

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
(Минобрнауки России)

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Омский аграрный научный центр»
(ФГБНУ «Омский АНЦ»)

**ОПТИМАЛЬНАЯ СХЕМА
СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ПРОФИЛАКТИКИ
БРУЦЕЛЛЕЗА ЖИВОТНЫХ
В СТАДАХ С РАЗЛИЧНЫМ ЭПИЗОТИЧЕСКИМ
СТАТУСОМ**

Методические положения

Омск 2020

УДК 619:616.981:42:616.9 – 0.22
О-627

Оптимальная схема специфической профилактики бруцеллеза животных в стадах с различным эпизоотическим статусом: методические положения. ФГБНУ «Омский АНЦ». – Омск: Изд-во ИП Макшеевой Е.А., 2020. - 28 с.

Методические положения подготовили:

Т.А. Янченко, кандидат биол. наук,
Н.Н. Новикова, кандидат вет. наук,
А.А. Кожухметова

В методических положениях приведены материалы, теоретически, экспериментально и практически обосновывающие оптимальную схему специфической профилактики бруцеллеза животных в стадах с различным эпизоотическим статусом, применение которой позволит в значительной степени повысить эффективность противобруцеллезных мероприятий.

Методические положения предназначены для руководителей животноводческих предприятий разных форм собственности, а также научных и практических ветеринарных специалистов в области животноводства, эпизоотологов, студентов и аспирантов ветеринарных ВУЗов.

Рекомендовано к печати Ученым советом ФГБНУ «Омский АНЦ», протокол №10 от 4 декабря 2019 г.

ВВЕДЕНИЕ

Животноводство в Российской Федерации является приоритетной отраслью сельскохозяйственного производства и в последние годы интенсивно развивается. Экономика отрасли, прежде всего, зависит от ветеринарного благополучия, поэтому задача ученых ветеринарной медицины – создать научно обоснованную систему защиты животных от инфекционных болезней, в том числе особо опасных.

Бруцеллез сельскохозяйственных животных в России имеет широкое распространение. По данным Россельхознадзора, несмотря на стабилизацию ситуации и снижение показателей заболеваемости, эпизоотическая обстановка по данному заболеванию остается сложной [1, 2].

Так на начало 2019 г. в Российской Федерации зафиксировано 164 неблагополучных пункта по бруцеллезу крупного рогатого скота. Из них по количеству неблагополучных пунктов, на первом месте Северо-Кавказский ФО, там зарегистрировано 105 (64%) неблагополучных пунктов (н.п.). На втором месте - Южный ФО - 19 н.п. (11,6%), на третьем Приволжский ФО - 18 н.п. (11,0%), на четвертом - Сибирский ФО - 7 н.п. (6,7%), также имеются неблагополучные пункты в Дальневосточном ФО - 11 н.п. (6,7%) [3].

В связи со сложившейся ситуацией актуальным является вопрос о необходимости оптимизации противобруцеллезных мероприятий у животных, предусматривающей обеспечение эффективного контроля эпизоотического процесса бруцеллеза за счет создания перманентного иммунитета у животных в стадах на неблагополучной и угрожаемой территории и осуществления постоянного эпизоотологического мониторинга.

Известны способы оздоровления неблагополучных по бруцеллезу стад и отар животных – одномоментная полная замена всего скомпрометированного поголовья здоровым поголовьем, оздоровление путем осуществления учащенных массовых диагностических исследований на бруцеллез (через 15-30 суток) и удаление из стада положительно реагирующих животных с рациональным использованием средств специфической профилактики. Применение этих способов далеко не всегда возможно, длительно, требует больших затрат времени и средств, так как развитие бруцеллезной инфекции сложно остановить из-за специфики заболевания. При определенных условиях циркулирующие в организме бруцеллы, обладая свойствами дли-

тельной приживаемости в нем, возможностью передачи вертикальным путем (от матери – потомству) и широким диапазоном изменчивости своих патогенных свойств, могут приобрести высокую степень вирулентности. В таких случаях выявление инфицированных животных с помощью общепринятых диагностических методов и средств, создание иммунного фона, препятствующего превращению циркулирующих в стаде бруцелл в высоко патогенные формы, не всегда обеспечивают гарантии его надежного оздоровления – может произойти обострение течения инфекции или на фоне оздоровления стада возникнуть рецидив болезни [4-6].

В таких условиях чрезвычайно важно быстро предотвратить перезаражение животных в неблагополучных популяциях, максимально уменьшить остроту проявления бруцеллезной инфекции и снизить риск возможного заражения людей.

Оперативное купирование бруцеллезной инфекции, на наш взгляд, возможно за счет комбинированного использования в той или иной популяции животных (на фоне проведения диагностики и выявления активных источников возбудителя) антибактериальных препаратов (способных уничтожить или нейтрализовать бруцеллы, превратив их в эпизоотически не опасные) и вакцин (способных, за счет создаваемого иммунитета, препятствовать появлению эпизоотически опасных форм бруцелл).

До настоящего времени оптимальной схемы специфической профилактики бруцеллеза животных в стадах с различным эпизоотическим статусом, позволяющей купировать очаг инфекции, не существует.

При выборе антибактериального средства с позиции перспективы его широкого применения, кроме высокой степени воздействия на бруцеллы, важным моментом является его стоимость и доступность, а также наличие пролонгирующих свойств, обеспечивающих длительное пребывание в организме для оказания максимального антибактериального эффекта.

В отношении воздействия на бруцеллы положительно зарекомендовали себя антибиотики тетрациклинового ряда. ЗАО «Нита-фарм» (г. Саратов) выпускает препарат «Нитокс-200», представляющий собой окситетрациклиндигидрат пролонгированного действия. Данный препарат широко применяется в ветеринарной практике для лечения и профилактики многих инфекционных болезней животных.

Современная вакцина должна отвечать требованиям: обеспечивать защиту, не менее 70% привитых животных; быть безопасной в эпизоотическом и эпидемическом аспектах (отсутствие реверсии вакцинного штамма в исходные формы, обладающие повышенной вирулентностью, утрата способности вызывать аборт, передаваться другим животным и персистировать в организме привитых животных); не индуцировать образования агглютинирующих антител, что позволяет отличать привитых и инфицированных животных; не вызывать сенсibilизацию при ревакцинациях; не давать побочные эффекты (аборт, воспаление в месте введения и т.д.); быть технологичной для массового производства. Технологичность метода применения, а также способность создания у животных необходимого уровня иммунитета и возможность проведения поствакцинальных исследований в ранние сроки для выявления инфицированных животных.

Таким требованиям соответствует вакцина из штамма *V. abortus* 19 при конъюнктивальном методе ее введения в дозе, уменьшенной в 10 раз, по сравнению с подкожным введением. Ее эффективность у разных видов животных доказана в экспериментальных и производственных условиях.

В данных методических положениях обобщены материалы, теоретически, экспериментально и практически, обосновывающие оптимальную схему специфической профилактики бруцеллеза животных и необходимость ее применения в стадах с различным эпизоотическим статусом.

1 ТЕОРЕТИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ОПТИМАЛЬНОЙ СХЕМЫ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ПРОФИЛАКТИКИ БРУЦЕЛЛЕЗА ЖИВОТНЫХ В СТАДАХ С РАЗЛИЧНЫМ ЭПИЗОТИЧЕСКИМ СТАТУСОМ

Проблема бруцеллеза крупного рогатого скота в некоторых регионах Российской Федерации стоит достаточно остро. Многолетний опыт осуществления в нашей стране противобруцеллезных мероприятий у животных разных видов показывает, что всегда их эффективность в значительной степени зависела от уровня научной разработки и практической реализации различных схем специфической профилактики.

Методической основой вакцинации является принцип создания и поддержания у восприимчивых животных неблагополучных и угро-

жаемых стад, непрерывного и напряженного иммунитета на весь период неблагополучия и угрозы, при условии планомерного вытеснения всего реагирующего на бруцеллезные антигены поголовья и замены его здоровыми животными.

Решение актуальной в эпизоотологическом и эпидемиологическом отношении проблемы бруцеллеза крупного рогатого скота, во многом зависит от использования в системе противобруцеллезных мероприятий вакцин, главным образом живой вакцины из агглютиногенного штамма *B. abortus* 19, что подтверждает своими опытами на морских свинках Салмаков К.М. с соавторами. Ими была проверена иммуногенность различных противобруцеллезных вакцин, в частности, из штаммов *B. abortus* 19 (США), *B. abortus* 82 (эталонная серия 022 ВНИВИ) и RB-51 (США) при подкожном введении в одинаковых дозах (1млрд. КОЕ/мл) в разные сроки после вакцинации. Уровень иммуногенности у вакцины из штамма 19 оказался в диапазоне 75,6 - 100% (в среднем – 94,02%), из штамма 82 – 60-100% (в среднем 85,5%), из штамма RB-51 – 50-87% (в среднем – 61,4%). Иными словами, ориентируясь, как на минимальный, так и на средний уровень проявленной указанными вакцинами иммуногенности при подкожном введении в одинаковых дозах, на первом месте закономерно находится агглютиногенная вакцина из штамма 19, на втором - слабоагглютиногенная вакцина из штамма 82 и на третьем - инагглютиногенная вакцина из штамма RB-51. При сравнении указанных вакцин по степени возможностей обеспечить поствакцинальную диагностику (даже при реиммунизациях) на первое место выступает вакцина из штамма RB-51, а на второе и третье, вакцины из штаммов 82 и 19, соответственно [7].

Ранее в экспериментах сотрудниками ВНИИБТЖ было установлено, что уменьшение дозы при конъюнктивальном введении животным высокоиммуногенной, агглютиногенной вакцины из штамма 19 приводит к значительному сокращению сроков проявления у них поствакцинальных реакций и выработке иммунитета, принципиально не уступающему по уровню иммунитету, формирующемуся на введение общепринятой дозы подкожно [8-10].

Широкое практическое использование конъюнктивального метода иммунизации мелкого рогатого скота вакциной из штамма 19 в дозе 4 млрд. КОЕ/мл (в 10 раз меньше общепринятой дозы при подкожном введении) на неблагополучных и угрожаемых территориях позволило обеспечить беспрепятственную поствакцинальную диагно-

стику бруцеллеза уже через 3-4 месяца после ежегодной иммунизации (реиммунизации), тем самым эффективно осуществлять контроль эпизоотического процесса, своевременно выявляя спровоцированных вакциной животных – бруцеллоносителей [11].

Кроме того, большой интерес вызывают экспериментальные данные, полученные на морских свинках, искусственно инфицированных бруцеллами вида *melitensis*, доказывающие их отсутствие у эвтаназированных животных через 1 месяц после конъюнктивной иммунизации на фоне введения антибактериального препарата Нитокс-200. В группе же инфицированных животных, в последующем подвергнутых конъюнктивной иммунизации без предварительного введения препарата Нитокс-200, выявлено 80% носителей бруцелл вида *melitensis*, а в контрольной группе инфицированных животных без введения препарата Нитокс-200 и вакцины – 100% [12].

С учетом выше изложенного, возник научный и практический интерес к дальнейшему изучению конъюнктивного метода.

Целью наших исследований явилась разработка оптимальной схемы специфической профилактики бруцеллеза животных в стадах с различным эпизоотическим статусом.

Были поставлены следующие **задачи**:

1. Изучить напряженность иммунитета различных вакцин в сравнительном аспекте в опыте на морских свинках (экспериментальный период - 90 суток).

2. Изучить продолжительность иммунитета различных вакцин при бруцеллезе на морских свинках (экспериментальный период - 180 суток).

3. Изучить динамику поствакцинальных реакций после применения вакцин из штаммов *B. abortus* 19 и *B. abortus* 82 конъюнктивным методом в опыте на крупном рогатом скоте благополучного по бруцеллезу хозяйства;

4. Изучить эпизоотическую эффективность различных схем применения противобруцеллезной вакцины на 2 стадах крупного рогатого скота неблагополучного по бруцеллезу хозяйства.

5. Разработать оптимальную схему специфической профилактики бруцеллеза животных в стадах с различным эпизоотическим статусом.

2 ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ И ПРАКТИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ОПТИМАЛЬНОЙ СХЕМЫ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ПРОФИЛАКТИКИ БРУЦЕЛЛЕЗА ЖИВОТНЫХ В СТАДАХ С РАЗЛИЧНЫМ ЭПИЗОТИЧЕСКИМ СТАТУСОМ

2.1 Опыты на лабораторных животных

В первом опыте проведено сравнительное изучение свойств живых вакцин из штаммов *B. abortus* 19, 82 и RB-51 на модели морских свинок, определена оптимальная схема иммунизации при бруцеллезе у лабораторных животных, изучена напряженность иммунитета различных вакцин в сравнительном аспекте в экспериментальный период - 90 суток.

По принципу аналогов было сформировано - 6 групп морских свинок (по 5 голов в каждой):

- группа № 1 – м. свинки, привитые вакциной из штамма *B. abortus* 19 в дозе 1 млрд. КОЕ/мл, подкожно;
- группа № 2 – м. свинки, привитые вакциной из штамма *B. abortus* 19 в дозе 100 млн. КОЕ/мл, конъюнктивально;
- группа № 3 – м. свинки, привитые вакциной из штамма *B. abortus* 82 в дозе 1 млрд. КОЕ/мл, подкожно;
- группа № 4 – м. свинки, привитые вакциной из штамма *B. abortus* 82 в дозе 100 млн. КОЕ/мл, конъюнктивально;
- группа № 5 - м. свинки, привитые вакциной из штамма *B. abortus* RB-51 в дозе 2,5 млрд. КОЕ/мл, подкожно;
- группа № 6 - м. свинки, контрольная группа, ввели подкожно физиологический раствор.

Сыворотки крови от иммунизированных животных всех групп были исследованы через 15, 30, 60 и 90 суток после введения вакцин в реакциях: РБП, РА и РСК с единым бруцеллезным (S) антигеном, РА с цветным R-антигеном (ВНИИБТЖ), РСК с R-антигеном, РИД с О-ПС антигенами.

Результаты изучения агглютиногенных свойств различных схем применения вакцин приведены в таблице 1.

В результате проведенных исследований установлено, что максимально выражено агглютиногенные свойства проявились у животных, иммунизированных вакциной из штамма *B. abortus* 19 (S-форма) при подкожном введении. У животных, иммунизированных вакциной

из штамма *B. abortus* 19 (S-форма) конъюнктивальным методом реакция агглютинации с единым (S) антигеном к 90-му дню была отрицательной также как и при иммунизации вакцинами из штаммов *B. abortus* 82 (SR-форма) и *B. abortus* RB-51 (R-форма).

Таблица 1

Результаты изучения агглютиногенных свойств вакцин при различных схемах иммунизации морских свинок через 3 месяца (90 суток) после вакцинации (перед заражением)

№ п/п	Номер группы	Кол-во животных	Результаты серологических исследований (положительные реакции, абс./%)					
			РА ед.	РА -R	РСК ед.	РСК-R	РБП	РИД
1	Группа № 1	5	5 / 100,0	-	1 / 20,0	-	3 / 60,0	-
2	Группа № 2	5	-	-	-	-	-	-
3	Группа № 3	5	-	1 / 20	1 / 20	1 / 20	2 / 40	-
4	Группа № 4	5	-	1 / 20	1 / 20	1 / 20	-	-
5	Группа № 5	5	-	1 / 20	-	1 / 20	-	-
6	Контроль	5	-	-	-	-	-	-

Все иммунизированные животные были искусственно заражены вирулентной культурой *B. abortus* 544 в дозе 100 КОЕ/мл через 3 месяца (90 суток) после иммунизации. Дополнительно были заражены интактные морские свинки (контрольная группа - 5 голов). Сыворотки крови от животных всех групп были исследованы через 15 и 30 суток после заражения в РА, РСК, РБП, РИД и др.

Через 30 суток после заражения животным опытных и контрольной групп, проведена эвтаназия и бактериологическое исследование по общепринятым методикам с выделением и дифференциацией культур бруцелл. Результаты изучения иммуногенных свойств различных схем применения вакцин приведены в таблице 2.

Из опыта видно, что уровень иммунитета к искусственному заражению, на 90 сутки у животных 1 группы был одинаковый с животными 2 группы и соответствовал 80%. У животных 3, 4 и 5 групп он составил всего 60%. В контрольной группе заразились все животные - иммунитет отсутствовал.

Таким образом, экспериментально установлено преимущество применения вакцины из штамма *B. abortus* 19 конъюнктивальным методом (группа №2). К 90 суткам в сыворотки крови у морских свинок полностью отсутствовали поствакцинальные реакции с единым и R-антигенами, а иммунитет был на уровне 80%. Тогда как при исследо-

вании сыворотки крови от животных, иммунизированных вакцинами из штамма *V. abortus* 19 подкожным методом, а также *V. abortus* 82 и *V. abortus* RB-51 отмечалось наличие агглютинирующих антител в реакции с R- антигеном и комплементсвязывающих с S- и R- антигенами, при отсутствии преципитинов в РИД и РА с единым антигеном, что подтверждает вакцинную природу реакций. Иммунитет, в группах, иммунизированных вакцинами из штаммов *V. abortus* 82 и *V. abortus* RB-51 был на 20% ниже, чем при иммунизации вакциной из штамма *V. abortus* 19 и составил - 60%.

Таблица 2

Результаты изучения иммуногенных свойств различных вакцин через 3 месяца (90 суток) после иммунизации

№ п/п	Номер группы	Результаты бактериологических исследований				
		кол-во животных	количество заразившихся животных		количество иммунных животных	
			абс.	%	абс.	%
1	Группа № 1	5	1	20	4	80
2	Группа № 2	5	1	20	4	80
3	Группа № 3	5	2	40	3	60
4	Группа № 4	5	2	40	3	60
5	Группа № 5	5	2	40	3	60
6	контроль	5	5	100	0	0

Во втором опыте изучена продолжительность иммунитета при введении противобруцеллезных вакцин на морских свинках (экспериментальный период - 180 суток). По принципу аналогов было сформировано - 6 групп морских свинок (по 5 голов в каждой):

- группа № 1 - свинки привитые вакциной из штамма *V. abortus* 19 в дозе 1 млрд. КОЕ/мл подкожно;
- группа № 2 – свинки привитые вакциной из штамма *V. abortus* 19 в дозе 100 млн. КОЕ/мл конъюнктивально;
- группа № 3 – м. свинки, привитые вакциной из штамма *V. abortus* 82 в дозе 1 млрд. КОЕ/мл подкожно;
- группа № 4 – м. свинки, привитые вакциной из штамма *V. abortus* 82 в дозе 100 млн. КОЕ/мл конъюнктивально;
- группа № 5 - м. свинки, привитые вакциной из штамма *V. abortus* RB-51 в дозе 2,5 млрд. КОЕ/мл, подкожно;

– группа № 6 - м. свинки, контрольная группа, ввели подкожно физиологический раствор.

Сыворотки крови от иммунизированных животных всех групп были исследованы через 15, 30, 60, 90, 120, 150 и 180 суток после введения вакцин в РА, РСК, РИД и др.

Все иммунизированные животные были заражены референтным штаммом *B. abortus* 544 в дозе 100 КОЕ/мл через 6 месяцев после иммунизации. Дополнительно были заражены интактные морские свинки - 5 голов (контрольная группа).

Сыворотки крови от животных всех групп исследованы на 15 и 30 сутки после заражения в РА, РСК, РИД и др.

Через 30 суток после заражения проведена эвтаназия и бактериологическое исследование по общепринятым методикам с выделением и дифференциацией культур бруцелл животных опытных и контрольной групп.

Результаты исследований представлены в таблице 3.

Таблица 3

Результаты изучения агглютиногенных свойств вакцин при различных схемах иммунизации морских свинок через 6 месяцев (180 суток) после вакцинации (перед заражением)

№ п/п	Номер группы	Кол-во животных	Результаты серологических исследований (положительные реакции, абс./%)					
			РА един.	РА –R	РСК ед.	РСК-R	РБП	РИД
1	Группа № 1	5	3 /60,0	-	5 /100,0	-	3 /60,0	-
2	Группа № 2	5	-	-	-	-	-	-
3	Группа № 3	5	1 / 20,0	-	3 / 60,0	1/ 20,0	-	-
4	Группа № 4	5	-	-	-	-	-	-
5	Группа № 5	5	-	-	-	2/40,0	-	-
6	Контроль	-	-	-	-	-	-	-

У животных, иммунизированных подкожно вакциной, изготовленной из агглютиногенного штамма *B. abortus* 19 (S-форма) положительные реакции с единым бруцеллезным антигеном: РА наблюдалась в 60% случаях, а РСК - в 100%. Причем высокие титры, только у одного животного - в РА (160 МЕ), а в РСК (1/20). РА и РСК с R- антигенами были отрицательные во все сроки исследования.

У животных, иммунизированных живыми вакцинами из штаммов В. abortus 19 и В. abortus 82 в дозе 100 млн. КОЕ/мл конъюнктивальным методом, РА и РСК с единым бруцеллезным антигеном и с R-антигеном была отрицательной во все сроки исследования.

У морских свинок, иммунизированных В. abortus 82 в дозе 1 млрд. КОЕ/мл, подкожно, через 180 суток после иммунизации, РА с единым бруцеллезным антигеном была положительной у 1-го животного – 20% (в титре – 40МЕ). РСК с S-антигеном в низких титрах была у 60% - (3 головы). РСК с R-антигеном была положительной у 20% морских свинок.

У всех животных, иммунизированных В. abortus RB-51 в дозе 2,5 млрд. КОЕ/мл, подкожно, положительных результатов РА и РСК с S-антигеном не наблюдали во все сроки исследования. РСК с R-антигеном была положительной у 40% животных.

Также нами были изучены иммуногенные свойства вакцин при разных схемах применения на модели морских свинок, зараженных В. abortus 544 в дозе 100 КОЕ/мл подкожно через 6 месяцев (180 суток) после вакцинации (таблица 4).

Таблица 4

Результат изучения иммуногенных свойств различных вакцин через 6 месяцев (180 суток) после вакцинации

№ п/п	Номер группы	Кол-во животных	Результаты бактериологических исследований			
			количество заразившихся животных		количество иммунных животных	
			абс.	%	абс.	%
1	Группа № 1	5	2	40	3	60,0
2	Группа № 2	5	3	60	2	40,0
3	Группа № 3	5	3	60	2	40,0
4	Группа № 4	5	3	60	2	40,0
5	Группа № 5	5	5	100	0	0
6	Контроль	5	5	100	0	0

Из таблицы 4 видно, что напряженность иммунитета к 180 суткам после вакцинации у животных 1, 2, 3, 4 групп составила 40-60%, в 5 и контрольной группе все животные заразились - иммунитета нет.

Таким образом, по результатам сравнительного изучения свойств живых вакцин из штаммов В. abortus 19, 82 и RB-51 при введении

разными методами в эксперименте на морских свинках через 180 суток после иммунизации экспериментально подтверждена и с позиций агглютиногенности и иммуногенности очевидна наибольшая эффективность схемы иммунизации, предусматривающая конъюнктивальное введение животным живой вакцины из штамма *B. abortus* 19 со стабильными антигенными свойствами.

В третьем опыте изучали эффективность использования препарата Нитокс-200 в сочетании с вакцинацией.

По принципу аналогов было сформировано - 4 группы морских свинок (по 5 голов в каждой), которых заразили культурой референтного штамма *B. abortus* 544 в дозе 100 КОЕ/мл.

Животным группы № 1 и 2 через 20 суток после заражения ввели Нитокс-200 внутримышечно в дозе 20 мг/кг живой массы.

Животным группы № 2 и 3 через 30 суток после заражения *B. abortus* 544 ввели вакцину из штамма *B. abortus* 19 конъюнктивальным методом в дозе 100 млн. КОЕ/мл (1/10 от общепринятой дозы при подкожном введении).

Группа № 4 была контрольной (животные, зараженные *B. abortus* 544 в дозе 100 КОЕ/мл). Через 1 месяц после вакцинации провели эвтаназию морских свинок всех четырех групп. Биоматериал исследовали методом бактериологического посева на питательные среды. Результаты испытания представлены в таблице 5.

Таблица 5

Результаты применения Нитокса-200с последующей вакцинацией морских свинок, зараженных культурой референтного штамма *B. abortus* 544

№ п/п	Номер группы	Кол-во животных	Доза Нитокс-200, при введении через 20 суток после заражения, мг/кг ж.м.	Доза вакцины <i>B. abortus</i> 19 при иммунизации конъюнктивальным методом, КОЕ/мл	Результат бактериологического исследования (выявлено бруцеллоносителей)	
					абс.	%
1	Группа № 1	5	20	-	2	40,0
2	Группа № 2	5	20	100 млн.	-	-
3	Группа № 3	5	-	100 млн.	4	80,0
4	Группа № 4	5	-	-	5	100,0

В 1-ой группе от одного животного выделено 2 культуры, которые были идентифицированы с признаками исходного штамма в ти-

пичной форме. Во 2-ой группе культур бруцелл не выделено. В 3-ей группе культура заражающего штамма была выделена от четырех морских свинок. В контрольной группе от всех животных выделили культуры бруцелл заражающего (исходного) штамма.

Таким образом, при введении инфицированным животным Нитокс - 200 в дозе 20 мг/кг живой массы с последующей иммунизацией (с интервалом 8 дней) вакциной из штамма *B. abortus* 19, конъюнктивальным методом в дозе 100 млн. КОЕ/мл (1/10 от общепринятой дозы при подкожном введении), через месяц не выявлено ни одного инфицированного животного.

2.2 Опыт на сельскохозяйственных животных

Производственный опыт по изучению эффективности разработанной оптимальной схемы специфической профилактики бруцеллеза животных в стадах с различным эпизоотическим статусом провели в одном благополучном хозяйстве, находящемся в угрожаемой по бруцеллезу зоне и в двух гуртах неблагополучного по бруцеллезу хозяйства.

В опыте №1 определяли сроки угасания поствакцинальных реакций у здорового крупного рогатого скота благополучного по бруцеллезу стада после иммунизации вакцинами из штаммов *B. abortus* 19 и *B. abortus* 82 конъюнктивальным методом.

Для проведения исследований были сформированы две группы животных – быки, благополучного по бруцеллезу хозяйства, в возрасте 1,5-2 года не привитые ранее, всего 64 головы.

Группа № 1 – крупный рогатый скот (32 головы), привитые конъюнктивальным методом вакциной из штамма *B. abortus* 19, в дозе составляющей 1/10 подкожной дозы, т.е. 8 млрд. КОЕ/мл;

Группа № 2 – крупный рогатый скот (32 головы), привитые конъюнктивальным методом вакциной из штамма *B. abortus* 82, в дозе составляющей 1/10 подкожной дозы, т.е. 10 млрд. КОЕ/мл.

Контролем служили результаты исследований, полученные ранее на крупном рогатом скоте той же половозрастной группы иммунизированном подкожно.

Исследовали сыворотку крови от крупного рогатого скота, в ранние сроки после иммунизации - на 30, 60 и 90 сутки и отдаленные - на 120-360 сутки. Результаты исследований отражены в таблицах 6 и 7.

**Результаты исследования сыворотки крови здоровых быков,
иммунизированных вакциной из штамма *B. abortus* 19
конъюнктивальным методом**

Срок исследования после вакцинации (сутки)	Количество исследованных животных (голов)	Серопозитивные реакции				
		РА+РСК (S)			РСК (R)	РИД
		всего		в высоких титрах (200МЕ и 1:20)		
		абс.	%			
До вакцинации	32	-	-	-	-	-
30	32	21	65,6	-	-	-
60	32	-	-	-	-	-
90	32	-	-	-	-	-
120	32	-	-	-	-	-
150	32	-	-	-	-	-
180	32	-	-	-	-	-
360	32	-	-	-	-	-

В результате исследований установлено, что при иммунизации животных конъюнктивальным методом вакциной из штамма *B. abortus* 19 на 30 сутки в сыворотки крови выявлены агглютинирующие и комплементсвязывающие антитела с S-антигеном в низких титрах у 21 животного (65,6%) от общего количества животных в группе, а к 60 суткам они полностью исчезают. Высоких титров в РА (200 МЕ и выше) и РСК (1:20 и выше) не обнаружено ни в одном случае. Комплементсвязывающих антител в реакции с R-антигеном и преципитирующих антител в реакции с О-ПС-антигенами также не обнаружено.

При исследовании животных в отдаленные сроки после иммунизации, на 120-360 сутки во всех случаях были получены отрицательные результаты.

Из таблицы 7 видно, что при иммунизации животных конъюнктивальным методом вакциной из штамма *B. abortus* 82 агглютинирующие и комплементсвязывающие антитела с S-антигеном были обнаружены у 13 (40,6%) животных также на 30 сутки после иммунизации в низких титрах.

Комплементсвязывающие антитела в реакции с R-антигеном были обнаружены также на 30-е сутки, количество реагирующих животных составило 16 голов (50%). К 60-90-м суткам реакции угасали и были зарегистрированы у 1 животного (3,1%). Преципитирующие антитела в реакции с О-ПС-антигенами также не были выявлены.

**Результаты исследования сыворотки крови здоровых быков,
иммунизированных вакциной из штамма *B. abortus* 82
конъюнктивальным методом**

Срок исследования после вакцинации (сутки)	Количество исследованных животных (голов)	Серопозитивные реакции			
		РА+РСК (S)		РСК (R) абс. (%)	РИД
		всего абс. (%)	в высоких титрах (200МЕ и 1:20) абс. (%)		
До вакцинации	-	-	-	-	-
30	32	13 (40,6)	-	16 (50)	-
60	32	-	-	1 (3,1)	-
90	32	-	-	1 (3,1)	-
120	32	-	-	-	-
150	32	-	-	-	-
180	32	-	-	-	-
360	32	-	-	-	-

При исследовании животных в отдаленные сроки после иммунизации, на 120-360 сутки также во всех случаях были получены отрицательные результаты.

Таким образом, при сравнительном изучении динамики поствакцинальных реакций после применения вакцин из штаммов *B. abortus* 19 и *B. abortus* 82 конъюнктивальным методом на крупном рогатом скоте благополучного по бруцеллезу хозяйства, находящегося в угрожаемой по бруцеллезу зоне, установлено, что применение вакцины из штамма *B. abortus* 19 позволяет беспрепятственно проводить диагностику животных уже через 2 месяца после иммунизации.

В опыте №2 изучали эффективность применения разных схем противобруцеллезной вакцины *B. abortus* 19 конъюнктивальным методом на крупном рогатом скоте в неблагополучном по бруцеллезу хозяйстве.

Были сформированы две группы животных:

Группа №1 – 120 голов, иммунизированного вакциной из штамма *B. abortus* 19 конъюнктивальным методом с предварительным введением Нитокс-200;

Группа №2 – 104 головы крупного рогатого скота, иммунизированного вакциной из штамма *B. abortus* 19 конъюнктивальным методом без применения Нитокс-200.

Предварительно у животных обеих групп были отобраны пробы сыворотки крови и исследованы в реакциях РБП, РА с ед. и R-антигеном, РСК с ед. и R-антигеном, РИД с А, М, поли – антигеном до вакцинации.

Животным 1 группы ввели Нитокс-200 в дозе 1 мл на 10 кг живого веса, согласно инструкции по применению препарата.

Через 10 суток после введения Нитокс-200 животных иммунизировали *V. abortus* 19, в дозе составляющей 1/10 подкожной дозы, т.е. 8 млрд. КОЕ/мл конъюнктивальным методом.

Животных 2 группы иммунизировали *V. abortus* 19 конъюнктивальным методом без предварительного применения Нитокс-200.

Через 30, 60, 90, 120, 150, 180, 360 были отобраны пробы сыворотки крови опытных животных и исследованы в реакциях РБП, РА с ед. и R-антигеном, РСК с ед. и R-антигеном, РИД с А, М, поли – антигеном.

После каждого исследования животных с положительными реакциями в высоких титрах: в РА - 200 МЕ и выше, РСК - 1:20 и выше, удаляли из стада.

Результаты изучения эффективности применения противобруцеллезной вакцины из штамма *V. abortus* 19 конъюнктивальным методом на крупном рогатом скоте неблагополучного по бруцеллезу хозяйства с предварительным применением антибактериального препарата Нитокс-200 представлены в таблице 8.

Таблица 8

Результаты исследования сыворотки крови крупного рогатого скота, иммунизированного вакциной из штамма *V. abortus* 19 конъюнктивальным методом с предварительным введением Нитокс-200

Срок исследования после вакцинации (сутки)	Количество исследованных животных (голов)	Реагировало положительно		
		РА+РСК (S)		РИД абс. (%)
		всего абс. (%)	в высоких титрах (200МЕ и 1:20), абс. (%)	
До вакцинации	120	67 (55,8)	9 (13,4)	6 (5,0)
30	111	35 (31,5)	3(8,6)	-
60	108	4 (3,7)	-	-
90	104	-	-	-
120	104	-	-	-
150	104	-	-	-
180	104	-	-	-
360	104	-	-	-

Перед иммунизацией было проведено исследование 120 проб сыворотки от крупного рогатого скота, в РА+РСК 67 голов (55,8%), положительно реагировали на бруцеллез, в том числе 9 голов (13,4%) в высоких титрах (200 МЕ в РА и 1:20 в РСК и выше). В реакции иммунодиффузии (РИД) отмечались положительные результаты в 6 пробах, что составило - 5% от общего числа исследованных животных. 9 голов крупного рогатого скота были сданы на убой, остальные 111 голов иммунизированы вакциной из штамма *B.abortus* 19 конъюнктивальным методом.

При серологическом исследовании 111 проб сыворотки от крупного рогатого скота через 30 суток после конъюнктивальной иммунизации, положительные реакции на бруцеллез были отмечены у 35 животных, что составило 31,5% от числа исследованных, в том числе в высоких титрах реагировало 3 (8,6%) головы. Во всех случаях РИД дала отрицательный результат.

При исследовании 108 проб сыворотки от крупного рогатого скота на 60 сутки после конъюнктивальной иммунизации положительные реакции на бруцеллез были отмечены у 4 животных, что составило 3,7% от числа исследованных. Реакции на бруцеллез в высоких титрах не отмечались. Во всех случаях РИД была отрицательной.

При исследовании 104 проб сыворотки от крупного рогатого скота на 120-360 сутки после конъюнктивальной иммунизации положительные реакции на бруцеллез не отмечались. Во всех случаях РИД была отрицательной.

Изучение эффективности применения противобруцеллезной вакцины без предварительного введения антибактериального препарата Нитокс-200 до иммунизации были получены результаты, представленные в таблице 9.

В результате серологических исследований до вакцинации из 104 животных - 43 (41,3%) головы положительно реагировали на бруцеллез, из них 14 (32,5%) - в высоких титрах, в том числе 3 (2,9%) - с положительной РИД с О-ПС антигеном и были сданы на убой.

Остальные 90 голов крупного рогатого скота иммунизированы конъюнктивальным методом вакциной из штамма *B. abortus* 19.

При серологическом исследовании 90 проб сыворотки от крупного рогатого скота через 30 суток после иммунизации конъюнктивальным методом, положительные реакции на бруцеллез отмечены у 30 животных, что составило 33,3% от числа исследованных, в том числе

в высоких титрах реагировало 29 (96,7%) головы. В РИД реагировало 1 животное (1,1%).

Таблица 9

Результаты исследования сыворотки крови крупного рогатого скота, иммунизированного вакциной из штамма V.abortus19 конъюнктивальным методом без предварительного введения Нитокс-200

Срок исследования после вакцинации (сутки)	Количество исследованных животных (голов)	Реагировало положительно		
		РА+РСК (S)		РИД абс. (%)
		всего абс. (%)	в высоких титрах (200МЕ и 1:20) абс. (%)	
До вакцинации	104	43 (41,3)	14 (32,5)	3 (2,9)
30	90	30 (33,3)	29 (96,7)	1(1,1)
60	61	13(21,3)	4 (30,8)	1(1,6)
90	57	7 (12,2)	2 (3,5)	-
120	55	2 (3,6)	1 (1,8)	-
150	54	-	-	-
180	54	-	-	-
360	54	-	-	-

На 60 сутки после иммунизации в РА реагировало 13 (21,3%) животных, из них в высоких титрах - 4 (30,8%). В РИД реагировало 1 животное (1,6%).

При серологическом исследовании 57 проб сыворотки от крупного рогатого скота через 90 суток после иммунизации конъюнктивальным методом, положительные реакции на бруцеллез отмечены у 7 животных, что составило 12,2% от числа исследованных, в том числе в высоких титрах реагировало 2 (3,5%) головы. Во всех случаях РИД была отрицательной.

При серологическом исследовании 55 проб сыворотки от крупного рогатого скота через 120 суток после иммунизации конъюнктивальным методом, положительные реакции на бруцеллез отмечены у 2 животных, что составило 3,6% от числа исследованных, в том числе в высоких титрах реагировало 1 (1,8%) головы. Во всех случаях РИД была отрицательной.

При исследовании 54 проб сыворотки от крупного рогатого скота на 150-360 сутки после иммунизации конъюнктивальным методом положительные реакции на бруцеллез не отмечались. Во всех случаях РИД была отрицательной.

В результате проведенных исследований установлено, что при исследовании крупного рогатого скота в опыте №1 - стационарно благополучном по бруцеллезу, находящимся в угрожаемой зоне, после применения вакцин из штаммов *B. abortus* 19 и *B. abortus* 82 конъюнктивальным методом через 360 суток после иммунизации у животных сохраняется напряженность иммунитета и отсутствуют поствакцинальные реакции.

В экспериментах, проведенных в неблагополучных по бруцеллезу стадах крупного рогатого скота, установили, что при использовании схемы №1, (вакцинация конъюнктивальным методом с предварительным применением антибактериального препарата Нитокс-200) было сохранено 87% голов крупного рогатого скота, в схеме №2 (вакцинация конъюнктивальным методом без применения Нитокс-200) сохранность поголовья составила 52%.

Таким образом, эффективность применения схемы вакцинации конъюнктивальным методом с предварительным применением антибактериального препарата Нитокс-200, в 1,7 раза выше, чем схема вакцинации конъюнктивальным методом без применения Нитокс-200.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Обобщая материалы собственных комплексных исследований, проводимых на лабораторных и сельскохозяйственных животных можно считать предлагаемую нами оптимальную схему специфической профилактики бруцеллеза животных в стадах с различным эпизоотическим статусом научно обоснованной.

В опытах на морских свинках, при сравнительном изучении свойств живых вакцин из штаммов *B. abortus* 19, 82 и RB-51 иннокулированных разными методами, очевидна наибольшая эффективность схемы иммунизации, предусматривающей введение животным живой вакцины из штамма *B. abortus* 19 со стабильными антигенными свойствами конъюнктивальным методом, в дозе, уменьшенной по сравнению с дозой для подкожного введения в 10 раз. Испытанная нами схема позволяет сократить сроки угасания поствакцинальных реакций и сохраняет иммунитет на уровне 80% в течение 90 суток. На 180 сутки он снижается в два раза (40%), что свидетельствует о необходимости проведения ревакцинации животных один раз в год.

Экспериментальная модель купирования бруцеллезной инфекции у морских свинок, искусственно инфицированных вирулентной культурой *B. abortus* 544, основанная на введении антибактериального препарата «Нитокс-200» в дозе 20 мг на кг живой массы при их обязательной последующей иммунизации через 8 дней вакциной из штамма *B. abortus* 19 конъюнктивальным методом в дозе 1/10 общепринятой при подкожном введении. Через 1 месяц после вакцинации подтверждена полная элиминация из организма бруцелл заражающего штамма *B. abortus* 544.

В производственном опыте на крупном рогатом скоте представлены две различные в эпизоотическом плане модели. Первое хозяйство благополучное по бруцеллезу, находящееся в угрожаемой зоне заноса инфекции с ежегодной вакцинации всего поголовья. В соответствии с проведенными исследованиями мы рекомендуем проводить ежегодную вакцинацию крупного рогатого скота конъюнктивальным методом вакциной из штамма *B. abortus* 19 в дозе составляющей 1/10 подкожной дозы, т.е. 8 млрд. КОЕ/мл, что позволит обеспечить у животных высокий уровень иммунитета (80%) к бруцеллам и беспрепятственно проводить диагностику животных уже через 2 месяца после вакцинации (рисунок 1).

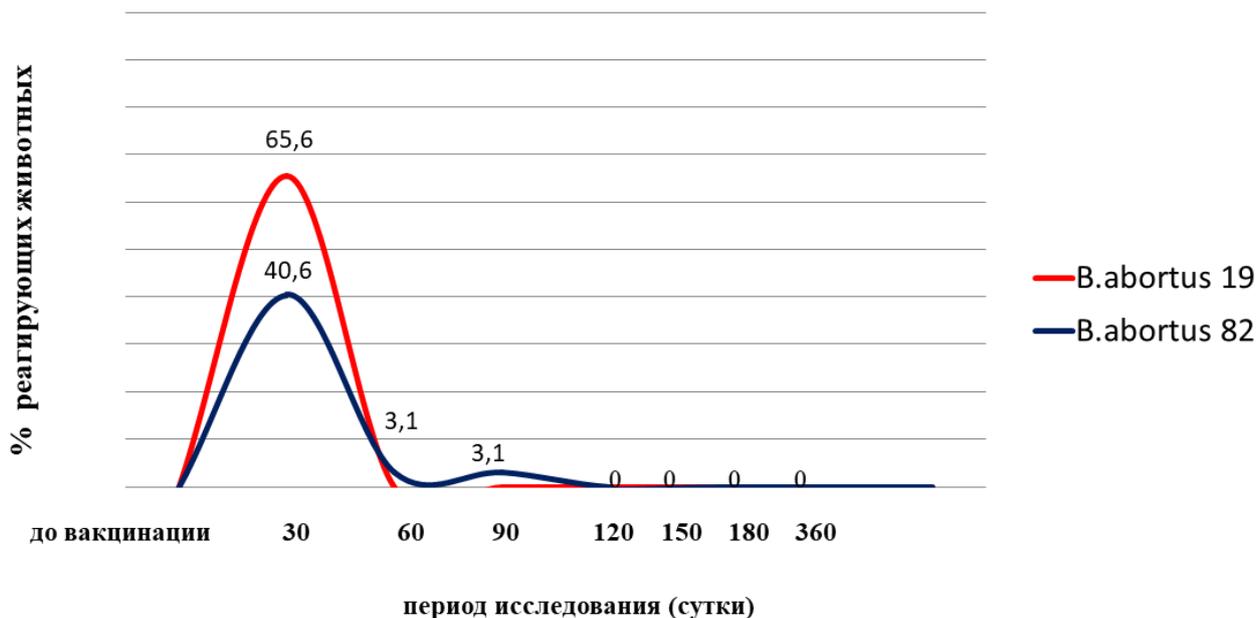


Рисунок 1 - Динамика поствакцинальных реакций после применения вакцин из штаммов *B. abortus* 19 и *B. abortus* 82 конъюнктивальным методом в опыте на крупном рогатом скоте благополучного по бруцеллезу хозяйства

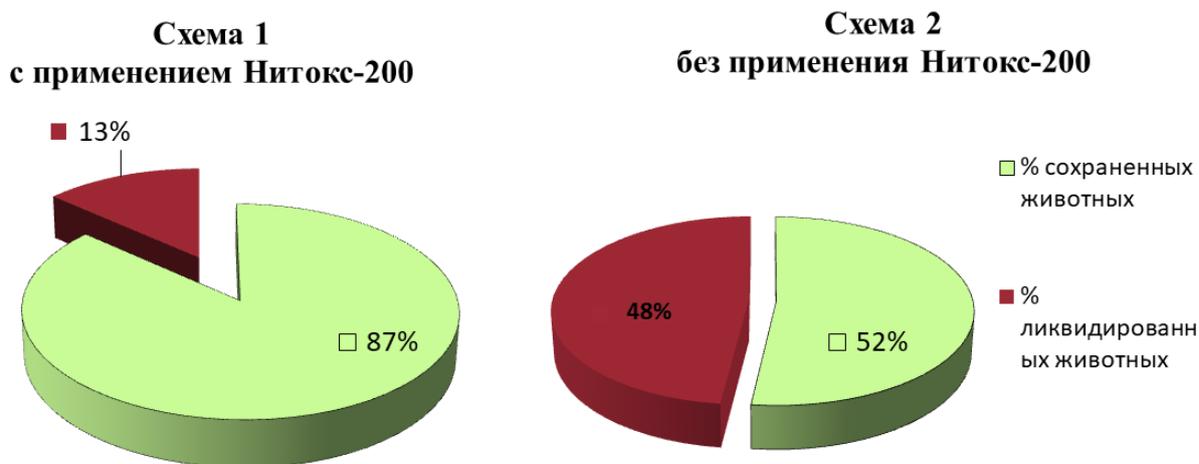


Рисунок 2 - Показатели эффективности разных схем применения противобруцеллезной вакцины *B. abortus* 19 конъюнктивальным методом на крупном рогатом скоте

Во втором неблагополучном хозяйстве, где бруцеллезная инфекция уже зарегистрирована, мы рекомендуем применять схему с предварительным введением антибактериального препарата «Нитокс-200» однократно внутримышечно в дозе 1 мл на 10 кг живой массы (ориентировочно 40 мл – по 20 мл в разные точки) и через 10 суток иммунизацией всего поголовья крупного рогатого скота конъюнктивальным методом.

вальным методом вакциной из штамма *V.abortus* 19 в дозе составляющей 1/10 подкожной дозы, т.е.8 млрд. КОЕ/мл, последующим проведением систематических диагностических исследований на бруцеллез и ликвидацией положительно реагирующих животных. С применением антибактериального препарата «Нитокс-200» увеличивается сохранность поголовья в 1,7 раза (рисунок 2).

Предложенная нами схема специфической профилактики бруцеллеза животных в стадах с различным эпизоотическим статусом открывает перспективы для ускорения оздоровления стад. Экономическая эффективность рекомендаций безусловна так как сокращается самый главный ущерб от вынужденного убоя животных выраженный в потерях качественного мяса, молока, приплода.

Общая сумма экономического ущерба, определяется как сумма всех видов ущерба, что составляет на одну голову 168758 руб. В итоге сравнивая экономические показатели получается, что в схеме без применения антибактериального препарата «Нитокс-200» ущерб составляет 8 437 900 рублей, а в схеме с «Нитокс-200» всего 2 700 128 рублей то есть экономия денежных средств 5 737 772 рублей.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Новикова Н.Н., Янченко Т.А., Кожухметова А.А. Мониторинг эпизоотической ситуации по бруцеллезу животных в Российской Федерации и Сибирском ФО. // В кн: Инновационные технологии в зоотехнии и ветеринарии. Сб. ст. Всероссийской научно-практической конференции. Межотраслевой научно-информационный центр Пензенского государственного аграрного университета (МНИЦ). Пенза – 2019. - С 90 – 93.

2. Пономаренко Д.Г., Русанова Д.В., Бердникова Т.В., Хачатурова А.А., Манин Е.А., Куличенко А.Н. Обзор эпизоотологической и эпидемиологической ситуации по бруцеллезу в Российской Федерации в 2017 и прогноз на 2018 г. // Проблемы особо опасных инфекций. 2018. - №2. - С. 23-29.

3. Сведения по бруцеллезу в РФ [Электронный ресурс] URL: [http:// www.fsvps.ru](http://www.fsvps.ru) Официальный сайт федеральной службы по ветеринарному и фитосанитарному надзору (Россельхознадзор) от 21.01.2019.

4. Аракелян П. К., Янченко Т. А., Разницына Г. В. и др. Поиск рациональных схем специфической профилактики бруцеллеза крупного рогатого скота // Ветеринария. 2016. - № 10. – С.14-19.

5. Аракелян П. К., Янченко Т. А., Разницына Г. В. и др. Диагностическая ценность РИД с разными О-ПС антигенами бруцеллезу крупного рогатого скота // Ветеринария. 2016. - № 7. – С.25-29.

6. Косилов И.А., Ощепков В.Г. Бруцеллез сельскохозяйственных животных. – Новосибирск: 1976. – 87с.

7. Иванов А. В., Салмаков К.М., Фомин А.М. и др. Иммунобиологические свойства вакцинных штаммов *V. abortus* // Ветеринария. 2009. - №3. - С. 27–29.

8. Аракелян П. К., Янченко Т. А., Разницына Г. В. и др. Сравнительное изучение иммуногенных свойств живых вакцин из штаммов *V. abortus* 19, 82 и RB-51 в опыте на морских свинках // Ветеринария. 2017. - № 7. – С.18-21.

9. Кисиль А.С., Кузьмин В.А., Новикова Н.Н., Янченко Т. А. и др. Изучение поствакцинальных реакций у животных, иммунизированных против бруцеллеза конъюнктивально // Международный вестник ветеринарии. 2018. - №3. С. 32-37. ISSN 2072-2419.2018.3DOI: 10.17238

10. Янченко Т.А., Новикова Н.Н., Кожухметова А.А. Изучение эффективности различных схем применения противобруцеллезной вакцины конъюнктивальным методом на крупном рогатом скоте неблагополучного по бруцеллезу хозяйства// Вестник Омского ГАУ. – 2019. - № 3. - С-87-94.

11. Аракелян П.К., Димов С.К., Димова А.С., Арапчор М.Ш., Керимова Г.О., Баулин Е.М., Зайкова Т.А. Конъюнктивальная иммунизация мелкого рогатого скота живой вакциной из штамма *V.abortus 19*// Ветеринария. 2015. - № 3. - С. 17-21.

12. Рациональная схема купирования бруцеллезной инфекции у животных: методические 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; Рос.акад. с.-х. наук, сибирское региональное отделение, ГНУ ВНИИБТЖ, ГНУ ИЭВСидВ. – Омск, 2015. – 11с.

СОДЕРЖАНИЕ

Введение	3
1 Теоретическое обоснование оптимальной схемы специфической профилактики бруцеллеза животных в стадах с различным эпизоотическим статусом.....	5
2 Экспериментальное и практическое обоснование оптимальной схемы специфической профилактики бруцеллеза животных в стадах с различным эпизоотическим статусом.....	8
2.1 Опыты на лабораторных животных.....	8
2.2 Опыт на сельскохозяйственных животных	14
Заключение	21
Библиографический список	24

Научное издание

**Оптимальная схема специфической профилактики
бруцеллеза животных в стадах с различным эпизоотическим
статусом**

Методические положения

Компьютерная верстка В.П. Каштановой

Подписано к печати 11.03.2020 г. Формат бумаги 60 x 90 1/16.

Печать оперативная. Гарнитура «Times New Roman».

Усл. печ. л. 1.60. Тираж 50 экз.

Издательство ИП Макшеевой Е.А. Тел. 89083194462

