

УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ СРЕДСТВ И МЕТОДОВ ДИАГНОСТИКИ БРУЦЕЛЛЕЗА СЕВЕРНЫХ ОЛЕНЕЙ В УСЛОВИЯХ ЯКУТИИ

Е. С. СЛЕПЦОВ, доктор ветеринарных наук, главный научный сотрудник,
Н. В. ВИНОКУРОВ, кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник,
В. И. ФЕДОРОВ, кандидат ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник,
И. И. ГРИГОРЬЕВ, младший научный сотрудник,
О. И. ЗАХАРОВА, соискатель,
Якутский научно-исследовательский институт сельского хозяйства им. М. Г. Сафронова
(677001, г. Якутск, ул. Бестужева-Марлинского, д. 23/1)

Ключевые слова: бруцеллез, инфекционный процесс, иммунитет, штамм, эпизоотический процесс, вакцина.

В статье изложены материалы испытаний чувствительности и специфичности реакции иммунодиффузии с О-полисахаридным антигеном (РИД с О-ПС) и реакции непрямой гемагглютинации с антигеном бруцеллезным эритроцитарным (РНГА) при бруцеллезе северных оленей в сравнительном аспекте с РА и РСК, проведенных в оленеводческих хозяйствах Якутии. На большом фактическом материале нами были получены положительные результаты, свидетельствующие о возможности использования в комплексной поствакцинальной диагностике бруцеллеза северных оленей в качестве дифференциального метода РИД с О-ПС антигеном. Специфичность показаний РИД была подтверждена как на привитом, так и на непривитом поголовье благополучных по бруцеллезу оленеводческих хозяйств. Установлено отсутствие поствакцинальных антител у животных через два и более месяцев после вакцинации и ревакцинации при наличии РА и РСК даже в очень высоких титрах. В последующем специфичность РИД с О-ПС антигеном была проверена при заражении здоровых северных оленей референтным штаммом *B.suis* 1330. При исследовании естественно больных оленей в неблагополучных по бруцеллезу стадах было установлено, что во всех случаях РНГА выявляла на 7,7–10,2 % больше реагирующих, чем РА и РСК вместе взятые, причем совпадение РНГА с данными РА и РСК составило 97 %. Диагностическую эффективность РНГА и ее преимущество перед РА и РСК подтвердили также при исследовании вакцинированных *B.abortus* 82 и 75/79-AB в различные сроки после вакцинации. О более высокой чувствительности этой реакции свидетельствуют и предельные титры РНГА, которые превышали таковые РА в 1,2–5,9 раза в зависимости от группы исследованных животных. Таким образом, изыскание и усовершенствование новых средств и методов диагностики будут основой борьбы против бруцеллеза северных оленей.

IMPROVEMENT OF MEANS AND METHODS OF DIAGNOSTICS OF BRUCELLOSIS OF NORTHERN DEER IN THE CONDITIONS OF YAKUTIA

E. S. SLEPTSOV, doctor of veterinary sciences, professor,
N. V. VINOKUROV, candidate of veterinary sciences, senior researcher,
V. I. FEDOROV, candidate of veterinary sciences, leading researcher,
I. I. GRIGORYEV, junior researcher,
O. I. ZAKHAROVA, competitor,
Yakut scientific research institute of agriculture named after M. G. Safronov
(23/1 Bestuzheva-Marlinskogo str., 677001, Yakutsk)

Keywords: brucellosis, infection process, immunity, strain, epizootic process, vaccine, reindeer.

In the article describes the sensitivity and specificity of the immunodiffusion reaction (IR) with O-polysaccharide antigen and the indirect hemagglutination reaction with the brucellosis erythrocyte antigen (IHGR) in the brucellosis of reindeer in a comparative aspect with AR and CFR performed in reindeer breeding farms of Yakutia. On a large factual basis, we obtained positive results indicating the possibility of using reindeer brucellosis as a differential method of IR with O-PS antigen in complex postvaccinal diagnostics. Specificity of IR indications was confirmed both in the vaccinated and unvaccinated population of the brucellosis free in deer farms. The absence of postvaccinal antibodies in animals was established two and more months after vaccination and revaccination with AR and CFR even in very high titers. Subsequently, the specificity of IR with O-PS antigen was tested when the healthy reindeer were infected with the reference strain *B.suis* 1330. In a study of naturally deer patients in brucellosis-deficient flocks, it was found that in all cases, the IHGR detected 7.7–10.2 % more reactive than AR and CFR combined, and the coincidence of the IHGR with the data of the AR and CFR was 97 %. The diagnostic efficiency of IHGR and its advantage over AR and CFR was confirmed, also, in the study of vaccinated *B.abortus* 82 and 75/79-AB at various times after vaccination. The maximum sensitivity of this reaction is also evidenced by the limiting titers of the IHGR, which exceeded those of AR by 1.2–5.9 times, depending on the group of animals studied. Thus, the search for and improvement of new tools and methods of diagnosis will be the basis of the fight against brucellosis of reindeer.

Положительная рецензия представлена И. И. Бочкаревым, доктором биологических наук, профессором, академиком ПАНИ, заслуженным деятелем науки РС (Я), заведующим кафедрой Якутской государственной сельскохозяйственной академии.

Важнейшим условием подъема животноводства и обеспечения населения продуктами питания является снижение, а затем искоренение инфекционных болезней сельскохозяйственных животных. Одна из таких болезней, наносящих значительный ущерб экономике страны, – бруцеллез. В инфекционной патологии животных он занимает одно из ведущих мест по опасности. Не менее важна ликвидация бруцеллеза в эпидемиологическом отношении, так как больные бруцеллезом животные выступают источником инфекции для людей. Однако болезнь представляет большую проблему, требует значительных трудозатрат и материальных средств на проведение комплекса ветеринарно-санитарных и организационно-хозяйственных мероприятий.

Большое значение в борьбе с бруцеллезом северных оленей имеют своевременное полное выявление и убой больных животных. В настоящее время из предложенных серологических методов диагностики наиболее широко используются розбенгал проба (РБП), реакция агглютинации (РА), реакция связывания комплемента (РСК), реакция иммунодиффузии (РИД) с О-полисахаридным антигеном. Однако их существенный недостаток – неполное выявление инфицированных животных, что вызывает необходимость разработки высокочувствительных методов диагностики, обеспечивающих полное выявление животных на любой стадии болезни. Серологический метод – основной, а иногда и единственный критерий оценки благополучия животных по бруцеллезу, так как при проведении бактериологического исследования больных не всегда удается выделить культуру возбудителя [1–15].

Цель и методика исследований. Целью исследований является усовершенствование средств и методов диагностики бруцеллеза северных оленей в условиях Якутии. Работа была выполнена в лаборатории бруцеллеза и туберкулеза животных Якутского НИИ сельского хозяйства, в оленеводческих хозяйствах Якутии, а также в Якутской республиканской ветеринарно-испытательной лаборатории.

Чувствительность РИД с О-ПС антигеном при бруцеллезе северных оленей в сравнительном аспекте с РА и РСК была исследована в хозяйствах Усть-Янского, Жиганского и Нижнеколымского улуса. Специфичность РИД проверяли в благополучном по бруцеллезу хозяйстве, а также при заражении здоровых северных оленей референтным штаммом *V.suis* 1330.

Поставленная задача изучить РНГА и определить ее диагностическое значение при бруцеллезе северных оленей выполнена нами на большом количестве материала. Специфичность РНГА подтверждена при исследовании сывороток крови здоровых по бруцеллезу северных оленей. Среди исследуемых оленей были олени с клиническими признаками некробак-

териоза, бронхопневмонии, олени с травматическими повреждениями, а также пораженные цистицеркозом и эхинококкозом. При этом ни в одном случае не было отмечено положительных реакций. Исследования по изучению диагностической ценности РНГА проведены также в неблагополучных хозяйствах «Малтан» и СХПК «Искра» Момского района.

Результаты исследований. На большом фактическом материале нами были получены положительные результаты, свидетельствующие о возможности использования в комплексной поствакцинальной диагностике бруцеллеза северных оленей в качестве дифференциального метода РИД с О-ПС антигеном. Специфичность показаний РИД была подтверждена как на привитом, так и на непривитом поголовье благополучных по бруцеллезу оленеводческих хозяйств. Установлено отсутствие поствакцинальных антител у животных через два и более месяцев после вакцинации и ревакцинации при наличии РА и РСК даже в очень высоких титрах.

В последующем специфичность РИД с О-ПС антигеном была проверена при заражении здоровых северных оленей референтным штаммом *V.suis* 1330. Данные, полученные в этом опыте, свидетельствуют о том, что северные олени, зараженные штаммом 1330 в дозах 2,5 тыс.м.к., 25 тыс.м.к. и 250 тыс.м.к., оставались неинфицированными. Результаты бактериологического исследования показали, что доза в 2,5 млн м.к. вызывает генерализованную инфекцию и в этой группе заразились все животные, т. е. 100 %, а индекс инфицированности составил 28,5 %. Результаты этого опыта показывают, что у инфицированных животных в конце срока наблюдения (52 дня) устанавливаются высокие титры в серологических реакциях, которые затем были подтверждены бактериологическими исследованиями. При этом РИД была положительной в тех пробах, где титры РА не ниже 100, а РСК 1:10, что свидетельствует о достаточно высокой специфичности этой реакции.

Результаты проверки иммунитета через пять месяцев после иммунизации показали, что наименее устойчивыми к заражению оказались животные, привитые вакциной из штамма 82 в дозе 25 млрд м.к. подкожным методом и в дозе 2 млрд м.к. конъюнктивальным методом, в этих группах – 66,7 % иммунных животных. В то же время северные олени, привитые вакциной из штамма 19 подкожным, пероральным и конъюнктивальным методами в дозах соответственно 10, 50 и 2 млрд м.к., оказались наиболее устойчивыми. Такие же результаты были получены в группах животных, привитых вакциной из штамма *V.suis* 61 (иммунных 100 %). Контрольные животные заразились все. Животные, от которых была выделена культура референтного штамма, в конце срока наблюдения (30 дней) реагировали

в РИД, за исключением одного животного с инвентарным № 1698/16697.

Таким образом, результаты проведенных опытов по изучению специфичности данной реакции при бруцеллезе северных оленей показывают, что РИД с О-ПС антигеном высокоспецифична и выявляет животных, у которых бруцеллез был подтвержден бактериологическими исследованиями.

В последнее время в диагностике бруцеллеза северных оленей уделяют внимание реакции непрямой гемагглютинации (РНГА). При исследовании естественно больных оленей в неблагополучных по бруцеллезу стадах было установлено, что во всех случаях РНГА выявляла на 7,7–10,2 % больше реагирующих, чем РА и РСК вместе взятые, причем совпадение РНГА с данными РА и РСК составило 97 %. Диагностическую эффективность РНГА и ее преимущество перед РА и РСК подтвердили также при исследовании вакцинированных *B. abortus* 82 и 75/79-AB в различные сроки после вакцинации. О более высокой чувствительности этой реакции свидетельствуют и предельные титры РНГА, которые превышали таковые РА в 1,2–5,9 раза в зависимости от группы исследованных животных. Среди реагирующих 68 % составляют важенки, 32 % – аблаканы, 16 % – хоры, 9 % – буры. Положительное реагирование оленей на бруцеллез по результатам исследования РНГА подтверждено бактериологически. Высевы из лимфатических узлов и паренхиматозных органов были проведены на мясо-пептонно-печеночном глюкозо-глицериновом агаре (МППГА).

Вместе с тем, как показали наши исследования на неблагополучном по бруцеллезу поголовье северных оленей, при исследовании животных на бруцеллез в РНГА, как правило, полностью поглощаются все положительные и сомнительные реакции, полученные в РА и РСК, специфичность показаний РНГА под-

тверждена результатами бактериологических исследований.

В целом иммунизированные слабоагглютиногенными вакцинами из штаммов *B. abortus* 82 и *B. abortus* 75/79-AB в разных дозах северные олени реагировали в РНГА в более высоком проценте случаев, чем в РСК.

Таким образом, в результате наших исследований установлено, что динамика циркуляции титров агглютинирующих и комплементсвязывающих антител зависела от дозы вводимой вакцины. При этом в РНГА оценивали положительно при наличии гемагглютинации с сывороткой крови у непривитых оленей в разведении сыворотки крови в 1 : 25 и выше с оценкой в 3 или 4 креста. Привитых слабоагглютиногенными вакцинами оленей в РНГА оценивали положительно в разведении 1 : 50 и выше с оценкой в 3 или 4 креста.

Выводы и рекомендации. Итак, обобщая вышеизложенное, следует отметить, что очевидна роль диагностики для борьбы с бруцеллезом домашних северных оленей. Разработанная концепция оптимизации специфической профилактики и диагностики на основании современных теорий эпизоотического процесса, саморегуляции паразитарных систем и природной очаговости, с учетом особенностей технологии ведения отрасли и проведенные исследования доказали возможность эффективной борьбы с бруцеллезом северных оленей.

Схемы борьбы с бруцеллезной инфекцией в оленеводстве должны быть рациональными, охватывать все стороны купирования эпизоотического процесса и согласовываться с технологическими особенностями отрасли.

Таким образом, изыскание и усовершенствование новых средств и методов диагностики будут основой борьбы против бруцеллеза северных оленей.

Литература

1. Винокуров Н. В., Слепцов Е. С. Изучение диагностической эффективности РНГА при бруцеллезе северных оленей // Ветеринария и кормление. 2007. № 6. С. 35.
2. Винокуров Н. В., Слепцов Е. С. Изучение диагностической эффективности реакции непрямой гемагглютинации при бруцеллезе // Якутский медицинский журн. 2008. № 4. С. 72–73.
3. Винокуров Н. В., Евграфов Г. Г., Слепцов Е. С. Эпизоотология бруцеллеза северных оленей в различных зонах Республики Саха (Якутия) // Инновационные разработки молодых ученых – развитию АПК : сб. науч. тр. по мат. III Междунар. науч.-практ. конф. (г. Ставрополь, 2014 г.). Ставрополь, 2014. Т. 2. № 7. С. 352–355.
4. Винокуров Н. В., Лайшев К. А., Слепцов Е. С., Евграфов Г. Г. Реактогенные свойства и иммунологическая реактивность слабоагглютиногенных вакцин из штаммов *B. abortus* 75/79-AB и 82 для северных оленей // Известия Санкт-Петербургского гос. аграрного университета. 2014. № 36. С. 79–81.
5. Винокуров Н. В., Лайшев К. А., Решетников А. Д., Слепцов Е. С., Макарова Л. И. Современное состояние по бруцеллезу северных оленей в Республике Саха (Якутия) // Ветеринарный врач. 2014. № 4. С. 18–22.
6. Винокуров Н. В., Лайшев К. А., Слепцов Е. С., Евграфов Г. Г. К вопросу о бруцеллезе северных оленей в Республике Саха (Якутия) // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. 2016. № 1. С. 54–58.

7. Иммунопрофилактика бруцеллеза северных оленей с использованием противобруцеллезных вакцин в условиях Республики Саха (Якутия) : моногр. / Е. С. Слепцов, Н. В. Винокуров, М. И. Искандаров, В. И. Федоров, И. Д. Замьянов. Новосибирск, 2016. 108 с.
8. Слепцов Е. С., Винокуров Н. В., Евграфов Г. Г. Свойства вакцины из штаммов *B.abortus* 82 и *B.abortus* 75/79-AB в организме северных оленей // Достижение науки и техники АПК. 2013. № 4. С. 72–73.
9. Слепцов Е. С., Винокуров Н. В., Федоров В. И., Евграфов Г. Г. Иммунологическая реактивность организма северных оленей при повторной реиммунизации вакцинами из штаммов *B.abortus* 82 и *B.abortus* 75/79-AB // Аграрный вестник Урала. 2011. № 4. С. 27.
10. Слепцов Е. С., Искандаров М. И., Винокуров Н. В., Евграфов Г. Г., Евграфова А. В. Результаты бактериологических исследований оленьих культур из штаммов *B.suis* 45 и *B.suis* 245 в организме морских свинок // Инновационные разработки молодых ученых – развитию агропромышленного комплекса : мат. междунар. науч.-практ. конф. Ставрополь, 2013. С. 256.
11. Слепцов Е. С., Винокуров Н. В., Устинцева Ю. Ю., Малышева И. А., Захарова О. И. Иммуногенность вакцин из штаммов *B.abortus* 19 и 82, *B.suis* 61 для северных оленей при различных методах введения // Аграрный вестник Урала. 2011. № 4. С. 21–22.
12. Слепцов Е. С., Искандаров М. И., Винокуров Н. В., Евграфов Г. Г., Евграфова А. В. Предварительные результаты изучения свойств культур из штаммов *B.suis* 45 и *B.suis* 245 на лабораторных животных // Вестн. Бурятской ГСХА им. В. Р. Филиппова. 2014. № 3. С. 28–31.
13. Слепцов Е. С., Искандаров М. И., Винокуров Н. В., Евграфов Г. Г., Евграфова А. А. Результаты бактериологических исследований «оленьих культур» из штаммов *B.suis* 45 и *B.suis* 245 в организме морских свинок // Инновационные разработки молодых ученых – развитию АПК: сб. науч. тр. по материалам II Междунар. науч.-практ. конф. (г. Ставрополь, 2013 г.). Ставрополь, 2013. Т. 3. № 6. С. 256–258.
14. Слепцов Е. С., Винокуров Н. В., Евграфов Г. Г. Реактогенные, антигенные и иммуногенные свойства культуры из шт. *B.suis* 61 в опытах на морских свинках // Аграрный вестник Урала. 2015. № 7. С. 32–35.
15. Экспериментальный бруцеллез крупного рогатого скота в Республике Саха (Якутия) : моногр. / Е. С. Слепцов, М. П. Альбертян, Н. В. Винокуров, И. Д. Замьянов, А. А. Хоч. Новосибирск, 2016. 72 с.

References

1. Vinokurov N. V., Sleptsov E. S. A study of the diagnostic efficacy of IHGR in brucellosis of reindeer // *Veterinary Medicine and Feeding*. 2007. No. 6. P. 35.
2. Vinokurov N. V., Sleptsov E. S. A study of the diagnostic efficiency of the indirect hemagglutination reaction in case of brucellosis // *Yakutsk Medical Journal*. 2008. No. 4. P. 72–73.
3. Vinokurov N. V., Evgrafov G. G., Sleptsov E. S. Epizootology of brucellosis of reindeer in various zones of the Republic of Sakha (Yakutia) // *Innovative developments of young scientists to the development of agro-industrial complex: collection of scientific papers on the materials of the III International Scientific and Practical Conference (Stavropol, 2014)*. Stavropol, 2014. T. 2. No. 7. P. 352–355.
4. Vinokurov N. V., Laishev K. A., Sleptsov E. S., Evgrafov G. G. Reactogenic properties and immunological reactivity of weakly-agglutinogenic vaccines from strains *B.abortus* 75/79-AB and 82 for reindeer // *Izvestiya St. Petersburg State Agrarian University*. 2014. No. 36. P. 79–81.
5. Vinokurov N. V., Laishev K. A., Reshetnikov A. D., Sleptsov E. S., Makarova L. I. The current state of brucellosis of reindeer in the Republic of Sakha (Yakutia) // *Veterinary doctor*. 2014. No. 4. P. 18–22.
6. Vinokurov N. V., Laishev K. A., Sleptsov E. S., Evgrafov G. G. On the Brucellosis of Reindeer in the Republic of Sakha (Yakutia) // *Issues of Regulatory and Legal Regulation in Veterinary Medicine*. 2016. No. 1. P. 54–58.
7. Immunoprophylaxis of brucellosis of reindeers using anti-brucellosis vaccines in the Republic of Sakha (Yakutia): monograph / E. S. Sleptsov, N. V. Vinokurov, M. I. Iskandarov, V. I. Fedorov, I. D. Zamyaynov. Novosibirsk, 2016. 108 p.
8. Sleptsov E. S., Vinokurov N. V., Evgrafov G. G. Properties of the vaccine from strains *B.abortus* 82 and *B.abortus* 75/79-AB in reindeer organism // *Achievement of science and technology AIC*. 2013. No. 4. P. 72–73.
9. Sleptsov E. S., Vinokurov N. V., Fedorov V. I., Evgrafov G. G. Immunological reactivity of reindeer organism after reimmunization by vaccines from strains *B.abortus* 82 and *B.abortus* 75/79-AB // *Agrarian Bulletin of the Urals*. 2011. No. 4. P. 27.
10. Sleptsov E. S., Iskandarov M. I., Vinokurov N. V., Evgrafov G. G., Evgrafova A. V. The results of bacteriological studies of deer crop strains *B.suis* 45 and *B.suis* 245 in the body of guinea pigs // *Innovative development of young scientists – development of agro-industrial complex : materials of International scientific-practical conf. Stavropol, 2013*. P. 256.

11. Sleptsov E. S., Vinokurov N. V., Ustinceva Y. Y., Malysheva I. A., Zakharova O. I. Immunogenicity of the vaccine from strains B.abortus 19 and 82, B.suis 61 for reindeer in different methods of administration // Agrarian Bulletin of the Urals. 2014. No. 8. P. 21–22.
12. Sleptsov E. S., Iskandarov M. I., Vinokurov N. V., Evgrafov G. G., Evgrafova A. V. Preliminary results of studying the properties of cultures from strains B.suis 45 and B.suis 245 on laboratory animals // Bulletin of Buryat State Agricultural Academy named after. V. R. Filippov. 2014. No. 3. P. 28–31.
13. Sleptsov E. S., Iskandarov M. I., Vinokurov N. V., Evgrafov G. G., Evgrafova A. A. The results of bacteriological studies of «reindeer cultures» from strains B.suis 45 and B.suis 245 in Organism of guinea pigs // Innovative developments of young scientists to the development of agro-industrial complex : collection of scientific papers on the materials of the II International Scientific and Practical Conference (Stavropol, 2013). Stavropol, 2013. T. 3. No. 6. P. 256–258.
14. Sleptsov E. S., Vinokurov N. V., Evgrafov G. G. Reactogenic, antigenic and immunogenic properties of the culture from pcs. B.suis 61 in experiments on guinea pigs // Agricultural Bulletin of the Urals. 2015. No. 7. P. 32–35.
15. Experimental brucellosis of cattle in the Republic of Sakha (Yakutia) : monogr. / E. S. Sleptsov, M. P. Albertyan, N. V. Vinokurov, I. D. Zamyaynov, A. A. Hoch. Novosibirsk, 2016. 72 p.