыл, 2015. – С. 40–44.

54. Димов, С. К. Современные проблемы управления эпизоотическим процессом бруцеллеза [Текст] / С. К. Димов, А. С. Димова, П. К. Аракелян // Актуальные вопросы ветеринарной медицины : матер. XIV Сибирской ветеринарной конф. (3 апреля 2015 г.). – Новосибирск, 2015. – С. 28–31.

55. Вольф, В. Т. Современные проблемы эпизоотического зонирования [Текст] / В. Т. Вольф, С. К. Димов, А. С. Димова // Актуальные проблемы агропромышленного комплекса : сб. тр. науч.-практ. конф. преподавателей, студентов, магистрантов и аспирантов, посвящ. 80-летию Новосибирского ГАУ / Новосибирский гос. аграрный ун-т. – 2016. – С. 307–309.

## Методические рекомендации, положения и пособия

56. Аракелян, П. К. Концепция оптимальной системы контроля эпизоотического процесса бруцеллеза мелкого рогатого скота в новых условиях овцеводства [Текст] : метод. рекомендации / П. К. Аракелян, В. Г. Ощепков, О. В. Бондарева, Е. Б. Барабанова, М. В. Тимохина, С. К. Димов, А. С. Донченко, С. М. Достай, М. Ш. Арапчор, К. С. Димов, **А. С. Димова**. – Омск, 2007. – 10 с.

57. Донченко, А. С. Эпизоотологическая диагностика – научно-методическая основа контроля эпизоотических процессов [Текст] : метод. рекомендации / А. С. Донченко, С. К. Димов, Ю. Г. Юшков, Г. М. Стеблева, Н. И. Куренская, В. Т. Вольф, П. К. Аракелян, **А. С. Димова** [и др.]. – Новосибирск, 2010. – 22 с.

58. Донченко, А. С. Основные принципы оптимизации противоэпизоотических систем для современных эпизоотических и социальных условий [Текст] : метод. рекомендации / А. С. Донченко, С. К. Димов, Ю. Г. Юшков, П. К. Аракелян, Г. М. Стеблева, Н. И. Куренская, **А. С. Димова** [и др.]. – Новосибирск, 2010. – 22 с.

59. Аракелян, П. К. Система контроля эпизоотического процесса бруцеллеза мелкого рогатого скота [Текст] : метод. рекомендации / П. К. Аракелян, В. Г. Ощепков, О. В. Бондарева, Е. Б. Барабанова, С. К. Димов, А. С. Донченко, К. С. Димов, **А. С. Димова**, А. П. Свинцов. – Новосибирск, 2010. – 16 с.

60. Донченко, А. С. Концепция контроля рисков возникновения и распространения эпизоотических очагов зооантропонозов [Текст] : метод. положения / А. С. Донченко, С. К. Димов, **А. С. Димова** [и др.] ; ИЦ СибНХСХБ Россельхозакадемии. – Новосибирск, 2011. – 21 с.

61. Аракелян, П. К. Концепция новых методов диагностики и специфической профилактики бруцеллеза животных [Текст] : метод. положения / П. К. Аракелян, С. К. Димов, Е. Б. Барабанова, О. В. Бондарева, В. С. Бронников, Т. Г. Попова, **А. С. Димова**. – Омск, 2012. – 16 с.

62. Экспресс-диагностика бруцеллеза животных с использованием ИФА : метод. пособие / С. К. Димов, **А. С. Димова**, А. А. Сизов [и др.] ; Рос. акад. с.-х. наук, сибирское региональное отделение, ГНУ ИЭВСиДВ, ГНУ ВНИИБТЖ. – Новосибирск, 2014. – 21 с.

63. Аракелян, П. К. Рациональная схема купирования бруцеллезной инфекции у животных [Текст] : метод. положения / П. К. Аракелян, Е. Б. Барабанова, Г. В. Разницына, Т. А. Янченко, О. О. Головачева, А. Н. Трегубов, А. В. Руденко, С. К. Димов, **А. С. Димова**. – Омск, 2015. – 11 с.

64. Аракелян, П. К. Рациональная схема использования РИД с различными О-ПС антигенами в дифференциальной диагностике бруцеллеза животных [Текст] : метод. положения / П. К. Аракелян, Е. Г. Бондарев, Г. В. Разницына, Т. А. Янченко, В. М. Чекишев, С. К. Димов, **А. С. Димова** [и др.]. – Омск, 2015. – 23 с.

65. Сайлаубаев, С. Ж. Эффективные в условиях Казахстана противобруцеллезные мероприятия у крупного рогатого скота [Текст] : метод. рекомендации / С. Ж. Сайлаубаев, В. И. Воробьев, **А. С. Димова** [и др.]. – Усть-Каменогорск, 2016. – 19 с.

Подписано в печать 08.06.2018. Формат 60x84 <sup>1</sup>/<sub>16</sub>.

Гарнитура «Таймс». Бумага офсетная. Печать офсетная. Усл. печ. л. 2,1.

Тираж 130. Заказ № 192.

Отпечатано в типографии издательско-полиграфического комплекса СтГАУ «АГРУС»,  
г. Ставрополь, ул. Пушкина, 15. Тел. (8652) 35-06-94. E-mail: agrus2007@mail.ru.