

*На правах рукописи*



**Сакидибиров Омар Пахрулаевич**

**Бруцеллез крупного рогатого скота  
в Республике Дагестан (особенности эпизоотического  
процесса, диагностика и профилактика)**

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

**Автореферат**  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата ветеринарных наук

Ставрополь – 2006

Работа выполнена на кафедре эпизоотологии и микробиологии  
Дагестанской государственной сельскохозяйственной академии

**Научный руководитель:** доктор ветеринарных наук, профессор  
Ахмедов Магомед Муртузалиевич

**Официальные оппоненты:** доктор ветеринарных наук, профессор  
Дорофеев Виталий Иванович

кандидат медицинских наук, доцент  
Попов Павел Николаевич

**Ведущая организация:** ФГУЗ «Ставропольский научно-  
исследовательский противочумный  
институт Роспотребнадзора»

Защита состоится « 8 » декабря 2006 г. в 10 час  
на заседании диссертационного совета Д 220.062.02 при ФГОУ ВПО  
«Ставропольский государственный аграрный университет» по адресу:  
355017, г. Ставрополь, пер. Зоотехнический, 12.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГОУ ВПО  
«Ставропольский государственный аграрный университет».

Автореферат разослан « 1 » ноября 2006 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета



Ключко А. Н.

## 1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы.** Деструктивные изменения в агропромышленном комплексе и непродуманный переход к рыночной экономике во многом отрицательно повлияли на эпидемиологическую и эпизоотологическую ситуацию по бруцеллезу, особенно в Прикаспийском регионе. В ряде хозяйств, считающихся благополучными по бруцеллезу, выделяются положительно реагирующие животные, в связи с чем имеется угроза распространения этой болезни.

Анализ динамики заболеваемости людей за 2000–2005 гг. в регионе указывает на устойчивую тенденцию роста их заражения бруцеллезом, число которых в 2005 году достигло 215 (10,3 случая на 100 тыс. населения).

Важное значение в борьбе с бруцеллезом имеет своевременное, полное выявление и убой больных животных. В настоящее время из предложенных серологических методов диагностики наиболее широко используется реакция агглютинации (РА), реакция связывания комплемента (РСК), кольцевая реакция (КР), роз-бенгал проба (РБП). Однако недостатком их является то, что они не полностью выявляют всех инфицированных животных. Поэтому очередной задачей ветеринарной науки является разработка простых, высокочувствительных методов диагностики, обеспечивающих более полное выявление больных на любой стадии болезни, что имеет важное практическое значение.

К числу таких новых и перспективных методов диагностики относится реакция непрямой гемагглютинации (РНГА), которая широко применяется при диагностике ряда бактериальных и вирусных болезней. Целесообразность ее применения при бруцеллезе обоснована в работах многих исследователей: А.А. Тульчинской (1960), Н.И. Ищенко (1964), П.А. Вершиловой, М.И. Чернышевой, Е.А. Драновской и др. (1969), Е.И. Скаршевской (1971), В.Б. Бельченко, Н.П. Иванова (1973), С.Г. Хаирова (1977, 1980, 2005), С.Ж. Садыкова (1975), В.А. Байран с соавт. (1979), Н.И. Коломиной (1981), В.В. Соичева с соавт. (1984), Э.А. Алиева (1984), Н.П. Иванова (1980, 1984), П.К. Аракелян, С.К. Димова (1984), Ш.А. Байрамовой (1988), В.А. Ромахова (1992), А.П. Красикова (1996) и др., которые установили специфичность и более высокую ее чувствительность по сравнению с РА и РСК.

Однако эта реакция, из-за недостаточной изученности, пока еще не получила широкого применения.

В связи с изложенным изучение особенностей эпизоотического процесса бруцеллеза с учетом региональных природно-климатических усло-

вий и ведения отгонного животноводства, совершенствование методов диагностики, разработка научно обоснованных мер борьбы с бруцеллезом остается актуальной проблемой ветеринарной и медицинской служб.

**Цель работы:** изучить особенности развития эпизоотического процесса и совершенствовать меры специфической профилактики и борьбы с бруцеллезом крупного рогатого скота в Республике Дагестан.

**Задачи исследований:**

1. Изучить особенности развития эпизоотического процесса бруцеллеза крупного рогатого скота в Республике Дагестан в новых условиях функционирования животноводства.
2. Эпизоотический мониторинг при бруцеллезе крупного рогатого скота в республике и его результаты.
3. Испытать бруцеллезный эритроцитарный антиген в РНГА при лабораторной диагностике бруцеллеза крупного рогатого скота.
4. Определить диагностическую ценность РНГА для выявления бруцеллезных агглютининов в молоке.
5. Изучить диагностическое значение РИД с О-ПС антигеном.
6. Разработать способ получения бруцеллезного эритроцитарного R-диагностикума для РНГА и изучить его чувствительность и специфичность.
7. Изучить эффективность применения вакцин из штамма 19 и 82 в активных очагах бруцеллеза крупного рогатого скота и угрожаемых территориях республики.

**Научная новизна и практическая значимость.** Впервые изучены эпизоотологические особенности и осуществлен мониторинг при бруцеллезе крупного рогатого скота в условиях либерализации рынка скота Республики Дагестан.

Изучена эффективность применения вакцин из штамма 19 и 82 в очагах бруцеллеза в неблагополучных пунктах с различной напряженностью эпизоотического процесса.

Выяснено диагностическое значение РНГА и РИД с О-ПС антигеном при бруцеллезе крупного рогатого скота.

Предложен и успешно опробирован способ получения бруцеллезного эритроцитарного R-диагностикума для РНГА в Республике Дагестан.

**Основные положения, вынесенные на защиту:**

- бруцеллез крупного рогатого скота в республике имеет широкое распространение, что связано с неполным охватом фермерских и индивидуальных хозяйств диагностическими исследованиями

и специфической профилактики, перемещением животных-бруцеллоносителей в период перегонов животных, миграцией населения и завозом больного скота из неблагополучных хозяйств; — наиболее эффективной схемой иммунизации крупного рогатого скота в хозяйствах со сложной эпизоотической ситуацией по бруцеллезу является вакцинация телок в возрасте 4–5 месяцев вакциной из штамма 19, определение напряженности иммунитета через 2–3 недели, с последующей ревакцинацией через 10–11 месяцев этой же вакциной. В дальнейшем применяется вакцина из штамма 82 в зависимости от эпизоотической ситуации; — предложенная нами РНГА, с R-диагностикумом позволяет выявить дополнительно при серологическом тестировании до 15 % реагирующих животных.

**Апробация работы.** Материалы диссертации доложены на научно-практических конференциях Дагестанской сельскохозяйственной академии «Актуальные проблемы ветеринарной медицины» (Махачкала, 2002), «ВУЗ и АПК: задачи, проблемы и пути решения» (Махачкала, 2002), ученых советах факультета ветеринарной медицины Дагестанской Государственной сельскохозяйственной академии (2001–2005 гг.), а также на научно-техническом Совете при Комитете Правительства РД по ветеринарии (2003–2005 гг.)

**Публикации.** По теме диссертации опубликовано 6 научных работ, в том числе в журнале «Ветеринария», №4, 2003 г.

**Структура и объем работы.** Работа изложена на 109 страницах компьютерного текста и состоит из введения, обзора литературы, собственных исследований, выводов, практических предложений, списка литературы, приложений. Текст содержит 26 таблиц, 3 рисунка. Список использованной литературы включает 189 источника, в том числе 37 зарубежных авторов.

## 2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 2.1. Материалы и методы исследований

Исследования по диссертационной работе выполнены в 2000–2005 гг. на кафедре эпизоотологии и микробиологии Дагестанской государственной сельскохозяйственной Академии, Прикаспийском зональном НИВИ, Республиканской и Ботлихской зональной ветеринарных лабораториях и хозяйствах Республики Дагестан.

Изучение региональных особенностей развития эпизоотического процесса при бруцеллезу крупного рогатого скота в условиях республики проводили путем:

- анализа статистических данных Комитета Правительства РД по ветеринарии, экспертиз исследований Республиканской и Ботлихской ветеринарных лабораторий, Госсанэпиднадзора РД;
- выяснения источников возбудителя инфекции и путей ее распространения;
- мониторинга эпизоотических очагов бруцеллеза в разных зонах республики.

Интенсивность эпизоотических показателей оценивали по количеству неблагополучных пунктов и очаговости заболевания.

Материалом для наших исследований служил крупный рогатый скот благополучных и неблагополучных хозяйств республики и лабораторное оборудование для диагностики.

В работе использован комплексный подход с использованием современных статистических, клинико-эпизоотологических и лабораторных методов исследований на бруцеллез.

Эпизоотологическую ситуацию по бруцеллезу изучали в 25 хозяйствах Агульского, Ахвахского, Ботлихского, Буйнакского, Кайтагского, Карабудахкентского, Каякентского, Кизлярского, Кумторкалинского, Хивского, Хунзахского, Цумадинского районов, где анализировали причины возникновения и распространения заболевания.

Степень инфицированности животных определяли по результатам серологических и бактериологических исследований. В неблагополучных хозяйствах по общепринятой методике ретроспективному исследованию подвергнуто 7094 пробы сывороток крови, 650 проб молока, а бактериологическому — 12 абортированных плодов. Реакцию агглютинации, реакцию связывания комплемента, кольцевую реакцию с молоком и реакцию иммунодиффузии (РИД) ставили по общепринятой методике с использованием бруцеллезного антигена и компонентов биофабричного производства. Производственное испытание специфичности, чувствительности и активности РНГА с эритроцитарным диагностикумом проводили в сравнении с другими реакциями исследованием 9844 проб сыворотки крови, взятых в хозяйствах с различной эпизоотической ситуацией, а также от вакцинированных и ревакцинированных животных.

С целью дифференциации бруцелл и более полного выявления больных животных, совместно с сотрудниками Прикаспийского зонального НИВИ (О.Ю. Юсупов, С.Г. Хаиров) разработан диагностикум из R-форм бруцелл для РНГА.

Динамику поствакцинальных реакций (шт. 19 и 82) изучали на 82 животных, путем определения титров антител в динамике. Кровь для

исследования брали через 15, 30, 60, 90, 120, 180, 210 и 360 дней после активной иммунизации.

Экономический эффект от внедрения противобруцеллезных мероприятий рассчитывали согласно методике, утвержденной МСХиП РФ 21 февраля 1997 года.

Основные результаты экспериментальных исследований подвергнуты статистической обработке. Достоверность различия между показателями оценивали по критерию Стьюдента (Гланц С., 1998).

Приводимый графический материал полученных результатов (графики, диаграммы) был получен с использованием программы Excel. Для статистической обработки результатов использовалась программа Биостат.

### 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

#### 3.1. Эпизоотическая ситуация по бруцеллезу крупного рогатого скота в Дагестане

Бруцеллез крупного рогатого скота в Дагестане зарегистрирован впервые в 1927 году в Лакском и Хасавюртовском округах. Первые серологические исследования животных на бруцеллез относятся к 1932 году. Впоследствии, особенно в 60–70 годы, заболевание приняло широкое распространение и стало регистрироваться во многих хозяйствах и населенных пунктах равнинных и предгорных зон республики. Наибольшее количество неблагополучных пунктов (от 400 до 540) отмечено в 1960–1977 годах. Такое положение, на наш взгляд, объясняется следующими причинами:

- наличием множества бруцеллезных изоляторов;
- несоблюдением ветеринарно-санитарных мероприятий;
- низким уровнем проводимых профилактических мер и отсутствием четкого учета вакцинированного поголовья;
- отсутствием научного анализа постинфекционных и поствакцинальных титров специфических антител при постановке диагноза;
- ограниченным объемом бактериологических исследований с последующей идентификацией бруцелл;
- наличием и появлением новых очагов инфекции.

Начиная с 1978 по 1990 год количество их, по сравнению с предыдущими годами, снизилось в среднем в 2,7 раза, что связано с налаживанием диагностики и широкомасштабным проведением вакцинопрофи-

лактики с применением вакцины из штамма Br. abortus – 19. Несмотря на значительный объем профилактических и оздоровительных мероприятий, проведенных с 1974 г., с применением вакцины из штамма 82, добиться устойчивого благополучия хозяйств в республике по бруцеллезу крупного рогатого скота не удалось, хотя отмечена некоторая тенденция снижения количества неблагополучных пунктов.

За последние 15 лет (1991–2005 гг.) было оздоровлено 54 неблагополучных пункта, но появилось 53 новых. Кроме того, стабильно сохраняются и сравнительно высокие показатели широты распространения, индекса заболеваемости и коэффициента очаговости.

Для наглядности эпизоотологические показатели распределены нами по периодам (табл. 1).

Таблица 1 – Некоторые эпизоотологические показатели бруцеллеза крупного рогатого скота в Дагестане за последние 15 лет ( $M \pm m$ ; в %)

Годы	Широта распространения	Индекс заболеваемости	Коэффициент очаговости
1991–1995	0,566±0,092	154,41±10,61	98,08±9,94
1996–2000	0,322±0,039*	122,71±16,05	137,74±28,14
2001–2005	0,294±0,068*	138,07±7,41	196,52±43,3

\*  $P < 0,05$

Данные таблицы свидетельствуют о том, что широта распространения в 1996–2000 гг., по сравнению с 1991–1995 гг., уменьшилась в 1,7 раз, индекс заболеваемости – в 1,2 раза, коэффициент очаговости увеличился в 1,4 раза; а в 2001–2005 гг. соответственно – 1,9, 1,1 и 2 раза.

Причиной высокого коэффициента очаговости, по-видимому, является то, что в ряде хозяйств и населенных пунктах, ранее благополучных по бруцеллезу, вследствие завоза непроверенных животных, стали отмечаться случаи выявления реагирующих на бруцеллез животных, преимущественно среди скота, принадлежащего населению. Такое положение, на наш взгляд, связано с либерализацией торговли скотом, увеличением численности поголовья и отсутствием четкого учета скота в частном секторе, значительной неконтролируемой миграцией животных; неполным охватом поголовья исследованиями и иммунизацией; передержкой положительно реагирующего скота; отсутствием системы страховой компенсации и убоя больного поголовья; недостаточной ве-



теринарно-санитарной культурой ведения животноводства. Все эти факторы создают большие трудности в осуществлении контроля за проявлением эпизоотического процесса, в результате чего обстановка по бруцеллезу крупного рогатого скота в республике остается сложной.

Эпизоотологическому обследованию подвергнуты 51 ферма и населенные пункты 9 районов республики, где изучены источники возбудителя бруцеллеза и пути его распространения.

Эпизоотическая ситуация за последние 5 лет отражена на рисунке 1.

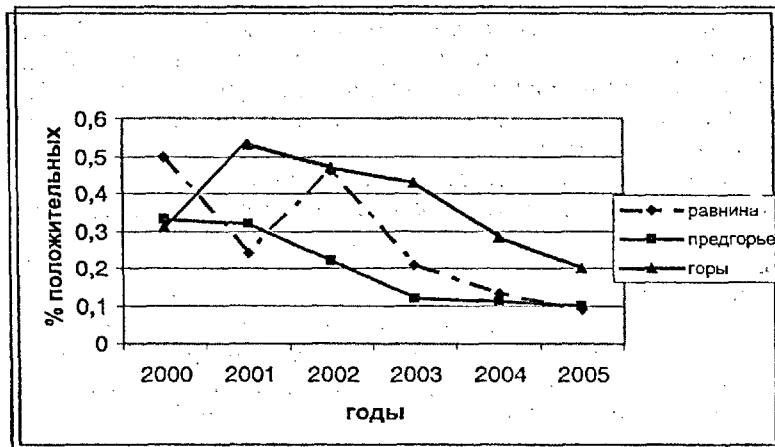


Рисунок 1 — Динамика бруцеллеза крупного рогатого скота в разных зонах Дагестана за 2000–2005 гг.

Данные рисунка показывают, что бруцеллез крупного рогатого скота встречается из года в год во всех 3-х зонах и носит стационарный характер, особенно в горной зоне. Количество неблагополучных пунктов составляет в среднем по равнинной зоне 40 % с уровнем заболеваемости 0,3 %, соответственно — предгорной — 24,4–0,2 % и горной — 35,6–0,4 %. Несмотря на одинаковую степень инфицированности животных, заболеваемость в горной зоне, по сравнению с равнинной и предгорной, увеличилась в 1,7–2,5 раза, что связано с миграцией животных в Ботлихском и Цумадинском районах при нестабильной политической и социальной обстановке в Чеченской Республике и непосредственным контактом больных и здоровых животных при пастбе, водопое и вольной случке.

Однако основной причиной высокого процента положительно реагирующего скота на бруцеллез, по нашему мнению, является то, что животные в естественных условиях инфицируются природно-ослабленными авирулентными штаммами бруцелл, т. е. животные практически не инфицируются, они вакцинируются против бруцеллеза, а при серологических исследованиях мы выявляем диагностические титры специфических антител, следы не вакцинированных против бруцеллеза животных и их считаем больными, хотя в действительности они вакцинированы природой против бруцеллеза.

Установлено, что основным источником возбудителя бруцеллезной инфекции в Дагестане является больное животное. Фактором передачи инфекции являются продукты, инфицированные бруцеллами, и сырье животного происхождения, предметы ухода, корма, подстилка, вода, почва.

В распространении бруцеллеза определенную роль играют перегон и перегруппировки, бесконтрольная купля и продажа животных и продукции животного происхождения, употребление молока от больных животных без предварительной термической обработки. Немаловажное значение имеют также природно-климатические условия, обострение экологической ситуации, нарушения санитарных и зоогигиенических условий содержания животных.

Особенностью течения бруцеллеза крупного рогатого скота в республике является то, что в течение первых 2 лет при заносе возбудителя бруцеллезной инфекции в благополучные населенные пункты заболевание сопровождалось абортными только у 7–9 % животных, задержанием последа — 4 %, эндометритами — 3 %, маститами — 2 %, орхитами и бурситами — 1 %. При вводе в неблагополучные стада не вакцинированных животных течение заболевания резко обостряется и повторно abortируют более 3 % коров.

Бактериологическому исследованию подвергнуто 12 abortированных плодов. Из органов плодов проведено 330 высевов на специальные питательные среды. В результате чего выделено 23 культуры бруцелл, в том числе из содержимого желудка 6 (26 %), околоплодной жидкости — 8 (34,8 %), печени — 2 (8,7 %), селезенки — 2 (6,5 %) и лимфоузлов — 5 (21,7 %). Для культивирования бруцелл использовали мясопептонный печеночный бульон (МППБ), печеночный глюкозо-глицериновый агар (ПГА), эритрит — агар.

Все культуры при выращивании на агаре на 6–7 сутки имели характерную для бруцелл морфологию: колонии — мелкие, блестящие, выпуклые, с ровными краями и гладкой поверхностью с голу-

боватым или сероватым оттенком. В бульоне культуры вызывали равномерное помутнение среды. Окрашивались бруцеллы по Граму отрицательно, по методу Козловского — в красный цвет.

Культуры обладали типичными для бруцелл морфологическими, типкториальными и культуральными свойствами и давали положительную РА с позитивной сывороткой.

Дифференциацию бруцелл проводили совместно с сотрудниками Прикаспийского ЗНИВИ (О.Ю. Юсупов, С.Г. Хаиров). Отмечено, что культуры-изоляты в целом не росли на средах с тионином 1:25000 — 1:50000, но росли хорошо с фуксином, продуцировали сероводород.

При идентификации все штаммы-изоляты отнесены к *Brucella abortus*.

### **3.2. Усовершенствование лабораторной диагностики бруцеллеза крупного рогатого скота**

#### ***3.2.1. Изучение диагностической ценности РНГА***

По инструкции при диагностике бруцеллеза, особенно прижизненной, применяются серологические тесты: РА, РСК, КР, РБП. Однако первые три реакции сравнительно трудоемки, малопроизводительны, требуют достаточно много времени, экономически обходятся дорого, а главное — не выявляют всех больных бруцеллезом животных. В связи с этим усилия ряда исследователей были направлены на разработку простого, доступного и дешевого антигена для ускоренной диагностики бруцеллеза.

Такой бруцеллезный эритроцитарный S-антиген для РНГА предложен Прикаспийским зональным НИВИ, ВГНКИ и ВНИИБТЖ, который проходил широкое производственное испытание в Республике Дагестан.

Специфичность и активность антигена в РНГА, в сравнении с другими серологическими реакциями, изучены нами на материале из хозяйств с различной эпизоотической ситуацией. Всего в РНГА с эритроцитарным антигеном исследовано 9844 проб сыворотки крови и 650 проб молока, в том числе и от 1571 животных, иммунизированных вакциной из штамма 82.

Многие населенные пункты Ботлихского и Цумадинского районов из года в год являются неблагополучными по бруцеллезу, что придает им характер стационарности. В этих районах нами в РНГА исследовано 1516 проб сывороток крови из 6 неблагополучных населенных пунктов. Результаты исследований представлены в таблицах 2 и 3.

Таблица 2 – Результаты исследования сывороток крови от невакцинированных животных в неблагополучных по бруцеллезу населенных пунктах

Районы	Населенные пункты	Исследовано проб	Результаты исследований								Совпало РНГА с РА+РСК	
			РА		РСК		Комплекс РА+РСК		РНГА			
			полож., %	сомн., %	полож., %	сомн., %	полож., %	сомн., %	полож., %	сомн., %	полож., %	сомн., %
Цумадинский	с. Цумада	101	53,5	6,93	49,5	–	60,4	2,97	63,37	0,99	60,4	2,97
	с. Тинди	409	2,44	1,7	7,58	–	7,58	0,48	7,58	–	7,6	–
Ботлихский	с. Глох	79	10,133	3,7	30,38	–	30,38	–	30,38	–	30,4	–
	с. Чапко	48	16,67	8,33	33,33	–	39,58	6,25	45,83	–	39,6	6,25
	с. Гагатли	211	3,79	1,4	4,74	–	7,58	–	7,58	–	7,58	–
	с. Анди	106	10,38	1,88	16,04	–	17,92	–	21,7	3,77	17	–
	М+ш	–	16,15±7,75	3,99±1,2	23,6±7,02	–	27,24±8,4	1,61±1,0	29,41±9,01	0,8±0,61	27,1±8,44	1,53±1,06

Таблица 3 — Результаты исследования проб сывороток крови от больных бруцеллезом животных

Вид животного	Исследовано проб	Реагировало положительно		
		РА	РСК	РНГА
Крупный рогатый скот	562	394	365	466

Анализируя данные таблиц 2 и 3, необходимо отметить, что из общего количества исследованного поголовья положительно реагировало в РА и РСК 170 животных или 27,2 %, а в РНГА — 175 или 29,4 %. В гуртах с острым периодом бруцеллеза серопозитивных животных выявлено в РА — 70 %, РСК — 65 % и РНГА — 83 %.

Аналогичные исследования проведены в 2-х неблагополучных по бруцеллезу крупного рогатого скота населенных пунктах (с.с. Анди, Гагатли) Ботлихского и 2-х (с.с. Цумада, Тисси) Цумадинского районов, отличающихся между собой характером эпизоотического процесса. Исследовали пробы крови от коров, нетелей, телок и бычков, в том числе: в Ботлихском районе — 831 гол. (с. Анди — 431 и с. Гагатли — 400) и Цумадинском — 531 гол. (с. Цумада — 49 и с. Тисси — 482). В результате в Ботлихском районе положительно в РНГА реагировало 86 голов, сомнительно — 3, РА — 35 — 14 и РСК — 77 — 3; Цумадинском соответственно — 39 — 3, 19 — 3, 32 — 0.

С целью выяснения пригодности РНГА при исследовании молока в сравнении с КР исследовали 650 проб молока. При этом 215 проб молока, взятых из благополучных хозяйств, реагировали отрицательно в КР и РНГА. РНГА, РА, РСК и РПБ с сыворотками крови также дали отрицательные результаты, что свидетельствует о специфичности РНГА при исследовании молока на бруцеллез.

Из 435 проб молока от коров из неблагополучных по бруцеллезу хозяйств в КР реагировало 293 головы (67 %), в РНГА — 350 (80 %), т. е. на 13 % больше.

В последующем комплексному исследованию подвергли сыворотку крови и молоко от 30 больных бруцеллезом коров одновременно (табл. 4).

Таблица 4.— Результаты исследования молока и сывороток крови от больных бруцеллезом животных

Серологические реакции	Количество исследованных проб молока или сывор. крови	Положительно реагировали			
		с молоком	средний титр	с сыворотками крови	Средний титр
РБП	30	не исслед.	—	26	—
РА	30	— « —	—	27	1:278
РСК	30	— « —	—	28	1:10
КР	30	20	—	не исслед.	—
РНГА	30	30	1:355	30	1:2304

Данные таблицы 4 свидетельствуют, что в КР реагировало 20 животных, а в РНГА — 30 по молоку и сывороткам крови.

Полученные данные свидетельствуют о пригодности РНГА и для исследования молока на бруцеллез, где диагностическим титром следует считать 1:100, сомнительным — 1:50.

Диагностическое значение РНГА нами изучено также на 1571 животном, иммунизированном вакциной из штамма 82. Результаты этих исследований представлены в таблице 5.

Таблица 5 — Результаты исследования проб сывороток крови животных, иммунизированных вакциной из штамма 82

Хозяйства и населенные пункты	Исследовано проб	Результаты							
		РА		РСК		РА + РСК		РНГА	
		полож.	сомн.	полож.	сомн.	полож.	сомн.	полож.	сомн.
с. Эбихрали	94	—	—	—	—	—	—	1	1
с. Годоברי	122	—	—	—	—	—	—	4	1
с. Местерух	324	—	—	—	—	—	—	—	4
с. Хуштада-Тленхара	67	—	—	—	—	—	—	2	—
с. Хуштада-Урух	96	—	—	1	—	1	—	7	—
с. Анди	299	2	6	6	—	6	—	6	—
с. Гагатли	265	1	—	5	—	5	—	5	—
с. Ансалта	132	2	—	—	—	2	—	4	2
с. Анчих	104	2	—	—	—	2	—	4	—
к-з «Ботлихский»	68	—	—	—	—	—	—	2	1
Итого	1571	7	6	12	—	16	—	35	9

Как видно из данных таблицы 5, при исследовании сывороток крови от 1571 животного положительно в РНГА реагировали 35 голов, что составляет 2,2 %, и сомнительно — 9, тогда как по РА+РСК — 16 — 1 % — 7 соответственно.

Из выше изложенного следует, что РНГА с эритроцитарным S-антигеном является более чувствительной по сравнению с применяемыми на практике РА, РСК и в неблагополучных хозяйствах выявляет до 15 % больше больных животных.

Таким образом, РНГА не только специфична и чувствительна, но проста по технике постановки, обходится дешевле, экономична во времени, выявляет больных в ранней стадии, доступна для широкого круга специалистов-серологов и может быть рекомендована в качестве основного серологического теста при лабораторной диагностике бруцеллеза.

### *3.2.2. Разработка способа получения R-диагностикума при бруцеллезе*

Наличие в природе «S» и «R» форм бруцелл не позволяют S-диагностикумом провести дифференциацию истинных и атипичных реакций в раннее благополучных по бруцеллезу хозяйствах.

Учитывая научную перспективность данного вопроса, нами совместно с сотрудниками Прикаспийского зонального НИВИ (О.Ю. Юсупов, С.М. Хаиров) разработан, изготовлен и успешно опробован эритроцитарный R-диагностикум для РНГА.

В качестве антигена для сенсибилизации формализированных и танизированных эритроцитов мы использовали бруцеллезный R-антиген для РСК, предложенный доктором ветеринарных наук, профессором К.М. Салмаковым. Антиген представляет собой прозрачную слегка опалесцирующую желтоватого цвета жидкость, содержащую активные вещества, извлеченные из Br. abortus штамма R-1096 воздействием ультразвука.

Нами разработана методика изготовления эритроцитарного бруцеллезного R-антигена для РНГА в нашей модификации, которая заключается в следующем.

*Формализация эритроцитов.* Важное значение при изготовлении эритроцитарных антигенов имеет предварительная подготовка эритроцитов барана для сенсибилизации растворимыми антигенами. При этом обработка их формалином по методике R. Weinbach (1958) признана наиболее надежным способом сохранения сорбционных свойств. Нашими исследованиями установлено, что наиболее приемлемым способом формализации эритроцитов является обработка в тече-

ние 16–18 часов, вместо 24 и встряхивали их в Шюттель-аппарате не постоянно, как рекомендует автор, а через каждые 30 минут в течение 1,5–2 минут, что дало нам возможность значительно сократить время подготовки и получить максимальный выход эритроцитов без признаков гемолиза и склеивания.

*Танизация эритроцитов.* К 1 см<sup>3</sup> 5 %-х формализированных эритроцитов добавляли 1 см<sup>3</sup> танина, разведенного 1:20000 и выдерживали 15 минут при 37 °С. Затем смесь центрифугировали и промывали двукратно забуференным физиологическим раствором с РН 7,4, вместо 7,2 и доводили эритроциты до 5 %-й концентрации.

*Сенсибилизация танизированных эритроцитов.* Для приготовления R-эритроцитарного диагностикума 5 %-ю взвесь формализированных и танизированных эритроцитов соединяли с R-антигеном в соотношении 1:3. Смесь тщательно перемешивали и ставили в термостат на один час при температуре 45 °С. Затем эритроциты отмывали от избытка антигена трехкратно забуференным физиологическим раствором путем центрифугирования при 2000 об/мин, доводили тем же раствором до 5 %-й концентрации. Готовый антиген представлял собой прозрачную жидкость. В качестве консерванта использовали 0,3–0,4 %-й формальдегид.

Всего нами было приготовлено три серии R-диагностикума. Степеньность, активность и специфичность антигена изучали по общепринятой методике.

Специфичность и активность R-диагностикума изучена в РНГА в сравнении с S-диагностикумом. Результаты представлены в таблице 6.

Таблица 6 – Сравнительная оценка специфичности и активности R- и S-диагностикумов в РНГА

Сыворотки и титры	R-диагностикум									
	1:50	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600	1:3200	1:6400	1:12800	1:25600
Полож. R–	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	+++	++
Полож. S–	++++	++++	+++	–	–	–	–	–	–	–
Отриц.	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	S-диагностикум									
	1:50	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600	1:3200	1:6400	1:12800	1:25600
Полож. S–	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	+++	++
Полож. R–	++++	++++	+++	+	–	–	–	–	–	–
Отриц.	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–

*Примечание:* + положительно  
– отрицательно



Как видно из данных таблицы 6, R и S-диагностикумы в РНГА реагировали с одинаковой активностью с гомологичными положительными сыворотками в титре от 1:50 до 1:25600, гетерологичными соответственно 1:50 – 1:200 и не реагировали совсем с отрицательными сыворотками, что свидетельствует об их специфичности.

Высокая специфичность R-бруцеллезного диагностикума подтверждена также исследованием 10 проб сывороток крови от заведомо здорового крупного рогатого скота.

Эритроцитарный бруцеллезный R-диагностикум изучен нами также на 5 иммунизированных животных вакциной из штамма 82. Данные исследований представлены в таблице 7.

Таблица 7 – Результаты проверки специфичности бруцеллезного R-диагностикума на иммунизированных животных

№ п/п	№ животных	R-антиген		S-антиген	
		1:5 РСК	1:50 РНГА	1:5 РСК	1:50 РНГА
1	1787	-----	1:50 +++	1:20 ++	1:400+++
2	0926	-----	1:50 +++	1:20 ++	1:800+++
3	1256	-----	-----	1:10 ++	1:200+++
4	5705	-----	-----	1:20 +++	1:1600+++
5	4925	-----	-----	1:40 ++	1:1600++++
К-S- сыв.		1:80 +++++	1:3200++++	1:10 ++	1:100+++
К-R- сыв.		1:5 +++	1:100 +++	1:160 +++++	1:12800++++
К-		-----	-----	-----	-----

Из представленных данных видно, что положительные РСК и РНГА с S-антигеном у всех животных являются поствакцинальными, тогда как с R-антигеном они реагировали отрицательно или в низких титрах.

В неблагополучном по бруцеллезу хозяйстве (совхоз «Ада-накский» Карабудахкентского района) из 126 коров, привитых вакциной из штамма 82, при контрольном исследовании

через 6 месяцев после ревакцинации были выявлены 17 голов, положительно реагирующих на бруцеллез в высоких титрах. Для выяснения причин этих реакций нами повторно исследованы пробы крови в РА, РСК и РНГА с S-антигеном, в РСК, РНГА с R-антигеном.

При этом все 17 животных реагировали с S-антигеном в РА, РСК и РНГА в высоких титрах, тогда как с R-антигенами в РСК 1:5 — 1:10 и РНГА 1:50 — 1:200 реагировали в низких разведениях, что свидетельствует о зараженности животных бруцеллезом.

Таким образом, R-эритроцитарный диагностикум для РНГА является специфичным и может быть использован для выявления животных, зараженных диссоциированными полевыми штаммами бруцелл в R-форме, которые не могут быть выявлены единым S- стандартным антигеном для РА и РСК.

### *3.2.3. Испытание РИД с О-ПС антигеном при диагностике бруцеллеза крупного рогатого скота*

Нами проведены исследования по изучению диагностического значения РИД с О-ПС антигеном, который предназначен для дифференциации поствакцинальных и постинфекционных реакций.

Совместно с сотрудниками Республиканской ветеринарной лаборатории и Прикаспийского ЗНИВИ нами в РИД с О-ПС антигеном, в сравнении с РА и РСК, исследовано 2645 проб сывороток крови крупного рогатого скота, взятые в различные сроки после вакцинации. При этом в РА реагировало 116 животных (4,4 %), причем в титрах 1:50 — 3, 1:100 — 12, 1:200 — 4, 1:400 — 11, в РСК 1:5 — 3, 1:10 — 13, 1:20 — 20, 1:40 — 50, а в РИД — 70 (2,6 %). РИД была отрицательной даже с сыворотками крови от 24 животных, положительно реагировавших после реиммунизации вакциной из штамма 82 в РА в титрах 1:200 — 1:400, в РСК — 1:20 — 1:40.

Отрицательные результаты получены также в целом ряде хозяйств при исследовании в РИД сывороток крови животных, реагирующих в РА 1:50 — 1:100 и РСК в титре 1:5, что свидетельствует об отсутствии больных животных.

Специфичность и активность РИД с О-ПС антигеном испытаны нами и на 15 абортировавших бруцеллезных коровах колхоза им. Ленина, «Верховный Совет» Цумадинского и колхоза им. Ленина и «Искра» Ботлихского районов. Результаты этих исследований представлены в таблице 8.

Таблица 8 – Результаты исследования абортировавших животных в РА, РСК и РИД

№ п/п	Кличка	РА	РСК		РИД
		МЕ	1:5	1:10	
1	Алена	200	++++	++++	-
2	Анжела	100	++++	++++	+
3	Елена	100	++++	++++	+
4	Калина	100	++++	++++	+
5	Космос	-	++++	++++	-
6	Крошка	-	++++	++++	-
7	Сытая	200	++++	++++	+
8	Борзая	100	++++	++++	+
9	Мишка	200	-	-	+
10	Луиза	400	++++	++++	-
11	Ангошка	400	++++	++++	-
12	Сидрат	-	++++	++++	-
13	Иза	100	++++	++++	+
14	Лиза	200	++++	++++	+
15	Венера	200	-	-	+

Примечание: + положительно  
- отрицательно

Из данных таблицы 8 видно, что специфические антитела выявлены по РИД – в 60 %, РА-80 % и РСК-87 % случаев. Следовательно, РИД с О-ПС антигеном значительно уступает по чувствительности комплексному исследованию по РА, РСК и не во всех случаях позволяет дифференцировать поствакцинальные реакции от постинфекционных.

#### 3.2.4. Совершенствование специфической профилактики бруцеллеза

В Дагестане длительное время весьма успешно применялся метод профилактики бруцеллеза крупного рогатого скота, основанный на трехкратной прививке вакцины из штамма 82 в 4–5-месячном возрасте, а также перед случкой и после первого отела. Однако в ходе расформирования молочнотоварных ферм и комп-

лексов и распределения 300-тысячного поголовья крупного рогатого скота среди частного подворья, не только обострилась обстановка по бруцеллезу, но и стали безуспешными попытки ветслужбы придерживаться указанной схемы прививок. Связано это с тем, что если на фермах и комплексах общественного сектора отелы регламентировались по срокам в пределах ноября-декабря, то в индивидуальном секторе они продолжаются до мая следующего года, что делает практически невозможным отслеживать сроки вакцинации.

В системе ветеринарно-санитарных мероприятий оздоровить неблагополучные индивидуальные хозяйства путем полной замены и иммунизации против бруцеллеза согласно инструкции в возрасте 4-5 месяцев вакциной из штамма 19 и ревакцинация через 10 месяцев вакциной из штамма 82 нам не удалось. Это послужило основанием в разработке новой схемы вакцинации, которая позволила создать напряженный иммунитет у привитого поголовья и исключить ряд дополнительных исследований.

Нами научно обосновано, разработано и успешно опробировано на практике применение вакцины из штамма 19 для вакцинации молодняка в 4-5-месячном возрасте с реиммунизацией животных через 10-11 месяцев. В дальнейшем исходя из эпизоотической ситуации рекомендуем вакцинацию коров проводить вакциной из штамма 82 до полного устранения угрозы возникновения бруцеллеза.

Предлагаемая схема вакцинации обеспечивает формирование достаточно напряженного и длительного иммунитета у привитых животных и обеспечивает надежный контроль за эпизоотической ситуацией, сокращаются многократные исследования животных, а главное - предотвращает аборт, не происходит заражение животных бруцеллезом, идет купирование инфекции, оздоровление хозяйств происходит за более короткий срок.

По предлагаемой схеме нами оздоровлено 8 неблагополучных по бруцеллезу крупного рогатого скота населенных пунктов в течение 2-2,5 лет.

Экономический эффект от внедрения в ветеринарную практику предлагаемой схемы вакцинации крупного рогатого скота против бруцеллеза в системе рекомендуемых ветеринарно-санитарных противобруцеллезных мероприятий составил 2,8 руб. на 1 руб. затрат.

#### 4. ВЫВОДЫ

1. Бруцеллез крупного рогатого скота имеет широкое распространение в хозяйствах равнинной, предгорной и горной зон Республики Дагестан и занимает второе место в инфекционной патологии крупного рогатого скота.
2. В настоящее время эпизоотическая ситуация по бруцеллезу крупного рогатого скота продолжает оставаться сложной, имеет тенденцию к ухудшению.
3. Бруцеллез крупного рогатого скота в основном протекает латентно, у 7–9 % коров наблюдаются аборт.
4. Бактериологическими исследованиями выделено и типировано 23 культуры бруцелл, которые отнесены к *Bg. abortus*.
5. Производственное испытание РНГА с эритроцитарным бруцеллезным S-антигеном при исследовании проб сывороток крови и молока выявило высокую специфичность и чувствительность этой реакции, которая выявляет соответственно на 17 и 13 % больше серопозитивных животных по сравнению с РА, РСК, КР и может быть использована в качестве основной серологической реакции при диагностике бруцеллеза крупного рогатого скота.
6. Разработан, изготовлен и испытан с высокой эффективностью эритроцитарный бруцеллезный R-антиген для РНГА, который позволяет выявить дополнительно до 15 % положительно реагирующих животных на бруцеллез.
7. Экономическая эффективность от внедрения в практику разработанных нами рекомендаций составляет 2,8 руб. на каждый затраченный рубль.

#### 5. ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

1. Разработаны и внедрены в ветеринарную практику Республики Дагестан рекомендации «Бруцеллез крупного рогатого скота и меры борьбы с ним», которые рассмотрены и одобрены методическим Советом Даггоссельхозакадемии (протокол № 6 от 16 февраля 2005 г.) и утверждены НТС Комитета Правительства РД по ветеринарии (протокол № 1 от 15 марта 2005 г.).
2. В комплексе противобруцеллезных мер со сложной эпизоотической ситуацией наиболее эффективна иммунизация телок в

возрасте 4–5 месяцев вакциной из штамма 19 с последующей ревакцинацией их через 10–11 месяцев этой вакциной. В дальнейшем, исходя из эпизоотической ситуации, продолжать иммунизацию коров вакциной из штамма 82 до полного устранения угрозы возникновения бруцеллеза.

3. Материалы диссертации могут быть использованы ветеринарными специалистами хозяйств, Республиканской и районными ветеринарными лабораториями при диагностике и профилактике бруцеллеза в республике, а также в учебном процессе аграрных вузов по специальности 111201.65 – «Ветеринария».

## 6. СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ

1. Сакидибиров, О. П. Результаты широкого производственного испытания РНГА для диагностики бруцеллеза крупного рогатого скота и овец в Дагестане / О. П. Сакидибиров, З. М. Джамбулатов, Н. И. Магомаев, Н. Т. Карсаков, Р. М. Исаева, М. Г. Адамова, О. Ю. Юсупов, С. Г. Хаиров // Тезисы докладов республиканской научно-практической конференции / Даг. ГСХА. – Махачкала, 2002. – С. 44–46.
2. Сакидибиров, О. П. Об эпизоотической ситуации по бруцеллезу крупного рогатого скота в горных районах, граничащих с Чеченской Республикой / О. П. Сакидибиров // ВУЗ и АПК: задачи, проблемы и пути решения : материалы межрегиональной научно-практической конференции / Даг. ГСХА. – Махачкала, 2002. – С. 317–319.
3. Сакидибиров, О. П. Опыт борьбы с бруцеллезом / О. П. Сакидибиров // Ветеринария. – 2003. – № 4. – С. 16.
4. Сакидибиров, О. П. Бруцеллез крупного рогатого скота и меры борьбы с ним : методические рекомендации / О. П. Сакидибиров, М. М. Ахмедов, Н. И. Магомаев, С. Г. Хаиров. – Махачкала, 2005. – 17 с.
5. Сакидибиров, О. П. Реакция иммунодиффузии (РИД) с ОП-С-антигеном при бруцеллезе крупного рогатого скота / О. П. Сакидибиров // Актуальные проблемы повышения продуктивности и охраны здоровья животных : материалы международной научно-практической конференции. – Ставрополь, 2006. – С. 283–284.

6. Сакидбиров, О. П. Совершенствование специфической профилактики бруцеллеза / О. П. Сакидбиров, М. М. Ахмедов, Н. И. Магомаев // Основные проблемы, тенденции и перспективы устойчивого развития сельскохозяйственного производства : материалы научно-практической конференции. – Махачкала, 2006. – С. 319–320.

Подписано в печать 25.10.2006. Формат 60×94<sup>1</sup>/<sub>16</sub>. Бумага офсетная.  
Гарнитура «Таймс». Усл. печ. л. 1,4. Тираж 130 экз. Заказ № 673.  
Отпечатано в типографии издательско-полиграфического комплекса СтГАУ «АГРУС»,  
г. Ставрополь, ул. Мира, 302.





