СОВРЕМЕННЫЕ НАУЧНЫЕ ПОДХОДЫ
К РЕШЕНИЮ ПРОБЛЕМЫ БРУЦЕЛЛЕЗА

Сборник материалов

ОМСК 2020

Министерство науки и высшего образования
Российской Федерации

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

СОВРЕМЕННЫЕ НАУЧНЫЕ ПОДХОДЫ К РЕШЕНИЮ ПРОБЛЕМЫ БРУЦЕЛЛЕЗА

Сборник материалов конференции

ОМСК 2020

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации

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

СОВРЕМЕННЫЕ НАУЧНЫЕ ПОДХОДЫ К РЕШЕНИЮ ПРОБЛЕМЫ БРУЦЕЛЛЕЗА

Сборник материалов конференции
(Омск, 11 ноября 2020 года)

Омск 2020

УДК 619:616.981.42
С568

С568 **Современные научные подходы к решению проблемы бруцеллеза**: сборник материалов научно-практической конференции, Омск, 11 ноября 2020 года. - Омск: Изд-во ИП Макшеевой Е.А., 2020. – 156 с. ил.

ISBN 978-5-6045647-0-7

В сборник включены статьи, отражающие научные подходы к решению проблемы бруцеллеза, а также других актуальных вопросов ветеринарной науки в современных условиях.

Сборник предназначен для научных сотрудников, преподавателей высших учебных заведений, обучающихся, ветеринарных специалистов животноводческих хозяйств.

Редакционная коллегия:

Л.Н. Гордиенко, *кандидат ветеринарных наук*,
В.С. Власенко, *доктор биологических наук*

Редакционная коллегия не несет ответственности за содержание и возможные погрешности в материалах статей, полученных от авторов на электронных носителях.

ISBN 978-5-6045647-0-7 УДК 619:616.981.42

© ФГБНУ «Омский АНЦ», 2020

СОДЕРЖАНИЕ

Проблемы бруцеллеза и туберкулеза животных и пути их решения в современных условиях *М.С. Чекусов, Л.Н. Гордиенко, А.Н. Новиков, Е.В. Куликова*..... 5

БРУЦЕЛЛЕЗ

Купирование бруцеллезной инфекции в эпизоотических очагах (теоретические и практические аспекты) *П.К. Аракелян, Е.Н. Ильин, А.Н. Трегубов, А.В. Руденко, А.А. Вергун, Н.В. Христенко, Т.А. Янченко, А.С. Димова, С.К. Димов*..... 12

Поствакцинальная диагностика бруцеллеза животных (теоретические и практические аспекты) *П.К. Аракелян, Н.В. Христенко, А.Н. Трегубов, А.В. Руденко, А.А. Вергун, Е.Н. Ильин, Т.А. Янченко, А.С. Димова, С.К. Димов*..... 17

Специфическая профилактика бруцеллеза животных (теоретические и практические аспекты) *П.К. Аракелян, А.Н. Трегубов, А.В. Руденко, А.А. Вергун, Е.Н. Ильин, Н.В. Христенко, Т.А. Янченко, А.С. Димова, С.К. Димов*..... 23

Изучение дезинфицирующего действия нового биоцидного препарата в отношении Brucella rangiferi *П.В. Аржаков*..... 29

Иммунный статус крупного рогатого скота при лейкоз-бруцеллезной инфекции *С.Т. Байсеитов, В.С. Власенко*..... 33

История создания ресурсной коллекции бруцелл во Всероссийском научно-исследовательском институте бруцеллеза и туберкулеза животных *Л.Н. Гордиенко, Т.А. Янченко, А.Н. Новиков, Е.В. Куликова*..... 38

Динамика восстановления морфологических признаков у бруцелл в L-форме на искусственных питательных средах в процессе реверсии *Л.Н. Гордиенко* …….. 44

Диагностика бруцеллеза методом ПЦР с детекцией в Real-Time *Т.С. Дудоладова*..... 51

Сравнительная оценка биологических свойств Brucella rangiferi, находящихся в типичной (S-) и измененной L- форме *Е.В. Куликова, Л.Н. Гордиенко, А.Н. Новиков*..... 54

Иммунопрофилактика бруцеллеза северных оленей *К.А. Лайшев, А.В. Прокудин, Л.С. Фогель, А.С. Кисиль*..... 61

Изучение клеточного иммунного ответа при бруцеллезе животных *О.О. Манакова*..... 68

Сравнительная оценка макро- и микрометода постановки реакции непрямой гемагглютинации *Н.Н. Новикова*..... 72

Применение R-бруцеллезного цветного антигена в микрореакции агглютинации *Н.Н. Новикова*..... 77

Применение S-бруцеллезных цветных антигенов в микрореакции агглютинации *Н.Н. Новикова*..... 80

Изучение иммуногенеза противобруцеллезных вакцин на молодняке крупного рогатого скота *Г.М. Сафина, Л.А. Тухватуллина, Я.А. Богова, Р.Ю. Насибуллин, М.А. Косарев*..... 85
Изучение протективного антигена бруцелл как фактора патогенности *А.И. Федоров, М.И. Искандаров, Н.В. Винокуров, Е.С. Слепцов, В.И. Федоров*..... 90
Организация мероприятий по устранению факторов, влияющих на развитие бруцеллеза сельскохозяйственных животных *Т.А. Янченко, О.О. Манакова*..... 96
Применение новых диагностических сывороток для видовой дифференциации культур бруцелл в системе противобруцеллезных мероприятий *Т.А. Янченко*..... 102
ДРУГИЕ АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ ВЕТЕРИНАРНОЙ НАУКИ
Функциональное состояние нейтрофилов у морских свинок, инфицированных патогенными и атипичными микобактериями *В.С. Власенко*..... 107
Новые подходы в бактериологической диагностике туберкулеза животных *Н.А. Денгис, Н.С. Боганец*..... 111
Комплекс новых методов дифференциальной диагностики туберкулиновых реакций у крупного рогатого скота *Н.А. Денгис, А.Н. Новиков*..... 118
Изучение биоцидного действия моющего средства *Т.С. Дудоладова, Д.А. Дягилева*..... 122
Значение атипичных микобактерий в дифференциальной диагностике неспецифических реакций крупного рогатого скота в благополучных по туберкулезу хозяйствах *Г.М. Дюсенова*..... 125
Проблема туберкулеза крупного рогатого скота в России *Г.М. Дюсенова*..... 131
Иммунохроматографический тест BovidTB START- PAK для прижизненной диагностики туберкулеза крупного рогатого скота *Г.М. Дюсенова*..... 135
Современные представления о молекулярно-клеточных механизмах инфекционного процесса при туберкулезе. Патогенез *Г.М. Дюсенова*..... 140
Изменения в легких под действием противотуберкулезного препарата КИМ-М2 на модели экспериментального туберкулеза *Е.А. Кособоков*..... 144
Влияние туберкулезной инфекции на лимфоидные фолликулы селезенки *Е.А. Кособоков, Т.С. Дудоладова*..... 151

УДК: 619:616.981.42:616.982.2+636

ПРОБЛЕМЫ БРУЦЕЛЛЕЗА И ТУБЕРКУЛЕЗА ЖИВОТНЫХ И ПУТИ ИХ РЕШЕНИЯ В СОВРЕМЕННЫХ УСЛОВИЯХ

М.С. Чекусов, *канд. техн. наук,* **Л.Н. Гордиенко**, *канд. ветеринар. наук,* **А.Н. Новиков**, *канд. ветеринар. наук,* **Е.В. Куликова**

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Омский аграрный научный центр», г. Омск, РФ, vniibtg18@anc55.ru

Дана краткая историческая справка о предпосылках создания института, заслугах ученых в ликвидации повальных эпизоотий в разные периоды развития животноводства. Перечислены причины низкой эффективности противоэпизоотических мероприятий при инфекционных болезнях, общих для животных и человека в современных условиях. Указаны основные направления научных исследований по проблемам инфекционной патологии и основные разработки коллектива института, успешно применяемые в ветеринарной практике разных отраслей животноводства. Приведены примеры противоэпизоотической и экономической эффективности использования научно-обоснованной системы мероприятий при оздоровлении животноводческих предприятий от бруцеллеза.

Ключевые слова: *животные, инфекция, бруцеллез, туберкулез, противоэпизоотические мероприятия, научные разработки, эффективность.*

Всероссийский НИИ бруцеллеза и туберкулеза животных стремительно приближается к своему 100 летнему юбилею. В период образования института это было первое научно-исследовательское учреждение ветеринарного профиля за Уралом, создание которого вызвано острой жизненной необходимостью.

С 20-х годов прошлого столетия борьба с эпизоотиями была признана важнейшими экономическими направлениями в России. Территория Российских губерний была охвачена повальными эпизоотиями, которые тотально истребляли животноводство во всех отраслях.

В 1921 году постановлением Сибревкома было принято решение о создании Сибирского ветеринарного НИИ в городе Омске на базе Западно-Сибирской краевой лаборатории. Сфера деятельности института охватывала 15 областей, краев и автономных республик Урала и Сибири, а также северные области Казахстана [1].

На долю коллектива института выпало много преобразований и испытаний, связанных с историческими событиями в стране и общим

состоянием дел в экономике и животноводстве.

Неоценимый вклад ученых СибНИВИ в фундаментальное направление ветеринарной медицины и в практическую ветеринарию позволил получить новые научные данные, разработать и изготовить диагностикумы, вакцины, иммунные сыворотки для профилактики и лечения животных при опасных зоонозах и зооантропонозах в годы становления социалистического животноводства, в военный и послевоенный периоды.

В 70-80-е годы прошлого столетия эпицентр эпизоотической напряженности по хроническим инфекциям общим для животных и человека сосредоточился в Сибири и в областях Северного Казахстана.

В 1985 году решением Правительства институт был переведен в статус Всесоюзного (позднее Всероссийского), переименован в НИИ бруцеллеза и туберкулеза животных.

Научные исследования коллектива были переориентированы в основном на изучение морфо-, пато-, иммуногенеза бруцеллеза и туберкулеза животных.

Сотрудники института приняли активное участие в работе научного сообщества страны при создании системы противоэпизоотических мероприятий при бруцеллезе и туберкулезе животных.

Именно комплексное решение проблем по хроническим инфекциям, общим для животных и человека позволило получить положительный противоэпизоотический и экономический эффект в животноводческих предприятиях страны. Использование научно-обоснованной системы в ветеринарной практике позволило оздоровить от бруцеллеза и туберкулеза большинство краев и областей в России и союзных республиках и длительное время сохранять благополучие.

Изменение экономических отношений в последние десятилетия (1990-2020 гг.), реструктуризация общественных сельскохозяйственных предприятий, разукрупнение животноводческих комплексов, преобладание в аграрном секторе личных крестьянских и фермерских хозяйств явились одним из факторов, влияющих на возникновение новых очагов бруцеллеза и распространения инфекции среди животных.

В настоящее время наиболее интенсивное распространение бруцеллеза регистрируется в Северо-Кавказском, Южном и Сибирском

федеральных округах. Динамично увеличивающееся количество неблагополучных по бруцеллезу пунктов и выявление свежих случаев заболеваний людей.

Низкая эффективность противобруцеллезных мероприятий и ухудшение эпизоотической и эпидемической ситуации зависят от многочисленных факторов:

- отсутствие полного охвата обследования всех видов животных;
- отсутствие изоляции выявляемых больных животных, их убоя и промышленной переработки;
- отсутствие точного учета поголовья в личных подсобных крестьянских хозяйствах;
- отсутствие контроля за передвижением животных из неблагополучных территорий в благополучные;
- отсутствие законодательных актов, определяющих порядок компенсации убытков за изъятие больных бруцеллезом животных;
- отсутствие возможности регулярных исследований;
- отсутствие идентификации поголовья;
- отсутствие убойных перерабатывающих предприятий со специализированными цехами (санитарные зоны);
- отсутствие карантинирования животных при ввозе на благополучные территории;
- отсутствие перманентного специфического иммунитета.

В настоящее время перед учеными института поставлены задачи по разработке новых и усовершенствованных средств и методов диагностики и специфической профилактике бруцеллеза и туберкулеза животных, эпизоотического мониторинга, оценки статуса стад, отар, хозяйств, ферм на территории регионов.

В течение последних десяти лет учеными института созданы:

– высокоэффективные опытные (лабораторные) образцы R- и L-диагностикумов бруцеллеза, отработаны способы диагностики и профилактики бруцеллеза животных;

– «Способ дифференциальной эпизоотической оценки на бруцеллез стад крупного рогатого скота, иммунизированного живыми вакцинами из диссоциированных штаммов бруцелл», который позволяет повысить достоверность дифференциальной диагностики и сни-

зить необоснованный убой животных, а также обеспечить объективность эпизоотической оценки на бруцеллез стад крупного рогатого скота, иммунизированных живыми вакцинами из диссоциированных штаммов бруцелл вида abortus [2];

– «Способ специфической профилактики туберкулеза» [3];

– «Способ получения специфического иммуномодулятора», представленное изобретение позволяет восстанавливать нарушенную иммунологическую реактивность, устранять вторичные иммунодефициты, получать безвредные для животных средства, обладающие выраженными протективными свойствам [4];

– «Способ культивирования микобактерий туберкулеза», использование изобретения позволяет ускорить рост микобактерий, повысить выделяемость последних из патологического материала и, как следствие, эффективность диагностики [5], которые защищены патентами.

Результаты многочисленных экспериментальных опытов и производственных испытаний, разработок, выполненных коллективом института, обобщены и представлены в виде материалов «Методических пособий и положений»:

– «Бактериологическая диагностика бруцеллеза северных оленей при заготовке эндокринного и ферментного сырья», в рекомендациях показана возможность использования свежих пантов северных оленей и другого ферментного и эндокринного сырья в качестве биоматериала для лабораторной диагностики бруцеллеза [6];

– «Концепция оптимальной системы контроля эпизоотического процесса бруцеллеза мелкого рогатого скота в новых условиях овцеводства», где отражена концептуальная модель оптимальной системы контроля эпизоотического процесса бруцеллеза мелкого рогатого скота для благополучных, неблагополучных и угрожаемых по этой болезни зон [7];

– «Комплекс противоэпизоотических мероприятий по профилактике и ликвидации хронических болезней животных» [8];

– «Методы оценки функциональной активности лейкоцитов при туберкулезе и лейкозе животных», позволяющие объективно оценивать различные состояния иммунной системы при туберкулезе, а также выявлять животных с предрасположенностью к заболеванию лейкозом крупного рогатого скота [9];

– «Использование озона в бактериологической диагностике туберкулеза» [10];

– «Комплекс ускоренной дифференциальной диагностики туберкулиновых реакций у крупного рогатого скота в благополучных хозяйствах», в рекомендациях изложены комплекс мероприятий по дифференциальной диагностике туберкулеза крупного рогатого скота, новые методы бактериологического исследования биоматериала на туберкулез, постановка ускоренной биологической пробы на морских свинках [11];

– «Практическое пособие по мониторингу бруцеллеза, туберкулеза, паратуберкулеза и лейкоза крупного рогатого скота: организационно-хозяйственные, ветеринарно-санитарные и зоогигиенические аспекты профилактики и ликвидации этих инфекций» [12].

Бруцеллез – полиэтиологичная хроническая инфекция, с наличием нескольких видов возбудителей, находящихся в разных формах (S-, R-) и имеющих своих основных хозяев. Проявление инфекционного и эпизоотического процессов зависит от многочисленных факторов. При разработке системы профилактики и оздоровления от бруцеллеза необходимо учитывать специфику ведения отрасли, форму собственности, структуру хозяйства, природно-географические, ландшафтные, этнические и другие факторы.

Использование в ветеринарной практике разработок сотрудников института позволяет объективно оценить эпизоотическую ситуацию в стадах, оздоравливаемых от бруцеллеза с использованием живой вакцины из штамма Brucella 82. Проведение дифференциальной диагностики с применением специальных тестов с участием сотрудников института способствовало сокращению сроков оздоровления импортного крупного скота от бруцеллеза на одном из крупнейших комплексов Приморского края до 14 месяцев и составило экономический эффект более 40 миллионов от предотвращения необоснованной выбраковке высокопродуктивного поголовья [13].

Разработка и внедрение технологичных схем иммунизации животных с учетом особенностей и специфики отраслей животноводства в течение последних 5-7 лет позволило купировать очаги бруцеллезной инфекции в фермерских хозяйствах регионов Сибири, Зауралья, Северо-Кавказского федеральных округов и оленеводческих хозяйствах Ямало-Ненецкого автономного округа, уменьшить количество реагирующих животных и снизить риск заражения людей.

Ученые института активно сотрудничают со специалистами научных лабораторий других учреждений, практической ветеринарной службы регионов, руководителями крупных животноводческих предприятий и владельцами фермерских хозяйств, оказывая методическую, консультативную экспертную и практическую помощь.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Гордиенко Л.Н., Куликова Е.В., Гайдуцкая Г.М. и др. Оценка иммунного статуса импортного крупного рогатого скота, оздоравливаемого от бруцеллеза // Ветеринария. 2017. №2. С. 19-22.

2. Пат. РФ № 2518308. Способ дифференциальной эпизоотической оценки на бруцеллез стад крупного рогатого скота, иммунизированного живыми вакцинами из диссоциированных штаммов бруцелл / П.К. Аракелян, Г.В. Разницына, Е.Б. Барабанова, С.К. Димов, А.С. Димова; заяв. №2012139953/10, 18.09.12, опубл. 10.06.14.

3. Пат. РФ 2562550. Способ специфической профилактики туберкулеза / М.А. Бажин, В.С. Власенко, А.Н. Новиков, Е.М. Шулико; № 20131567444/15, заявл. 19.12.13; опубл. 10.09.15, Бюл. № 25.

4. Пат. РФ 2366455. Способ получения специфического иммуномодулятора / М.А. Бажин, В.С. Власенко, А.Н. Новиков, Г.П. Неворотова, Е.М. Шулико, Т.С. Реутова Т.С.; №2007139594; заявл. 25.10.07; опубл. 10.09.09, Бюл. № 25.

5. Пат. РФ 2376365. Способ культивирования микобактерий туберкулеза / Н.С. Боганец, Н.А. Свириденко, М.А. Бажин, Л.Т. Аппельганц, А.П. Рахвалов; №2008117497/13, 30.04.08; опубл. 20.12.09.

6. Гордиенко Л.Н., Куликова Е.В., Еланцева Н.Б., Гайдуцкая Г.М. и др. Бактериологическая диагностика бруцеллеза северных оленей при заготовке эндокринного и ферментного сырья: метод. Рекомендации. Омск, 2012. 20 с.

7. Аракелян П.К., Ощепков В.Г., Бондарева О.В., Барабанова Е.Б. и др. Концепция оптимальной системы контроля эпизоотического процесса бруцеллеза мелкого рогатого скота в новых условиях овцеводства: метод. указания. Омск, 2007. 11 с.

8. Ощепков В.Г., Бажин М.А., Дегтяренко Л.В., Бордюг В.Ф., Боганец Н.С. и др. Комплекс противоэпизоотических мероприятий по профилактике и ликвидации хронических болезней животных: метод. указания. Омск, 2008. 36 с.

9. Власенко В.С., Донченко Н.А., Пацула Ю.И., Бажин М.А. и др. Методы оценки функциональной активности лейкоцитов при туберкулезе и лейкозе животных: метод. пособие. Омск, 2015. 16 с.

10. Боганец Н.С., Свириденко Н.А., Бажин М.А., Аппельганц Л.Т. Использование озона в бактериологической диагностике туберкулеза: метод. указания. Омск, 2014. 20 с.

11. Ощепков В.Г., Боганец Н.С, Таллер Л.А., Свириденко Н.А. и др. Ком-

плекс ускоренной дифференциальной диагностики туберкулиновых реакций у крупного рогатого скота в благополучных хозяйствах: метод. указания. Омск, 2010. 15 с.

12. Гулюкин М.И., Найманов А.Х., Альбертян М.П. и др. Практическое пособие по мониторингу бруцеллеза, туберкулеза, паратуберкулеза и лейкоза крупного рогатого скота: организационно-хозяйственные, ветеринарно-санитарные и зоогигиенические аспекты профилактики и ликвидации этих инфекций: Учебное пособие. М.: Изд-во Агенство творческих технологий, 2014. 76 с.

13. Донченко А.С., Самоловова Т.Н., Эпельдимов Л.С., Гордиенко Л.Н. Исторические предпосылки создания и этапы развития сибирского ветеринарно-бактериологического института (1910-1940 гг.) // Обеспечение ветеринарного благополучия в животноводстве и птицеводстве: Матер. Междунар. науч.-практ. конф. Омск, 2013. С. 3-11.

PROBLEMS OF BRUCELLOSIS AND TUBERCULOSIS IN ANIMALS AND WAYS TO SOLVE THEM IN MODERN CONDITIONS

M.S. Chekusov, L.N. Gordienko, A.N. Novikov, E.V. Kulikova

A brief historical background is given about the prerequisites for the establishment of the Institute, the merits of scientists in eliminating widespread epizootics in different periods of animal husbandry development. The reasons for the low effectiveness of antiepizootic measures in infectious diseases common to animals and humans in modern conditions are listed. The main directions of scientific research on the problems of infectious pathology and the main developments of the Institute's team, which are successfully used in veterinary practice in various branches of animal husbandry, are indicated. Examples of anti-epizootic and economic efficiency of using a science-based system of measures for improving the health of livestock enterprises from brucellosis are given

Keywords: *animals, infection, brucellosis, tuberculosis, antiepizootic measures, scientific developments, effectiveness.*

БРУЦЕЛЛЕЗ

УДК619: 616.981:42

КУПИРОВАНИЕ БРУЦЕЛЛЕЗНОЙ ИНФЕКЦИИ В ЭПИЗООТИЧЕСКИХ ОЧАГАХ (ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ И ПРАКТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ)

П.К. Аракелян[1], *доктор ветеринар. наук,* **Е.Н. Ильин**[1], **А.Н. Трегубов**[1], **А.В. Руденко**[1], **А.А. Вергун**[1], **Н.В. Христенко**[1], **Т.А. Янченко**[2], *канд. биол. наук,* **А.С. Димова**[3], *доктор ветеринар. наук,* **С.К. Димов**[3], *доктор ветеринар. наук*

[1]Научно-производственная лаборатория диагностики и профилактики бруцеллеза животных государственного казенного учреждения Ставропольского края «Ставропольская краевая станция по борьбе с болезнями животных», г. Ставрополь, РФ, arakelyan.pk@mail.ru

[2]Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Омский аграрный научный центр», г. Омск, РФ, tatyana_vass@mail.ru

[3]Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Новосибирский государственный аграрный университет», г. Новосибирск, РФ, alesya-77@mail.ru

Максимально быстро и надежно купировать бруцеллезную инфекцию способны комплексные мероприятия, своевременно блокирующие все реальные и потенциальные механизмы развития эпизоотического процесса. К ним, в частности, относится схема, предусматривающая внутримышечное введение животным антибактериального препарата Нитокс-200 в дозе 20 мг/кг, с последующей их конъюнктивальной иммунизацией (через 8 дней) вакциной из штамма B. abortus 19 (1/10 подкожной дозы), что обеспечивает элиминацию бруцелл из организма инфицированных животных в течение 1 месяца, а также за счет формируемого иммунитета создает препятствия для возможной реверсии оставшихся в организме измененных форм возбудителя. Дополнительные гарантии обеспечивает дальнейшая ранняя поствакцинальная диагностика, которая, используя провоцирующие свойства вакцины, выявляет скрытых бруцеллоносителей.

Ключевые слова: *купирование бруцеллезной инфекции, Нитокс-200, вакцинация, поствакцинальные исследования.*

Бруцеллез животных до сих пор не потерял актуальности, как од-

на из самых эпизоотический, эпидемический и экономически значимых болезней. Возможности эффективного контроля его эпизоотического процесса напрямую зависят от того, насколько комплекс общих и специальных мероприятий, направленных на разрыв и нейтрализацию всех звеньев эпизоотической цепи (источник возбудителя инфекции, механизм передачи и восприимчивый организм) будет оптимальным по отношению к каждому эпизоотическому очагу. Иными словами, необходимо максимально быстрое и надежное купирование бруцеллезной инфекции.

Данная статья преследует цель проанализировать современное состояние проблемы купирования бруцеллезной инфекции в эпизоотических очагах.

Материалы и методы. Обобщению и анализу были подвергнуты литературные данные и материалы собственных исследований, отражающие проблему купирования бруцеллезной инфекции в эпизоотических очагах.

Результаты. Единственным радикальным методом контроля эпизоотического процесса бруцеллеза, позволяющим максимально оперативно разорвать и нейтрализовать эпизоотическую цепь, является ликвидация всего скомпрометированного по указанной инфекции поголовья на фоне жестких мер по санации внешней среды эпизоотического очага. Но его использование в широких масштабах на территориях приуроченности болезни практически не реально, прежде всего, в социально-экономическом отношении [1-5].

Другим способом предусмотрено выявление инфицированных животных путем комплексных систематических исследований на бруцеллез всего неблагополучного по бруцеллезу поголовья до получения отрицательных результатов. Причем он имеет два варианта реализации: без вакцинации и с ее применением по определенным схемам. Согласно теории академика В.Д. Белякова, в паразитохозяинных отношениях существует не только саморегуляция, но и искусственная регуляция, обеспечивающая на длительный период «биологическое равновесие». Иными словами, инфекции как в научном, так и в практическом смысле могут быть управляемыми и неуправляемыми. Бруцеллез не является исключением [5-8].

Ретроспективный анализ литературных источников показывает, что в масштабах страны обеспечить на длительный период «биологическое равновесие» в бруцеллезных паразитарных системах из-за су-

ществования механизмов рецидивирования, распространения бруцеллезной инфекции, а также возникновения и расширения так называемых зон и территорий приуроченности болезни не удавалось. Выявление инфицированных животных путем комплексных систематических исследований на бруцеллез всего неблагополучного по бруцеллезу поголовья до получения отрицательных результатов, даже на фоне вакцинации по определенным схемам, гарантий надежного оздоровления неблагополучных стад не обеспечивает. Проблема заключается в возможностях прогрессирования бруцеллезной инфекции за счет приобретения циркулирующими в стадах бруцеллами высокой вирулентности [1-3, 5, 8].

Возможность остановить развитие эпизоотического процесса в такой ситуации существует. Ее теоретическая основа - предварительная санация всего поголовья неблагополучного стада с помощью антибактериального препарата, обладающего противобруцеллезной активностью. При этом принципиально важно добиться резкого изменения типичных бруцелл (вплоть до элиминации) и кардинальной потери их реальной и потенциальной вирулентности. Особый интерес в отношении воздействия на бруцеллы вызвали антибиотики тетрациклинового ряда [9-11].

Следует отметить, что на широкое применение для купирования бруцеллезной инфекции может претендовать антибактериальное средство, не только обладающее высокой степенью воздействия на бруцеллы, но и имеющее пролонгирующие свойства, обеспечивающие длительное пребывание в организме для оказания максимального антибактериального эффекта, а также приемлемую стоимость и доступность. Препарат Нитокс-200, представляющий собой окситетрациклиндигидрат пролонгированного действия, выпускает ЗАО «Нитафарм» (г.Саратов). Он широко применяется в ветеринарной практике при лечении и профилактике многих инфекционных болезней животных. Была разработана эффективная экспериментальная модель купирования бруцеллезной инфекции животных, основанная на сочетанном применении препарата Нитокс-200 и живой вакцины из штамма B. abortus 19 конъюнктивальным методом. Морских свинок экспериментально заразили штаммом B. melitensis 16M. Антибактериальный препарат Нитокс-200 при введении лабораторным животным в дозе 20 мг/кг массы тела с последующей конъюнктивальной иммунизацией их через 8 дней вакциной из штамма B. abortus 19 (в 10

раз меньшей дозе, чем рекомендуемой для подкожного введения) обеспечил полную элиминацию вирулентного штамма бруцелл из организма всех инфицированных животных в течение 1 месяца. Добиться этого только препаратом Нитокс-200 или упомянутой вакциной не удалось [12].

При однократной конъюнктивальной иммунизации КРС, вакциной из штамма 19 с предварительным внутримышечным введением за 8-12 дней до иммунизации антибактериального препарата Нитокс-200 в объеме 1 мл на 10 кг живой массы, в трех неблагополучных по бруцеллезу стадах, взятых в качестве опытных, число выявляемых инфицированных животных за 2-5 исследований через 2-6 мес. снизилось с 6,9- 14,5 (в среднем - 7,1%) до 0,0 – 0,7% (в среднем – 0,23%). Средний показатель выявленных инфицированных животных в конце опыта уменьшился по сравнению с началом опыта в 30 раз.

После внутримышечного введения препарата Нитокс-200 в объеме 1 мл на 10 кг живой массы без последующей вакцинации (контрольная группа №1) число выявленных инфицированных животных через 8 мес. за 8 систематических исследований снизилось с 10,9 до 4,6% (в 2,4 раза).

После однократной конъюнктивальной вакцинации без предварительного введения препарата Нитокс-200 (контрольная группа №2) число выявленных инфицированных животных через 11 мес. за 7 систематических исследований снизилось, но осталось практически на том же уровне, что и был при последнем исследованием перед вакцинацией (1,5%).

В стаде с естественным течением бруцеллеза, в котором Нитокс-200 не применяли и последующую конъюнктивальную вакцинацию не проводили (контрольная группа №3), число выявленных инфицированных животных через 3.5 мес. за 6 систематических исследований возросло с 8,5 до 19,3% (в 2,1 раза).

Выводы и обсуждения. Максимально быстро и надежно купировать бруцеллезную инфекцию в эпизоотическом очаге возможно только тогда, когда мероприятия, направленные на разрыв и нейтрализацию всех звеньев эпизоотической цепи (источник возбудителя инфекции, механизм передачи и восприимчивый организм), будут комплексными и способными своевременно блокировать все реальные и потенциальные механизмы развития эпизоотического процесса.

Перечисленным требованиям соответствует, по результатам экс-

периментов и производственных опытов, схема купирования бруцеллезной инфекции, предусматривающая внутримышечное введение животным антибактериального препарата Нитокс-200 в дозе 20 мг/кг, с последующей их конъюнктивальной иммунизацией (через 8 дней) вакциной из штамма B. abortus 19 (1/10 подкожной дозы), что обеспечивает полную элиминацию бруцелл из организма инфицированных животных в течение 1 месяца.

Важно в этой связи отметить, что проводимая вакцинация обеспечивает иммунитет, способствующий недопущению рецидивирования болезни за счет создания препятствий для возможной реверсии оставшихся в организме измененных форм возбудителя.

Дополнительные гарантии обеспечивает дальнейшая ранняя поствакцинальная диагностика, которая, используя провоцирующие свойства вакцины, выявляет спровоцированных бруцеллоносителей.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Димов С.К. Теория и практика управления эпизоотическим процессом бруцеллеза: автореф. дис. … д-ра ветеринар. наук. - Новосибирск, 1993. 43 с.

2. Авилов В.М. Эпизоотологический надзор при бруцеллезе крупного рогатого скота в современных условиях: дис….д-ра ветеринар. наук / Нижегородская государственная сельскохозяйственная академия. Нижний Новгород, 1997. 360 с.

3. Косилов И.А., Аракелян П.К., Димов С.К. и др. Бруцеллез сельскохозяйственных животных. Новосибирск, 1999. 344 с.

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

5. Димова А.С. Теоретическое, экспериментальное и практическое обоснование технологичности использования различных методов и средств контроля эпизоотического процесса бруцеллеза: автореф. дис. …д-ра ветеринар. наук. Ставрополь, 2018. 47 с.

6. Беляков В.Д., Голубев Д.Б., Каминский Г.Д., Тец В.В. Саморегуляция паразитарных систем (молекулярно-генетические механизмы). М., 1987. 287 с.

7. Беляков В.Д., Яфаев Р.Х. Эпидемиология. М.: Медицина, 1989. 416 с.

8. Аракелян П.К., Трегубов А.Н., Руденко А.В., Вергун А.А., Ильин Е.Н., Христенко Н.В., Димова А.С., Димов С.К. Анализ эффективности борьбы с бруцеллезом крупного рогатого скота без вакцинации // Ветеринария. 2019. №5. С. 9-12.

9. Красиков А.П. Новые механизмы искусственной регуляции паразитохо-

зяинных отношений при бруцеллезе животных: автореф. дис. … д-ра ветеринар. наук. Новосибирск, 1996. 42 с.

10. Тен В.Б. Методологические основы изготовления и совершенствования профилактических противобруцеллезных препаратов и диагностических средств: автореф. дис. … д-ра ветеринар. наук. Алматы, 1996. 45 с.

11. Красиков А.П. Искусственная регуляция паразито-хозяинных отношений при бруцеллезе животных. Омск, 2002. 271 с.

12. Аракелян П.К., Бондарева О.В., Разницына Г.В., Барабанова Е.Б., Димов С.К., Димова А.С. Экспериментальная лабораторная модель купирования бруцеллезной инфекции // Ветеринария 2013. №8. С. 29-31.

RELIEF OF BRUCELLOSIS INFECTION IN EPIZOOTIC FOCI (THEORETICAL AND PRACTICAL ASPECTS)

P.K. Arakelyan, E.N. Ilyin, A.N. Tregubov, A.V. Rudenko, A.A. Vergun, N.V. Khristenko, T.A. Yanchenko, A.S. Dimova, S.K. Dimov

Complex measures that timely block all real and potential mechanisms of epizootic process development are able to stop brucellosis infection as quickly and reliably as possible. These include, in particular, a scheme that provides for intramuscular administration of the antibacterial drug Nitox-200 to animals at a dose of 20 mg/kg, followed by their conjunctival immunization (after 8 days) with a vaccine from the strain B. abortus 19 (1/10 of the subcutaneous dose), which ensures the elimination of Brucella from the body of infected animals within 1 month, and also creates obstacles to the possible reversal of the modified forms of the pathogen remaining in the body. Additional guarantees are provided by further early post-vaccination diagnostics, which, using the provoking properties of the vaccine, reveals hidden Brucella carriers.

Keywords: *treatment of brucellosis infection, Nitox-200, vaccination, post-vaccination studies.*

УДК619: 616.981:42

ПОСТВАКЦИНАЛЬНАЯ ДИАГНОСТИКА БРУЦЕЛЛЕЗА ЖИВОТНЫХ (ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ И ПРАКТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ)

П.К. Аракелян[1]*, доктор ветеринар. наук,* **Н.В. Христенко**[1], **А.Н. Трегубов**[1], **А.В. Руденко**[1], **А.А. Вергун**[1], **Е.Н. Ильин**[1], **Т.А. Янченко**[2]*, канд. биол. наук,* **А.С. Димова**[3]*, доктор ветеринар. наук,* **С.К. Димов**[3]*, доктор ветеринар. наук*

[1]Научно-производственная лаборатория диагностики и профилактики бруцеллеза животных государственного казенного учреждения Ставропольского края «Ставропольская краевая станция по борьбе с болезнями животных», г. Ставрополь, РФ, arakelyan.pk@mail.ru

[2]Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Омский аграрный научный центр», г. Омск, РФ, tatyana_vass@mail.ru

[3]Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Новосибирский государственный аграрный университет», г. Новосибирск, РФ, alesya-77@mail.ru

В поствакцинальной серологической диагностике бруцеллеза животных принципиально важны диагностикумы, изготовленные из типичных бруцелл в S-форме. На фоне получаемых результатов РА и РСК О-ПС антиген (О-цепь полисахаридов) в реакции иммунодиффузии (РИД) в агаровом геле и ИФА (в качестве экспресс-метода) объективно оценивать уровень проявления вирулентных свойств циркулируемых в стадах и отарах возбудителей. У здорового крупного рогатого скота, иммунизированного слабоагглютиногенными противобруцеллезными вакцинами, характерны высокие титры РСК с R-антигеном при низких титрах РА и РСК с S-антигеном. R-антиген из природной R-формы–B. ovis (в сравнении с антигенами из искусственных R-форм), оказался более эффективным. Исследования по оптимизации дифференциальной поствакцинальной диагностики бруцеллеза животных продолжаются.

Ключевые слова: *бруцеллез животных, вакцинация, поствакцинальная дифференциальная диагностика.*

Современная стратегия борьбы с бруцеллезом животных в РФ остается немыслимой без широкого применения вакцин по определенным схемам, обеспечивающим перманентный иммунитет, препятствующий в угрожаемых стадах возможности заражения животных, а в неблагополучных стадах – реверсии циркулирующего возбудителя с обеспечением тенденции к его элиминации. Однако контролировать эпизоотическое благополучие и своевременно выявлять эпизоотически опасных животных, спровоцированных вакцинами, призвана рациональная поствакцинальная диагностика с использованием различных серологических методов. В ее задачи также входит объективная дифференциация серологических реакций вакцинного происхождения от инфекционного и недопущение на этой основе необоснованной сдачи на убой реагирующих животных [1-5 и др.].

Данная статья преследует цель проанализировать современное состояние проблемы поствакцинальной диагностики бруцеллеза животных.

Материалы и методы. Обобщению и анализу были подвергнуты материалы исследований, отражающие проблему поствакцинальной диагностики бруцеллеза животных.

Результаты. В арсенале массовой диагностики бруцеллеза животных, как известно, существует достаточно большое число серологических тестов.

Однако их применение в поствакцинальной дифференциальной диагностике имеет существенную специфику:

– одни из них можно использовать только как предварительные рекогносцировочные (иммуноферментный анализ, РБП: обладают высоким уровнем диагностической чувствительности, поэтому в условиях вакцинации их результаты необходимо дополнять результатами применения методов, обладающих дифференцирующими возможностями);

– другие серологические тесты (РА и РСК с S-R-антигенами, РИД с О-ПС антигенами и др.) у вакцинированных животных требуют применительно к каждой конкретной схеме вакцинации своих регламентированных и научно доказанных сроков использования, а также критериев оценки и интерпретации полученных результатов.

Принципиально важными при использовании в поствакцинальной серологической диагностике бруцеллеза животных являются диагностикумы, изготовленные из типичных бруцелл в S-форме [5 и др.].

Основным, официально регламентированным бруцеллезным диагностикумом является единый антиген для РА и РСК.

Критерии диагностической оценки результатов серологических исследований сывороток крови в РА и РСК у вакцинированных животных в настоящее время, согласно Приложению №2 к «Ветеринарным правилам осуществления профилактических, диагностических, ограничительных и иных мероприятий, установления и отмены карантина и иных ограничений, направленных на предотвращение распространения и ликвидацию очагов бруцеллеза (включая инфекционный эпидидимит баранов)», утвержденным приказом Минсельхоза России от 8 сентября 2020 г. №583, выглядят следующим образом:

– у крупного рогатого скота, иммунизированного официально регламентированными слабоагглютиногенными вакцинами, РА оце-

нивается как сомнительная при титрах 50-100 МЕ, как положительная – при титрах 200 МЕ и выше; РСК оценивается как сомнительная в разведении 1:5+ и выше, как положительная – в разведении 1:10++ и выше;

– у мелкого рогатого скота, иммунизированного официально регламентированными агглютиногенными вакцинами, РА оценивается как сомнительная при титрах не выше 50 МЕ, как положительная – при титрах 100 МЕ и выше; РСК оценивается как сомнительная в разведении 1:5+, как положительная – в разведении 1: 5 и выше.

Диагностическим средством, способным на фоне полученных результатов РА и РСК при серологических исследованиях сывороток крови животных на бруцеллез) объективно оценивать уровень проявления вирулентных свойств циркулируемых в стадах и отарах возбудителей, оказался О–ПС антиген (О-цепь полисахаридов), используемый в реакции иммунодиффузии (РИД) в агаровом геле. Механизм его дифференцирующих возможностей объясняется тем, что синтез специфических преципитирующих антител (выявляемых в РИД) у животных, инфицированных вирулентными штаммами бруцелл (содержащими О-ПС антиген в большом количестве), происходит, а слабовирулентными штаммами, включая вакцинные (содержащими О-ПС антиген в незначительном количестве) – нет. [6].

Положительная РИД с О-ПС антигенами, уступая показаниям РА и РСК, является индикатором эпизоотической опасности отары или стада.

В очаге бруцеллеза, вызванного B. melitensis, число реагирующих в РИД с О-ПС М- антигеном (изготовленным из B. melitensis) на фоне иммунизации мелкого рогатого скота вакциной из штамма 19 подкожно превышало таковое с О-ПС А- антигеном (изготовленным из B. abortus) в 1,9 раза, а конъюнктивально – в 3,3 раза [5,7].

РИД с О-ПС А- антигеном оказалась способной оценивать активность проявления у крупного рогатого скота бруцеллеза, вызываемого B. abortus, даже в ранние сроки после подкожной иммунизации слабоагглютиногенными вакцинами из штаммов B. abortus 82 и 75/79-АВ и конъюнктивальной иммунизации агглютиногенной вакциной из штамма B. abortus 19 [5,8].

При исследовании сывороток крови крупного рогатого скота неблагополучных по бруцеллезу стад (с естественным течением инфекции и на фоне вакцинации) положительные показатели ИФА, осу-

ществленного с О-ПС антигеном по специально разработанной методике, позволяющей затрачивать на постановку и учет реакций 2 часа, полностью совпадали с положительными показателями официально принятой РИД с О-ПС антигеном, на постановку и учет которой уходит 48 часов. Эти результаты свидетельствуют о перспективах использования О-ПС антигена при постановке ИФА в качестве экспресс-метода [5].

Характерными критериями для реакций поствакцинальной природы у крупного рогатого скота, иммунизированного слабоагглютиногенными вакцинами, оказались высокие титры РСК с R-антигеном при низких титрах РА и РСК с S-антигеном. На этой основе был разработан комплекс дифференциально-диагностических исследований. В благополучных по бруцеллезу хозяйствах количество выявляемых животных с положительной РСК с R-антигенами среди поголовья, иммунизированного вакцинами этого типа, превышало таковое с S-антигеном в 2,2-3,3 раза. При этом преимущества овисного антигена (изготовленного из природной R-формы – B. ovis) в дифференциальной оценке поствакцинальных реакций были в 1,5-4,6 раза выше, чем у R-антигена из искусственно полученной R-формы B. abortus [5, 9].

В условиях вакцинации против бруцеллеза крупного рогатого скота молочного направления в качестве экспресс-методов дифференциальной поствакцинальной эпизоотической оценки стад коров по бруцеллезу имеют переспективы диагностические тесты с молоком (КР, РНГА, ИФА).

Нами продолжаются исследования по пути оптимизации дифференциальной поствакцинальной диагностики бруцеллеза животных с привязкой к конкретным схемам вакцинации.

Выводы и обсуждения. Принципиально важными при использовании в поствакцинальной серологической диагностике бруцеллеза животных являются диагностикумы, изготовленные из типичных бруцелл в S-форме.

Диагностическим средством, способным на фоне полученных результатов РА и РСК при серологических исследованиях сывороток крови животных на бруцеллез) объективно оценивать уровень проявления вирулентных свойств циркулируемых в стадах и отарах возбудителей, оказался О-ПС антиген (О-цепь полисахаридов), используемый в реакции иммунодиффузии (РИД) в агаровом геле и имеющий перспективу использования в ИФА в качестве экспресс-метода.

Для реакций поствакцинальной природы у крупного рогатого скота, иммунизированного слабоагглютиногенными вакцинами, характерны высокие титры РСК с R-антигеном при низких титрах РА и РСК с S-антигеном.

При этом преимущества овисного антигена (изготовленного из природной R-формы – B. ovis), в отличие от R-антигена из искусственно полученной R-формы B. abortus в дифференциальной оценке поствакцинальных реакций были в 1,5-4,6 раза выше.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Димов С.К. Теория и практика управления эпизоотическим процессом бруцеллеза: автореф. дис. … д-ра ветеринар. наук. Новосибирск, 1993. 43 с.

2. Косилов И.А., Аракелян П.К., Димов С.К. и др. Бруцеллез сельскохозяйственных животных. Новосибирск, 1999. 344 с.

3. Дегтяренко Л.В. Совершенствование существующих и разработка новых средств, методов диагностики бруцеллеза животных и инфекционного эпидидимита баранов: автореф. дис. … д-ра. ветеринар. наук. Новосибирск, 2005. 40с.

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

5. Димова А.С. Теоретическое, экспериментальное и практическое обоснование технологичности использования различных методов и средств контроля эпизоотического процесса бруцеллеза: автореф. дис. …д-ра ветеринар. наук. Ставрополь, 2018. 47 с.

6. Чекишев В.М., Колганова О.А. Средства и методы дифференциальной поствакцинальной серологической диагностики бруцеллеза животных. Новосибирск, 2010. 130 с.

7. Димов К.С. Поствакцинальная диагностика бруцеллеза мелкого рогатого скота при различных схемах специфической профилактики: автореф. дис. … канд. ветеринар. наук. Новосибирск, 2008. 17 с.

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

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

POST-VACCINATION DIAGNOSIS OF BRUCELLOSIS IN ANIMALS (THEORETICAL AND PRACTICAL ASPECTS)

P.K. Arakelyan, N.V. Khristenko, A.N. Tregubov, A.V. Rudenko, A.A. Vergun, E.N. Ilyin, T.A. Yanchenko, A.S. Dimova, S.K. Dimov

In post-vaccination serological diagnostics of animal brucellosis, diagnosticums made from typical brucellosis in S-form are of fundamental importance. Against the background of the obtained results of RA and CFT, O-PS antigen (O-chain of polysaccharides) in the reaction of immunodiffusion (RID) in agar gel and ELISA (as an express method) objectively assess the level of virulent properties of pathogens circulating in herds and flocks. Healthy cattle immunized with weakly agglutinogenic anti-brucellosis vaccines are characterized by high titers of RSC with R-antigen and low titers of RA and CFT with S-antigen. The R-antigen from the natural R-form– B. ovis (in comparison with the antigens from artificial R-forms), was more effective. Research on optimization of differential postvaccinal diagnosis of brucellosis in animals continues.

Keywords: *animal brucellosis, vaccination, post-vaccination differential diagnosis.*

УДК619: 616.981:42

СПЕЦИФИЧЕСКАЯ ПРОФИЛАКТИКА БРУЦЕЛЛЕЗА ЖИВОТНЫХ (ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ И ПРАКТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ)

П.К. Аракелян[1]*, доктор ветеринар. наук,* **А.Н. Трегубов**[1], **А.В. Руденко**[1], **А.А. Вергун**[1], **Е.Н. Ильин**[1], **Н.В. Христенко**[1], **Т.А. Янченко**[2]*, канд. биол. наук,* **А.С. Димова**[3]*, доктор ветеринар. наук,* **С.К. Димов**[3]*, доктор ветеринар. наук*

[1]Научно-производственная лаборатория диагностики и профилактики бруцеллеза животных государственного казенного учреждения Ставропольского края «Ставропольская краевая станция по борьбе с болезнями животных», г. Ставрополь, РФ, arakelyan.pk@mail.ru

[2]Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Омский аграрный научный центр», г. Омск, РФ, tatyana_vass@mail.ru

[3]Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Новосибирский государственный аграрный университет», г. Новосибирск, РФ, alesya-77@mail.ru

В современных условиях использование средств специфической профилактики бруцеллеза животных является обязательным для всех неблагополучных и угрожаемых хозяйств. При этом принципиально важно обеспечить в стаде (отаре) с помощью той или иной вакцины непрерывный иммунитет по определенной схеме, не имея препятствий в проведении поствакцинальных исследований. Иными словами, схемы специфической профилактики бруцеллеза должны быть технологичными. Таких официально регламентированных схем, в частности, для мелких хозяйств, в РФ в настоящее время пока нет. Конъюнктивальная иммунизация крупного и мелкого рогатого скота вакциной из агглютиногенного штамма B.abortus 19 в дозе, в 10 раз меньше подкожной, полностью соответствует принципу технологичности и перспективна для широкого внедрения в ветеринарную практику.

Ключевые слова: *бруцеллез, крупный и мелкий рогатый скот, вакцинация.*

Особенности механизмов формирования и развития эпизоотического процесса бруцеллеза диктуют необходимость обязательного использования во всех неблагополучных и угрожаемых стадах (отарах) средств специфической профилактики бруцеллеза [1-7 и др.].

Данная статья преследует цель проанализировать современное состояние проблемы специфической профилактики бруцеллеза животных.

Материалы и методы. Обобщению и анализу были подвергнуты материалы исследований, отражающие проблему специфической профилактики бруцеллеза животных.

Результаты. Научный и практический опыт показывает, что только с помощью вакцин и рационального их применения в сочетании с диагностикой, направленной на своевременное выявление и убой животных-бруцеллоносителей, а также мероприятиями общего ветеринарно-санитарного и организационно-хозяйственного характера можно надежно добиться противоэпизоотического и экономического эффекта. В специфической профилактике бруцеллеза животных принципиально важным оказалось обеспечение в стаде (отаре) непрерывного (перманентного) иммунитета с помощью той или иной вакцины по определенной схеме, не препятствующей осуществлять поствакцинальные исследования. Такие схемы получили определение технологичных [1-2, 5-6 и др.].

На крупном рогатом скоте от широкого использования живой вакцины из агглютиногенного штамма B. abortus 19 официально регламентированным подкожным методом в дозе 80 млрд. м.к. в СССР

отказались в 1970 году по причине длительного сохранения у взрослых вакцинированных и ревакцинированных животных серопозитивных реакций, препятствующих объективной диагностике. Подкожная однократная иммунизация вакциной из штамма 19 сохранилась лишь у молодняка. Прекращение ревакцинаций взрослого крупного рогатого скота против бруцеллеза привело к ухудшению эпизоотической ситуации, выразившемуся в массовых рецидивах и новых вспышках болезни на восприимчивом поголовье, усугубившемуся дальнейшими процессами укрупнения животноводческих хозяйств. Это натолкнуло на необходимость поиска более технологичных вакцин и схем их применения. Такими, в частности, стали живые вакцины из слабоагглютиногенных штаммов B. abortus 82 и 75/79-АВ и рациональные схемы их применения. Однако при их широком использовании проявилась нестабильность антигенных свойств, в том числе реверсия вакцинных штаммов, стали отмечать появление серологических реакций на бруцеллез, требующих объективной дифференциальной оценки [6 и др.].

Нам на основе разработанного комплекса дифференциально-диагностических исследований в условиях ряда регионов, в частности, удалось объективно доказать благополучие по бруцеллезу 68 хозяйств, в том числе предотвратить необоснованную сдачу на убой реагирующих животных.

Критериями благополучия выступили, наряду с эпизоотологическим обоснованием, отрицательные результаты РИД с О-ПС антигеном; высокие титры РСК с R-антигеном, в значительной степени превышающие в процентном отношении высокие титры с S-антигеном, в том числе в РСК. Они и подтвердили вакцинную природу реакций.

Как исключения из описанной ситуации, в ряде стад стали регистрировать высокие титры РА и РСК с S- антигеном с превалированием титров РСК с S-антигеном над таковыми с R-антигеном и даже единичное реагирование в РИД с О-ПС антигеном при отсутствии эпизоотологических оснований считать их неблагополучными по бруцеллезу. Благополучие таких стад приходилось подтверждать результатами бактериологического исследования биоматериала от животных с положительной РИД.

В процессе комплексного эпизоотологического обследования таких стад были выявлены различные факторы, способствующие проявлению у животных поствакцинальных реакций с S-диагностикумами

(совместное содержание иммунизированного и неиммунизированного поголовья, первичная иммунизация животных во взрослом состоянии, нарушения интервалов между иммунизациями и др.).

В условиях многочисленных мелких хозяйств, где допускается совместное содержание животных разных половозрастных групп, а поступление новых животных недостаточно контролируется, стало невозможным применять живые слабоагглютиногенные вакцины из-за серьезных препятствий в объективной дифференциации поствакцинальных реакций. Иными словами, они стали превращаться в нетехнологичные. Именно в таких хозяйствах из-за отсутствия вакцинации возникает большинство многочисленных острых вспышек бруцеллеза.

На мелком рогатом скоте в нашей стране для специфической профилактики бруцеллеза официально регламентированы живые вакцины из агглютиногенных штаммов B. melitensis Rev-1 и B. abortus 19. Предпочтительность последней была предопределена благодаря ее значительно меньшей реактогенности и остаточной вирулентности, по сравнению со штаммом B. melitensis Rev-1 [6 и др.].

Вакциной из штамма 19 иммунизируют и реиммунизируют мелкий рогатый скот в неблагополучных и угрожаемых отарах подкожным методом (в дозе 40 млрд. м.к.). При этом, при наличии у этой схемы противоэпизоотической и профилактической эффективности, она не технологична из-за невозможности проводить при ее применении массовые поствакцинальные исследования.

Иммунизация мелкого рогатого скота против бруцеллеза в мелких личных подсобных и крестьянско-фермерских хозяйствах также не проводится из-за отсутствия технологичных для этих условий схем, поэтому острые вспышки бруцеллеза в них – далеко не редкое явление.

В рамках концепции оптимизации специфической профилактики и поствакцинальной диагностики бруцеллеза животных в современных эпизоотических и социально-экономических условиях была предложена конъюнктивальная иммунизация животных живой вакциной из агглютиногенного штамма B. abortus 19 в уменьшенной в 10 раз дозе (по сравнению с подкожной), позволяющая: беспрепятственно осуществлять раннюю поствакцинальную диагностику с помощью комплекса РА+РСК (через 3-5 мес.) и РИД с О-ПС антигеном (через 30 дней); обеспечивать групповой иммунитет, практически не усту-

пающий по уровню подкожным иммунизациям. Она оказалась технологичной для всех типов хозяйств, в том числе и мелких [6, 8-9 и др.].

Ежегодное использование в одном из регионов на поголовье 35,9-75,5 тыс. гол мелкого рогатого скота в течение 2008-2019 годов вакцины из штамма 19 конъюнктивальным методом позволило ускорить оздоровление неблагополучных отар, а также предотвратить возникновение бруцеллеза в угрожаемых хозяйствах. В период с 2017 по 2019 год в данном регионе неблагополучных по бруцеллезу мелкого рогатого скота пунктов не зарегистрировано вообще, положительно реагирующих животных при плановых исследованиях на бруцеллез не выявлено. В течение 2014-2019 годов острых случаев заболевания людей бруцеллезом не зарегистрировано.

Противоэпизоотическую эффективность конъюнктивальной иммунизации крупного рогатого скота против бруцеллеза наблюдали даже при однократном введении вакцины в 6 неблагополучных стадах (групповой отрицательный результат исследований животных на бруцеллез за 2-9 исследований в течение 3,5-29 мес., в т.ч. в четырех – за 2 исследования в течение 3,5-7 мес.).

Выводы и обсуждения. Использование средств специфической профилактики бруцеллеза животных во всех неблагополучных и угрожаемых хозяйствах является в настоящее время обязательным. При этом принципиально важным является обеспечение в стаде (отаре) непрерывного (перманентного) иммунитета с помощью той или иной вакцины по определенной схеме, не препятствующей осуществлять поствакцинальные исследования. Иными словами, схемы специфической профилактики бруцеллеза должны быть технологичными.

Существующими в настоящее время официальными нормативными документами не предусмотрены мероприятия, которые бы гарантированно обеспечили надежное оздоровление неблагополучных по бруцеллезу хозяйств, особенно мелких. В частности, нет технологичных схем вакцинации животных.

Конъюнктивальная иммунизация крупного и мелкого рогатого скота вакциной из агглютиногенного штамма B.abortus 19 в дозе, уменьшенной в 10 раз по сравнению с подкожной, оказалась технологичной для всех типов хозяйств, в том числе и мелких. Необходимость ее широкого внедрения в ветеринарную практику очевидна.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Авилов В.М. Эпизоотологический надзор при бруцеллезе крупного рогатого скота в современных условиях: дис. … д-ра ветеринар. наук. Нижний Новгород, 1997. 360 с.

2. Косилов И.А., Аракелян П.К., Димов С.К. и др. Бруцеллез сельскохозяйственных животных. Новосибирск, 1999. 344 с.

3. Искандаров М.И. Бруцеллез животных в России: эпизоотологические особенности и совершенствование специфической профилактики: автореф. дис… д-ра ветеринар. наук. М., 2012. 45 с.

4. Гулюкин М.И., Альбертян М.П., Искандаров М.И., Федоров А.И., Коломыцев С.А. Бруцеллез сельскохозяйственных животных в Российской Федерации // Ветеринария. 2013. № 6. С. 23-28.

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

6. Димова А.С. Теоретическое, экспериментальное и практическое обоснование технологичности использования различных методов и средств контроля эпизоотического процесса бруцеллеза: автореф. дис. …д-ра ветеринар. наук. Ставрополь, 2018. 47 с.

7. Аракелян П.К., Трегубов А.Н., Руденко А.В., Вергун А.А., Ильин Е.Н., Христенко Н.В., Димова А.С., Димов С.К. Анализ эффективности борьбы с бруцеллезом крупного рогатого скота без вакцинации // Ветеринария. 2019. №5. С. 9-12.

8. Аракелян П.К., Димов С.К., Димова А.С. и др. Конъюнктивальная иммунизация мелкого рогатого скота живой вакциной из штамма B. abortus 19 // Ветеринария. 2015. №3. С. 17-21.

9. Аракелян П.К., Янченко Т.А., Разницына Г.В., Трегубов А.Н. и др. Поиск рациональных схем специфической профилактики бруцеллеза крупного рогатого скота // Ветеринария. 2016. №10. С. 14-18.

SPECIFIC PREVENTION OF BRUCELLOSIS IN ANIMALS (THEORETICAL AND PRACTICAL ASPECTS)

P.K. Arakelyan, A.N. Tregubov, A.V. Rudenko, A.A. Vergun, E.N. Ilyin, N.V. Khristenko, T.A. Yanchenko, A.S. Dimova, S.K. Dimov

In modern conditions, the use of specific prevention of brucellosis of animals is mandatory for all disadvantaged and threatened farms. At the same time, it is fundamentally important to ensure continuous immunity in the herd (flock) with the help of a particular vaccine according to a certain scheme, without having obstacles in conducting post-vaccination studies. In other words, specific brucellosis prevention

schemes should be technologically advanced. Such officially regulated schemes, in particular, for small farms, currently do not exist in the Russian Federation. Conjunctival immunization of large and small cattle with a vaccine from the agglutinogenic strain B. abortus 19 in a dose 10 times less than subcutaneous, fully complies with the principle of manufacturability and is promising for wide implementation in veterinary practice.

***Keywords**: brucellosis, cattle and small ruminants, vaccination.*

УДК 619:614.48

ИЗУЧЕНИЕ ДЕЗИНФИЦИРУЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ НОВОГО БИОЦИДНОГО ПРЕПАРАТА В ОТНОШЕНИИ BRUCELLA RANGIFERI

П.В. Аржаков, *канд. биол. наук*

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Омский аграрный научный центр», г. Омск, РФ,
e-mail: vniibtg18@anc55.ru

В данной работе было изучено дезинфицирующее действие нового биоцидного препарата в отношении B. rangiferi, по результатам проведенных исследований новый препарат обладает дезинфицирующим действием в отношении B. rangiferi, оказывая деструктивное действие на клеточную стенку и цитоплазму бактерий.

***Ключевые слова:** биоцидный препарат, B. rangiferi, дезинфицирующее действие.*

Культуры Brucella rangiferi способны вызывать инфекционный процесс основного хозяина – северного оленя, формировать самостоятельные очаги инфекции с широким ее распространением, циркулировать на неблагополучной территории и резервироваться в организме домашних и диких плотоядных [1, 2].

Наибольшую концентрацию бруцелл выявляют в местах убоя оленей и переработки продукции. Особого внимания в этом отношении заслуживают предприятия по убою северных оленей, на которые поступают животные из неблагополучных стад или пограничной с ними территории. Появляется высокая степень риска контаминации производственных объектов, инструментов, инвентаря и др. Возбудитель бруцеллеза северных оленей устойчив к действию факторов внешней среды, способен сохранять жизнеспособность при темпера-

туре 60°С в течении 30 минут, в сыром мясе до 3 месяцев, в шерсти до 4 месяцев [3].

Цель исследования – определить наличие бактерицидных свойств нового биоцидного препарата в отношении B. rangiferi.

Материалы и методы. Была изучена новая моюще-дезинфицирующая композиция, представляющая собой жидкость коричневого цвета со специфическим запахом, содержащая в своем составе в качестве действующих веществ комплекс альдегидов и поверхностно-активных веществ, а также дополнительно вспомогательные добавки.

Исследования проводили в соответствии с методическими указаниями о порядке испытания новых дезинфицирующих средств для ветеринарной практики; утв. ГУВ МСХ СССР 27.12.87 г, методическими рекомендациями по ускоренному определению устойчивости бактерий к дезинфицирующим средствам от 10.01.2002 г.

В опытах использовали: рабочие растворы новой дезинфицирующей композиции в концентрациях 0,1; 0,5; 1,0% и экспозициях 5, 10, 15 минут; тест-культуры бактерий B. rangiferi, опыты проводили без органической защиты.

Для исследования дезинфицирующей активности препарата использовали кусочки обезжиренного батиста, размером 0,5-1,0 см, стерилизованного в автоклаве.

В качестве контроля бактерицидного действия нового дезосредства использовали стерильный изотонический раствор NaCl.

Для изучения обеззараживающих свойств нового препарата использовали трансмиссионную электронную микроскопию. Исследовали в электронном микроскопе JEM 1400 (Jeol, Япония).

Результаты исследований и их обсуждение. В отношении B. rangiferi дезинфицирующее действие препарата отмечено при воздействии 1,0%-ной концентрации и 10 минутной экспозиции (таблица).

При электронно-микроскопическом исследовании нативных препаратов тест-культур в полях зрения определяли округлые и палочковидные профили, нормально структурированных микробных клеток. Отчетливо просматривались основные морфологические компоненты микробной клетки: клеточная стенка, плазмолемма, мелкозернистый матрикс рибосомальной системы и нуклеоид, представленный более светлой областью цитоплазмы (рисунок 1).

Таблица

Бактерицидное действие в отношении B. rangiferi

Концентрация, в % (по препарату)	Экспозиция, мин	Тест-культура B. rangiferi	Концентрация, в % (по препарату)	Экспозиция, мин	Тест-культура B. rangiferi
0,1	5	+	1,0	5	+
	10	+		10	-
	15	+		15	-
0,5	5	+	Контроль NaCl		+
	10	+			
	15	+			

Примечание: (+)-рост; (-)- отсутствие роста

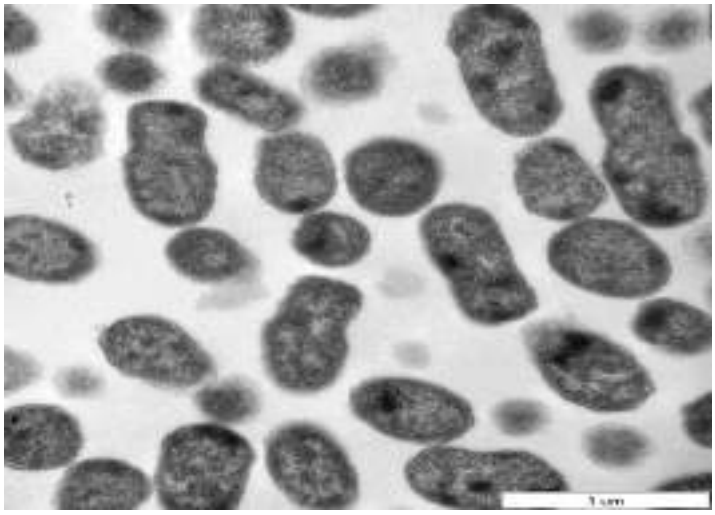

Рисунок 1 – B. rangiferi – контроль. Нормальная морфология бактериальных клеток

Бактерицидный эффект после 10 минутной воздействия 1%-ной концентрации рабочего раствора дезинфектанта на B. rangiferi сопровождался: вакуолизацией цитоплазмы, сегрегацией ее содержимого, потерей четкости контуров клеточной оболочки бактериальных клеток эти дегенеративные изменения приводили к дальнейшему лизису бруцелл (рисунок 2).

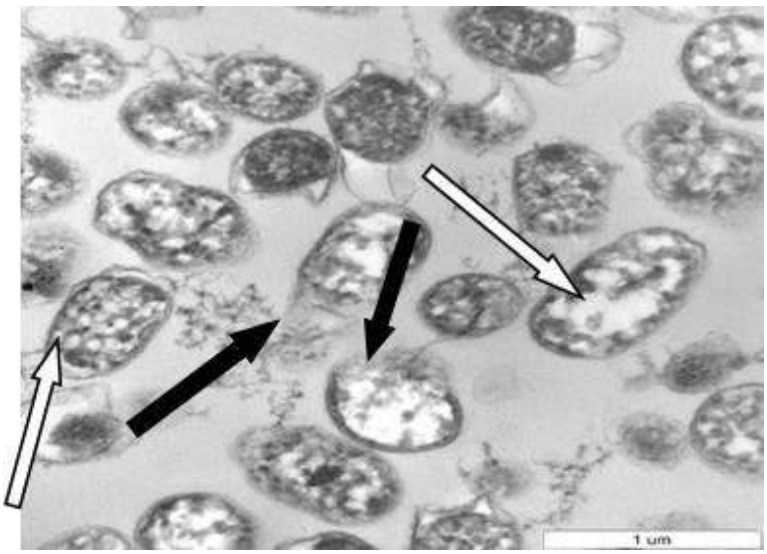

Рисунок 2 – B. rangiferi. Вакуолизация цитоплазмы (белые стрелки), разрывы клеточной оболочки (черные стрелки). Лизис микробных клеток

Заключение. Новый биоцидный препарат обладает дезинфицирующим действием в отношении B. rangiferi в концентрации 1,0% при 10 минутной экспозиции, оказывая деструктивное действие на клеточную стенку и цитоплазму бактерий.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Гордиенко Л.Н., Куликова Е.В., Новиков А.Н., Забродин В.А. Технологические приемы создания иммунной защиты у северных оленей от бруцеллеза на территории Российской Федерации // Ветеринария и кормление. 2018. №5. С. 31-33.

2. Гордиенко Л.Н., Куликова Е.В., Новиков А.Н. Система мониторинга за эпизоотической обстановкой по бруцеллезу северных оленей и способы повышения его эффективности в современных условиях // Ветеринария и кормление. 2017. №3. С. 31-32.

3. Куликова Е.В., Гордиенко Л.Н. Эффективность использования пантов северных оленей при диагностике бруцеллеза // Ветеринарный врач. 2014. №6. С. 9-12.

STUDY OF THE DISINFECTING EFFECT OF A NEW BIOCIDAL PREPARATION AGAINST BRUCELLA RANGIFERI

P.V. Arzhakov

In this work, the disinfecting effect of a new biocidal drug against B. rangiferi was studied; according to the results of the studies, the new drug has a disinfectant

effect against B. rangiferi, exerting a destructive effect on the cell wall and cytoplasm of bacteria.

Keywords: *biocidal agent, B. rangiferi, disinfecting effect.*

УДК 619:612.017.1:616-006.446:636.22/.28

ИММУННЫЙ СТАТУС КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА ПРИ ЛЕЙКОЗ-БРУЦЕЛЛЕЗНОЙ ИНФЕКЦИИ

С.Т. Байсеитов[1], **В.С. Власенко**[2], *доктор биол. наук*

[1]Федеральное государственное бюджетное общеобразовательное учреждение высшего образования «Омский государственный аграрный университет им. П.А. Столыпина», г. Омск, РФ, st.bayseitov36.06.01z@omgau.org

[2]Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Омский аграрный научный центр», г. Омск, РФ, vvs-76@list.ru

В настоящей работе представлены результаты исследования содержания числа иммунокомпетентных клеток, а также их функциональной активности при лейкозе крупного рогатого скота, осложненном бруцеллезной инфекцией. Установлены некоторые особенности изменений параметров иммунного статуса при ассоциативной инфекции относительно показателей клинически здоровых животных и носителей вируса лейкоза крупного рогатого скота (ВЛКРС).

Ключевые слова: *лейкоз, бруцеллез, иммунокомпетентные клетки, НСТ-тест.*

Известно, что огромное значение в развитии лейкозного процесса имеет естественная резистентность организма и иммунологическая реактивность, особенно параметры клеточной системы. Снижение активности неспецифических гуморальных и клеточных факторов устойчивости рассматривается как одна из причин повышения частоты опухолевых заболеваний и, в частности, лейкозов [1-3]. К тому же и сам вирус обладает иммунодепрессивными свойствами, обуславливая развитие у носителей ВЛКРС инфекционно-воспалительных осложнений и внося разнообразие в течение заболевания [4].

К настоящему времени накоплены данные об ассоциативном проявлении лейкоза с другими инфекционными заболеваниями: туберкулезом, паратуберкулезом, анаплазмозом, хламидиозом и другими [5, 6]. Следует отметить, что исследователями практически не

учитывается взаимодействие сочленов паразитоза и их влияние на иммунологические показатели организма, в частности лейкоза с бруцеллезом крупного рогатого скота.

В связи с изложенным предметом нашего исследовательского интереса стало изучение особенностей иммунного статуса крупного рогатого скота при сочетанном течении лейкоза и бруцеллеза.

Материалы и методы. Материалом для исследований служила кровь и сыворотка крови от коров красной степной и голштино-фризской породы, принадлежащих одному из сельскохозяйственных формирований Северо-Казахстанской области Республики Казахстан.

Наличие антител к ВЛКРС в сыворотке крови определяли путем постановки реакции непрямой иммунофлуоресценции – РНИФ, иммуноферментного анализа – ИФА (производство компании ID Vet, Франция) и реакции иммунодиффузии в геле агара – РИД (производство ФКП «Курская биофабрика – фирма «Биок», Россия). Антитела к возбудителю бруцеллеза также выявляли в РНИФ, ИФА (производство компании AniGen, Корея), а также с помощью роз бенгал пробы (РБП), реакций агглютинации (РА) и связывания комплемента (РСК) с единым антигеном (производство НПП «Антиген», Казахстан). Все реакции выполнены в соответствии с инструкцией по применению диагностических наборов для обнаружения специфических антител в сыворотке крови.

Концентрацию иммунокомпетентных клеток в крови определяли методами спонтанного, комплементарного и глобулинового розеткообразования в соответствии с методическими рекомендациями по оценке Т- и В-систем иммунитета у крупного рогатого скота [7].

Оценка кислородзависимых механизмов бактерицидности нейтрофилов проводилась в НСТ-тесте в спонтанном и стимулированном вариантах фотометрическим способом. Для дополнительной характеристики НСТ-теста рассчитывали функциональный резерв нейтрофилов как отношение стимулированного варианта НСТ к спонтанному [8].

Полученные результаты обрабатывали статистически с определением средних арифметических (M) и расчетом ошибок средних арифметических (m). Для оценки существенности различий между двумя средними величинами M_x и M_y использовали t-критерий Стьюдента. Различие между контролем и опытом считали достоверным только для $P \leq 0,05$.

Результаты исследований и их обсуждение. В крови 5-ти клинически здоровых коров, 5-ти носителей ВЛКРС, а также 5-ти голов с ассоциированной лейкоз-бруцеллезной инфекцией определили число иммунокомпетентных клеток в абсолютном содержании (тыс/мкл) и функциональную активность нейтрофилов в тесте с нитросиним тетразолием (ед. оп. пл.).

Результаты исследования количественного содержания иммунокомпетентных клеток в крови крупного рогатого скота опытных групп представлены в таблице.

Таблица

Содержание иммунокомпетентных клеток у крупного рогатого скота при лейкоз-бруцеллезной инфекции, M±m

Показатель	Группа		
	контрольная	носители ВЛКРС	лейкоз-бруцеллезная инфекция
Лейкоциты, тыс./мкл	6,90±0,76	6,94±0,55	9,18±0,30*
Лимфоциты, тыс./мкл	3,54±0,12	4,44±017**	5,44±0,35**
Т-лимфоциты, тыс./мкл	0,76±0,10	0,61±0,05	0,92±0,09
В-лимфоциты, тыс./мкл	0,94±0,16	1,81±0,20*	1,85±0,22*
Цитотоксические Т-лимфоциты, тыс./мкл	0,72±0,10	1,82±0,22**	1,93±0,15***

*Примечание: *p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001*

Как видно из таблицы, содержание лейкоцитов у носителей ВЛКРС составило 6,94±0,55 тыс./мкл, в то же время лейкоз-бруцеллезная инфекция сопровождалась достоверным увеличением числа лейкоцитов до 9,18±0,30 тыс./мкл против 6,90±0,76 тыс./мкл в контрольной группе.

Лейкозная инфекция как в моноварианте, так и в сочетании с бруцеллезом характеризовалась повышением количества лимфоидных клеток, которое происходило в основном за счет цитотоксических Т-лимфоцитов и В-лимфоцитов. Неодинаковой траектории изменений в опытных группах подвергалась лишь концентрация Т-лимфоцитов, которая у носителей ВЛКРС снижалась до 0,61±0,05 тыс./мкл, тогда как при сочетанном течении, напротив, увеличивалась до 0,92±0,09 тыс./мкл против 0,76±0,10 тыс./мкл у клинически здоровых животных.

На рисунке представлены результаты исследований функциональной активности нейтрофилов в НСТ-тесте.

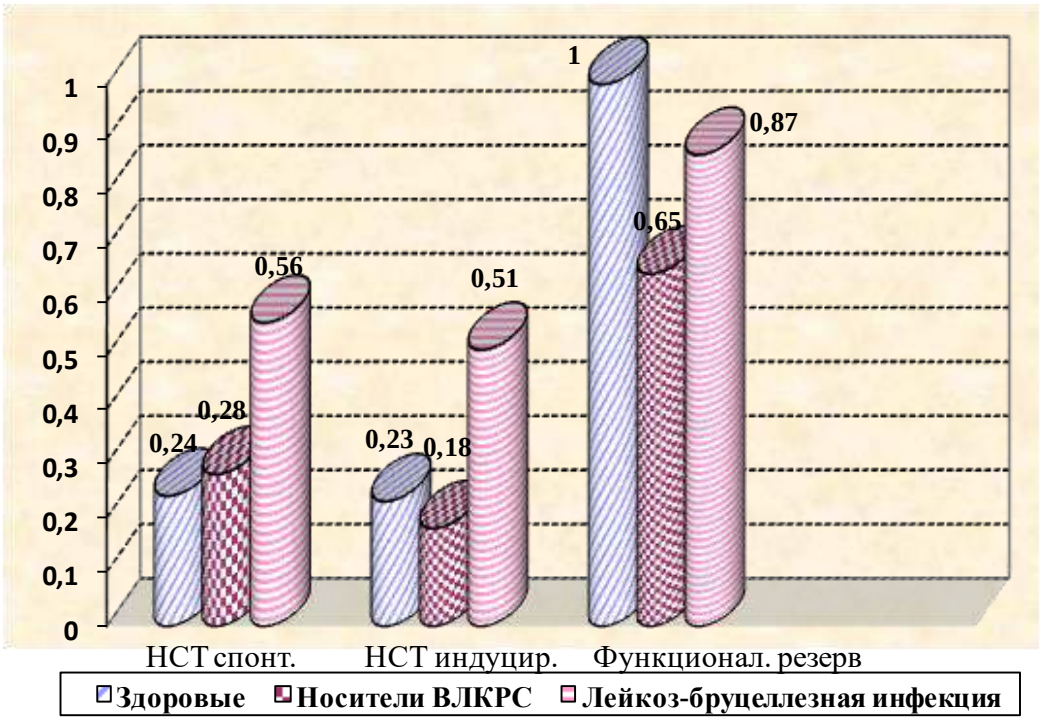

Рисунок – Параметры функциональной активности нейтрофилов в НСТ-тесте у крупного рогатого скота контрольной и опытных групп

Как видно из рисунка, инфицирование ВЛКРС осложненное бруцеллезом сопровождается выраженным увеличением уровня спонтанной и индуцированной НСТ активности в 2,33 и 2,22 раза соответственно относительно контрольной группы. Следует отметить, что на увеличение параметров НСТ-теста при лейкозе сопровождающегося инфекционно-воспалительными осложнениями также указывали другие исследователи [9-10].

Носительство ВЛКРС в отличие от ассоциативного течения, напротив, характеризовалось достоверным снижением стимулированной тетразолиевой активности, а также функционального резерва нейтрофилов.

Заключение. Иммунный статус крупного рогатого скота, инфицированного ВЛКРС, без признаков инфекционного осложнения характеризовался тенденцией к снижению числа Т-лимфоцитов, пролиферацией цитотоксических Т-лимфоцитов и В-лимфоцитов, угнетением индуцированной НСТ активности и функционального резерва

нейтрофилов. Однако при осложнении лейкозного процесса бруцеллезной инфекцией наблюдали специфические признаки, проявляющиеся ростом концентрации Т-лимфоцитов и значительной активизацией внутриклеточных бактерицидных систем нейтрофилов.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Крикун В.А., Гулюкин М.И. Научно-практическое значение вирусоиммуногенетической теории В.П. Шишкова в изучении лейкоза крупного рогатого скота (к 70-летию со дня рождения) // Труды ВИЭВ. 1999. Т. 72. С. 12-15.

2. Власенко В.С., Дудоладова Т.С., Бажин М.А., Новиков А.Н. Выявление животных с повышенным риском к заболеванию вирусом лейкоза крупного рогатого скота // Ветеринария и кормление. 2008. №4. С. 8-9.

3. Власенко В.С., Бажин М.А. Оценка иммунного статуса крупного рогатого скота при лейкозе // Сиб. вестник с.-х. науки. 2009. №9. С. 64-69.

4. Смирнов П.Н. Лейкоз крупного рогатого скота: проблемы и их решение на уровне субъекта Федерации // Ветеринария Кубани. 2007. №4. С. 4-6.

5. Смирнов П.Н., Ерова Л.М., Донченко В.Н. и др. Характеристика ИКС жвачных при ассоциативном развитии инфекции лейкоза и туберкулеза // Инновации и продовольственная безопасность. 2016. №2(12). С. 52-59.

6. Логинов С.И. Изменения показателей крови у коров, инфицированных вирусом лейкоза, при осложнении анаплазмозом с острым течением // Вестник Новосибирского ГАУ. 2019. №4(53). С. 48-54.

7. Бажин М.А., Мироненко В.А., Переходова С.К., Солодовников В.Л., Пацула Ю.И. Методы оценки Т- и В-систем иммунитета у крупного рогатого скота при бруцеллезе и туберкулезе: методические рекомендации. Омск, 1989. 37с.

8. Методы иммунологической оценки животных, сенсибилизированных измененными формами бруцелл: методическое пособие / Л.В. Дегтяренко [и др.]. Москва, Омск, 2017. 32 с.

9. Логинский В.Е., Короткий В.В. Тест восстановления нитросинего тетразолия у здоровых людей и у больных острым лейкозом // Лабораторное дело. 1978. №1. С. 3-5.

10. Иванов А.И., Власенко В.С. Применение теста с нитросиним тетразолием для выявления животных с повышенной чувствительностью к лейкозной инфекции // Достижения науки и техники АПК. 2015. Т. 29. №4. С. 61-62.

IMMUNOLOGICAL STATUS OF THE LEUKEMIA AND BRUCELLOSIS INFECTED BOVINE CATTLE

S.T. Baiseitov, V.S. Vlasenko

The results of the research intended to determine the immune competent cells number and their functional activity in brucellosis-complicated bovine leukemia are

specified in the present paper. Some characteristic changes in the immunological status parameters were determined for association infection as compared with the parameters of apparently healthy animals and bovine leukemia virus (BLV) carriers.

Keywords: *leukosis, brucellosis, immunocompetent cells, NBT-test.*

УДК 619:161.991.42

ИСТОРИЯ СОЗДАНИЯ РЕСУРСНОЙ КОЛЛЕКЦИИ БРУЦЕЛЛ ВО ВСЕРОССИЙСКОМ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОМ ИНСТИТУТЕ БРУЦЕЛЛЕЗА И ТУБЕРКУЛЕЗА ЖИВОТНЫХ

Л.Н. Гордиенко, *канд. ветеринар. наук,* **Т.А. Янченко**, *канд. биол. наук,* **А.Н. Новиков**, *канд. ветеринар. наук,* **Е.В. Куликова**

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Омский аграрный научный центр», г. Омск, РФ, 55asc@bk.ru

Описаны основные этапы изучения свойств возбудителей бруцеллеза в течение 130 лет и формирование таксономии рода Brucella. Дано обоснование целесообразности создания музейной коллекции во Всероссийском НИИ бруцеллеза и туберкулеза. В коллекции находятся 247 штаммов шести видов возбудителей. По фенотипическим признакам все штаммы классифицированы как типичные (в S - форме), нетипичные (в R - форме) и измененные (в L - форме) на разных стадиях трансформации. Результаты изучения свойств бруцелл различных видов in vitro и в экспериментах на лабораторных животных позволяют получить новые научные данные об особенностях и закономерностях бруцеллезной инфекции и эпизоотического процесса, разработать новые и усовершенствовать существующие методы и средства диагностики и специфической профилактики и повысить эффективность противобруцеллезных мероприятий.

Ключевые слова: *бруцелла, вид, штамм, свойства, коллекция.*

Более 130 лет прошло с того исторического времени, когда впервые был обнаружен возбудитель бруцеллеза, получивший название Micrococcus melitensis (мальтийский микрококк) [1]. Это открытие принадлежит английскому врачу Давиду Брюсу (D. Bruce, 1886г), который обнаружил микрококки при микроскопии тканей селезенки солдата, умершего от лихорадки на острове Мальта.

Системное изучение заболевания было впервые проведено английской комиссией в начале XX столетия в связи с распространением мальтийской лихорадки среди военнослужащих английского гарнизона на о. Мальта. Комиссией было установлено, что заболевание у

людей и у коз вызвано одним и тем же возбудителем инфекции [2]. В последующие годы учеными было установлено, что этот микрококк вызывает заболевание у других видов животных (крупный рогатый скот, свиньи).

В течение всего периода изучения бруцеллеза до настоящего времени происходит накопление новых знаний о бруцеллах и о бруцеллезной инфекции, совершенствуются методы обнаружения возбудителя в разных объектах и условия сохранения его жизнеспособности.

Формирование таксономической классификации возбудителей рода Brucella начала американская исследовательница Ивенс (Evans) в 1918 году.

В последующие годы результаты исследований ученых всего мирового сообщества позволили получить данные о распространении бруцеллеза в странах на разных континентах планеты; определить виды животных, восприимчивых к бруцеллезу; составить представление о характеристике бруцелл и определить их нозологические формы.

В 1929 году американским исследователем Хеддельсоном (Huddelson) была предложена классификация состоящая из трех типов бруцелл:

1-й тип – Br. melitensis = Micrococcus melitensis (Bruce);

2-й тип – Br. abortus = Bac. abortus bovis (Bang);

3-й тип – Br. = Bac. abortus suis (Traum).

В последующие годы (с 1966 года) Подкомитетом по таксономии бруцелл Международного комитета по номенклатуре бактерий в классификацию возбудителей бруцеллеза были внесены новые данные о видах бруцелл, серотипах и их основных хозяевах [3].

Открытие явления изменчивости микроорганизмов и в том числе бруцелл, произошедшее в первой половине прошлого столетия, расширило представление ученых-биологов о их возможности изменять свои основные признаки и формы существования в процессе эволюции при взаимодействии с внешними факторами [4, 5].

Это послужило основанием для включения в таксономию рода Brucella некоторых штаммов, отличающихся от трех основных видов бруцелл по ряду характерных для типичных форм признаков.

Экспертами Подкомитета по таксономии эти штаммы получили обозначение как нетипичные для видов бруцелл (Альтон Дженс,

1961; Meyer, 1964; Morgan 1966).

С открытием новых видов возбудителя бруцеллёза, в том числе и состоящих из нетипичных форм, таксономия бруцелл постоянно пополняется новыми данными.

В настоящее время Подкомитетом ФАО/ВОЗ признаны 11 видов и 15 биоваров бруцелл, которые классифицированы и внесены в таксономическую таблицу [6, 7, 8].

Типичные (S-) и нетипичные (R-) формы бруцелл отличаются достаточно стабильными характерными признаками и в одних и тех же оптимальных условиях способны их сохранять в течение длительного времени.

Вместе с этим работы ряда отечественных и зарубежных авторов, а также результаты многолетних исследований, проведенных в лаборатории Экологии L- форм бруцелл, показали, что явление трансформации имеет достаточно широкое распространение и может возникать in vitro и in vivo под действием различных факторов [9, 10, 11].

В процессе работы в очагах бруцеллезной инфекции в период ее широкого распространения, хронизации эпизоотического процесса, при возникающих рецидивах и спорадических случаях сотрудниками института были выделены бруцеллы от разных видов животных и оставлены в музее для дальнейшего изучения.

При проведении бактериологических исследований использованы элективные питательные среды жидкие (МПБ) и плотные (МППА, МППГГА, эритритагар, бруцеллагар). Для отдельных штаммов созданы анаэробные условия культивирования, а некоторые сохраняли жизнеспособность при наличии в питательной среде определенных белковых компонентов.

Идентификацию изолированных культур осуществляли по основным культуральным, тинкториальным, фенотипическим, агглютинабельным, биохимическим признакам.

При идентификации эпизоотических штаммов бруцелл проводили сравнительную оценку основных свойств с музейными культурами вакцинных и референтных штаммов.

L- формы бруцелл, выделенные от животных в очагах бруцеллеза, идентифицировали по комплексу признаков при сравнении с экспериментально полученными L- культурами бруцелл [12, 13].

С целью получения экспериментального штамма бруцелл в L-форме были получены реверсибельные культуры бруцелл сферо-

пластного типа трансформированные in vitro под действием антибиотиков из вакцинного штамма B. abortus 19.

В дальнейшем экспериментально полученные L- культуры были использованы для изготовления специфических диагностических препаратов (L- сывороток и L- антигенов) и при идентификации эпизоотических L- штаммов бруцелл.

В течение нескольких десятилетий (1970-2020 гг.) ученые института проводили исследования по изоляции и изучению свойств бруцелл, циркулирующих на территории Сибири и Дальнего Востока.

Результаты анализа и оценки свойств изучаемых культур позволили создать коллекцию штаммов различных видов и форм бруцелл.

В процессе работы создана ресурсная коллекция бруцелл, которая в настоящее время насчитывает 247 штаммов, из них: референтных – 9, вакцинных – 14, эпизоотических – 200, экспериментально полученные – 24 (таблица 1).

Таблица 1

Структура ресурсной коллекции штаммов бруцелл ВНИИБТЖ

Вид бруцелл	Количество штаммов				
	вакцинные	референтные	эпизоотические	экспериментально полученные	Всего
B. abortus	11	4	48	21	84
B. melitensis	2	3	-	-	5
B. suis	1	1	-	-	2
B. rangiferi (B. suis bv.4)	-	-	118	-	118
B. ovis	-	-	13	3	16
B. canis	-	1	21	-	22
Итого:	14	9	200	24	247

Из таблицы 1 видно, что по видовому составу ресурсная коллекция представлена 6 видами бруцелл: B. abortus – 84 штамма, B. melitensis – 5 штаммов, B. suis – 2 штамма, B. rangiferi (B.suis bv.4) – 118 штаммов, B. ovis – 16 штаммов, B. canis – 22 штамма.

Многолетнее изучение свойств штаммов бруцелл ресурсной коллекции ВНИИБТЖ позволило получить данные по разнообразию морфологических, тинкториальных, агглютинабельных, биохимических и др. свойств. По фенотипическим признакам их условно можно

разделить на группы: типичные (S), нетипичные (R) и измененные на разных стадиях трансформации - SR, L, RL, SL, SRL (таблца 2).

Таблица 2

Морфологическая характеристика штаммов бруцелл ресурсной коллекции ВНИИБТЖ

Вид бруцелл	Морфология колоний						
	типичные (S)	нетипичные (R)	измененные				
			SR	L	RL	SL	SRL
B. abortus	29	6	25	21	-	1	2
B. melitensis	5	-	-	-	-	-	-
B. suis	2	-	-	-	-	-	-
B. rangiferi (B.suis bv.4)	26	3	-	78	1	2	8
B. ovis	-	12	1	3	-	-	-
B. canis	-	22	-	-	-	-	-
Итого:	62	43	26	102	1	3	10

Из таблицы 2 видно, что ресурсная коллекция бруцелл ВНИИБТЖ разнообразна по морфологии колоний и представлена типичными культурами в S-форме - 62 штамма, нетипичными в R-форме – 43 штамма, измененными: в SR- форме – 26 штаммов, в L-форме – 102 штамма, в RL-форме – 1 штамм, в SL-форме – 3 штамма, в SRL-форме – 10 штаммов.

Отдельные штаммы из ресурсной коллекции сотрудники института используют при проведении научных исследований по государственному заданию №0797-2019-0018 «Разработка новых и усовершенствование существующих средств и методов диагностики и профилактики хронических инфекций животных, обеспечивающих эффективный контроль эпизоотического процесса в современных условиях».

Культуры музейных штаммов использованы при разработке новых методов и средств диагностики бруцеллеза. Из культур бруцелл, находящихся в типичной (S-), нетипичной (R-) и измененной (L-) форме изготовлены экспериментальные образцы специфических бруцеллезных антигенов и гипериммунных сывороток для диагностических тест-систем.

В эксперименте на лабораторных животных, с использованием эпизоотических и вакцинных штаммов бруцелл, воспроизведены мо-

дели паразито-хозяинных отношений при инфекционном и поствакцинальном процессах.

Основные фенотипические и биологические свойства музейных штаммов представляют особый интерес при изучении патогенеза, иммуногенеза, генерализации, персистенции, миграции и других закономерностей и особенностей инфекционного процесса при бруцеллезе.

Накопленные научные данные и пополнение новых сведений о возбудителе бруцеллеза позволяют усовершенствовать методы диагностики и повышать ее эффективность на различных этапах проявления инфекции, прогнозировать развитие эпизоотии, предотвращать рецидивы в оздоравливаемых стадах и отарах, снимать риск заноса и распространения болезни среди восприимчивых животных и обеспечивать ветеринарное благополучие.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Колычев Н.М., Ощепков В.Г. Зоопатогенные бактерии и меры борьбы с ними. Омск, 2001. С 172-201.

2. Триленко П.А. Бруцеллез сельскохозяйственных животных. Л. Колос, 1976. С. 5-13.

3. WHO Technical Report Series № 740, 1986.

4. Тимаков В.Д., Коган Г.Я. Биология L-форм бактерий. 1961. С. 176.

5. Прозоровский С.В. Кац Л.Н. L-формы бактерий. М.: Медицина, 1981. 178 с.

6. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals, 2018. C. 355-398.

7. Buchanan A.M. Atipical coloni-like structures developing in control media and in clinical L-form cultures contures containing serum // Vet. Microbiol. 1982. Vol. 7. N1. P. 1-18.

8. Carrere L., Roux J. Obtaining L-forms of Brucella melitensis // Ann. Inst. Pasteus. 1953. Vol. 4. N84. P. 796-798.

9. Montgomerie John, Kalmanson Guze M., Guze Lucien B. Fatty acid composicion of L-forms of Streptococcus faercalis and Proteus migabilis cultured at different osmolaties // Curr. Microbiol. 1981. Vol. 6. N5. P. 301-303.

10. Guagy Dominigue, Fevre Michel. Protoplast production form saprolegnio monocia // Microbiol. 1982. Vol. 24. N136. P. 96-98.

11. Ощепков В.Г., Гордиенко Л.Н. L-трансформация бруцелл: значение в эпизоотическом процессе и эволюции рода Brucella // Ветеринарная патология. 2004. №4(11). С. 36-45.

12. Методы индикации и идентификации L-форм бруцелл: рекомендации /

В.Г. Ощепков, Л.Н. Гордиенко, В.И. Околелов, Е.Б. Барабанова. – Новосибирск, 2004. 10 с.

13. Баранникова Н.Л. Получение и биологические особенности бруцелл в L-форме: автореф. дис…канд. биол. наук. – Иркутск, 2014 20 с.

HISTORY OF THE BRUCELLA RESOURCE COLLECTION AT THE ALL RUSSIAN RESEARCH INSTITUTE OF BRUCELLOSIS AND TUBERCULOSIS OF ANIMALS

L.N. Gordienko, T.A. Yanchenko, A.N. Novikov, E.V. Kulikova

The main stages of studying the properties of Brucella pathogens for 130 years and the formation of the taxonomy of the genus Brucella are described. The rationale for creating a Museum collection in the all-Russian research Institute of brucellosis and tuberculosis is given. The collection contains 247 strains of six types of pathogens. According to phenotypic characteristics, all strains are classified as typical (in S - form), atypical (in R - form) and modified (in L - form) at different stages of transformation. The results of studying the properties of various types of Brucella in vitro and in experiments on laboratory animals allow us to obtain new scientific data on the features and patterns of brucellosis infection and epizootic process, to develop new and improve existing methods and tools for diagnosis and specific prevention, and to increase the effectiveness of anti-brucellosis measures.

Keywords: *brucella, species, strain, properties, collection.*

УДК 619:579:841.93

ДИНАМИКА ВОССТАНОВЛЕНИЯ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ПРИЗНАКОВ У БРУЦЕЛЛ В L-ФОРМЕ НА ИСКУССТВЕННЫХ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕДАХ В ПРОЦЕССЕ РЕВЕРСИИ

Л.Н. Гордиенко, *канд. ветеринар. наук*

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Омский аграрный научный центр», г. Омск, РФ,
gordienko-vniibtg@mail.ru

На модели двух эпизоотических штаммов бруцелл, выделенных от северных оленей, находящихся в измененной (L-) форме, показана динамика изменения морфологических признаков и состава популяции микробных клеток в процессе хранения на искусственных питательных средах. В течение двадцати лет (период наблюдения) изучаемые культуры, по разному, проявляли реверсибельные свойства, но в популяции обеих культур отмечали заметные изме-

нения по состоянию количества исходных клеток сферопластного типа к реверсированным в типичную форму. Отмечено, что процесс реверсии у изучаемых культур происходил спонтанно и неодинаково. L-формы бруцелл при отсутствии индуцирующего фактора in vitro проявляли способность к реверсии с частичным или полным восстановлением морфологических признаков, характерных для типичных бруцелл.

Ключевые слова: *бруцеллы, L-форма, морфологические признаки, реверсия.*

Изменения морфологических признаков при культивировании бактерий на искусственных питательных средах до конца 18 века многие ученые расценивали как лабораторные причуды. Впервые полиморфизм популяций был описан в 1894 году Н.Ф. Гамалея. И только в 1935 году английская исследовательница Klieneberger-Nobel, находясь на стажировке в институте имени Листера (Франция) в результате своих многократно повторяющихся экспериментов описала процесс трансформации бактерий. Микроорганизмы с изменёнными фенотипическими признаками получили названия L-форм, в честь института, в котором было установлено данное открытие. В последующие годы направления исследований, связанные с изменчивостью микроорганизмов, получило дальнейшее развитие во многих областях знаний, в том числе и в инфекционной патологии.

Ряд работ отечественных и зарубежных авторов посвящено описанию процесса трансформации микроорганизмов в L-форму [2, 10]. Из всего многообразия L-форм наибольшее значение для эпидемического и эпизоотического процесса имеют относительно стабильные формы начальной стадии трансформации: сферопласты и протопласты [4, 6, 11]. В отсутствии индуцирующего фактора они способны реверсировать с частичным или полным восстановлением основных признаков исходных форм [1, 3, 7].

Для клеток сферопластного типа характерна сферическая форма, частичная или полная утрата поверхностных слоев клеточной оболочки с антигенными комплексами, увеличение размера, изменение окраски анилиновыми красителями, неоднородность популяции.

Бруцеллы, как и многие другие микроорганизмы, подвержены воздействию факторов внешней среды. Под действием физических, химических и биологических факторов клетки бруцелл адаптируются к возникшим условиям, изменяя, прежде всего свои фенотипические и биологические свойства [8, 9].

На ранних стадиях трансформации клетки бруцелл приобретают сферическую форму, изменяют размеры и утрачивают специфичность окраски по Грамму и Козловскому [5]. В таком состоянии бруцеллы сохраняют жизнеспособность, возможность адаптироваться к условиям искусственных питательных сред и реверсировать в исходную форму.

С целью изучения способности L-форм бруцелл к реверсии используют пассажи через организм восприимчивых лабораторных животных или многократные пересевы на искусственных питательных средах без индуцирующего фактора.

В лабораторной практике в отдельных случаях реверсия происходит спонтанно с полным или частичным восстановлением фенотипических признаков, характерных для исходных форм бруцелл.

Целью наших исследований являлось провести анализ и оценить динамику изменений морфологических свойств некоторых штаммов бруцелл из ресурсной коллекции, находящихся в L-форме.

Материал и методы. Исследования проводили в лаборатории экологии Всероссийского научно-исследовательского института (ВНИИБТЖ) в период с 2000 по 2018 гг.

Для анализа использовали три культуры, изолированные из свежих пантов северных оленей в 2000 году.

Животные принадлежали одному из оленеводческих хозяйств Ямало-Немецкого автономного округа. Хозяйство имело статус неблагополучного по бруцеллезу северных оленей. Интенсивность распространения инфекции в стадах было незначительной и составляла 5%.

Культуры были выделены из пантов клинически здоровых животных бактериологическим методом, идентифицированы как бруцеллы по комплексу признаков. Принадлежность к роду Brucella была определена при помощи ПЦР-анализа ФКУЗ «Иркутский ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока», 2015 г.

Культуры хранили в нативном состоянии в условиях искусственных питательных сред при температуре +8. Для сохранения жизнеспособности культур и пересевали с периодичностью один раз в 6 месяцев. При каждом пересеве изучали их культуральные и фенотипические свойства, состав популяций, количественное соотношение микробных клеток с различной морфологией и фиксировали данные о каждой генерации.

В качестве контроля использовали музейные культуры вакцинных, референтных и эпизоотических штаммов бруцелл, находящихся в типичной (S)-форме (B. abortus 19, B. abortus 54, B. suis 1330, B. suis 61, B. rangiferi 181), а также культуры бруцелл в L-форме, трансформированные in vitro под действием антибиотиков на элективных питательных средах (B. abortus 19-L5., B. rangiferi 181-L).

Результаты исследований и их обсуждение. Все культуры бруцелл находящиеся в типичной (S)-форме представляли однородную популяцию клеток микрококков размером от 0,4 до 0,8 мкм, которые окрашивались в красный цвет по Козловскому и были грамотрицательными.

Культуры бруцелл в L-форме отличались полиморфизмом и в составе популяций имели клетки сферопластного типа диаметром до 2,0-3,0 мкм и мелкие кокки от 0,4- до 0,8 мкм (таблица 1).

Таблица 1

Морфология контрольных штаммов культур бруцелл, находящихся в типичной (S-) и измененной (L-) форме

Наименование штамма	Морфология клеток					
	микроккоки		клетки сферической формы			
	0,4-0,6 мкм	0,6-0,8 мкм	0,8-1,0 мкм	1,0-1,5 мкм	1,5-2,0 мкм	2,0-3,0 мкм
B. abortus 19 (S)	90%	10%	0	0	0	0
B. abortus 54 (S)	100%	0	0	0	0	0
B. suis 1330 (S)	95%	5%	0	0	0	0
B. suis 61 (S)	100%	0	0	0	0	0
B. rangiferi 181 (S)	97%	3%	0	0	0	0
B. abortus 19 L5	5%	10%	0	5,0%	0	80%
B. rangiferi 181(h)	5%	5%	10%	0	10%	70%

Все изучаемые культуры имели неоднородный состав популяций.

Культуры № 1715 первоначально состояла из грамположительных сферопластов диаметром 1,0-1,5 мкм (90%) и 2,0-3,0 мкм (10%). В популяции культуры № 1724 также преобладали сферопласты d 1,0-1,5мкм (80%) и остальную часть составляли клетки сферической формы d 2,0-3,0 мкм. Популяция культуры № 1726 состояла из крупных сферопластов d 2,0-3,0 мкм (90%) и микрококков d до 0,6 мкм (таблица 2).

Таблица 2

Состав популяции и морфология изученных L-форм бруцелл в процессе реверсии in vitro

Дата исследования, генерация пересева (г)	Морфология и размер клеток					
	микроккоки		клетки сферической формы			
	до 0,6 мкм	0,6-0,8 мкм	0,8-1,0 мкм	1,0-1,5 мкм	1,5-2,0 мкм	2,0-3,0 мкм
культура 1715						
06.2000 исходное состояние г 1	0-	0+	0	90%	0%	10%
07.2008 г 10	20%	0	0	0	0	80%
11.2013 г 20	40%	50%	0	10%	0	0
03.2018 г 30	80%	20%	0	0	0	0
культура 1724						
06.2000 исходное состояние г1	0	0	0	0	10%	90%
07.2008 г 10	0	0	0	80%	0	20%
11.2013 г 20	0	10%	0	90%	0	0
03.2018 г 30	20%	0	0	80%	0	0
1726						
06.2000 исходное состояние г1	10%	0	0	0	0	90%
07.2008 г 10	10%	0-	0	90%	0	0
11.2013 г 20	30%	40%	0	30%	0	0
03.2018 г 30	30%	50%	0	20%	0	0

Популяция культуры № 1715 после десяти пересевов в течение нескольких лет состояла из микрококков (20%) и (80%) сферопластов размером 2,0-3,0 мкм.

В составе популяции № 1724 появились сферопласты меньшего диаметра до 1,0-1,5 мкм (80%), остальная часть (20%) сохранялась в исходном состоянии.

После десяти пересевов культуры №1726 размеры большей части сферопластов (90%) уменьшились до 1,0-1,5 мкм, остальные (10%) клеток остались в виде микрококков.

На двадцатой игнерации в популяции культуры №1715 большая часть клеток имела размеры 0,6-0,8 мкм (50%) и до 0,6 мкм (40%) и

лишь незначительное количество (10%) осталось размером 1,0-1,5 мкм.

Большая часть сферопластов популяции культуры № 1724 (80%) на 20 игнерации осталась размером 1,0-1,5 мкм, тем не менее 10% клеток имели размеры до 0,6 мкм.

Популяция культуры №1726 после двадцати пересевов состояла их сферопластов 0,6-0,8 мкм (40%) и 0,4-0,6 мкм (30%). Незначительная часть клеток оставалась прежних размеров 1,0-1,5 мкм (30%).

После тридцати пересевов в течение восемнадцати лет (период наблюдения) морфология клеток всех трех изучаемых культур сферопластного типа изменялась неодинаково.

В популяции культуры №1715 все сферопласты изменили свой размер до 0,4-0,6 мкм (80%) и 0,6-0,8 мкм (20%) и приобрести морфологию, характерную для типичных форм бруцелл.

В популяции культуры №1724 большая часть сферопластов (80%) сохранилось в размере 1,0-1,5 мкм и незначительное количество (20%) клеток имело размер 0,4-0,6 мкм.

Большая часть клеток в популяции культуры № 1726 (80%) реверсировало до размеров типичных форм бруцелл 0,6-0,8 мкм (50%) и микроккков диаметром 0,4-0,6 мкм.

Анализируя полученные результаты исследований, можно отметить, что культуры бруцелл сферопластного типа являются относительно стабильными L-формами. Популяции L-форм сферопластного типа отличаются полиморфизмом и состоят из клеток сферической формы различного размера. В течение периода наблюдения (18 лет) в процессе хранения в нативном состоянии при периодическом перевивании на элективные питательные среды без индицирующего фактора у L-форм бруцелл сферопластного типа отмечали способность к реверсии. Изучаемые культуры восстанавливали свои морфологические признаки частично (культуры 1724,1726) или полностью (культура 1715).

Процесс реверсии у всех изучаемых культур происходил спонтанно и не одинаково. Изменение морфологических признаков в сторону реверсии у отдельной части клеток отмечали с первых десяти генераций.

Заключение. L-формы бруцелл, выделенные от животных, способны длительное время сохранять жизнеспособность в нативном состоянии в условиях искусственных питательных сред.

L-формы бруцелл сферопластного типа при отсутствии индуцирующего фактора in vitro проявляют способность к реверсии с частичным или полным восстановлением морфологических признаков, характерных для типичных S-форм бруцелл. Процесс реверсии происходит спонтанно и не одинаково у всех культур.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Дунаев Г.С., Зыкин Л.Ф., Прозоровский С.В. Свойство ревертантов чумного микроба, полученных из L-форм // ЖМЭИ. 1979. С. 100-101.

2. Ерышканова А.А. К вопросу об изменчивости бруцелл // Ветеринария. 1954. №6. С. 24.

3. Зубков М.Н., Щеголева А.Г. О некоторых особенностях реверсии стабильных длительно культивируемых L-форм сальмонелл// ЖМЭИ. 1974. №2. С. 148.

4. Левашов В.С., Сивов И.Г. Бактериостатическое действие пенициллина на Escherichia Coli К-12 // ЖМЭИ. 1983. №3. С.24-26.

5. Михайлов Л.М., Андреевкая Н.М., Михайлова В.А., Баранникова Н.Л., Токарева Л.Е., Ястремкая К.Ю., Балахонов С.В. Получение гипериммунных сывороток к термоэкстрактам из бруцелл в S- и L-формах. 2016

6. Прозоровский С.В., Кац Л.Н. L-формы бактерий. М.: Медицина, 1981. 178 с.

7. Таран И.Ф., Цыбин Б.П., Крылова А.Л., Аболина Т.А. Изучение L-форм бруцелл, их реферантов и исходных культур // ЖМЭИ. 1980. №6. С. 39-43.

8. Триленко П.А. МВБ и L-формы бруцелл // Труды ЛВИ. 1971. С. 35.

9. Толмачева Т.А. Реверсия L-форм бруцелл in vitro и in vivo и свойства полученных ревертантов // ЖМЭИ. 1975. №1. С.145.

10. Carrere L., Roux J. Obtaining L-forms of Brucella melitensis // Ann. Inst. Pasteus. 1953. Vol. 4. N 84. P. 796-798.

11. Strehen E.R., Nasim A. Production of protoplasts in different yeasts bu Mutanasa // Can. Microbiol. 1981. Vol. 27. №5. P.550-553.

DYNAMIC OF RECOVERIES THE MORPHOLOGY PROPERTIES IN BRUCELLA L-FORMS AT THE ARTIFICIALNUTRIENT MEDIA IN THE REVERSING PROCESS

L.N. Gordienko

The model of two epizootic brucella strains which were isolated from reindeer in modified L-forms is shown the dynamics of charging morphological properties and structure of bacterial cell population during storage at artificial nutrient media. During twenty years (observation period), the studied cultures showed reversible proper-

ties in different ways, but in the population of both cultures there were noticeable changes in the state in the number of spheroplast cells to reversing into the typical (S-) forms. It is noted that the process of reversion from the studied cultures was spontaneous and uneven. L-forms brucella without induction factor in vitro were shown the ability to reversion with partial or full to recovery morphological properties, which characteristic to the typical (S-) forms Brucella.

Keywords: *brucella, L-forms, morphological properties, revrsion.*

УДК 636.09

ДИАГНОСТИКА БРУЦЕЛЛЕЗА МЕТОДОМ ПЦР С ДЕТЕКЦИЕЙ В REAL-TIME

Т.С. Дудоладова, *канд. биол. наук*

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Омский аграрный научный центр», г. Омск, РФ, dud.08@mail.ru

В статье указаны преимущества ПЦР метода, расписан алгоритм действия при проведении диагностики бруцеллеза методом полимеразной цепной реакции и анализ полученных данных.

Ключевые слова: *brucella, бруцеллез, диагностика, полимеразная цепная реакция.*

Бруцеллез – зоонозная инфекция, представляющая собой системный инфекционный процесс, при котором поражаются практически все органы, передается от человека к человеку, от животного к животному, от животного к человеку.

Возбудитель Brucella spp – это грамотрицательные аэробные, ДНК содержащие коккобациллы, являющиеся внутриклеточными паразитами человека и животных и вызывающие бруцеллёз [1].

Наиболее часто микроорганизм удаётся обнаружить в крови, однако другие биологические среды (моча, синовиальная жидкость) и фрагменты тканей (биоптат) также могут быть использованы для диагностики бруцеллёза.

Диагностика бруцеллёза – достаточно сложная задача. Заболевание может протекать в бессимптомной, хронической и локализованной форме. Поэтому диагностика основана на лабораторном выявлении микроорганизма [2].

Лабораторная диагностика бруцеллеза осуществляется с исполь-

зованием бактериологических методов, биопробы, серологических реакций и биологических методов. Поскольку бруцеллы относятся к медленно растущим микроорганизмам и окончательный ответ бактериологического и биологического методов исследования можно ожидать только через 3-5 недель, молекулярно-биологический метод анализа, в частности, полимеразная цепная реакция (ПЦР), является весьма перспективным для быстрого обнаружения возбудителя бруцеллеза. ПЦР – это метод молекулярной диагностики, позволяющий обнаруживать в биологическом материале фрагменты генетического материала (ДНК) возбудителя инфекции (бруцеллу). Для диагностики бруцеллёза исследование с помощью ПЦР используют сравнительно недавно, однако, благодаря его преимуществам, метод находит всё большее применение в клинической практике [3].

Существует несколько способов идентификации Brucella: посев на питательную среду, серологические методы и исследование с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) [4].

ПЦР основана на выявлении уникального для представителей рода Brucella фрагмента ДНК (гена bcsp31) и поэтому характеризуется очень высокой специфичностью. Для сравнения: большинство серологических методов выявляют антитела к общему для многих микроорганизмов липоолигосахариду [5].

Биологический материал, используемый для исследования методом ПЦР:

– содержимое брюшной полости и желудка, селезенку, печень абортированного плода или весь плод;

– плаценту и плодовые оболочки от абортировавших животных;

– содержимое бурс, гигром;

– кровь и молоко от абортировавших животных и (или) от животных, в сыворотке которых обнаружены агглютинины и (или) комплементсвязывающие антитела;

– сперму от самцов с признаками орхита и эпидидимита и (или) при получении сомнительных или положительных результатов аллергического или серологического исследования на бруцеллез или инфекционный эпидидимит баранов;

– в случае убоя животных для исследования отбирают парные лимфатические узлы подчелюстные, заглоточные, предлопаточные, надколенные, подколенные, надвыменные, парааортальные, тазовые

и кусочки паренхиматозных органов (печень, селезенка); от самцов с признаками орхита или эпидидимита отбирают семенники с придатками.

ПЦР-анализ состоит из 3-х этапов: выделение ДНК из исследуемого материала; собственно полимеразная цепная реакция (ПЦР) - амплификация специфического участка ДНК бруцелл и учет результатов ПЦР-анализа. Амплификация специфического участка ДНК происходит за счет многократного повторения циклов денатурации ДНК в исследуемой пробе, отжига специфических олигонуклеотидных затравок (праймеров) и синтеза комплементарных цепей ДНК с помощью фермента Taq-полимеразы.

Тест-система предназначена для выявления ДНК бактерий рода Brucella (B. melitensis, B. abortus, B. suis, B. ovis, B. canis) в биологическом материале от животных, не иммунизированных противобруцеллезными вакцинами, в случае аборта или проявления у них других признаков (бурситы, гигромы, орхиты, эпидидимиты), вызывающих подозрение на бруцеллез, и (или) при получении положительных и сомнительных результатов серологического исследования и культурах микроорганизмов.

ПЦР-анализ проводится в три этапа в трех отдельных комнатах (зонах).

ЗОНА-1 - для выделения ДНК из исследуемого материала; ЗОНА-2 - для проведения амплификации (ПЦР) на термоциклере IQ 5 («Bio-Rad», США) и учета результатов.

Анализ результатов амплификации осуществляется на двух каналах прибора: FAM (Green) и JOE (Yellow).

Результаты интерпретируют на основания наличия или отсутствия пересечения кривой флуоресценции S- образной (сигмообразной) формы с установленной на соответствующем уровне пороговой линии [6].

Оценку результатов ПЦР следует проводить с учетом того, что специфический праймер для проведения этой реакции является родовым и выявляет ДНК всех видов бруцелл, в т.ч. и вакцинные штаммы. Это необходимо учитывать в эндемичных по бруцеллезу регионах, где для вакцинации животных используются живые бруцеллезные вакцины, которыми может быть инфицирован обслуживающий их персонал.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Кулаков Ю.К., Желудков М.М., Толмачева Т.А., Цирельсон Л.Е. Метод ПЦР в лабораторной диагностике бруцеллеза // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2010. №2 (51). С. 29-33.
2. Al Dahouk S, Nöckler K. Implications of laboratory diagnosis on brucellosis therapy //Expert Rev. Anti Infect. Ther. 2011. V. 9(7). P. 33-45.
3. Yu W.L., Nielsen K. Review of detection of Brucella spp. by polymerase chain reaction //Croat. Med. J. 2010. V. 51(4). P. 306-313.
4. Morata P., Queipo-Ortuño M.I., Reguera J.M., Miralles F., Lopez-Gonzalez J.J., Colmenero J.D. Diagnostic yield of a PCR assay in focal complications of brucellosis //J. Clin. Microbiol. 2001. V. 39(10). P. 3743-3746.
5. Nimri L.F. Diagnosis of recent and relapsed cases of human brucellosis by PCR assay // BMC Infect. Dis. 2003. P. 3-5.
6. Инструкция по применению тест-системы «БРУ-КОМ» для выявления возбудителя бруцеллеза методом полимеразной цепной реакции. М., 2017.

DIAGNOSIS OF BRUCELLOSIS BY PCR WITH DETECTION IN REAL – TIME

T.S. Dudoladova

The article shows the advantages of the PCR method, describes the algorithm of action for the diagnosis of brucellosis by polymerase chain reaction and analyzes the data obtained.

Keywords: *brucella, brucellosis, diagnostics, polymerase chain reaction.*

УДК 619:616.98

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ BRUCELLA RANGIFERI, НАХОДЯЩИХСЯ В ТИПИЧНОЙ (S-) И ИЗМЕНЕННОЙ L-ФОРМЕ

Е.В. Куликова, Л.Н. Гордиенко, *канд. ветеринар. наук,*
А.Н. Новиков, *канд. ветеринар. наук*

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Омский аграрный научный центр», г. Омск, РФ,
kulikova-vetapteka@mail.ru

Бруцеллы персистируют в организме животного в типичной и измененной формах. Эти формы отличаются патогенными свойствами и оказывают различное воздействие на органы иммунной системы. Нашими исследованиями

установлено, что L-формы бруцелл в организме животных проявляли менее агглютиногенные свойства, чем типичные формы (S-) бруцелл. Индекс инфицированности в группах животных, зараженных L-культурой бруцелл, также был значительно ниже (9,0), чем у свинок, зараженных типичной (S-) формой Brucella rangiferi 181 (39,0).

Ключевые слова: *бруцелла, иммунитет, типичные (S-) и измененные (L-) формы, патогенность.*

Бруцеллез – зооантропонозная инфекция, вызываемая бактериями рода Brucella. Бруцеллезом болеют все виды млекопитающих, в том числе продуктивные сельскохозяйственные животные. Кроме экономического ущерба, наносимого животноводству, бруцеллёз представляет серьезную опасность для здоровья людей.

Рядом ученых доказана возможность персистенции возбудителя бруцеллеза в организме животного в типичной S- и диссоциированной L-формах [1-3]. Установлено также, что в течение длительного времени бруцеллы в L- форме способны персистировать в организме хозяина, не проявляя своих агрессивных качеств и не выявляясь стандартными методами диагностики.

Вместе с этим изменённые бактерии при определенных условиях могут реверсировать в исходные формы, восстанавливать патогенные свойства и провоцировать острое течение инфекционного процесса. Животные бруцеллоносители с хроническим течением и латентными формами болезни представляют опасность сохранения очагов инфекции и распространения её среди восприимчивого поголовья стад.

Бруцеллы, находящиеся в типичной или измененной форме, отличаются патогенными свойствами и в организме инфицированных животных оказывают различное воздействие на органы иммунокомпетентной системы [4].

В связи с этим перед нами была поставлена цель – определить иммунную реакцию животных после введения им бруцелл в типичной (S-) и измененной (L-) форме.

Материалы и методы. В качестве модели для наших исследований использовали морских свинок, сформированных в группы по 3-6 голов в каждой, подобранных по принципу аналогов. Свинкам вводили подкожно суспензию культур бруцелл в дозах 10, 100, 1000 м.к.

Культура эпизоотического штамма Brucella rangiferi 181 в S-форме выделена из семенника северного оленя в очаге инфекции.

При изучении биохимических свойств культуры эпизоотического штамма установлено, что она обладает каталазной и уреазной активностью, хорошо растет на элективных питательных средах (бульоне и агаре), а также на средах, содержащих тионин (1:25 000 – 1:100 000) и фуксин (1:50 000 – 1:100 000). Агглютинируется с гипериммнными бруцеллезными сыворотками: поливалентной (1:320), моноспецифическими А (1:320) и М (1:160). Продуцирует сероводород и не требует для культивирования повышенного содержания углекислого газа.

В качестве бруцелл в L- форме использовали культуру штамма Brucella rangiferi 181, трансформированную in vitro на искусственных питательных средах под действием антибиотиков. В изменённом состоянии бруцеллы были лишены поверхностных антигенных детерминант, характерных для типичных (S-) форм, и проявляли активность цитоплазматического (L-) антигена. L-культуры бруцелл в процессе трансформации изменяли биохимические свойства, культурально-морфологические и тинкториальные признаки.

При многократном пересеве на искусственных питательных средах и двух-трех кратном пассивировании через организм лабораторных животных культура восстанавливала основные свойства исходного штамма, что доказывает её родовую принадлежность.

Контролем чистоты эксперимента служила группа животных, которым вводили стерильный физиологический раствор подкожно в паховую складку в дозе 1 мл.

Реакцию органов иммунокомпетентной системы у животных, зараженных разными дозами бруцелл в S- и L- форме, определяли по наличию специфических иммуноглобулинов в сыворотке крови с использованием прямых моносистемных (пробирочная и пластинчатая реакция агглютинации) и полисистемных (реакция связывания комплемента) иммунологических методов [5].

Испытуемые сыворотки крови получали от опытных и контрольных животных на 15-е и 30-е сутки после заражения стандартным методом отстаивания и использовали в серологических реакциях до предельных разведений.

Для проведения серологических исследований использовали бруцеллезные (S- и R-) антигены из коммерческих наборов для РА и опытные образцы L-диагностикумов, изготовленных в лаборатории экологии по собственному способу [6, 7].

Приживаемость культур бруцелл в органах и тканях экспериментальных животных определяли бактериологическим методом. Идентификацию изолированных культур бруцелл в S-форме проводили стандартными методами [8]. L-варианты бруцелл идентифицировали по комплексу культурально-морфологических, территориальных и агглютинабельных признаков [9].

Результаты исследований. При проведении иммунологических исследований проб сывороток крови от морских свинок, инфицированных бруцеллами, находящимися в типичной S-форме, у 86% животных выявлены специфические иммуноглобулины в диагностических титрах от 40 МЕ до 1280МЕ.

Интересно отметить, что у животных, инфицированных минимальными дозами типичных форм бруцелл (группа I), отмечали наиболее активный синтез антител и ярко выраженные реакции в разведении сывороток от 40МЕ до 1280МЕ (таблица 1).

У двух животных из этой группы в сыворотке крови не установлено наличие специфических бруцеллезных иммуноглобулинов в диагностических титрах. Вместе с этим у всех 100% животных, инфицированных минимальными дозами (до 10 м.к.) была установлена бруцеллезная инфекция, протекающая в генерализованной форме.

У морских свинок, инфицированных бруцеллами в S-форме в дозе 100 микробных клеток (группа II), специфические иммуноглобулины в сыворотке крови выявляли при её разведении от 1:40 до 1:640 у 100% опытных животных, а у животных III группы в разведении 1:160.

Анализируя результаты исследований биоматериала от животных, инфицированных типичными бруцеллами (в S-форме), установлено, что в 90% случаев в организме животных формировалась ответная реакция, которая проявлялась образованием специфических иммуноглобулинов. На ранней стадии инфекционного процесса при экспериментальном бруцеллезе отмечали генерализованную форму с расселением возбудителя в лимфатических узлах и паренхиматозных органах.

При введении морским свинкам культуры Brucella rangiferi 181 в L-форме в дозах от 10 до $10*10^6$ м.к. в их сыворотке крови специфические иммуноглобулины были выявлены у 28% животных. Вместе с этим у половины опытных (58%) животных отмечали персистенцию бруцелл в органах и лимфатических узлах (таблица 2).

Таблица 1

Результаты показателей реакции морских свинок, инфицированных культурой B. rangiferi шт. 181 (в S-форме)

№ п/п	№ группы	№ животного	Доза заражения (м.к.)	РА пробирочная	Кол-во заразившихся животных в группе		Форма течения инфекции и кол-во выделенных культур		Индекс инфицированности (%)
					гол	%	генерализованная	регионарная	
1	I	139	10	40МЕ	6	100	2	-	20
2		140	10	Отр			3	-	30
3		141	10	Отр			3	-	30
4		151	10	1280МЕ			3	-	30
5		152	10	1280МЕ			5	-	50
6		153	10	640МЕ			1	-	10
Итого	в среднем по группе			66,7%				17	28
1	II	142	100	40МЕ	4	66,7	4	-	40
2		143	100	80МЕ			2	-	20
3		144	100	160МЕ			0	-	0
4		154	100	640МЕ			2	-	20
5		155	100	640МЕ			0	-	0
6		156	100	640МЕ			6	-	60
Итого	в среднем по группе			100%			14		23
1	III	145	1000	160МЕ	3	100	4	-	40
2		146	1000	160МЕ			4	-	40
3		147	1000	160МЕ			4	-	40
Итого	в среднем по группе			100%			12		40
В среднем по всем группам				87%					29
1	VIII	261	физ.р-р 1мл	Отр	0	0	0	-	0
2		262	физ.р-р 1мл	Отр			0	-	0
3		263	физ.р-р 1мл	Отр			0	-	0
Итого	в среднем по группе			0%			0		0

Таблица 2

Результаты показателей реакции морских свинок, инфицированных культурой B. rangiferi шт.181 (в L-форме)

№ п/п	№ группы	№ животного	Доза заражения (м.к.)	РА пробирочная	Кол-во заразившихся животных в группе		Форма течения инфекции и количество выделенных культур		Индекс инфицированности (%)
					гол	%	генерализованная	регионарная	
1	IV	207	10	-	5	83	1		10
2		208	10	-			1		10
3		209	10	-			-	1	10
4		249	10	-			2		20
5		250	10	-			1		10
6		251	10	-			0		0
Итого	в среднем по группе			0			66,7	16,7	10
1	V	210	100	40МЕ	2	33	-	-	0
2		211	100	20МЕ			-	-	0
3		212	100	-			0	-	0
4		252	100	-			3	-	30
5		253	100	-			3	-	30
6		254	100	-			0	-	0
Итого	в среднем по группе			33,3			33,3	0	10
1	VI	213	1000	-	3	50	0	-	0
2		214	1000	-			0	-	0
3		215	1000	-			0	-	0
4		255	1000	40МЕ			1	-	10
5		256	1000	80МЕ			1	-	10
6		257	1000	80МЕ			2	-	20
Итого	в среднем по группе			50			50,0	0	7
В среднем по всем группам				28%					9,0

Из всех заразившихся животных у 12 (86%) инфекция протекала в генерализованной форме, у 2 (14%) - в регионарной.

Установлено, что иммунная реакция животных на введение одинаковых доз микробных клеток бруцелл в S- и L- формах достоверно отличается.

Культура бруцелл штамма Brucellarangiferi 181 в S- форме в дозах от 10 до 1000 микробных клеток у 87% морских свинок вызывала активный синтез специфических иммуноглобулинов в высоких и диа-

гностических титрах (40–1280 МЕ).

При введении культуры бруцелл в L-форме, трансформированной из Brucella rangiferi 181, в сыворотке крови были выявлены специфические иммуноглобулины у 37% животных в титрах 20 – 160 МЕ.

Заключение. В результате проведенных экспериментов установлено, что в процессе трансформации бруцеллы утрачивают поверхностные слои клеточной стенки со специфическими антигенными детерминантами и сохраняют цитоплазматический L-антиген.

При заражении морских свинок культурами бруцелл в S- иL-формах в параллельных опытах установлено значительное различие в ответной реакции организма животных.

Культуры бруцелл в L-форме в организме животных проявляли менее агглютиногенные свойства, чем типичные формы (S-) бруцелл.

Количество животных, отвечающих синтезом специфических иммуноглобулинов на введение бруцелл в L-форме в три раза меньше, чем в группах, зараженных культурой бруцелл в типичной (S-) форме (28 и 84% соответственно).

Индекс инфицированности в группах, зараженных L-культурой бруцелл, также был значительно ниже (9,0), чем у свинок, зараженных типичной(S-) формой Brucella rangiferi 181 (39,0).

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Триленко П.А. Бруцеллёз сельскохозяйственных животных. -Л.: «Колос», 1976. С. 51-69.

2. Булдыгин Д.В. Оценка вирулентных свойств бруцелл и гистоморфологическая реакция регионарных лимфатических узлов в ответ на введение различных форм и доз возбудителя: автореферат дис. ... кандидата ветеринарных наук. - Барнаул, 2001. 19 с.

3. Ощепков В.Г., Гордиенко Л.Н. Бактериологическая диагностика бруцеллеза крупного рогатого скота с учетом R- и L-форм бруцелл: метод. рекомендации. - Омск, Новосибирск: СО ВАСХНИЛ, 1987. 20 с.

4. Михайлов Л.М., Токарева Л.Е., Баранникова Н.Л., Балахонов С.В. Сенсибилизирующие свойства антигенных препаратов из бруцелл в S- и L-формах // Проблемы особо опасных инфекций. - 2014. Вып. 4. С. 68-70.

5. Никитин В.М. Справочник методов иммунологии / Отв. ред. М.В. Бочкарев. - Кишинев: Штиинца, 1982. 303 с.

6. Ощепков В.Г., Гордиенко Л.Н., Братцев А.Ю. Способ получения диагностической сыворотки против бруцелл в L-форме // Патент РФ №268748. 2006. 6 с.

7. Гордиенко Л.Н., Попова Т.Г., Куликова Е.В., Гайдуцкая Г.М., Еланцева Н.Б. Способ получения бруцеллёзного L-антигена / Патент РФ № 2539827. 2013. 7 с.

8. Объединенный комитет экспертов ФАО/ВОЗ по бруцеллёзу. Шестой доклад. - Женева, 1986. 94 с.

9. Ощепков В.Г., Гордиенко Л.Н., Околелов В.И., Барабанова Е.Б. Методы индикации и идентификации L-форм бруцелл: рекомендации. - Новосибирск, 2004. 10 с.

RELATIVE ASSESSMENT OF BRUCELLA RANGIFERI BIOLOGICAL PROPERTIES IN THE TYPICAL (S-) AND THE REVISED (L-) FORMS

E.V. Kulikova, L.N. Gordienko, A.N. Novikov

Brucella rangiferi is persist in the animal's body in typical and revised forms. These forms are variety of pathogen properties and have different effects on the organs of the immune system. Our research has shown that L-forms of brucella in animals was manifestation less agglutinin properties than typical (S-) forms. The infection index in groups of animals infected with L-culture of brucella also was significantly lower (9.0) than in Guinea pigs infected with the typical brucella rangiferi 181 (S-) (39.0).

Keywords: *brucella rangiferi, immunity, typical (S-) and revised (L-) forms, pathogenicity.*

УДК 619:616.981.42:636.294

ИММУНОПРОФИЛАКТИКА БРУЦЕЛЛЕЗА СЕВЕРНЫХ ОЛЕНЕЙ

К.А. Лайшев[1]*, доктор ветеринар. наук, член корр. РАН,* **А.В. Прокудин**[2]*, канд. ветеринар. наук,* **Л.С. Фогель**[3]*, канд. ветеринар. наук,* **А.С. Кисиль**[3]*, канд. ветеринар. наук*

[1]Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Санкт-Петербургский Федеральный исследовательский центр Российской академии наук», г. Санкт Петербург РФ, layshev@mail.ru

[2]Научно-исследовательский институт сельского хозяйства и экологии Арктики ФКНЦ СО РАН, г. Норильск, РФ, al.prokudin@mail.ru

[3]Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины, Санкт-Петербург, РФ, alevti86@mail.ru

Представлена концепция оптимизации специфической профилактики бруцеллеза северных оленей. При выборе противобруцеллезного иммунопрепарата (особенно в природных очагах бруцеллеза) грундиммунитет и перманентный иммунитет должен обеспечиваться высокоиммуногенными вакцинами за счет S – иммунного фон. Диагностика при бруцеллезе северных оленей может быть использована в целях эпизоотологического контроля и перспективно в этом отношении применение реакция иммунодиффузии (РИД с О-ПС антигеном). Для специфической профилактики бруцеллеза у северных оленей оптимальная доза вакцины из штамма B.abortus 19 - 2,5 млрд. м. т., а для вакцины из штамма B.abortus 82 доза 10 млрд. м. т. Доказана противоэпизоотическая эффективность оптимальных доз вакцин из штаммов B.abortus 19 и 82 для специфической профилактики бруцеллеза северных оленей.

Ключевые слова: *Арктическая зона РФ, северное оленеводство, противобруцеллезные мероприятия, вакцинация.*

В естественных условиях бруцеллез северных оленей на Таймыре диагностирован серологическим и аллергическим методами И.М. Голосовым в 1948 г., а в 1955 г. В.А. Забродин впервые выделил от оленей штаммы бруцелл. В дальнейшем наличие бруцеллезной инфекции у северных оленей было диагностировано во всех регионах севера азиатской части России, начиная от Ямало-Ненецкого, Долгано-Ненецкого и Эвенкийского автономных округов до Республики Саха Якутия, Чукотского автономного округа и Камчатской области [1].

В настоящее время, проблема бруцеллеза в оленеводческих стадах окончательно не решена, а в некоторых районах она даже ухудшилась. Бруцеллез северных оленей, по-прежнему, регистрируется во всех вышеуказанных регионах. В целом по РФ в 2018 г. было зарегистрировано 49 неблагополучных по бруцеллезу северных оленей пунктов, в том числе 37 пункта в Республике Саха Якутия - в Ямало-Ненецком автономном округе, по 2 в Таймырском муниципальном районе и 1 Чукотском автономном округе. Это подтверждает необходимость актуализации знаний по проблеме специфической профилактики бруцеллеза в оленеводческих стадах [1-3].

Материал и методы исследований. Результаты работы основываются на аналитическом, статистическом, экспертном методах и собственных исследованиях авторов во время полевых работ в Ямало-Ненецком и Чукотском автономных округах, Магаданской области, Таймырском и Эвенкийском муниципальных районах Красноярского края. Применялись общепринятые методы эпизоотологического обследования, и эпизоотического надзора, подробное описание кото-

рых дано в ранее опубликованных работах авторов.

Результаты исследования. Мы представили возможные варианты развития эпизоотического процесса при отсутствии перманентного иммунитета в популяциях домашних северных оленей и диких животных. Исходили возможности наличия в отдельных стадах как резервационных, так и эпизоотических штаммов. К резервационным штаммам следует, на наш взгляд, относить диссоцианты, а также S-штаммы с пониженной вирулентностью.

Формирование эпизоотических штаммов происходит в процессе реверсии возбудителя в S-форму и приобретения повышенной вирулентности при пассаже через восприимчивые организмы. Материалы наших производственных опытов и практических наблюдений по оздоровлению оленеводческих хозяйств от бруцеллеза без вакцин, подтверждают это, так как стабильных результатов по «безвакцинной схеме» в большинстве стад получить не удалось.

По нашему мнению, формирование эпизоотических штаммов при 100% охвате животных иммунизацией и реиммунизацией практически происходить не должно, так как под действием иммунитета идет необратимый процесс диссоциации возбудителей с последующей их элиминацией. В популяциях же не иммунных животных фазы резервации сменяются фазами формирования эпизоотических штаммов с определенной периодичностью.

Исходя из вышесказанного ясна роль перманентного иммунитета в управлении эпизоотическим процессом бруцеллеза северных оленей. Однако, стремясь положительно ответить на самый принципиальный вопрос в нашей концепции – необходимо ли создавать перманентный иммунитет в популяциях домашних северных оленей, мы столкнулись со следующим вопросом: каким образом обеспечить этот перманентный иммунитет с минимальными издержками во всех стадах домашних северных оленей, так как в каждом из них в любом случае не исключены явные или потенциальные контакты с источниками возбудителя бруцеллеза, как внутри стада (перезаражение животных в периоды гона, отела и т.д.), так и из-за распространенного явления природной очаговости (зараженность популяций диких северных оленей, плотоядных животных, грызунов).

Широкое использование средств специфической профилактики у северных оленей, особенно на взрослом поголовье, сдерживалось и продолжает сдерживаться, на наш взгляд, по причине массового про-

явления провоцирующих свойств вакцин. Дело в том, что в оленьих стадах, где процесс перезаражения никогда, по-видимому, не останавливался, стадия резервации возбудителя, как правило, не сопровождается никакой манифестацией, тем более клинической.

Введение вакцины дает возможность спровоцировать переход возбудителя из стадии резервации в стадию формирования эпизоотического штамма и, тем самым, манифестировать болезнь у ряда животных. Большинство ученых и практиков объясняло это явление либо высокой реактогенностью при той или иной дозе вакцины, либо повышенной чувствительностью оленей к вакцине.

Полностью не отрицая этого, следует отметить, что проявление провоцирующих свойств любой вакцины, в том числе и противобруцеллезной, во многом зависит и от свойств штамма, и от дозы, и от метода введения.

Следовательно, можно уменьшить внешнее проявление «реактогенных» свойств вакцины за счет оптимизации дозы и метода введения иммунопрепарата, предварительно снизив уровень инфицированности стад перед прививкой с помощью общих ветеринарно-санитарных мероприятий (направленных на нейтрализацию механизма передачи), диагностики (выявление бруцеллоносителей), санации организма оленей. Эти вопросы изучены на других видах животных.

При выборе противобруцеллезного иммунопрепарата (особенно в природных очагах бруцеллеза) необходимо особо отметить, что грундиммунитет и перманентный иммунитет должен обеспечиваться высокоиммуногенными вакцинами. Важен грундиммунитет только за счет S – иммунного фона. Последующие реиммунизации могут быть и с помощью других, в том числе убитых вакцин. Однако в оленеводстве - это отдаленные перспективы.

Диагностика при бруцеллезе северных оленей может быть использована лишь в целях эпизоотологического контроля и перспективно в этом отношении применение реакция иммунодиффузии (РИД с О-ПС антигеном).

На основании концептуальной модели нами разработана система контроля эпизоотического процесса бруцеллеза у домашних северных оленей и методические рекомендации по контролю эпизоотического процесса бруцеллеза северных оленей (с позиции теорий эпизоотического процесса, саморегуляции паразитарных систем, природной очаговости, технологических особенностей отрасли и новых

социально-экономических и эпидемических условий).

Мы считаем, что при практической реализации концепции оптимизации системы контроля эпизоотического процесса бруцеллеза северных оленей надо выделить следующие разделы:

1. Контроль за эпизоотической ситуацией;
2. Охрана благополучных хозяйств от заноса бруцеллезной инфекции;
3. Оздоровление неблагополучных по бруцеллезу оленеводческих хозяйств.

Методы оздоровления неблагополучных по бруцеллезу хозяйств (бригад) избирают в зависимости от течения бруцеллезной инфекции в хозяйстве (бригаде) с учетом эпизоотического состояния района (округа), в котором находится данный неблагополучный пункт.

Если при массовом серологическом обследовании на бруцеллез в стаде обнаружено более 30% серопозитивных оленей, рекомендуется всех животных убить.

В оленеводческих хозяйствах, где нет клинически больных животных, а количество серопозитивных составляет до 3-5% рекомендуется применение противобруцеллезных вакцин.

Нами были изучены вакцины из штаммов B.abortus 19 и 82 и дозы их введения для специфической профилактики бруцеллеза северных оленей

Установили, что оптимальная доза вакцины из штамма B.abortus 19 2,5 млрд. м.т. После ее введения не выявлено ни одного случая поствакцинальных осложнений. У привитых оленей регистрировали ярко выраженный иммунологический ответ с появлением в сыворотке крови специфических агглютининов и комплемент связывающих антител. Через 360 дней все привитые животные реагировали по РА отрицательно или сомнительно. Ревакцинация животных вызывает вторичный иммунный ответ, но скорость снижения специфических антител более высокая. Напряженность иммунитета через 6 мес. после вакцинации всех опытных оленей составляла 91,6%. в то время как в контрольной группе животных введение вирулентного штамма вызвало 100%-е заражение.

Для вакцины из штамма *B.abortus 82* установлено, что оптимальной для применения на северных оленях является доза 10 млрд. м.т. Она не вызывало у привитых оленей поствакцинальных осложнений, через 180 дней в РА регистрировали только сомнительно реагирую-

щих животных. Иммунитет через 3 и 6 мес. после вакцинации, составлял 75%.

Сравнительные испытания вакцин из штаммов *B.abortus 19, 82* в производственных условиях свидетельствуют о высоком уровне противоэпизоотической эффективности схемы применения вакцин из штамма 19 и 82 в северном оленеводстве как для первичной иммунизации, так и для реиммунизаций: клинически больных животных не выявлено, а количество положительно реагирующих животных в стаде №2 (шт. 19) снизилось более чем в 6,5 раза, а в стаде №3 (шт. 82) - в 3 раза.

Выводы и обсуждение. Результаты проведенных исследований показали, что в оленеводческих хозяйствах Азиатского Севера регистрируется бруцеллез, который наносит не только существенный экономический ущерб, но и осложняет эпидемиологическую напряженность в регионах. На Енисейском Севере, Республике Саха (Якутия), Чукотском и Эвенкийском автономном округах сформировались природные очаги по бруцеллезной инфекции. В эпизоотическую цепь болезни входят домашние и дикие северные олени, и плотоядные животные, регулярные сезонные миграции и постоянные пастбищные контакты которых создают благоприятные условия для распространения бруцеллезной инфекции.

Очевидно, что применение противобруцеллезных мероприятий в оленеводческих хозяйствах без использования средств специфической профилактики не оказывает должного противоэпизоотического эффекта, особенно при наличии природного очага бруцеллезной инфекции.

Разработана концепция оптимизации специфической профилактики бруцеллеза северных оленей на основании современных теорий эпизоотического процесса, саморегуляции паразитарных систем и природной очаговости, с учетом особенностей технологии ведения отрасли.

Установлено, что для специфической профилактики бруцеллеза у северных оленей оптимальная доза вакцины из штамма *B.abortus* 19 - 2,5 млрд. м. т., а для вакцины из штамма *B.abortus* 82 доза 10 млрд. м. т.

Доказана эффективность оптимальных доз вакцин из штаммов *B.abortus* 19 и 82 для специфической профилактики бруцеллеза северных оленей в экспериментальных и производственных условиях.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Слепцов Е.С., Евграфов Г.Г., Винокуров Н.В., Лайшев К.А., Федоров В.И., Искандаров М.И., Захарова О.И. Бруцеллез северных оленей и меры борьбы с ними в условиях Крайнего Севера Российской Федерации. Новосибирск, 2017. 126 с.

2. Листишенко А.А., Куликова Е.В., Штелле Д.В., Гордиенко Л.Н. Степень распространения бруцеллеза среди северных оленей при остром течении в очагах инфекции // Современное состояние естественных и технических наук: Матер. VI Междунар. науч.-практ. конф. (г. Москва, 20.03.2012). М., 2012. С. 120-124.

3. Гордиенко Л.Н. Современные проблемы бруцеллеза животных в Российской Федерации // Современные тенденции в сельском хозяйстве: Матер. междунар. науч. конф. (г. Казань, 10-11 октября 2013 г.). Казань, 2013. Т. 1. С. 38-39.

4. Винокуров Н.В., Гулькин А.М., Лайшев К.А., Слепцов Е.С., Федоров В.И., Искандаров М.И., Федоров А.И. Диагностика бруцеллеза северных оленей в условиях Крайнего Севера Российской Федерации. Новосибирск, 2017. 184 с.

THE IMMUNOPROPHYLAXIS OF BRUCELLOSIS REINDEER

K.A. Laishev, A.V. Prokudin, L.S. Fogel, A.S. Kisil

The concept of optimization of specific prevention of brucellosis of reindeer is developed on the basis of modern theories of the epizootic process, self-regulation of parasitic systems and natural focality, taking into account the specific features of technology in the industry. It has been established that for the specific prevention of brucellosis in reindeer, the optimal dose of the vaccine from the B. abortus strain is 19 - 2.5 billion m.t, and for a vaccine from the B. abortus strain 82, a dose of 10 billion m.t. The effectiveness of optimal doses of vaccines from strains B. abortus 19 and 82 for specific prevention of brucellosis of reindeers in experimental and production conditions was proved.

Keywords: *Arctic zone of the Russian Federation, northern reindeer herding, anti-brucellosis measures, specific prevention.*

УДК 619:616-07:616.981.42

ИЗУЧЕНИЕ КЛЕТОЧНОГО ИММУННОГО ОТВЕТА ПРИ БРУЦЕЛЛЕЗЕ ЖИВОТНЫХ

О.О. Манакова

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Омский аграрный научный центр», г. Омск, РФ, 55asc@bk.ru

Основу патогенеза бруцеллёза составляет многогранный ответ иммунокомпетентных клеток на действие этиологического агента – бактерий рода Brucella.Изучение клеточных показателей иммуногенеза и инфекционного процесса при бруцеллезе может дать ценную информацию по механизмам защиты организма. В обзоре предоставлены данные об особенностях взаимодействия бруцелл с макроорганизмом.

Ключевые слова: *Brucella, диагностика бруцеллеза, фагоцитоз, нейтрофилы.*

Бруцеллез - инфекционное, особо опасное зоонозное заболевание, вызываемое бактериями рода Brucella, которые являются грамотрицательными, факультативными бактериями со способностью к внутриклеточному паразитированию и трансмиссивной передачей от животных к человеку.

Материалы и методы. Представлен анализ литературных данных по изучению клеточного иммунитета при бруцеллезе животных.

Результаты исследований. Бруцеллез у сельскохозяйственных животных вызывают 4 вида возбудителя: Brucella abortus (у крупного рогатого скота), Brucella melitensis (у овец и коз), Brucella suis (у свиней, зайцев, оленей, грызунов), Brucella ovis (у баранов и овец). Бруцеллез собак вызывают бруцеллы вида Brucella canis, кустарниковых крыс – Brucella neotomae. Три основных вида бруцелл подразделяют на несколько биотипов. В последние десятилетия выделено несколько видов бруцелл характерных для китообразных (Brucella ceti), ластоногих (Brucella pinnipedialis), полевки обыкновенной (Brucella microti). Эти три вида были зарегистрированы Подкомитетом по таксономии бруцелл (сентябрь, 2008г.). Brucella inopinata (специфический хозяин не определен) и новый вид Brucella papionis (приматы baboons Papiospp.) [1, 2].

Наиболее патогенным для человека является вид Brucella melitensis, затем следует Brucella suis, Brucella abortus и вид Brucella canis, опасный для иммунодефицитных людей [1].

Бруцеллы относятся к внутриклеточным организмам. Установлено, что проникновению патогенных микроорганизмов внутрь организма хозяина способствуют токсические вещества, продуцируемые бактериями (фосфолипазы, эластазы, коллагены, гиалуронидазы, токсины различного действия). Проникновению бруцелл через клеточные барьеры макроорганизма (даже не поврежденного) способствует фермент гиалуронидаза, повышающая проницаемость тканей организма [2].

В защите организма от чужеродных агентов участвуют неспецифические и специфические факторы. Неспецифическая резистентность связана со специфической иммунной реактивностью и является основой выработки полноценного иммунного ответа, возникшего в процессе эволюции. Однако возбудитель бруцеллеза не поглощается фагоцитами или, если поглощается, не переваривается внутри фагоцитирующих клеток и переходит в персистирующую форму [3].

При попадании бруцелл в организм происходит их фагоцитоз нейтрофилами и макрофагами, который не завершается лизисом всех микроорганизмов, а, напротив, через 48-72 ч количество бактерий в фагоцитах увеличивается [4].

Фагоциты погибают, освобождая большое количество бруцелл, которые с током крови распространяются по всему организму.

Бруцелла демонстрирует выраженный тканевый тропизм и обладает способностью размножаться и персистировать внутри вакуолей макрофагов, дендритных клеток, плацентарных трофолобластов и в разнообразных типах клеток млекопитающих. Внутри клеток Brucella ограничивает воздействие хозяйских врожденных и адаптивных иммунных ответов, укрывается от воздействия антибиотиков и вызывает фазовые особенности протекания заболевания. При диагностике бруцеллеза, выделяют острую фазу, в течение которой наблюдается бактериемия и патоген проникает и распространяется в тканях хозяина, и хроническую фазу инфекции, которая возникает из-за способности бруцелл сохраняться и персистировать в клетках лимфоретикулярной системы. Отличительной чертой бруцеллеза является образование гранулем в пораженных органах, которые содержат эпителиоидные макрофаги, сохраняющие бруцеллы во время инфекции. Гра-

нулематозный ответ хозяина позволяет изолировать бактерии, которые были захвачены макрофагами, но остались жизнеспособными. Бруцеллы проходят мукозный барьер слизистых оболочек хозяина и подвергаются фагоцитозу макрофагами и дендритными клетками [1].

Взаимодействие внутриклеточных паразитов с фагоцитами проходит в несколько этапов: адгезия, поглощение, бактерицидное воздействие фагоцита на микроорганизм (респираторный взрыв и воздействие лизосомных компонентов на бактерии при фаголизосомном слиянии) [2]. Около 90% фагоцитированных бруцелл разрушается под бактерицидным воздействием свободных радикалов кислорода, оксида азота и ферментов внутри фаголизосом [1]. Однако бруцеллы способны нейтрализовать действия продуктов респираторного взрыва (супероксида, H_2O_2 и др.) с помощью выделяемых этими бактериями таких ферментов, как каталаза и супераниондисмутаза. Кроме того, бруцеллы способны продуцировать вещество, предотвращающее слияние фагосом с лизосомами и это позволяет избежать киллинга внутри фагоцита. Отсутствие эффективного киллинга приводит к длительной персистенции возбудителя внутри фагоцитов, что обеспечивает хроническое течение бруцеллеза [2].

Для оценки клеточных механизмов весьма информативной является реакция восстановления нитросинего тетразолия (НСТ-тест) [3].

По результатам пробы с восстановлением нитросинего тетразолия, сущность которой состоит в том, что она позволяет выявить наличие «кислородного взрыва», возникающего в процессе фагоцитоза, возможно изучить функционально-метаболическое состояние нейтрофилов. Повышение активности показателей НСТ-теста является свидетельством активизации фагоцитарной активности нейтрофильных гранулоцитов при системных бактериальных инфекционных заболеваниях. Л.В. Дегтяренко, В.С. Власенко, В.С. Бронниковым по результатам проведенного опыта на морских свинках сенсибилизированных бруцеллами с различными антигенными свойствами установлено, что изменения функциональной активности нейтрофилов крови морских свинок после инфицирования происходят в зависимости от биологических свойств штаммов бруцелл (антигенной структуры, вирулентности) [5].

По данным Г.М. Курмановой, А.К. Дуйсеновой, К.Б. Курмановой, Н.Х. Спиричевой у больных хроническим бруцеллезом наблюдается угнетение захватывающей способности фагоцитов как в спон-

танном, так и стимулированном варианте НСТ-теста. Спонтанный НСТ-тест не отличается по значению от уровня в контрольной группе, а резервные возможности кислородзависимого киллинга значительно снижаются. Усугубление иммунологического дисбаланса по мере хронизации инфекции прослеживается и в системе фагоцитоза: при остром процессе снижаются резервные возможности нейтрофилов по НСТ-тесту; при хроническом - присоединяется снижение захватывающей способности нейтрофилов [6].

Применение НСТ-теста Л.В. Дегтяренко с соавт. [7] для оценки иммунологического состояния животных при бруцеллезной инфекции, вызванной B. canis, у городских собак показали, что у больных бруцеллезом животных наблюдали значительное повышение активности нитросинего тетразолия в спонтанном варианте НСТ-теста по сравнению со здоровыми животными. Основным признаком, свидетельствующим о снижении резистентности организма у больных бруцеллезом особей и низкой микробицидной активности нейтрофилов, служило снижение коэффициента стимуляции – соотношение показателей стимулированной и спонтанной реакции НСТ-теста.

Выводы и обсуждения: Клеточные факторы иммунитета позволяют оценивать иммунологическую перестройку организма животных при встрече с патогеном. Изучение функционально-метаболического состояния нейтрофилов не получили широкого распространения в ветеринарной практике, однако существуют работы по изучению клеточных механизмов, а результаты исследований позволяют расширить представление об особенностях клеточного иммунного ответа при бруцеллезе, что дает основание считать продолжение работы в данном направлении перспективным, а новые данные ценными для изучения механизмов управления бруцеллезной инфекцией.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Кулаков Ю.К. Молекулярные механизмы персистенции возбудителя бруцеллеза // Журнал микробиологии. 2018. №4. С. 68-76.

2. Горчакова Н.Г. Особенности паразитарной системы бруцеллеза // Научно-исследовательские публикации. 2017. №4. С. 14-25.

3. Алимов А.М., Закирова Л.А. Показатели клеточного иммунитета у морских свинок при вакцинации и экспериментальной бруцеллезной инфекции // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. 2016. №3. С. 4-6.

4. Дубровина В.И., Коновалова Ж.А., Ястремская К.Ю., Баранникова Н.Л., Токарева С.В. Балахонов С.В. Механизмы клеточного иммунного ответа при бруцеллезе // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2016. №6(91). С. 80-87.

5. Дегтяренко Л.В., Власенко В.С., Бронников В.С. Оценка механизмов иммуногенеза у морских свинок, сенсибилизированных бруцеллами // Вестник ветеринарии. 2015. Т. 73. №2. С. 42-46.

6. Оценка иммунного статуса и дифференцированная иммунокоррекция при бруцеллезе: метод. рекомендации / сост. Курманова Г.М., Дуйсенова А.К., Курманова К.Б., Спиричева Н.Х. Алматы, 2002. 30 с.

7. Дегтяренко Л.В., Власенко В.С., Скляров О.Д. Оценка иммунологических тестов при бруцеллезе собак, вызываемом B. canis // Ветеринария. 2016. №7. С. 60-63.

STUDY OF CELLULAR IMMUNE RESPONSE IN ANIMAL BRUCELLOSIS

O.O. Manakova

The basis of the pathogenesis of brucellosis is a multi faceted response of immunocompetent cells to the action of an etiological agent- bacteria of the genus Brucella. The study of cellular indicators of immunogenesis and the infectious process in brucellosis can provide valuable information on the mechanisms of protection of the body. The review provides data on the interaction of Brucella with the macroorganism.

Keywords: *brucella, diagnosis of brucellosis, phagocytosis, neutrophils.*

УДК 619:616.981.42-097:636.91

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА МАКРО- И МИКРОМЕТОДА ПОСТАНОВКИ РЕАКЦИИ НЕПРЯМОЙ ГЕМАГГЛЮТИНАЦИИ

Н.Н. Новикова*, канд. ветеринар. наук*

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Омский аграрный научный центр», г. Омск, РФ, novnik00@mail.ru

В статье проведена сравнительная оценка методов постановки реакции непрямой гемагглютинации (РНГА). На примере сыворотки крови морских свинок иммунизированных вакцинными штаммами бруцелл, находящихся в разных антигенных формах RS-, R- и зараженными B. abortus 54 в S-форме. В результате проведенных исследований установлено, что микрометод постановки РНГА менее чувствительный, чем макрометод на одно-два разведения сыворотки крови.

Ключевые слова: *бруцеллез, реакция непрямой гемагглютинации, антигены, сыворотки, морские свинки.*

В настоящее время техника постановки реакций микрометодом в ветеринарной лабораторной диагностике инфекций не нашла свое широкое применение. В медицине данный метод разработан и применяется при исследовании на туляремию, холеру, лептоспироз, а также бруцеллез.

МУК 3.1.7.3402–16 «Эпидемиологический надзор и лабораторная диагностика бруцеллеза» дает подробное описание методики постановки реакции непрямой гемагглютинации (РНГА) при бруцеллезе микрометодом. В данном документе в пункте 9.3.4. сказано: «…Следует учитывать то, что чувствительность микрометода обычно на одно разведение ниже, чем макрометода». Реакцию проводят с использованием «Эритроцитарный бруцеллезный антигенный диагностикум» выпускаемый ФКУЗ «Ставропольский НИПЧИ».

В ветеринарной практике РНГА также является одной из подтверждающих реакций на бруцеллез животных. Техника постановки реакции макрометодом внесена в ГОСТ 34105-2017 «Животные. Лабораторная диагностика бруцеллеза. Серологические методы». Инструкция к диагностикуму «Набор для серологической диагностики бруцеллеза мелкого и крупного рогатого скота в реакции непрямой гемагглютинции (РНГА)» производство г. Махачкала не предусматривает постановку реакции микрометодом.

Целью нашей работы являлось провести сравнительную оценку макро- и микрометода постановки реакции непрямой гемагглютинации

Материалы и методы. Сравнительную оценку макро- и микрометода постановки реакции непрямой гемагглютинации проводили на сыворотках крови морских свинок иммунизированных вакцинными штаммами бруцелл (SR-, R-форме) и зараженными B. abortus 54 в S-форме. Ранее мы писали о иммунологических свойствах вакцин, где одним из методов определения титров антител была реакция непрямой гемагглютинации [1].

Для проведения опыта по принципу аналогов составлены 5 групп морских свинок:

1-я – 10 голов, B. abortus RB-51 (R-форма), доза 2 млрд м.к.;

2-я – 10 голов, B. abortus RB-51, доза 1 млрд м.к.;

3-я – 10 голов, B. abortus 82 (RS-форма), доза 1 млрд м.к.;

4-я – 10 голов, B. abortus 82, доза 2 млрд м.к.;

5-я контрольная – 4 головы, введен стерильный физиологический раствор, доза 1 мл.

Сыворотки крови от животных исследовали до иммунизации и через 20, 40, 76 и 111 суток после инокуляции антигенов согласно ГОСТ 34105-2017. Кровь для исследований брали из глаза морской свинки [2]. Для постановки РНГА использовали «Набор для серологической диагностики бруцеллеза мелкого и крупного рогатого скота в реакции непрямой гемагглютинции (РНГА)» производство г. Махачкала.

Перед введением культур штаммов бруцелл изучали популяцию колоний по методике Уайт-Вильсона, агглютинабельные свойства определяли в пластинчатой РА с S- и R-бруцеллезными кроличьими сыворотками, изготовленными нами во ВНИИБТЖ [3].

Через 76 суток морских свинок всех групп инфицировали штаммом B. abortus 54 в дозе 100 м.к.

Результаты исследований и их обсуждение. Все используемые в опыте культуры штаммов бруцелл соответствовали биологическим свойствам прописанные в паспорте.

Морские свинки до введения антигенов были интактными.

В результате проведенных исследований в РНГА сывороток крови морских свинок в разведениях от 1/10 до 1/160 на 20, 40, 76 сутки после инокуляции антигенов установлено, что используемый антиген для постановки реакций специфичен в отношении выработанных антител. Морские свинки 1, 2, 5 групп, на протяжении 20-76 суток с S-бруцеллезным антигеном в РНГА имели отрицательные результаты, что характерно для инагглютиногенных вакцин и здоровых животных. У животных 3-4 групп обнаруживали гемагглютинины (в среднем 1:10-1:50) низкие титры сыворотки крови (таблицы 1, 2).

Из представленных таблиц 1, 2 видно, что синтез S-антител в сыворотке крови снижается и на 76 сутки встречаются единичные выявления. При сравнении методов постановки реакции можно сказать, что микрометод отстает от макрометода в выявлении антител на 1-2 разведения сыворотки крови опытных животных.

Таблица 1

Показатели среднего титра антител по группам в РНГА макрометодом

№ группы	Кол-во животных в группе	Реагировали положительно на:					
		20 сутки		40 сутки		76 сутки	
		кол-во	средний титр	кол-во	средний титр	кол-во	средний титр
1	10	0	-	0	-	0	-
2	10	0	-	0	-	0	-
3	10	6	26,67	5	26,0	1	20,0
4	10	10	50,0	7	27,15	2	10,0
5	4	0	-	0	-	0	-

**Средний титр антител по группе из разведения сывороток крови морских свинок с 1/10 до 1/160*

Таблица 2

Показатели среднего титра антител по группам по группам в РНГА микрометодом

№ группы	Кол-во животных в группе	Реагировали положительно на:					
		20 сутки		40 сутки		76 сутки	
		кол-во	средний титр	кол-во	средний титр	кол-во	средний титр
1	10	0	-	0	-	0	-
2	10	0	-	0	-	0	-
3	10	6	13,34	4	15,0	0	-
4	10	10	25,0	5	18,0	1	10,0
5	4	0	-	0	-	0	-

**Средний титр антител по группе из разведения сывороток крови морских свинок с 1/10 до 1/160*

При обследовании опытных животных всех групп после инфицирования вирулентной культурой штамма B. abortus 54 в сыворотке крови как иммунных, так и инфицированных морских свинок определяли S-антитела. У 100% животных контрольной группы диагностировали S-бруцеллезные антитела в высоких титрах РНГА – 1:5120 макрометодом и 1:2560 микрометодом. Результаты исследований представлены в таблице 3.

Анализируя таблицу 3, можно сказать, что после заражения, микрометод также отстает от макро на 1-2 разведение сыворотки крови морских свинок.

Таблица 3

Показатели среднего титра антител по группам в РНГА после заражения B.abortus 54

№ группы	Количество животных в группе	Реагировали положительно на 36 сутки после заражения в РНГА			
		макрометодом		микрометодом	
		количество	средний титр	количество	средний титр
1	10	4	1995,0	4	515,0
2	10	6	1493,0	6	853,34
3	10	2	160,0	2	80,0
4	10	1	640,0	1	320,0
5	4	4	5120,0	4	2560,0

**Средний титр антител по группе из разведения сывороток крови морских свинок с 1/10 до 1/5120*

Заключение. Сравнивая два метода постановки РНГА можно согласиться с МУК 3.1.7.3402–16, действительно постановка микрометодом отстает от макро на 1-2 разведение. В тоже время у него есть ряд преимуществ перед марометодом: сокращается расход используемого антигена и разбавителя, увеличивается скорость постановки реакции, а также возможность адаптации к автоматическому оборудованию.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Кисиль А.С., Кузьмин В.А., Скляров О.Д., Дегтяренко Л.В., Власенко В.С., Новикова Н.Н. Результаты испытания иммунобиологических свойств вакцин из штаммов B. abortus RB-51 и B. abortus 82 // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. 2017. №4. С. 26-29.

2. Новикова Н.Н., Дмитриева К.П., Имерякова С.А. Способ гуманного взятия крови у морских свинок // Современные тенденции научного обеспечения в развитии АПК: фундаментальные и прикладные исследования: Матер. науч.-практ. (очно-заочной) конф. с междунар. участием. Омск, 2017. С. 87-88.

3. Методы иммунологической оценки животных, сенсибилизированных измененными формами бруцелл: методическое пособие / Л.В. Дегтяренко [и др.]. Москва, Омск, 2017. 32 с.

COMPARATIVE EVALUATION OF MACRO AND MICRO METHOD OF STAGING INDIRECT HEMAGGLUTINATION REACTIONS

N.N. Novikova

The article provides a comparative assessment of methods for staging the reaction of indirect hemagglutination (RIHA). On the example of blood serum of guinea pigs immunized with vaccine strains of Brucella, which are in different antigenic forms RS-, R and infected with B. abortus 54 in S-form. As a result of the conducted studies, it was established that the micromethod of setting the RIHA is less sensitive than the macromethod for one or two dilutions of blood serum.

Keywords: *brucellosis, indirect hemagglutination reaction, antigens, sera, guinea pigs.*

УДК 619:616.981.42-097:636.91

ПРИМЕНЕНИЕ R-БРУЦЕЛЛЕЗНОГО ЦВЕТНОГО АНТИГЕНА В МИКРОРЕАКЦИИ АГГЛЮТИНАЦИИ

Н.Н. Новикова, *канд. ветеринар. наук*

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Омский аграрный научный центр», г. Омск, РФ, novnik00@mail.ru

В статье рассмотрена возможность применения R-бруцеллезного цветного антигена при постановке реакции агглютинации микрометодом. На примере сыворотки крови морских свинок иммунизированных вакцинными штаммами бруцелл, находящихся в разных антигенных формах S-, RS-, R-. В результате проведенных исследований установлены ряд преимуществ микрореакции агглютинации (МРА) в сравнении с классической РА.

Ключевые слова: *бруцеллез, реакция агглютинации, антигены, сыворотки, морские свинки.*

В настоящее время техника микрометода широко внедряется в лабораторную практику. Для диагностики бруцеллеза у людей рекомендован «Диагностикум бруцеллезный цветной сухой для микроагглютинации (МРА), реакции агглютинации (РА) пробирочной и ускоренной на стекле» [1]. Также разработаны препараты для других инфекции - туляремия, холера, лептоспироз. Данный метод позволяет экономить диагностические биопрепараты и время специалиста на постановку реакции, упрощает учет реакции, так как цветные антигены позволяют более четко видеть и оценивать зонтик агглютинации.

В ветеринарии данный метод находится в стадии разработки. Предлагаем рассмотреть возможность применения R бруцеллезного цветного антигена при постановке реакции микроагглютинации (РМА) на примере сыворотки крови морских свинок иммунизированных разными штаммами бруцелл. Ранее мы писали о значимости использования R бруцеллезного цветного антигена в РА для выявления поствакцинальных антител [2].

Материалы и методы. Для проведения опыта по принципу аналогов составлены группы морских свинок: 1-я – 9 голов, B. abortus RB-51 (R-форма), доза 4 млрд м.к.; 2-я – 9 голов, B. abortus 82 (RS-форма), доза 1 млрд м.к.; 3-я – 9 голов, B. abortus 19 (S-форма), доза 1 млрд. м.к.; 4-я контрольная – 4 головы, введен физиологический раствор, доза 1 мл.

Сыворотки крови животных исследовали до иммунизации и через 20, 40 и 60 суток после инокуляции бруцеллезных антигенов согласно ГОСТ 34105-2017. Кровь для исследований брали из глаза морской свинки [3]. Для диагностики R-бруцеллезных антител в сыворотке крови морских свинок классическим методом (РА) применяли цветной R-антиген (ВНИИБТЖ). МРА проводили с тем же антигеном. Перед введением культур штаммов бруцелл изучали популяцию колоний по методике Уайт-Вильсона, агглютинабельные свойства определяли в пластинчатой РА с S- и R-бруцеллезными кроличьими сыворотками, изготовленными нами во ВНИИБТЖ [4].

Результаты исследований и их обсуждение. Все используемые в опыте культуры штаммов бруцелл соответствовали биологическим свойствам прописанные в паспорте.

Морские свинки до введения антигенов были интактными.

В результате проведенных исследований в РА и МРА сывороток крови морских свинок в разведениях от 1/10 до 1/320 на 20, 40, 60 сутки после инокуляции антигенов установлено, что используемый антиген для постановки реакций специфичен в отношении антител выработанных на введенные S-, SR- или R-формы возбудителей бруцеллеза (таблицы 1, 2).

Из представленных таблиц видно, динамику синтеза антител, титр антител уменьшается на 20 сутки в 2,2-2,1 раз при постановке реакции РА и МРА. После 40 суток на 60-е титр антител также снизился примерно одинаково в обеих реакциях в 1,86 и 1,72 раза.

Таблица 1

Показатели среднего титра антител по группам в РА

№ группы	Кол-во животных в группе	Реагировали положительно с R-бруцеллезным цветным антигеном в РА (классический метод) на:					
		20 сутки		40 сутки		60 сутки	
		кол-во	средний титр	кол-во	средний титр	кол-во	средний титр
1	9	9	71,12	7	27,15	9	13,34
2	9	9	100,0	9	51,12	9	28,89
3	9	0	-	0	-	0	-
4	4	0	-	0	-	0	-

**Средний титр антител по группе из разведения сывороток крови морских свинок с 1/10 до 1/320*

Метод постановки МРА чувствительнее РА более чем в 2 раза, так как выявляет больше антител в первых титрах разведения сыворотки.

Таблица 2

Показатели среднего титра антител по группам в МРА

№ группы	Кол-во животных в группе	Реагировали положительно с R-бруцеллезным цветным антигеном в МРА (микро метод) на:					
		20 сутки		40 сутки		60 сутки	
		кол-во	средний титр	кол-во	средний титр	кол-во	средний титр
1	9	9	182,23	9	63,34	9	26,67
2	9	9	164,45	9	102,23	9	70,0
3	9	0	-	0	-	0	-
4	4	0	-	0	-	0	-

**Средний титр антител по группе из разведения сывороток крови морских свинок с 1/10 до 1/320*

Заключение. Сравнивая два метода постановки реакции агглютинации на примере эксперимента с морскими свинками иммунизированных вакцинами из разных антигенный форм бруцелл (S-, SR-, R-) считаем, что оба метода обладают достаточной чувствительностью для постановки дифференциального диагноза на бруцеллез от поствакцинальных реакций. В тоже время МРА имеет ряд преимуществ перед классической РА:

1. чувствительнее классической РА в более чем в 2 раза;

2. сокращается расход антигена;
3. возможность адаптации к автоматическому оборудованию.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. МУК 4.2.3010-12 Порядок организации и проведения лабораторной диагностики бруцеллеза для лабораторий территориального, регионального и федерального уровней. Введ. 2012-03-29. М.: Роспотребнадзор, 2013. С. 68.

2. Новикова Н.Н., Янченко Т.А., Имерякова С.А., Кожахметова А.А. Изучение эффективности использования R бруцеллезного цветного антигена в опыте на морских свинках // Состояние и перспективы научного обеспечения АПК Сибири: Матер. науч.-практ. конф. Омск, 2018. С. 307-310.

3. Новикова Н.Н., Дмитриева К.П., Имерякова С.А. Способ гуманного взятия крови у морских свинок // Современные тенденции научного обеспечения в развитии АПК: фундаментальные и прикладные исследования: Матер. науч.-практ. (очно-заочной) конф. с междунар. участием. Омск, 2017. С. 87-88.

4. Методы иммунологической оценки животных, сенсибилизированных измененными формами бруцелл: методическое пособие / Л.В. Дегтяренко [и др.]. Москва, Омск, 2017. 32 с.

USE OF COLORED R-BRUCELLOSIS ANTIGENS IN THE MICROREACTION OF AGGLUTINATION

N.N. Novikova

The article discusses the possibility of using the R-brucellosis color antigen when staging the agglutination reaction using the micromethod. On the example of blood serum of guinea pigs immunized with vaccine strains of Brucella, which are in different antigenic forms S-, RS-, R. As a result of the conducted studies, a number of advantages of the micro agglutination reaction (MRA) in comparison with classical RA have been established.

Keywords: *brucellosis, agglutination reaction, antigens, sera, guinea pigs.*

УДК 619:616.981.42-097:636.91

ПРИМЕНЕНИЕ S-БРУЦЕЛЛЕЗНЫХ ЦВЕТНЫХ АНТИГЕНОВ В МИКРОРЕАКЦИИ АГГЛЮТИНАЦИИ

Н.Н. Новикова, *канд. ветеринар. наук*

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Омский аграрный научный центр», г. Омск, РФ, novnik00@mail.ru

В статье рассмотрена возможность применения S бруцеллезных цветных антигенов: для кольцевой реакции (КР) с молоком и роз-бенгал пробы (РБП) в микрореакции агглютинации (МРА). На примере сыворотки крови морских свинок иммунизированных вакцинными штаммами бруцелл, находящихся в разных антигенных формах R-RS-S и зараженными B. abortus 54 в S-форме. В результате проведенных исследований установлено, что антиген КР чувствительнее, чем РБП при использовании техники постановки реакции агглютинации микрометодом.

Ключевые слова: *бруцеллез, реакция агглютинации, антигены, сыворотки, морские свинки.*

Техника постановки реакции агглютинации микрометодом внедрена в лабораторную диагностику инфекционных болезней людей еще в XX веке. В ветеринарии данный метод исследований не нашел широкого применения несмотря на то, что, используя технику постановки микрореакции агглютинации (МРА), мы можем экономично использовать диагностические биопрепараты и время специалиста на ее постановку, а также упростить учет реакции, так как цветные антигены позволяют более четко видеть и оценивать зонтик агглютинации.

В Республике Казахстан существуют разработанные ветеринарные диагностикумы с цветными S-антигенами для реакции агглютинации классическим (макрометодом): единый цветной антиген для серологических реакций при диагностике бруцеллеза сельскохозяйственных животных, анилин-антиген (РА, РДСК). У нас в стране разработаны цветные S-антигены для кольцевой реакции с молоком (КР) и роз-бенгал проба (РБП).

Целью наших исследований является изучение возможности применения цветных антигенов в S форме в микрореакции агглютинации.

Материалы и методы. Исследование проводилось на примере сыворотки крови морских свинок, иммунизированных вакцинными штаммами бруцелл (R-, RS-, S-форме) и зараженными B. abortus 54 в S-форме [1].

Для проведения опыта по принципу аналогов составлены группы морских свинок:

1-я – 9 голов, B. abortus RB-51 (R-форма), доза 4 млрд м.к.;

2-я – 9 голов, B. abortus 82 (RS-форма), доза 1 млрд м.к.;

3-я – 9 голов, B. abortus 19 (S-форма), доза 1 млрд. м.к.;

4-я контрольная – 4 головы, введен физиологический раствор, доза 1 мл.

Сыворотки крови от животных исследовали до иммунизации и через 20, 40, 60 и 35 суток после инокуляции антигенов согласно ГОСТ 34105-2017. Кровь для исследований брали из глаза морской свинки [2]. Реакцию агглютинации микрометодом ставили с использованием продукции Щелковского биокомбината: «Тест-система для диагностики бруцеллеза животных в кольцевой реакции (КР)» с молоком и «Антиген бруцеллезный для роз бенгал пробы (РБП)». Методика постановки МРА описана в инструкции по применению «Диагностикум туляремийный цветной для РА на стекле, микрореакции агглютинации (МРА)», производство НИПЧИ Иркутск.

Перед введением культур штаммов бруцелл изучали популяцию колоний по методике Уайт-Вильсона, агглютинабельные свойства определяли в пластинчатой РА с S- и R-бруцеллезными кроличьими сыворотками, изготовленными нами во ВНИИБТЖ [3].

Через 60 суток морских свинок всех групп инфицировали штаммом B. abortus 54 в дозе 100 м.к.

Результаты исследований и их обсуждение. Все используемые в опыте культуры штаммов бруцелл соответствовали биологическим свойствам, прописанным в паспорте.

Морские свинки до введения антигенов были интактными.

В результате проведенных исследований на 20, 40, 60 сутки установлено, что S антигены для кольцевой реакции с молоком и роз-бенгал пробы реагируют со специфическими S антителами, образованными у морских свинок 2, 3 групп в МРА, а у животных 1 группы иммунизированные вакциной в R форме и контрольной группе они отсутствуют. Активизация антителообразования наблюдается на 40 сутки в среднем титре по группе 1/275, а угнетение на 60-е в среднем титре по группе 1/93,34 (таблица 1).

По данным таблицы 1, антиген для КР чувствительнее РБП в 2 раза, так как выявляет больше антител при разведении сыворотки в микрореакции агглютинации. На 30 сутки после инфицирования животных B. abortus 54, титр антител в РМА у животных 1, 2-ой резко увеличился до 1/320, так как морские свинки заразились бруцеллезом по иммунному фону. В контрольной группе заразились все животные средний титр 1/1280. Показатели антител 3 группы снизились, но в тоже время остались выше диагностических значений нормы.

Таблица 1

Показатели среднего титра антител по группам в МРА

№ группы	Количество животных в группе	Реагировали положительно в РМА на:											
		20 сутки с антигеном:				40 сутки с антигеном:				60 сутки с антигеном:			
		КР		РБП		КР		РБП		КР		РБП	
		коли-чест-во	сред. титр	коли-чест-во	сред. титр	коли-чест-во	сред. титр	коли-чест-во	сред. титр	коли-чест-во	сред. титр	коли-чест-во	сред. титр
1	9	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-
2	9	8	77,78	8	38,89	0	-	0	-	0	-	0	-
3	9	9	248,89	9	142,45	9	275,56	9	137,78	9	93,34	9	46.67
4	4	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-

**Средний титр антител по группе из разведения сывороток крови морских свинок с 1/10 до 1/320*

В опыте после заражения (таблица 2) антиген для КР, также был чувствительнее РБП в 2 раза.

Таблица 2

Показатели среднего титра антител по группам в РМА после заражения B.abortus 54

№ группы	Количество животных в группе	Реагировали положительно на 30 сутки после заражения в РМА с антигеном:			
		КР		РБП	
		количество	средний титр	количество	средний титр
1	9	6	293,34	6	146,67
2	9	2	320,0	2	160,0
3	9	9	86,67	9	43,34
4	4	4	1280,0	4	960,0

**Средний титр антител по группе из разведения сывороток крови морских свинок с 1/10 до 1/1280*

Заключение. Анализируя полученные результаты, можно сделать вывод о том, что оба цветных антигенов могут быть использованы для постановки МРА. При сравнении двух антигенов лучшие результаты показал цветной антиген КР, чем РБП. Реакция микроагглютинации с ним была более яркой, края зонтиков четче, видны не вооруженным глазом, отрицательные пуговки компактны и не расплывчаты.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Новикова Н.Н., Янченко Т.А., Имерякова С.А., Кожахметова А.А. Изучение эффективности использования R бруцеллезного цветного антигена в опыте на морских свинках // Состояние и перспективы научного обеспечения АПК Сибири: Матер. науч.-практ. конф. Омск, 2018. С. 307-310.

2. Новикова Н.Н., Дмитриева К.П., Имерякова С.А. Способ гуманного взятия крови у морских свинок // Современные тенденции научного обеспечения в развитии АПК: фундаментальные и прикладные исследования: Матер. науч.-практ. (очно-заочной) конф. с междунар. участием. Омск, 2017. С. 87-88.

3. Методы иммунологической оценки животных, сенсибилизированных измененными формами бруцелл: методическое пособие / Л.В. Дегтяренко [и др.]. Москва, Омск, 2017. 32 с.

USE OF COLORED S BRUCELLOSIS ANTIGENS IN THE MICRO-REACTION OF AGGLUTINATION

N.N. Novikova

The article discusses the possibility of using S brucellosis color antigens: for ring reaction (CR) with milk and rose-bengal sample (RBP) in micro-agglutination reaction (MRA). On the example of blood serum of guinea pigs immunized with vaccine strains of Brucella in different antigenic forms of R-RS-S and infected with B. abortus 54 in S-form. As a result of the studies, it was found that the CR antigen is more sensitive than the RBP when using the technique of staging the agglutination reaction by the micromethod.

Keywords: *brucellosis, agglutination reaction, antigens, sera, guinea pigs.*

УДК 619:616.981.42:576.807.7

ИЗУЧЕНИЕ ИММУНОГЕНЕЗА ПРОТИВОБРУЦЕЛЛЕЗНЫХ ВАКЦИН НА МОЛОДНЯКЕ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Г.М. Сафина*, канд. ветеринар. наук,* **Л.А. Тухватуллина, Я.А. Богова, Р.Ю. Насибуллин, М.А. Косарев***, канд. биол. наук*

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности», г. Казань, РФ, vnivi@mail.ru

Основным критерием оценки благополучия животных по бруцеллезу является серологическая диагностика. Учитывая актуальность проблемы, изучали иммуногенез у вакцинированного и ревакцинированного молодняка крупного рогатого скота с помощью S- и R-антигенов. Животных привили культурами из штаммов B. abortus 82 и B. abortus R-1096, а затем ревакцинировали. Изучали динамику антителообразования. Установили, что культура B. abortus R-1096 является инагглютиногенной. Ревакцинация вакцинированных животных штаммом 82 культурой штамма B. abortus R-1096, спровоцировала синтез как S-, так и R-антител. Эти данные следует учитывать при применении культуры B. abortus R-1096 в производственных условиях с целью провокации бруцеллеза у скрыто больных животных.

Ключевые слова: *бруцеллез, иммуногенез, антитела, молодняк крупного рогатого скота.*

Необходимым условием в подъеме животноводства является снижение, а затем ликвидация инфекционных болезней сельскохо-

зяйственных животных. Одним из таких опасных заболеваний является бруцеллез. Искоренение бруцеллеза в эпидемиологическом отношении имеет важную роль, так как больные животные являются источником заражения для людей. Эта инфекция представляет большую проблему, которая требует значительных затрат на организацию ветеринарных мероприятий.

Серологический метод является единственным, иногда и основным критерием оценки благополучия животных по бруцеллезу, так как при бактериологическом исследовании выделить культуру возбудителя не всегда удается [4].

У крупного рогатого скота иммунный ответ может отличаться из-за индивидуальных особенностей, и животные могут реагировать поразному. От объективности оценки иммунного ответа т.е. специфичности, чувствительности и активности диагностикумов зависит схема их оптимального комплексного применения с целью выявления более широкого спектра антител [3].

Одной из проблем остается своевременная диагностика бруцеллеза при использовании живых слабоагглютиногенных вакцин, в частности при проведении оздоровительных мероприятий, когда все животные здоровые, и в том числе, положительно реагирующие в реакциях со стандартными антигенами, сдаются на убой, что наносит экономический ущерб. Вместе тем, у ветспециалистов возникают затруднения при снятии ограничений. Так как после иммунизации положительные реакции со стандартными бруцеллезными S-антигенами остаются у вакцинированных животных до 2-х и более лет, их нужно грамотно дифференцировать [1, 2].

Цель исследований: изучить динамику образования антител у вакцинированного и ревакцинированного молодняка крупного рогатого скота с помощью S- и R-антигенов.

Материалы и методы. Для выполнения поставленной задачи подобрали группу бычков на откорме в количестве 30 голов, разделили на 2 группы по принципу аналогов. Животных подвергли серологическому исследованию на бруцеллез по РА и РСК с отрицательным результатом.

Первую группу в количестве 15 голов привили культурой из инагглютиногенного штамма *B. abortus R-1096*, в дозе 100 млрд. м.к. Вторую группу, привили полной дозой живой, сухой вакцины из слабоагглютиногенного штамма 82, изготавливаемой Щелковским био-

комбинатом. Биопрепараты разводили разбавителем для бруцеллезных вакцин, и вводили подкожно в области средней трети шеи в объеме 5 $см^3$.

У всех животных после прививки брали кровь через 15 суток, 1, 2, 3, 4 и 5 месяцев и сыворотку крови исследовали по РА и РСК с единым бруцеллезным антигеном и R-антигеном до максимальных титров антител.

Спустя шесть месяцев после вакцинации первую группу ревакцинировали вакциной из штамма 82, а вторую – культурой из штамма R-1096. После ревакцинации брали кровь и ее сыворотку исследовали через 15 и 30 суток по РА и РСК с единым бруцеллезным антигеном и РСК с R-антигеном до предельных титров антител.

Результаты исследований. Бычки, привитые культурой из штамма R-1096, во все сроки исследования показывали отрицательный результат в РА и РСК с единым бруцеллезным антигеном.

На15-е сутки после иммунизации с R-антигеном в РСК положительно ответило 66,66% животных в титре от 1:5 до 1:20.

Через месяц после введения антигена живого положительно реагировало 73,33% животных в титре от 1:5 до 1:40.

Титр антител снизился в 2 раза через 2 месяца, хотя количество положительно реагирующих животных увеличилось до 86,66%.

В последующие сроки количество положительно реагирующих животных и титры антител ежемесячно снижались и через 5 месяцев после иммунизации все животные реагировали негативно и в РСК с R-антигеном.

У бычков, привитых вакциной из штамма 82, положительные результаты РА и РСК с единым бруцеллезным антигеном практически отсутствовали во все сроки исследований. Лишь на 15 сутки после вакцинации одно животное давал в РА в титре 100 МЕ и 4 головы реагировали сомнительно. Спустя месяц у одной головы была сомнительная РА, а через 2, 3, 4 и 5 месяцев не было ни положительных, ни сомнительных результатов.

В РСК с R-антигеном на 15-е сутки после иммунизации реагировали положительно 53,33% животных в титре от 1:5 до 1:20. К 30 суткам количество положительно реагирующих достигло 93,33% при среднем титре антител от 1:5 до 1:20.

Далее наблюдали постепенное снижение положительно реагирующих и среднего титра антител и через 4 месяца их выделение пре-

кратилось. Лишь отдельные животные через 4 и 5 месяцев давали сомнительную реакцию.

Ревакцинация бычков, привитых культурой из штамма R-1096, вакциной из штамма 82 через 6 месяцев после вакцинации и полного прекращения антителообразования способствовала резкому усилению иммуногенеза. Начали обнаруживаться в высоких титрах, как S-, так и R-антитела.

Через 15 суток после ревакцинации по РА с единым бруцеллезным положительно реагировало 90,9% животных при среднем титре от 100 до 800МЕ, по РСК 100% в титре от 1:5 до 1:40. Но более высокие титры были получены в РСК с R-антигеном. Ответили на ревакцинацию 100% животных в титре от 1:20 до 1:320.

Спустя месяц после ревакцинации количество реагирующих с единым бруцеллезным антигеном и титры антител также резко упали. По РА реагировало положительно лишь 36,35 животных в титре от 50 до 400 МЕ, по РСК 63,63% в титре 1:5 и сомнительно.

В РСК с R-антигеном положительную реакцию сохранили 100% животных со средним титром антител от 1:5 до 1:10.

У бычков, привитых вакциной из штамма 82, и ревакцинированных культурой из штамма R-1096, через 15 суток после ревакцинации отмечалась провокация синтеза как S-, так и R-антител.

27,27% животных давали РА с единым бруцеллезным антигеном в среднем титре от 50 до 200МЕ. 100% животных реагировали в РСК с S- и R-антигенами, однако титр антител с единым бруцеллезным антигеном составлял от 1:10 до 1:40, а в РСК-R от 1:40 до 1:320.

Спустя месяц после ревакцинации происходил резкий спад антителообразования. Так, по РА вообще не получили положительных результатов. По РСК с единым бруцеллезным антигеном положительно реагировало 62,5% животных в среднем титре 1:5. РСК-R была положительной у 87,5% животных в среднем титре от 1:5 до 1:10.

Выводы и обсуждения. Работа, проведенная на бычках, показала, что культура из штамма R-1096 является инагглютиногенной по S-антигену. Не получено ни одного положительного результата в течение 5-и месяцев после вакцинации ни в РА, ни в РСК с единым бруцеллезным антигеном.

Вакцина из штамма 82 показала также низкую агглютиногенность. Лишь на 15 сутки после вакцинации положительно реагировало одно животное по РА в титре 100 МЕ. Через месяц также лишь од-

на голова показывала сомнительный результат по РА. Во все сроки исследования комплементсвязывающих антител с единым бруцеллезным антигеном обнаружено не было.

Комплементсвязывающие антитела обнаруживались в РСК с R-антигеном у животных, привитых вакциной из штамма R-1096 с момента иммунизации, а у привитых вакциной из штамма 82 – 3 месяца.

Ревакцинация животных, культурой из штамма R-1096, вакциной из штамма 82 показала, что введение последней способствовало высокому синтезу как S-, так и R-антител на 15 сутки с момента ревакцинации. Спустя месяц титры обоих видов антител резко снизились.

Большой практический интерес показала ревакцинация всех особей, привитых вакциной из штамма 82, культурой из штамма R-1096. При этом было отмечено, что ревакцинация инагглютиногенной культурой провоцировала синтез как S-, так и R-антител. Однако с единым бруцеллезным антигеном положительной была в основном РСК, а в РА реагировали не все животные и в невысоких титрах. Высокие титры антител были получены по РСК с R-антигеном у всех ревакцинированных животных.

Эти данные следует учитывать при применении культуры из штамма R-1096 в производственных условиях с целью провокации бруцеллеза у скрыто больных животных.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Дегтяренко Л.В., Карлова М.Ю., Каликин И.Н. Диагностическая эффективность R-бруцеллезных антигенов при бруцеллезе крупного рогатого скота // Достижения науки и техники АПК. № 9. 2011. С. 57-61.

2. Косарев М.А., Фомин А.М., Сафина Г.М. и др. Дифференциальная серологическая диагностика бруцеллеза у крупного рогатого скота, привитого вакциной из штамма 82, и ее значение в общей системе мер борьбы с данным заболеванием // Ветеринарный врач. 2019. №5. С. 23-28.

3. Сафина Г.М., Фомин А.М., Косарев М.А. Апробация новой системы специальных противобруцеллезных мероприятий на заключительном этапе оздоровления хозяйств от бруцеллеза крупного рогатого скота // Ветеринарный врач. 2017. №4. С. 12-16.

4. 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 // Достижения науки и техники АПК. №4. 2013. С. 72-73.

STUDY OF THE IMMUNOGENESIS OF ANTI-BRUCELLOSIS VACCINES IN YOUNG CATTLE

G.M. Safina, Y.A. Bogova, L.A. Tukhvatullina, R.Y. Nasibullin, M.A. Kosarev

The main criterion for evaluation animal welfare for brucellosis is serological diagnosis. Considering the urgency of the problem, we have studied immunogenesis in vaccinated and revaccinated young cattle using S- and R-antigens. The animals were immunized with the culture *of the vaccinal strain B. abortus 82 and B. abortus R-1096 and then revaccinated. The dynamics of antibody production was studied. In present study we obtained that the culture of B. abortus R-1096 is inagglutinogenic. The vaccinated animals with vaccinal strain B. abortus 82 were revaccinated with a culture of B. abortus R-1096, that provoked the synthesis of both S- and R-antibodies. These data should be taken into attention when using this culture B. abortus R-1096 during the production process with goal provoke brucellosis in hidden sick animals.*

Keywords*: brucellosis, immunogenesis, antibodies, young cattle.*

УДК 619:616.98:579.841.93

ИЗУЧЕНИЕ ПРОТЕКТИВНОГО АНТИГЕНА БРУЦЕЛЛ КАК ФАКТОРА ПАТОГЕННОСТИ

А.И. Федоров[1]*, канд. биол. наук,* **М.И. Искандаров**[1]*, доктор ветеринар. наук,* **Н.В. Винокуров**[2]*, доктор ветеринар. наук,* **Е.С. Слепцов**[2]*, доктор ветеринар. наук, профессор,* **В.И. Федоров**[2]*, канд. ветеринар. наук, доцент*

[1]Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный научный центр - Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко Российской академии наук», г. Москва, РФ, admin@viev.ru

[2]Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Федеральный исследовательский центр «Якутский научных центр Сибирского отделения Российской академии наук» - обособленное подразделение Якутский научно-исследовательский институт сельского хозяйства имени М.Г. Сафронова, г. Якутск, РФ, yniicx@mail.ru

В настоящее время для профилактики бруцеллёза животных используют преимущественно живые вакцины. Эффективность таких вакцин - проверенный временем факт. Однако живые вакцины обладают многими недостатками, они могут вызывать аборты у привитых животных, некоторые вакцинные штаммы мигрируют на непривитых животных, представляют эпидемио-

логическую опасность. Кроме того, возникает проблема поствакцинальных антител, затрудняющая дифференциальную диагностику иммунизированных и больных животных. Основываясь на современных данных о механизме патогенеза при бруцеллёзе, на протяжении ряда лет проведена серия экспериментов по конструированию вакцин, иммунизирующим компонентом которой является фактор вирулентности, выделенный из бруцелл в результате кислотного, оксидативного и теплового стресса. Для повышения иммуногенности протективный антиген использовали с полимерными и корпускулярными носителями, а также с иммуномодуляторами различного происхождения.

Ключевые слова: *бруцеллез, вакцина, протективный антиген, антитела, штамм, иммуногенность, иммунитет.*

Изучению бруцеллезной инфекции посвящено много работ отечественных и зарубежных исследователей. Однако до сих пор механизмы патогенеза бруцеллезной инфекции у животных и людей до конца не изучены и нуждаются в дальнейшем исследовании.

В современном представлении вирулентные бруцеллы могут внедряться и в фагоцитирующие и в нефагоцитирующие клетки. Механизм внедрения в нефагоцитирующие клетки не ясен. Компоненты клетки, специфически содействующие адгезии клетки и инвазии не были изучены, и попытки выявить гены «инвазии» оказались не удачными. В пределах нефагоцитирующих клеток, бруцеллы имеют тенденцию локализоваться в эндоплазматической сети (endoplasmic reticulum). В полиморфнонуклеарных или мононуклеарных фагоцитах, они используют ряд механизмов для того, чтобы избегать или подавлять бактерицидные ответы [4, 7].

Липополисахаридный (ЛПС) компонент клеточной стенки S-форм бруцелл вероятно играет существенную роль во внутриклеточном выживании, так как гладкие (S) организмы по сравнению с шероховатыми (R), выживают лучше. По сравнению с энтеробактериальными ЛПС, S-ЛПС бруцелл имеет много необычных свойств: относительно низкую токсичность для эндотоксин-чувствительных мышей, кроликов, и куриных эмбрионов; низкую токсичность для макрофагов и относительно слабое влияние на температурную регуляцию организма. Липополисахаридный антиген бруцелл также относительно слабо индуцируют интерферон (и фактор некроза опухоли) но, парадоксально, являются довольно сильным индуктором интерлейкина 12 (IL-12) [1, 6].

В экспериментах с моноклональными и поликлональными анти-

телами S-ЛПС бруцелл представляет собой главный антиген, отвечающий за пассивный иммунитет. Однако предохранение в этом случае обычно краткосрочное и неполное. Лизис вирулентных бруцелл зависит от активированного макрофага и, следовательно, требует развития Th1 типа клеточно-опосредованного ответа к антигенам бруцелл, что и было неоднократно доказано [4, 6].

Важным и, даже решающим фактором вирулентности бруцелл является синтезируемый ими аденин и гуанин монофосфат, которые тормозят фаголизосомное слияние в макрофагах; дегрануляцию (экзоцитоз) фагоцитов и активацию миелопероксидазной системы, а также производство фактора некроза опухоли [7].

Роль железа, железосодержащих белков и других металлов в патогенезе бруцеллеза все еще неизвестна. В общем, низкое наличие железа в условиях in vivo ограничивает размножение микроорганизмов. Однако, высокие концентрации железа содействуют гибели бруцелл, вероятно благоприятствуя производству радикалов гидроксила и гидроксиламина – продуктов «респираторного взрыва» фагоцитов при контакте с бруцеллами. Показано положительное влияние кобальта, йода, селена и других микроэлементов на иммуногенез при бруцеллезной инфекции [6, 7].

Выживание бруцелл в макрофагах обусловлено синтезом белков молекулярного веса 17, 24, 28, 60, и 62 kda. Белок – продукт кислотного стресса имеет молекулярный вес 24 kda и его синтез коррелирует с выживанием бактерий при кислых условиях (pH< 4). Белки имеющие молекулярную массу 17 и 28 kda по-видимому специфически индуцируются макрофагами и обуславливают внутриклеточное выживание бруцелл [3].

В последнее время интерес исследователей к состоянию стресса у бактерий возрос. Практический интерес к стрессу у патогенных бактерий определяется тем, что стрессорные белки могут рассматриваться как кандидаты вакцин нового поколения. Есть много факторов способных вызывать состояние стресса у бактерий. К наиболее известным относятся физические (температурные, радиационные и т.д.), физико-химические (pH, pO_2, pCO_2), биологические (бактериофаги, бактериальные токсины и др.).

При воздействии стрессорных факторов бактерии начинают усиленно синтезировать полимеры клеточной стенки, происходят изменения в липидном составе мембран, синтез протекторных соединений

(углеводов, аминокислот и др.) [3].

Наиболее известными являются так называемые белки теплового шока, появляющиеся под воздействие повышенной температуры. Белки теплового шока могут действовать как факторы вирулентности [2, 3].

Кислый pH – один из стрессоров, наиболее часто встречающихся в микробных системах. При этом стрессе происходят многочисленные изменения в экспрессии различных белков и многие события на уровне генной регуляции: хромосомные локусы, ответственные за чувствительность и устойчивость к стрессам, вирулентность и др.

Оксидативный стресс у бактерий вызывают реактивные формы кислорода, которые образуются как следствие перехода электронов от кислорода к воде (супероксид анион O_2 и перекись водорода – H_2O_2) и в результате взаимодействия перекиси водорода с ионами металлов – гидраксилрадикал (OH). Описаны эффективные механизмы защиты бактерий от оксидативных повреждений на уровне генома, включающие синтез дополнительных белков – ферментов, а также низкомолекулярных компонентов, выполняющих роль фактора патогенности [3, 7].

Основываясь на изложенных данных о механизме патогенеза при бруцеллезе, нами на протяжении ряда лет проведена серия экспериментов по конструированию вакцин, иммунизирующим компонентом которой является фактор вирулентности, выделенный из бруцелл в результате кислотного, оксидативного и теплового стресса. Бакмассу бруцелл после экспозиции в «стрессирующих» условиях удаляли путем центрифугирования. Супернатант подвергали ультрафильтрации. Полученный фильтрат использовали в качестве протективного антигена для конструирования бруцеллезных вакцин.

Так как протективный антиген, полученный нами, имеет молекулярную массу не более 30 kda, в чистом виде он практически не обладает антигенными свойствами, выявляемыми общепринятыми методами диагностики бруцеллеза. Для повышения иммуногенности протективный антиген конъюгировали с полимерными и корпускулярными носителями, а также с иммуномодуляторами различного происхождения. Для стимуляции производства супероксидных и гидроксильных радикалов и фермента – супероксиддисмутазы вводили в состав препарата металлы в ионной и высокодисперсной форме. Стабилизацию иммунизирующего препарата от негативного воздействия

протеолитических ферментов проводили с помощью цитрата натрия.

Изучение иммунизирующих свойств различных серий препарата выявило некоторые особенности. Так, протективный антиген, выделенный из вирулентного штамма, почти в 1000 раз превышает иммуногенность антигена, полученного из вакцинного штамма. Пока не ясно, качественная или количественная характеристика лежит в основе отличия иммуногенных свойств протективных антигенов из вакцинных и вирулентных штаммов. Дело в том, что по предварительным данным, биохимический состав и количество действующего вещества в иммунизирующих препаратах, изготовленных из вирулентных и вакцинных штаммов примерно одинаково, вместе с тем иммуногенные свойства существенно различаются.

Иммуногенные свойства препаратов из протективного антигена также имеют свои особенности. На примере живых бруцеллезных вакцин из штаммов B. abortus 19, 104-M и B. melitensis Rev-1 известно, что разница в дозе вакцин в сотни и более раз существенно не сказывается на напряженности иммунитета. При изготовлении иммунизирующего препарата из полученного нами протективного антигена превышение определенной пороговой дозы не только не увеличивает иммуногенные свойства, но, похоже, вызывает состояние «иммунного паралича». У морских свинок, получивших «надпороговую» дозу препарата, искусственное заражение с целью проверки иммунитета вызывает бурную реакцию на месте введения бруцелл заражающего штамма (феномен Артюса). В паренхиматозных органах и лимфатических узлах отмечаются ярко выраженные патологоанатомические изменения. Бруцеллы заражающего штамма высеваются практически из всех органов и лимфатических узлов. Индекс инфицированности в 2-3 раза превышает аналогичные показатели контрольных животных.

Введение «надпороговой» дозы протективного антигена у белых мышей угнетает синтез антител на введение чужеродного антигена и гиперчувствительность замедленного типа (ГЗТ), выявляемый в кожной аллергической реакции. При этом угнетение иммунной системы не носит специфический характер. Так у подопытных белых мышей подкожное введение культуры стафилококка вызывает 100%-ную гибель, тогда как у контрольных животных - в худшем случае местный некроз кожи.

Таким образом, протективный антиген, полученный нами, ведет себя как типичный фактор патогенности «эндотоксин». Вакцинный препарат, сконструированный из этого антигена, обладает хорошей иммуногенностью при оптимальной дозировке действующего вещества. Однако, «широта» применения доз от эффективной до токсичной крайне мала, и существует реальная опасность передозировки с негативными последствиями.

Мы провели определенную работу по детоксикации выделенного нами антигена методом обработки формалином. То есть «токсин» преобразовали в «анатоксин». Работа в этом направлении еще не закончена, но по предварительным данным обработанный таким образом антиген для получения адекватной иммуногенности, требует заметного увеличения дозировки по действующему веществу.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Альбертян М.П., Искандаров М.И., Федоров А.И. Свойства протективного антигена из разных штаммов бруцелл // Ветеринария. 2006. №10. С. 30-32

2. Альбертян М.П., Искандаров М.И., Федоров А.И. Иммунобиологические свойства слабоагглютиногенной вакцины против бруцеллеза сельскохозяйственных животных // Ветеринария и кормление. 2013. №4. С. 20-23.

3. Баснакьян И.А. Стресс у бактерий. М.: «Медицина», 2003. 135 с.

4. Искандаров М.И., Гулюкин М.И., Гулюкин А.М. и др. Бруцеллез животных в России. Новосибирск: АНС "СибАК", 2017. 286 с.

5. Гордиенко Л.Н., Околелов В.И., Аракелян П.К. Эффективность противобруцеллезных мероприятий в Российской Федерации // Инфекционная патология животных: Матер. междунар. науч.-практ. конф., посвящ. 90-летию Сиб-НИВИ-ВНИИБТЖ (г. Омск, 23-25 ноября 2011 г.). Омск, 2011. С. 31-35.

6. Федоров А.И., Искандаров М.И., Игнатов П.Е. и др. Значение гуморального и клеточного иммунитета при бруцеллезе // Физиология и патология иммунной системы. 2006. №8(10). С. 3-7.

7. Игнатов П.Е. Некоторые аспекты патогенности бруцелл // Бактериальные и вирусные болезни сельскохозяйственных животных и птиц в хозяйствах Северного Кавказа: Сб. науч. тр. Новочеркасск, 1988. С. 66-74.

8. Гордиенко Л.Н., Аракелян П.К., Янченко Т.А. и др. Роль сибирских ученых в разработке и совершенствовании стратегии борьбы с бруцеллезом животных // Ветеринария и кормление. 2016. №2. С. 34-37.

STUDY OF PROTECTIVE BRUCELLA ANTIGEN AS A PATHOGENICITY FACTOR

A.I. Fedorov, M.I. Iskandarov, N.V. Vinokurov, E.S. Sleptsov, V.I. Fedorov

Currently, live vaccines are mainly used to prevent brucellosis in animals. The effectiveness of such vaccines is a time - tested fact. However, live vaccines have many disadvantages: they can cause abortions in vaccinated animals, some vaccine strains migrate to unvaccinated animals, and pose an epidemiological risk. In addition, there is a problem of post-vaccination antibodies, which complicates the differential diagnosis of immunized and sick animals. Based on current data on the mechanism of pathogenesis in brucellosis, a series of experiments have been conducted over the years to design vaccines, the immunizing component of which is a virulence factor isolated from Brucella as a result of acid, oxidative and heat stress. To increase immunogenicity, the protective antigen was used with polymer and corpuscular carriers, as well as with immunomodulators of various origins.

Keywords: *brucellosis, vaccine, protective antigen, antibodies, strain, immunogenicity, immunity.*

УДК 619:616-07:616.981

ОРГАНИЗАЦИЯ МЕРОПРИЯТИЙ ПО УСТРАНЕНИЮ ФАКТОРОВ, ВЛИЯЮЩИХ НА РАЗВИТИЕ БРУЦЕЛЛЕЗА СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ

Т.А. Янченко*, канд. биол. наук,* **О.О. Манакова**

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Омский аграрный научный центр», г. Омск, РФ, 55asc@bk.ru

В современных условиях ведения животноводства, организации фермерских хозяйств разных форм собственности и мелких товарных ферм возникает необходимость индивидуального подхода к ведению отрасли, планированию хозяйственных, ветеринарных, зоотехнических, санитарных и иных мероприятий. Особенно остро встает вопрос организации эффективных мероприятий при угрозе заноса возбудителя или возникновении эпизоотических очагов инфекционных заболеваний, в том числе таких как бруцеллез. Диагностические мероприятия, регламентированные нормативными документами, не всегда дают возможность объективно оценить ситуацию. Проведение дополнительных исследований позволяет более детально изучить особенности инфекционного процесса, а своевременное применение новых диагностических подходов - эффективнее провести противоэпизоотические мероприятия.

Ключевые слова: *бруцеллез, сельскохозяйственные животные, слабоагглютиногенные вакцины, диагностика.*

Бруцеллез (brucellosis) – хроническое инфекционное заболевание животных и человека. У животных проявляется абортами и задержанием последа, орхитами, рождением нежизнеспособного молодняка и бесплодием.

Одним из эффективных и перспективных методов защиты и борьбы с бруцеллезом является иммунопрофилактика (вакцинация), особенно на трансграничных территориях, соседствующих с неблагополучными пунктами и находящихся в угрожаемой зоне по заносу возбудителя бруцеллезной инфекции из вне, как например Омская область, имеющая общие границы с Республикой Казахстан - неблагополучной зоной по данному заболеванию.

Применение вакцины 82 на интактном поголовье крупного рогатого скота вызывает у животных выработку поствакцинальных S- и R- бруцеллезных антител, причем, S-бруцеллезные антитела у отдельных взрослых животных могут сохраняться в течение длительного периода. В связи с этим возникает проблема дифференциальной диагностики таких животных от больных бруцеллезом. В организме животных, привитых вакцинами из диссоциированных (S и R) штаммов, синтезируются антитела к S- и R- формам бруцелл. Кроме того, присутствие R- бруцеллезных антител в сыворотке крови больных животных может быть связано с заражением их возбудителем бруцеллеза в измененном состоянии (диссоциированном), у таких животных S- и R- бруцеллезные антитела обнаруживаются в высоких титрах. Применяемые в нашей стране официальные методы серологической диагностики: РА, РСК, РИД, РБП из-за недостаточной чувствительности не выявляют всех инфицированных животных при бруцеллезе [1, 2].

Изменение форм собственности в сельском хозяйстве, создание малых предприятий, миграция населения и сложности в осуществлении ветеринарно-санитарного контроля за передвижением животных и случаи несанкционированного передвижения скота из неблагополучных по бруцеллезу трансграничных территорий, могут повысить вероятность образования очагов бруцеллезной инфекции.

Материалы и методы. Проведен анализ нормативно-правовых документов и представлены материалы исследований в качестве рекомендаций по организации мероприятий для устранения факторов, влияющих на развитие бруцеллеза сельскохозяйственных животных.

Результаты исследований. Заражение животных в благополучных по бруцеллезу стадах или группах происходит обычно при вводе в них больных животных. В стаде заражение животных происходит в основном алиментарным путем при потреблении животными контаминированных бруцеллами кормов и воды, а также при контакте с абортированными плодами, плодными оболочками и водами, экскрементами и секретами от инфицированных животных, подстилки, пастбищ и водоемов. Возможно внутриутробное заражение с развитием у приплода латентной формы инфекции. Молодняк большинства видов сельскохозяйственных животных более устойчив к заражению бруцеллезом, чем взрослые особи. Клинические признаки болезни проявляются только при достижении животными половой зрелости. Рецидивы в ранее оздоровленных от бруцеллеза хозяйствах могут быть обусловлены наличием больных животных с латентными формами и изменчивостью возбудителя под влиянием различных факторов внешней среды обитания в менее вирулентные или авирулентные формы (R-RS, - SR-L). Измененные формы бруцелл, несмотря на их пониженную вирулентность, способны к реверсии в исходные S-формы заражающих штаммов и могут вызывать вспышки заболевания [3-5].

Диагностика бруцеллеза сельскохозяйственных животных осуществляется общепринятыми методами: клинико-эпизоотологическим, серологическим и бактериологическим. При обнаружении у коров и нетелей клинических признаков в виде абортов, эндометритов, вагинитов, маститов, принимающих иногда массовый характер, следует принять все меры по уточнению диагноза на бруцеллез. Необходимо учитывать, что аналогичные признаки патологий могут быть при хламидиозе, генитальной форме ринотрахеита, кампилобактериозе, микоплазмозе, а также кормовых отравлениях.

При массовых серологических исследованиях в хозяйствах, благополучных по бруцеллезу, у вакцинированного поголовья достаточно применять только РА+РСК, РА+РНГА. В случаях, вызывающих подозрение на бруцеллез или при подтверждении диагноза на эту инфекцию следует применять сразу комплекс серологических реакций: РА+РСК+РНГА+РБП+РИД [6].

При проведении учета реакции и оценки статуса животных по результатам дифференциальных диагностических исследований в благополучных по бруцеллезу стадах у привитого крупного рогатого

скота, животных, имеющих положительный результат в РА (100 МЕ) и (или) положительный результат РСК (титр 1:5) с единым антигеном, реагирующих в РА с R- бруцеллезным антигеном или РСК с R-антигеном (ВНИИБТЖ), положительное РБП и имеющие отрицательные результаты в РНГА в титре 1:200 и РИД, оценивают, как здоровых. В благополучных по бруцеллезу хозяйствах при установлении подозреваемых на заражение бруцеллезом: отсутствие R-бруцеллезных антител в сыворотке крови в РА и (или) РСК с единым антигеном; наличие S-бруцеллезных агглютининов в титре 200 МЕ; наличие гемагглютининов в титре 1:400 и выше, положительная РБП, содержание комплементсвязывающих антител в РСК в титре 1:40 и отрицательной РИД – через 20-30 дней их исследуют для повторной дифференциально-диагностической оценки на бруцеллез.

Животных считают больными бруцеллезом при установлении одного или нескольких серологических показателей при исследовании сыворотки крови: наличие агглютининов в РА – титр 200 МЕ (с оценкой +++-++++ креста) и выше; содержание комплементсвязывающих S-бруцеллезных антител в титре 1:20 (с оценкой +++ и ++++ креста) и выше; положительное РБП и отсутствие у положительно реагирующих животных с единым антигеном в РА и (или) РСК в сыворотке крови R- бруцеллезных антител, диагностируемых в РСК с помощью R- бруцеллезного антигена ВНИИБТЖ; содержание гемагглютининов в сыворотке крови в титре 1:200 и выше; положительном результате РИД.

Для контроля иммунного ответа у крупного рогатого скота, иммунизированного слабоагглютиногенной вакциной из штамма B. abortus 82 при проведении основных серологических исследований с S-бруцеллезным диагностикумом целесообразны дополнительные исследования на присутствие специфических R-бруцеллезных антител в сыворотке крови в реакции связывания комплемента (РСК) и (или) реакции агглютинации (РА). Контроль иммунного ответа проводят через 30-40 дней после иммунизации животных противобруцеллезными вакцинами. Животных с положительными результатами РСК с R-бруцеллезным антигеном или РА с R-бруцеллезным цветным антигеном при исследовании сыворотки крови через 30-40 дней после введения вакцины из штамма B. abortus 82 считают иммунными.

Выводы и обсуждения. Для устранения основных факторов, влияющих на развитие бруцеллеза крупного рогатого скота необходимо провести диагностические исследования, которые осуществляются общепринятыми методами. При обнаружении у коров и нетелей абортов, эндометритов, вагинитов, маститов, принимающих иногда массовый характер, следует принять все меры по уточнению диагноза на бруцеллез. Провести эпизоотический мониторинг в случаях появления реакций на общепринятых тестах (РА, РСК) в соответствии с «Наставлением по диагностики бруцеллеза». В благополучных стадах применять скрининговые тесты (КР с молоком, РБП и др.). В период проведения диагностических исследований необходимо учитывать соотношение показателей РА и РСК с единым бруцеллезным антигеном.

Целесообразно осуществлять контроль поствакционального иммунитета у иммунизированного противобруцеллезными вакцинами поголовья, что обеспечит повышение эффективности противоэпизоотических и профилактических мероприятий. Дополнительно проводить дифференциальное исследование в благополучных по бруцеллезу хозяйствах, в случае обнаружения положительно реагирующих в РА и (или) РСК животных при исследовании их в сроки, предусмотренные Инструкцией по применению вакцины из штамма 82.

Ветеринарные специалисты должны правильно выполнять технологию иммунизации вакциной из штамма B. abortus 82, согласно которой телки 4-5 месяцев и за 2-3 месяца до осеменения прививают вакциной шт. 82. Затем после первого отела проводят исследования и при получении отрицательных результатов по группе коров иммунизируют 1 раз в год.

Важным условием для устранения факторов, влияющих на развитие бруцеллеза сельскохозяйственных животных, является выполнение организационно-хозяйственных, специальных и санитарных мероприятий по предупреждению заболевания животных бруцеллезом, а также по ликвидации очага инфекции в случае его возникновения с выделением необходимых материально-технических и финансовых средств.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Ветеринарные правила осуществления профилактических, диагностических, ограничительных и иных мероприятий установления и отмены карантина и иных ограничений, направленных на предотвращение распространения и ликвидацию очагов бруцеллеза (включая инфекционный эпидидимит баранов). Москва. Утв. Приказом № 533 Минсельхоза России от 08.09.2020. 33с.

2. Наставление по диагностике бруцеллеза животных. Москва, 2004. 63 с.

3. Косилов И.А. Аракелян П.К., Димов С.К. и др. Бруцеллез сельскохозяйственных животных. Новосибирск, 1999. 344 с.

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

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

6. Дегтяренко Л.В. Совершенствование существующих и разработка новых средств, методов диагностики бруцеллеза животных и инфекционного эпидидимита баранов: автореф. дис. … д-ра ветеринар. наук. Новосибирск, 2005. 40 с.

ORGANIZATION OF MEASURES TO ELIMINATE FACTORS AFFECTING THE DEVELOPMENT OF BRUCELLOSIS IN FARM ANIMALS

T.A. Yanchenko, O.O. Manakova

In modern conditions of animal husbandry, organization of farms of various forms of ownership and small commodity farms, there is a need for an individual approach to the management of the industry, planning of economic, veterinary, zootechnical, sanitary and other measures. Especially acute is the question of organizing effective measures in the event of the threat of introduction of the pathogen or the occurrence of epizootic foci of infectious diseases, including such as brucellosis. Diagnostic measures regulated by regulatory documents do not always pro-vide an opportunity to objectively assess the situation. Additional research allows us to study in more detail the features of the infectious process, and the timely application of new diagnostic approaches makes it more effective to conduct anti - epizootic measures.

Keywords: *brucellosis, farm animals, low-agglutinogenic vaccines, diagnostics.*

УДК 619:616-07:616.981

ПРИМЕНЕНИЕ НОВЫХ ДИАГНОСТИЧЕСКИХ СЫВОРОТОК ДЛЯ ВИДОВОЙ ДИФФЕРЕНЦИАЦИИ КУЛЬТУР БРУЦЕЛЛ В СИСТЕМЕ ПРОТИВОБРУЦЕЛЛЕЗНЫХ МЕРОПРИЯТИЙ

Т.А. Янченко, *канд. биол. наук*

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Омский аграрный научный центр», г. Омск, РФ, 55asc@bk.ru

Развитие отрасли животноводства в Российской Федерации является экономически значимым направлением сельскохозяйственного производства. Экономика отрасли, прежде всего, зависит от ветеринарного благополучия. Создание научно обоснованной системы защиты животных от инфекционных болезней, в том числе особоопасных на основе современных диагностических методов и лечебно-профилактических средств является приоритетной задачей ученых и ветеринарных специалистов. Разработаны способы получения диагностических сывороток, позволяющие повысить технологичность их производства и получить высокоспецифичные биопрепараты для диагностики бруцеллеза животных.

Ключевые слова: *бруцеллез, дифференциальная диагностика, диагностические сыворотки.*

Большое значение в инфекционной патологии имеет бруцеллез, который является не только ветеринарной проблемой, но и социально значимой, так как вследствие заражения животных заболевает человек, в результате употребления в качестве продуктов питания животноводческой продукции – мясо, молоко, масло, кисломолочные продукты. Бруцеллез широко распространен и регистрируется во многих регионах Российской Федерации и на территории сопредельных государств.

Согласно официальным данным Россельхознадзора на начало 2020 года в Российской Федерации зарегистрирован 191 неблагополучный пункт по бруцеллезу крупного и мелкого рогатого скота (176 - по бруцеллезу крупного рогатого скота и 15 – мелкого рогатого скота) в шести Федеральных округах (ФО). Большинство из них (185 неблагополучных пункта или 96,8%) приходится на субъекты в пяти федеральных округах (Северо-Кавказский, Южный, Дальневосточный, Сибирский, Приволжский) - 57,6%, 16,2%, 10,5%, 6,8%, 5,7% от их общего количества в РФ соответственно [1, 2].

В новых экономических условиях, при резком увеличении количества личных подсобных и крестьянско-фермерских хозяйств, труднее осуществлять качественно и в необходимом объеме противобруцеллезные мероприятия. Особенно в части полного обследования поголовья, изоляции выявляемых больных животных, их убоя и промышленной переработки. Имеются проблемы, связанные с учетом поголовья и несанкционированным передвижением скота.

Существующая система противобруцеллезных мероприятий не позволяет осуществлять качественный контроль за эпизоотической ситуацией и достичь полного оздоровления хозяйств от бруцеллеза.

В связи со сложившейся ситуацией актуальным является вопрос о необходимости оптимизации противобруцеллезных мероприятий у животных, предусматривающей обеспечение эффективного контроля эпизоотического процесса бруцеллеза за счет мониторинга с помощью систематических диагностических исследований и применения высокоспецифичных средств и методов выявления возбудителя бруцеллеза.

Возникает необходимость и целесообразность разработки новых подходов к проблеме бруцеллеза, технологичных средств диагностики и профилактики.

Материалы и методы. Представлены результаты изучения свойств новых диагностических сывороток для видовой дифференциации культур бруцелл и возможность применения их в системе противобруцеллезных мероприятий.

Результаты исследований. Во ВНИИБТЖ разработаны и подтверждены патентами РФ технологии получения биопрепаратов – Патент РФ 2549434 Способ изготовления бруцеллезной диагностической сыворотки, патент РФ 2613901 Способ получения бруцеллезной моноспецифической сыворотки anti-melitensis, патент РФ 2639127 Способ получения бруцеллезной моноспецифической сыворотки anti-abortus, патент РФ 2659948 Способ получения R-бруцеллезной сыворотки на кроликах [3-6].

Основным условием производства биопрепаратов является технологичность и безвредность. Технологичность предлагаемых нами способов достигается за счет однократного подкожного введения эмульсии антигена и адъюванта кроликам, а использование инактивированной культуры штамма бруцелл позволяет максимально повысить противоэпидемическую безопасность производственного процесса [7].

Возбудители бруцеллеза обладают различной степенью диссоциации в SR-, RS-, а также специфические R - формы возбудителя присущие отдельным видам бруцелл: B. canis, B. ovis. В этой связи актуальным является получение эффективной R - бруцеллезной диагностической агглютинирующей сыворотки, которая используется при серологической, а также бактериологической диагностике для индикации и дифференциации выделенных культур. От уровня ее чувствительности зависит надежность индикации и видовой дифференциации бруцелл.

Известны работы по получению R-бруцеллезной сыворотки на кроликах, включающей 4-х кратную внутривенную иммунизацию кроликов живой культурой B.abortus 16/4, обескровливание животных через 5-7 дней после последнего введения. Этот процесс является трудоемким и небезопасным.

Предлагаемый нами способ получения R - бруцеллезной сыворотки на кроликах позволяет снизить трудоемкость производственного процесса за счет однократного подкожного введения антигена кроликам, максимально повысить противоэпидемическую безопасность этого процесса за счет использования инактивированной культуры бруцелл штамма B. abortus 16/4 (100 млн. КОЕ/мл). Использование адъюванта MONTANIDE ISA 61 VG в смеси с инактивированной культурой бруцелл штамма B. abortus 16/4 позволит стимулировать получение высоких титров антител и повысить количество получаемой сыворотки минимум в два раза за счет взятия крови от каждого животного-продуцента минимум трех-четырех кратно.

Для межвидовой дифференциации возбудителей бруцеллеза в бактериологической диагностике в качестве одного из основных методов используют антивидовые моноспецифические бруцеллезные сыворотки. Принцип их получения заключается в достижении высокого уровня антител за счет гипериммунизации животных-продуцентов (кроликов) культурами бруцелл, с последующей адсорбцией полученных сывороток взвесью бруцелл гетерологичного вида, для удаления общих для них антител.

Наиболее известны способы получения антивидовых моноспецифических бруцеллезных сывороток, суть которых в однократном получении гипериммунной сыворотки при обескровливании животных - продуцентов через 5-7 дней после внутривенной иммунизации кроликов живыми культурами бруцелл соответствующего вида.

Принципиальными недостатками этих способов являются: трудоемкость процессов; эпидемическая опасность, связанная с использованием живых культур бруцелл; небольшой объем выходов конечных продуктов за счет возможности только однократного получения сывороток с необходимым титром антител от животных-продуцентов при их обескровливании, а значит, их высокая себестоимость.

Использование живых культур бруцелл для гипериммунизации животных-продуцентов всегда являлось вынужденным, так как получить гипериммунную сыворотку с высоким титром антител, используя убитые культуры, было невозможно из-за отсутствия эффективных безвредных адъювантов, способных компенсировать и даже усилить гуморальный ответ.

Нами разработаны способы получения бруцеллезных моноспецифических сывороток anti-abortus и anti-melitensis при которых получение бруцеллезных моноспецифических сывороток на основе однократной подкожной гипериммунизации кроликов инактивированными культурами бруцелл соответствующих видов в смеси с новым масляным адъювантом MONTANIDE^{TM}ISA 61 VG, позволяет снизить трудоемкость процесса, максимально повысить его противоэпидемическую безопасность, а также максимально повысить объемы получаемой сыворотки с более высокой активностью за счет многократного взятия крови (не менее 4-х раз).

Диагностическая активность бруцеллезных моноспецифических сывороток anti-abortus и anti-melitensis, полученных от кроликов, предлагаемыми способами, сохранялась в течение 6 месяцев их хранения.

Выводы и обсуждения. Противобруцеллезные мероприятия с использованием новых диагностических сывороток для видовой дифференциации культур бруцелл позволяют выявлять большее число эпизоотически опасных животных, тем самым снизить эпизоотические и эпидемические риски, дают возможность дифференциальной оценки эпизоотического состояния стад с разным проявлением реакций при исследованиях на бруцеллез, способствуют ускоренному оздоровлению неблагополучных стад и осуществлению более надежного контроля на приграничных территориях.

Разработанные средства нашли применение в лабораторной диагностике, были внедрены в хозяйствах Новосибирской области, Ставропольского края и показали высокую степень сохранности поголовья, а экономический ущерб был предотвращен в размере более 500 тыс. рублей на одно животное.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Аракелян П.К., Димова А.С., Димов С.К., Трегубов А.Н., Руденко А.В., Вергун А.А., Ильин Е.Н., Христенко Н.В., Янченко Т.А. Современные эпидемиолого-эпизоотологические проблемы бруцеллеза // Актуальные проблемы болезней, общих для человека и животных: матер. III Всероссийской науч.-практ. конф. с междунар. участием. Ставрополь, 2019. С. 90-91.

2. Эпизоотическая ситуация [Электронный ресурс] // Россельхознадзор. URL: http://www.fsvps.ru

3. Способ изготовления бруцеллезной диагностической сыворотки: пат. 2549434 РФ /Аракелян П.К., Разницына Г.В., Димов С.К., Гаус Н.Ф.- № 2013135895/15; заявл. 30.07.2013; опубл. 10.02.2015, Бюл. №12.

4. Способ получения бруцеллезной моноспецифической сыворотки anti-melitensis: пат. 2613901 РФ / Аракелян П.К., Разницына Г.В., Димов С.К., Димова А.С. - № 2016101290; заявл. 18.01.2016; опубл. 21.03.2017, Бюл. №9.

5. Способ получения бруцеллезной моноспецифической сыворотки anti-abortus: пат. 2639127 РФ / Аракелян П.К., Разницына Г.В., Янченко Т.А., Димов С.К., Димова А.С. - № 2016115897; заявл. 22.04.2016; опубл. 26.10.2017, Бюл. №35.

6. Способ получения R-бруцеллезной сыворотки на кроликах: пат. 2659948 РФ / Аракелян П.К., Разницына Г.В., Янченко Т.А., Димов С.К., Димова А.С. - № 2017108572; заявл. 14.03.2017; опубл. 04.07.2018, Бюл. №19.

7. Надлежащая практика производства медицинских иммунобиологических препаратов: Санитарно-эпидемиологические правила - М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2003. 80 с.

APPLICATION OF NEW DIAGNOSTIC SERUMS FOR SPECIES DIFFERENTIATION OF BRUCELLA CULTURES IN THE SYSTEM OF ANTI-BRUCELLOSIS MEASURES

T.A. Yanchenko

The development of the livestock industry in the Russian Federation is an economically significant area of agricultural production. The Economics of the industry, depends first of all on animal welfare. Creating a science-based system for protecting animals from infectious diseases, including especially dangerous ones, based on modern diagnostic methods and therapeutic and preventive measures is a priority task for scientists and veterinary specialists. Methods for obtaining diagnostic serums have been developed to improve the manufacturability of their production and to obtain highly specific biologics for the diagnosis of animal brucellosis.

Keywords: *brucellosis, differential diagnosis, diagnostic serums.*

ДРУГИЕ АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ ВЕТЕРИНАРНОЙ НАУКИ

УДК 619:616.982.2:612.017.11.12:636.97

ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ НЕЙТРОФИЛОВ У МОРСКИХ СВИНОК, ИНФИЦИРОВАННЫХ ПАТОГЕННЫМИ И АТИПИЧНЫМИ МИКОБАКТЕРИЯМИ

В.С. Власенко, *доктор биол. наук*

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Омский аграрный научный центр», г. Омск, РФ, vvs-76@list.ru

В настоящей работе представлены результаты исследования функционального состояния нейтрофилов у морских свинок, зараженных M. bovis, M. phlei, а также при одновременной их инокуляции. Установлена активизация функциональной активности нейтрофилов у животных всех опытных групп. Отмечено наиболее выраженное угнетение противомикробного потенциала лейкоцитов у морских свинок, инфицированных M. bovis.

Ключевые слова: *туберкулез, микобактерии, морские свинки, нейтрофилы, НСТ-тест.*

Важным показателем неспецифической резистентности организма является функциональное состояние нейтрофильных гранулоцитов, ответственных за процесс фагоцитоза в очаге воспаления и нейтрализацию инфекционных агентов. При поглощении и переваривании чужеродных частиц фагоцитирующими клетками периферической крови происходит резкое возрастание потребления кислорода. Все эти процессы настолько интенсивны, что получили название метаболического (респираторного, дыхательного) взрыва [1].

Туберкулез, как и другие инфекционно-воспалительные процессы, не оставляет безучастными различные звенья неспецифической резистентности организма. Но, несмотря на то, что в настоящее время уже сложилось обобщенное представление об иммунофагоцитарной системе периферической крови, процесс неспецифической резистентности при туберкулезе остается до конца неизученным [2].

Следует также отметить, что в научных исследованиях, посвященных этой проблеме, практически не рассматриваются вопросы сочетанного течения туберкулеза и микобактериозов, вызванных атипичными микобактериями, и роли последних в патогенетических ме-

ханизмах развития инфекционного процесса.

В связи с изложенным предметом нашего исследовательского интереса стало изучение функционального состояния нейтрофилов у морских свинок, инфицированных вирулентной и атипичной культурами микобактерий, а также при их сочетанном введении.

Материалы и методы исследования. Исследования проводили в соответствии с требованиями Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях.

Для экспериментального заражения морских свинок использовали вирулентную культуру микобактерий (M. bovis, шт. 14), а также атипичные микобактерии IV-й группы (M. phlei) по классификации Раньона.

Функциональную активность нейтрофильных гранулоцитов оценивали в спонтанном и стимулированном вариантах НСТ-теста с последующей визуализацией в камере Горяева [3]. В качестве стимулятора использовали ППД-туберкулин для млекопитающих. По результатам постановки НСТ рассчитывали функциональный резерв нейтрофилов, определяемый как отношение индуцированного уровня клеточной активности к спонтанному.

Для проведения эксперимента отобрали 20 морских свинок, предварительно исследованных ППД-туберкулином для млекопитающих в дозе 25 МЕ, и имеющих отрицательную реакцию на его введение. Все животные были разделены на 4 группы по 5 морских свинок. Животных 1-й группы инфицировали вирулентной культурой M. bovis (шт. 14) в дозе 0,0001 мг; 2-й группы – вирулентной культурой M. bovis (шт. 14) в той же дозе, а также M. phlei в дозе 1 мг на животное; 3-й группы – M. phlei в дозе 1 мг. Остальные морские свинки служили в качестве контроля (4-я группа). Кровь для оценки функционального состояния нейтрофилов отбирали на 30-е сутки после введения микобактерий в соответствии с методикой Н.Н. Новиковой с соавт. [4].

Полученные результаты обрабатывали статистически с определением средних арифметических (M) и расчетом ошибок средних арифметических (m). Для оценки существенности различий между двумя средними величинами M_x и M_y использовали t-критерий Стьюдента. Различие между контролем и опытом считали достоверным только для $P \leq 0,05$.

Результаты исследований и их обсуждение. Анализ основных параметров функциональной активности нейтрофилов, представленный на рисунке, показал, что инфицирование морских свинок как патогенной, так атипичной культурой микобактерий активизирует функциональное состояние нейтрофилов.

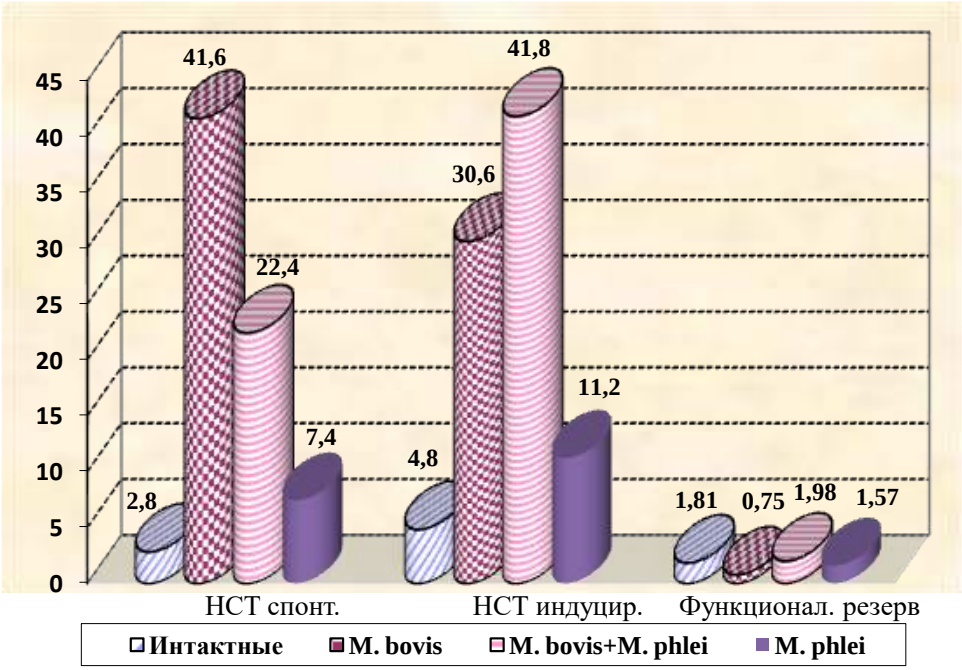

Рисунок – Параметры функциональной активности нейтрофилов в НСТ-тесте у морских свинок контрольной и опытных групп

Инфицирование вирулентной культурой M. bovis сопровождается выраженным увеличением уровня спонтанной до 41,6±1,99% против 2,8±0,37% ($p<0,001$) относительно значений интактных животных и стимулированной НСТ-активности до 30,6±2,46% против 4,8±0,66% ($p<0,001$) в контрольной группе. Идентичная траектория изменений наблюдалась во 2-й группе, в которой уровень спонтанной и индуцированной НСТ-активности достоверно увеличивался до 22,4±2,54% и 41,8±3,62% соответственно.

У морских свинок, сенсибилизированных атипичными микобактериями, также отмечалось усиление функциональной активности нейтрофилов, но более низкой интенсивности, чем у животных 1-й и 2-й группы. Так, показатель НСТ-теста в спонтанном варианте возрастал до 7,4±1,75% ($p<0,05$) против 2,8±0,37 в контроле, а в индуци-

рованном – до 11,2±3,44% против 4,8±0,66%.

Функциональный резерв, рассматриваемый как биохимический критерий готовности нейтрофила к завершенному фагоцитозу (полному уничтожению объекта), свидетельствовал об истощении антимикробного потенциала у морских свинок, инфицированных M. bovis, о чем свидетельствовало достоверное снижение этого показателя в 2,4 раза относительно 4-й группы.

Введение вместе с вирулентной культурой атипичных микобактерий не вызывало угнетение противомикробного потенциала. Средние значения этого параметра существенно не отличались от таковых у животных контрольной группы (соответственно: 1,81±0,29, 1,98±0,29%). Такого рода изменения подтверждают данные научных исследований, свидетельствующих о том, что атипичные микобактерии, обладая антигенной общностью с микобактериями бычьего вида, создают иммунитет определенной силы [5, 6].

Заключение. Функционально-метаболическая активность нейтрофильных гранулоцитов как при введении морским свинкам вирулентной культуры M. bovis, так при одновременной инокуляции M. bovis и M. phlei сопровождается выраженным усилением спонтанной и индуцированной НСТ-активности. В отличие от животных, инфицированных M. bovis, симультанное введение патогенных и атипичных культур микобактерий обеспечивало сдерживание угнетения антимикробного потенциала иммунокомпетентных клеток.

Инокуляция атипичных микобактерий морским свинкам также сопровождалась увеличением метаболических процессов в нейтрофилах при сохранении функционального резерва нейтрофилов на уровне интактных животных.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Нагоев Б.С., Шубич М.Г. Значение теста восстановления нитросинего тетразолия для изучения функциональной активности нейтрофилов // Лабораторное дело. 1981. №4. С. 195-198.

2. Филинюк О. В., Земляная Н.А., Стрелис А.К. и др. Цитохимическая и микробицидная активность фагоцитов крови у больных туберкулезом легких // Бюллетень сибирской медицины. 2007. №1. С. 62-66.

3. Пацула Ю.И., Власенко В.С. Ускоренный метод визуализации восстановленного нитросинего тетразолия для оценки функциональной активности нейтрофилов // Ветеринария и кормление. 2009. №4. С. 20-21.

4. Новикова Н.Н., Дмитриева К.П., Имерякова С.А. Способ гуманного взятия крови у морских свинок // Современные тенденции научного обеспечения в развитии АПК: фундаментальные и прикладные исследования: Матер. науч.-практ. (очно-заочной) конф. с междунар. участием. Омск, 2017. С. 87-88.

5. Быкова С.Ю. Течение туберкулеза у морских свинок на фоне инфицирования ассоциацией атипичных микобактерий // Матер. науч. конф., посвящ. 70-летию Витебского вет. ин-та. Витебск, 1994. С. 53-55.

6. Куварин А.С., Власенко В.С., Новиков А.Н., Кощеев Н.Н. Оценка иммунного статуса у крупного рогатого скота, инфицированного атипичными микобактериями // Эпизоотология, диагностика и профилактика хронических инфекционных болезней животных: Матер. междунар. науч. конф., посвящ. 175-летию аграрной науки Сибири (Омск, 24-26 июня 2003 г.). Омск, 2003. С. 131-138.

THE FUNCTIONAL STATE OF THE NEUTROPHILS IN GUINEA PIGS INFECTED WITH PATHOGENIC AND ATYPICAL MYCOBACTERIA

V.S. Vlasenko

This work presents the results of a study of the functional state of neutrophils in guinea pigs infected with M. bovis, M. phlei, as well as with their simultaneous inoculation. The activation of the functional activity of neutrophils in animals of all experimental groups was established. The most pronounced inhibition of the antimicrobial potential of leukocytes in guinea pigs infected with M. bovis was noted.

Keywords: *tuberculosis, mycobacteria, guinea pigs, neutrophils, NBT-test.*

УДК 619:616.982.2+636

НОВЫЕ ПОДХОДЫ В БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКЕ ТУБЕРКУЛЕЗА ЖИВОТНЫХ

Н.А. Денгис, *канд. биол. наук,* **Н.С. Боганец**, *канд. ветеринар. наук*

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Омский аграрный научный центр», г. Омск, РФ, svir2007@mail.ru

В настоящей работе представлены результаты использования феномена Коха для воспроизведения анафилактического шока у морских свинок. С учетом изложенных научных данных об уникальных свойствах феномена Коха мы в своей работе использовали его для совершенствования бактериологической диагностики туберкулеза животных, в частности крупного рогатого скота, для сокращения срока постановки биологической пробы на морских свинках при диагностике туберкулеза. Метод позволяет сократить срок диагностики туберкулеза на 29 дней вместо 3-х месяцев при традиционном методе.

Ключевые слова: *туберкулез, бактериологическая диагностика, ускоренная биопроба.*

Реформирование сельского хозяйства, происходящее в условиях диспаритета цен, инфляции и разукрупнения хозяйств резко осложнило экономическое положение производителей сельскохозяйственной продукции и эпизоотическое состояние животноводческих ферм. Особенно актуальны вопросы эпизоотического состояния животноводства по хроническим инфекциям и, в первую очередь, по туберкулезу крупного рогатого скота.

Сокращены государственные ветеринарные учреждения и штат ветеринарных специалистов. Все это в конечном итоге резко ослабило проведение ветеринарных мероприятий и повысило угрозу распространения зооантропонозных инфекций (общих человеку и животным), в первую очередь – туберкулеза.

Ежегодно регистрируются количество реагирующих на ППД-туберкулин животных, в пунктах, считавшихся ранее благополучными по туберкулезу.

В связи с этим экономический ущерб от туберкулеза исчисляется десятками миллиардов рублей. Кроме того, в последние 3 года, наряду с ухудшением обстановки в животноводстве, наблюдается рост заболеваемости туберкулезом людей.

Такое резкое ухудшение эпидемической ситуации требует принятия радикальных мер по предупреждению распространения этой инфекции и оздоровлению неблагополучных пунктов (ферм).

В сложившейся обстановке стратегия оздоровления хозяйств должна быть изменена коренным образом. Приоритет должен быть за методом контроля благополучия хозяйств, т.е. создание оптимальных условий для недопущения возникновения заболевания. Непринятие срочных конкретных мер оперативного воздействия на стабилизацию ситуации может привести к серьезным последствиям [1].

С учетом изложенных научных данных об уникальных свойствах феномена Коха мы в своей работе предприняли попытку его использования в совершенствовании бактериологической диагностики туберкулеза животных, в частности крупного рогатого скота, для сокращения срока постановки биологической пробы на морских свинках при диагностике туберкулеза. Метод позволяет сократить срок диагностики туберкулеза на 29 дней вместо 3-х месяцев при традиционном методе.

За основы взят феномен, который Р. Кох обнаружил, что «нормальным морским свинкам можно вводить значительные дозы туберкулина, не вызывая у них заметных симптомов. Туберкулезные морские свинки, наоборот, очень характерным образом реагируют на сравнительно небольшие дозы». Далее Кох нашел, что большие дозы туберкулина могут убить больных туберкулезом морских свинок. Это явление в дальнейшем стало трактоваться как анафилактическая чувствительность к туберкулину. Имеются данные об экспериментальном воспроизведении так называемого анафилактического туберкулинового шока у морских свинок, зараженных возбудителем туберкулеза человеческого вида [2-4].

Материалы и методы. При разработке ускоренной постановки биологической пробы на туберкулез провели серию опытов на 231 морской свинке по определению оптимальных параметров метода: летальных доз ППД туберкулина для млекопитающих на здоровых и зараженных M. bovis и M. tuberculosis свинках; сроков внутрибрюшинного введения туберкулина для воспроизведения анафилактического шока; сравнительной эффективности разработанного и традиционного методов постановки биопробы на туберкулез.

При отработке регламента метода ускоренной постановки биопробы использовали ППД-туберкулин для млекопитающих производства Курской биофабрики. Лабораторных животных заражали культурами музейных штаммов M. bovis, шт. 8 (ВГНКИ) и M. tuberculosis, шт. $H_{37}R_v$. Лабораторных животных усыпляли эфиром.

В соответствии с приказом Департамента ветеринарии МСХ России на базе ГНУ ВНИИБТЖ СО Россельхозакадемии провели комиссионное производственное испытание метода ускоренной постановки биологической пробы на морских свинках в диагностике туберкулеза животных.

Комиссионное испытание проведено с участием специалистов Центральной научно-методической ветеринарной лаборатории (ЦНМВЛ), Всероссийского института экспериментальной ветеринарии им. Я.Р. Коваленко (ВИЭВ), Всероссийского государственного Центра качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов (ВГНКИ), Омской областной ветеринарной лаборатории.

На первом этапе комиссионного испытания морских свинок живой массой 300–350 г заразили суспензией биоматериала (лимфатиче-

ские узлы, паренхиматозные органы) от реагирующего на туберкулин крупного рогатого скота неблагополучных по туберкулезу хозяйств Омской и Новосибирской областей. Биоматериал отбирали при наличии в лимфатических узлах и паренхиматозных органах изменений, характерных для туберкулеза. Всего для комиссионного опыта отобрано 10 проб биоматериала, характеристика которых представлена в таблице 1.

Таблица 1

Характеристика биоматериала от реагирующего на туберкулин крупного рогатого скота

№ пробы	Инв. № коровы	Область	Поражения в лимфоузлах и органах
1	98	Омская	Кровоизлияния в лимфоузлах
2	826	Омская	Бронхиальные, средостенные, легкие
3	986	Омская	Предлопаточные, подчелюстные
4	817	Омская	Подчелюстные, заглоточные
5	19	Омская	Предлопаточные, средостенные, печень
6	999	Новосибирская	Заглоточные, бронхиальные, легкие
7	285	Новосибирская	Лимфоузлы, легкие
8	33	Новосибирская	Подчелюстные, заглоточные, средостенные
9	49	Новосибирская	Генерализованная форма
10	198	Новосибирская	Бронхиальные

Суспензию для заражения готовили в соответствие с «Наставлением по диагностике туберкулеза животных» (2004) [5]. Каждую пробу биоматериала вводили шести морским свинкам подкожно в области паха в дозе 1 мл.

Три свинки являлись опытными (ускоренный метод биопробы) и три контрольными (традиционный метод). Параллельно суспензию проб биоматериала, которым заражали морских свинок, высевали в дозе 0,2 мл на питательные среды Левенштейна-Йенсена и ФАСТ-3Л (по 6 пробирок).

Всего сформировано 10 групп (20 подгрупп по 3 гол.) лабораторных животных. Морских свинок (всего 60 гол.) размещали в индивидуальные пронумерованные клетки. Дано описание примет всех зараженных свинок – масть, пол, особенности окраса и другие приметы.

Предварительно все морские свинки исследованы аллергически

на туберкулез. Кожные реакции на введение ППД туберкулина для млекопитающих у всех свинок не проявлялись.

За свинками вели ежедневное клиническое наблюдение. На 7–10 дни у всех лабораторных животных на месте введения биоматериала отмечены уплотнения, на 12–14 дни – вскрывшиеся язвы, а на 25–30 дни вскрывшиеся абсцессы с гнойно-некротическим содержанием, увеличение в 2–3 раза регионарного лимфатического узла.

На втором этапе комиссионного производственного комиссионного испытания всем морским свинкам 10 подгрупп (по 3 гол.) через 33 дня после заражения биоматериалом в соответствие со схемой испытания и методикой ускоренной постановки биологической пробы внутрибрюшинно ввели по 1 мл стандартного разведения ППД туберкулина для млекопитающих (50000 международных туберкулиновых единиц – МЕ) производства Курской биофабрики, серия № 24, госконтроль № 24, изготовлен 29.09.2004 г (срок годности 3 года). Животным 10 контрольных подгрупп (традиционный метод постановки биопробы) туберкулин не вводили. Количество и сроки гибели опытных морских свинок вследствие анафилактического туберкулинового шока учитывали каждые 3 часа после введения туберкулина.

Животные всех подгрупп, гибель которых не наступила вследствие анафилактического шока и в дальнейшем в течение трех месяцев, были усыплены эфиром через 92 дня после заражения. Результаты учета срока гибели, вскрытия и регистрации характера изменений внутренних органов опытных и контрольных морских свинок отражены в акте комиссионного испытания.

Результаты исследований и их обсуждение. При проведении производственного комиссионного испытания в различные сроки до 30 часов с явлениями анафилактического шока после введения туберкулина из 30 опытных морских свинок пало 23 в 9 группах (таблица 2).

При патологоанатомическом исследовании характерные для туберкулеза поражения внутренних органов обнаружены у всех павших животных, а на месте введения биоматериала установлены уплотнения, вскрывшиеся или не вскрывшиеся язвы с некротическими поражениями и увеличение регионарного лимфатического узла. Из трех свинок первой экспертизы гибель одной наступила через трое суток, второй через 72 дня и третья была убита спустя 92 дня после заражения. У всех свинок также наблюдали характерные для туберкулеза поражения. Средний срок постановки диагноза на туберкулез ускоренным методом составил 34,2 дня.

Таблица 2

Сроки гибели морских свинок в ускоренном и традиционном методах постановки биологической пробы на туберкулез

Группа	Традиционный метод		Ускоренный метод	
	срок гибели 1 свинки, день	сроки гибели и убоя 2 и 3 свинки, дни	пало до 30 часов после введения туберкулина, гол.	пало в другие сроки, сутки
1	83	91, 92	–	3, 72, 92
2	45	61, 92	1	2, 2
3	65	65, 92	3	–
4	65	80,92	3	–
5	71	73,84	2	2
6	75	80, 81	3	–
7	76	81, 92	3	–
8	70	76, 92	3	–
9	56	66, 81	3	–
10	42	60, 82	2	2

Морские свинки 10 контрольных групп (традиционный метод постановки биопробы), туберкулин которым не вводили, пали в периоды от 42 до 84 дней, а остальные были усыплены эфиром спустя 92 дня после заражения. У всех свинок обнаружены характерные для туберкулеза поражения внутренних органов. Средний срок постановки биологической пробы традиционным методом, исходя из времени гибели первой свинки, составил 62,8 дня.

Оценку пораженности внутренних органов и лимфатических узлов опытных и контрольных морских свинок (павших и убитых) проводили по схеме М.В. Триус (1973) по 22 балльной шкале.

Установлено, что этот показатель у опытных морских свинок, на которых воспроизводили анафилактический туберкулиновый шок, колебался в пределах от 13 до 14,3, или 13,6±0,3 балла. Индекс пораженности органов контрольных животных, павших или убитых в более поздние сроки варьировал от 18,1 до 22 (19,2±0,3). Несмотря на меньшие показатели пораженности внутренних органов опытных морских свинок, павших при воспроизведении анафилактического шока через 33 дня после заражения, патологоанатомические изменения были характерны для туберкулеза, что являлось основанием для постановки окончательного диагноза.

В параллельных с биологической пробой посевах 10 проб суспензии биоматериала на питательных средах Левенштейна-Йенсена и ФАСТ-3Л изолировано 7 культур микобактерий, по комплексу культурально-морфологических свойств и по результатам ПЦР отнесенных к исходным M. bovis.

Заключение. Исходя из результатов производственного комиссионного испытания, метод ускоренной постановки биологической пробы на морских свинках в диагностике туберкулеза животных сокращает срок постановки диагноза на туберкулез в среднем на 28,6 дней (62,8–34,2), или в 1,8 раза.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Муковнин А.А., Найманов А.Х., Гулюкин А.М. Туберкулез крупного рогатого скота в России // Ветеринария. 2020. №7. С. 19-24.

2. Смолянинов Ю.И., Боганец Н.С., Панкратова А.Д. Метод ускоренной постановки биологической пробы на морских свинках в диагностике туберкулеза животных // Ветеринарная патология. 2004. №1-2. С. 115-118.

3. Боганец Н.С., Смолянинов Ю.И., Панкратова А.Д., Бордюг В.Ф., Аппельганц Л.Т., Мельников В.М. Ускоренная постановка биологической пробы в диагностике туберкулеза животных: методические рекомендации. Омск, 2005. 8 с.

4. Пат. РФ № 2265403. Способ диагностики туберкулеза животных / Н.С. Боганец, Ю.И. Смолянинов, А.Д. Панкратова, В.Г. Ощепков; заявл. 20.10.03; опубл. 10.12.05, Бюл. № 34.

5. Наставление по диагностике туберкулеза животных, М.: 2004.

NEW APPROACHES IN THE BACTERIOLOGICAL DIAGNOSIS OF ANIMAL TUBERCULOSIS

N.A. Dengis, N.S. Boganets

This work presents the results of using the Koch phenomenon for the reproduction of anaphylactic shock in guinea pigs. Taking into account the stated scientific data on the unique properties of the Koch phenomenon, we used it in our work to improve the bacteriological diagnosis of tuberculosis in animals, in particular in cattle, to shorten the time for setting a biological test on guinea pigs in the diagnosis of tuberculosis. The method allows to reduce the period of tuberculosis diagnosis by 29 days instead of 3 months with the traditional method.

Keywords: *tuberculosis, bacteriological diagnostics, accelerated bioassay.*

УДК 619: 616.982.2:612.017.1:636.22/.28

КОМПЛЕКС НОВЫХ МЕТОДОВ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКИ ТУБЕРКУЛИНОВЫХ РЕАКЦИЙ У КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Н.А. Денгис, *канд. биол. наук,* **А.Н. Новиков,** *канд. ветеринар. наук*

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Омский аграрный научный центр», г. Омск, РФ, svir2007@mail.ru

В данной статье представлены схема и результаты применения комплекса новых методов дифференциальной диагностики туберкулиновых реакций крупного рогатого скота в благополучных по туберкулезу хозяйствах за период с 2014 по 2019 года.

Ключевые слова: *туберкулез, крупный рогатый скот, дифференциальная диагностика.*

Проблема туберкулеза продолжает оставаться одной из наиболее сложной в медико-ветеринарной науке и практике. К туберкулезу восприимчивы практически все виды млекопитающих и птиц. Из сельскохозяйственных животных - в наибольшей степени подвержены крупный рогатый скот, свиньи и куры. Больной туберкулезом скот представляет опасность для людей, и одна из главных задач ветеринарных специалистов – своевременное выявление больных животных и исключение их из основного стада [1, 2]. По данным Россельхознадзора, в 2019 году в Российской Федерации исследовано (аллергич.) – 25881,892 тыс. голов крупного рогатого скота, из них заболело 1285 голов, что в 6 раз больше чем в 2018 году (209 голов). Всего в 2019 году выявлено 8 неблагополучных пунктов, при этом 1 в Омской области. Эпидемический порог в целом по Российской Федерации (средние и предельные значения заболеваемости, которые регистрировали за последние пять лет) по туберкулезу не превышен, но риск распространения заболевания сохраняется [3].

В то же время в благополучных по туберкулезу хозяйствах выделяется в 9 раз больше реагирующего на ППД-туберкулин скота, чем в неблагополучных [4, 5]. Поэтому целью и приоритетным направлением наших научных исследований по проблеме туберкулеза крупного рогатого скота является разработка методов дифференциальной диагностики неспецифических реакций на туберкулин. Работа в хозяй-

ствах проводилась совместно с ветеринарными специалистами хозяйств и районов.

Материалы и методы. Комплекс предлагаемых нами диагностических мероприятий для уточнения эпизоотического состояния по туберкулезу отдельного стада крупного рогатого скота с невыясненной этиологией туберкулиновых реакций позволяет поставить диагноз на туберкулез или исключить его за 25-30 суток, вместо общепринятых 60-180 суток. При выяснении этиологии реакций на туберкулин у крупного рогатого скота в благополучных хозяйствах учитывали эпизоотическую и эпидемическую ситуацию по туберкулезу; неблагополучие фермы, хозяйства и района в прошлом, эпизоотическое состояние граничащих хозяйств, заболеваемость туберкулезом других видов животных и птиц, а так же людей, работающих в животноводстве [2, 6].

В основу схемы дифференциальной диагностики специфических и неспецифических реакций у крупного рогатого скота положен достоверный выбор животных для диагностического убоя. Согласно схеме, поголовье крупного рогатого скота благополучной по туберкулезу фермы исследовали с профилактической целью туберкулиновой пробой в обычном порядке – два раза в год. При плановых аллергических исследованиях на фермах благополучных хозяйств, в случаях выявления реагирующих на туберкулин животных поступали следующим образом: в день учета и оценки реакции реагирующих животных дополнительно исследовали пальпебральной туберкулиновой пробой. На пальпебральную пробу реагирует крупный рогатый скот, зараженный возбудителем бычьего или человеческого видов. Животные, инфицированные атипичными микобактериями, на пальпебральную пробу не реагируют или реагируют единицы (Наставление по диагностике туберкулеза животных, 2002).

Из числа реагирующих на ППД-туберкулин животных подвергали убою 2-3 головы крупного рогатого скота, с ветеринарно-санитарной экспертизой внутренних органов и последующим проведением комплекса лабораторных исследований. В настоящее время сложность бактериологической диагностики осложняется тем, что на фоне широкого, часто бессистемного применения химиопрепаратов, антибиотиков, дезинфектантов, а также под влиянием защитных сил макроорганизма, происходят изменения в жизнедеятельности и мета-

болизме микобактерий. Их становится все труднее выявлять в исследуемом биоматериале, в том числе в органах с туберкулезными изменениями. Для индикации типичных форм микобактерий использовали традиционные питательные среды: Левенштейна-Йенсена, Финн-2 [6]. С целью сокращения сроков начала роста микобактерий туберкулеза использовали озонированный физиологический раствор с концентрацией озона 0,25-0,5 мг/л [7]. Параллельно с культуральным исследованием проводили выявление возбудителя туберкулеза биологическим методом (Наставление по диагностике туберкулеза животных, 2002). Во ВНИИБТЖ разработан способ ускоренной постановки биологической пробы на морских свинках, основанный на воспроизведении анафилактического шока, который в сравнении с традиционной биопробой сокращает срок экспертизы на 29 дней, или в 1,8 раза [8].

Результаты исследований и их обсуждение. На примере благополучных по туберкулезу хозяйств Омской области представлены данные комплексных исследований по дифференциальной диагностике аллергических реакций. За период 2014-2019 гг. проведено 37147 аллергических исследований из них положительно реагировали на внутрикожную пробу с ППД-туберкулином 297 гол. (0,8%). Также эти животные дополнительно были исследованы пальпебральной пробой, результат отрицательный.

Проведен контрольно-диагностический убой 36 голов крупного рогатого скота. При патологоанатомической экспертизе внутренних органов изменений, характерных, для туберкулеза, не обнаружено, но в большинстве случаев наблюдали актиномикоз нижнечелюстного пространства, неспецифические воспалительные процессы в лимфатических узлах, пневмонии, плевриты, эмфизему легких, дистрофию печени, маститы. Проведено лабораторное исследование 36 проб послеубойного биоматериала от 36 голов – посев на питательные среды Левенштей-Йенсена, Финн-2. Проведен посев с применением озона разработанным нами способом. Во всех случаях возбудителей бычьего, человеческого и птичьего видов не выделено. В 11 пробах биоматериала выделены атипичные микобактерии III, IV группы по классификации Раньона (таблица).

Таблица

Результаты дифференциальной диагностики аллергических реакций в благополучных по туберкулезу хозяйствах Омской области за 2014-2019 гг.

Хозяйство №	Проведено аллергических исследований на ППД туберкулин (голов)	Положительно реагирующие на введение ППД-туберкулина, голов		Подвергнуто диагностическому убою (голов)	Результаты культурального исследования		
		внутрикожно	пальпебрально		Рост на среде Левенштейна-Йенсена (культур)	Рост на среде Финн-2 (культур)	Идентификация по Раньону (группа)
1	14517	81	-	14	2	-	IV
2	10871	95	-	10	5	3	IV
3	11759	121	-	12	4	2	III, IV

Результаты биологических проб (стандартная и ускоренная) на морских свинках – отрицательные. По результатам комплексных исследований туберкулез крупного рогатого скота в данных хозяйствах был исключен.

Заключение. Таким образом, использование предлагаемых методов дифференциальной диагностики туберкулеза (применение озона в бактериологической диагностике и ускоренная биологическая проба) в 2014-2019 гг. только в данных хозяйствах позволило предотвратить необоснованный убой и сохранить для дальнейшего использования 261 голову крупного рогатого скота.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Муковнин А.А., Найманов А.Х., Гулюкин А.М. Туберкулез крупного рогатого скота в России // Ветеринария. 2020. №7. С. 19-24.

2. Боганец Н.С., Смолянинов Ю.И., Свириденко Н.А. и др. Совершенствование бактериологической диагностики туберкулеза // Актуальные проблемы ветеринарной медицины продуктивных и непродуктивных животных: Матер. 5-й межрег. науч.-практ. конф. Омск, 2006. С. 29-33.

3. Эпизоотическая ситуация в РФ // Информационно-аналитический центр Россельхознадзора. URL: http://www.fsvps.ru/fsvps/iac/rt/reports.html (дата обращения: 30.09.2020)

4. Ощепков В.Г., Боганец Н.С., Таллер Л.А., Свириденко Н.А. и др.

Комплекс ускоренной дифференциальной диагностики туберкулиновых реакций у крупного рогатого скота в благополучных хозяйствах: Методические рекомендации. Омск, 2010. 15 с.

5. Дюсенова Г.М., Власенко В.С. Применение реакции хемилюминесценции для выявления животных, сенсибилизированных атипичными микобактериями // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. 2018. №2. С. 33-36.

6. Боганец Н.С., Таллер Л.А., Дюсенова Г.М., Свириденко Н.А. и др. Оптимизация дифференциальной диагностики туберкулиновых реакций у крупного рогатого скота // Современные проблемы диагностики и профилактики хронических зооантропонозных инфекций: Матер. 8-й межрег. науч.-практ. конф. Омск, 2009. С.102-108.

7. Патент РФ № 2376365 Способ культивирования микобактерий туберкулеза / Н.С. Боганец, Н.А. Свириденко, М.А. Бажин, Л.Т. Аппельганц, А.П. Рахвалов, заявл. 20.12.09.

8. Патент РФ № 2265403 Способ диагностики туберкулеза животных / Н.С. Боганец, Ю.И. Смолянинов, А.Д Панкратова, В.Г. Ощепков; заявл. 20.10.03; опубл. 10.12.05, Бюл. № 34.

COMPLEX OF NEW METHODS FOR DIFFERENTIAL DIAGNOSIS OF TUBERCULIN REACTIONS IN CATTLE

N.A. Dengis, A.N. Novikov

This article presents a scheme and results of the application of a set of new methods for differential diagnosis of tuberculin reactions in cattle in tuberculosis-free farms for the period from 2014 to 2019.

Keywords: *Tuberculosis, cattle, differential diagnosis.*

УДК 619:614.48

ИЗУЧЕНИЕ БИОЦИДНОГО ДЕЙСТВИЯ МОЮЩЕГО СРЕДСТВА

Т.С. Дудоладова, *канд. биол. наук,* **Д.А. Дягилева**

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Омский аграрный научный центр», г. Омск, РФ, e- mail:vniibtg18@anc55.ru

В статье представлены результаты по изучению биоцидного действия нового моющего средства, в результате проведенных исследований установлено, что новое моющее средство, обладает бактерицидным действием в отношении: E. coli и кокковой микрофлоры.

Ключевые слова: *моющее средство, дезинфекция, биоцидное действие.*

Успешное проведение дезинфекционных мероприятий определяется в значительной степени состоянием обеспеченности ветеринарной дезинфекционной науки и практики высокоэффективными дезинфицирующими средствами [1].

Для снижения дефицита санитарных средств, повышения качества выпускаемой продукции и улучшения экологической ситуации требуется разработка эффективных препаратов, преимущественно на композиционной основе, содержащих несколько действующих веществ [2, 3].

Современные химические средства, используемые для санации объектов ветеринарного надзора должны обладать универсальностью действия, т.е. иметь не только противомикробные свойства, но также обладать моющей и обезжиривающей способностью, то есть обладать полифункциональным действием, а также быть максимально простым в применении и при этом относительно не дорогим [4].

Цель работы: изучить биоцидное действие нового моющего средства.

Материалы и методы. При выполнении исследований использовали: в качестве тест-культур пробиотические штаммы - E. coli шт. M-17 и S. thermophilus шт. st-21; объект исследования - моющее жидкое высокощелочное (pH=10,0-12,0) средство, представляющее собой, сбалансированную смесь, состоящую из комплекса поверхностно-активных веществ, щелочного компонента и композиции химических соединений, обладающих бактерицидным действием. В работе использовали 1, 2 и 3%-ные рабочие растворы и 10-ти; 20-ти и 30-ти минутные экспозиции. Опыты проводили с применением импрегнированных тест-культурами батистовых тест-объектов, согласно методическим указаниям о порядке испытания новых дезинфицирующих средств для ветеринарной практики (утв. ГУВ МСХ СССР 27.12.85 г.), с последующем посевом на питательные среды, в зависимости от вида микроорганизма, и суточной инкубации в термостате при температуре 37ºС. Учет роста через 24 часа (ориентировочный) и через 7 суток (окончательный).

Все эксперименты проводили не менее 3-х раз. Одновременно с опытами ставили контроль жизнедеятельности культуры, контаминированные тест-объекты (батистовые), которые погружают на 30 минут в стерильную дистиллированную воду с последующим высевом на соответствующие среды.

Результаты исследований. В результате лабораторных опытов по изучению биоцидного действия нового моющего средства получены следующие результаты (таблица).

Таблица

Результаты оценки биоцидного действия моющего средства

Концентрация, %	Экспозиция, мин	Микроорганизмы (референтные штаммы)	
		E. coli шт. М-17	S. thermophilus шт. st-21
1	10	+	+
	20	+	+
	30	-	+
Контроль		+	+
2	10	-	+
	20	-	-
	30	-	-
Контроль		+	+

Примечание: – развития (роста) нет, + четкий рост.

Из данных таблицы видно, что рабочий раствор исследуемого средства в 1%-ной концентрации и 30-ти минутной экспозиции обладает бактерицидным действием, в отношении E. coli, обеззараживание батистовых тест-объектов контаминированных S. thermophilus отмечалось при воздействии 2%-ной концентрации и 20 минутной экспозиции.

Заключение. Таким образом, в исследованиях установлено, что новое моющее средство, обладает бактерицидным действием в отношении E. coli и кокковой микрофлоры, представленной стрептококком термофильным.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Аржаков В.Н., Ермакович М.М., Аржаков П.В. Особенности проведения дезинфекционных мероприятий на объектах ветеринарного надзора // Ветеринария сельскохозяйственных животных. 2008. №5. С. 68.

2. Аржаков П.В. Микроорганизмы - один из основных этиологических факторов загрязнения мяса // Ветеринарная патология. 2009. №4(31). С. 5-8.

3. Колычев Н.М., Аржаков В.Н., Аржаков П.В., Серикбаев Р.Е., Кучкина М.А. Глиоксаль - дезинфектант широкого спектра антимикробного действия // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета. 2013. №87. С. 872-881.

4. Фёдорова Л.С. Основные направления повышения эффективности дезинфицирующих средств // Актуальные проблемы дезинфектологии в профилактике инфекционных и паразитарных заболеваний: Матер. Всерос. науч. конф., посвящ. 100-летию со дня рождения В.И. Вашкова. М.: ИТАР-ТАСС, 2002. С.26-30.

STUDY OF THE BIOCIDAL ACTION OF A DETERGENT

T.S. Dudoladova, D.A. Diaghileva

The article presents the results of the study of the biocidal action of the new detergent, as a result of the research it was found that the new detergent has a bactericidal effect against: E. coli and coccal microflora.

Keywords: *detergent, disinfection, biocidal action.*

УДК 619:616.98.2:636.22/.28

ЗНАЧЕНИЕ АТИПИЧНЫХ МИКОБАКТЕРИЙ В ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКЕ НЕСПЕЦИФИЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА В БЛАГОПОЛУЧНЫХ ПО ТУБЕРКУЛЕЗУ ХОЗЯЙСТВАХ

Г.М. Дюсенова, *канд. биол. наук*

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Омский аграрный научный центр», г. Омск, РФ

В публикации представлены результаты комплексных ветеринарно-диагностических мероприятий по дифференциальной диагностике неспецифических реакций крупного рогатого скота в благополучных по туберкулезу хозяйствах. Работа проводилась комиссионно совместно со специалистами хозяйств и сельхозуправлений районов.

Ключевые слова: *крупный рогатый скот, диагностика, дифференциальная диагностика, неспецифические реакции.*

В настоящее время в структуре микобактериальных инфекций происходят изменения. Ведущим заболеванием остается туберкулез, но участились случаи проявления микобактериозов, вызванных нетуберкулезными микобактериями [1]. Наряду с появлением новых эпизоотических очагов туберкулеза скота, свиней и птицы, регистриру-

ются микобактериозы крупного рогатого скота, свиней и кур. В условиях преобразования сельскохозяйственного производства создаются крестьянские и фермерские хозяйства, комплектование которых иногда происходит животными из бывших колхозов и совхозов [2].

Сведения о происхождении нетуберкулезных или атипичных микобактерий и микобактериозов крайне вариабельны. Изучение данного вида микобактерий до настоящего времени насчитывает несколько десятилетий. В вопросе об их происхождении высказывали мнение, что это не особый вид, а результат изменчивости микобактерий туберкулеза под влиянием химиотерапии или как переходные формы в процессе их эволюции.

E. Runyon предполагал, что атипичные микобактерии стары, как туберкулез и лепра, но изменилось их понимание человеком. На их генетическое родство с микобактериями туберкулеза указывало одинаковое количество и расположение полос преципитации при двойной диффузии в агаре [3].

Патология, вызываемая атипичными микобактериями у людей, и у животных, на сегодня становится серьезной проблемой, она занимает «нишу», которую «освобождает» туберкулез. О патогенном потенциале атипичных микобактерий стало известно еще с начала прошлого века, вскоре после открытия Р.Кохом в 1882 г. возбудителя туберкулеза. Однако по-настоящему, как патогены человека, они стали рассматриваться только с 50-х годов прошлого века, когда появились сообщения о целом ряде случаев легочных заболеваний, вызванных атипичными микобактериями.

Это типичные свободноживущие природные сапрофиты, встречающиеся повсеместно. Строгие патогены, такие, как M. tuberculosis и M. leprae, не встречаются в живой природе. Ситуация осложняется тем, что особую опасность атипичные микобактерии представляют при серьезных нарушениях иммунитета, и возникновение патологии, вызванной ими, связано не только с взаимодействием с окружающей средой, содержащей микобактерии, вероятно, в повышенной концентрации, но в значительной мере определяется повышенной индивидуальной чувствительностью. Также следует подчеркнуть, что клиническая картина индуцируемой ими патологии редко специфична для какого-либо вида микобактерий [4, 5].

Кроме человека, нетуберкулезные микобактерии вызывают различную патологию и у животных. Они, вероятно, могут подвергаться «трансмиссии» между внешней средой, особями «дикой природы», домашним скотом и людьми. Freerksen показала, что атипичные микобактерии патогенны для крупного рогатого скота, сенсибилизируя его к туберкулинам. Было доказано, что они аллергизируют организм людей и экспериментально зараженных животных [4].

Проблема профилактики, купирования и ликвидации эпидемических и эпизоотических очагов туберкулеза еще далека от решения и приобрела особую актуальность в новых экономических условиях, когда увеличивается количество разных видов животных и в личных подворьях граждан. Идет бесконтрольное перемещение животных, торговля продуктами животноводства, заготовка кормов на территориях, неизвестных в санитарном отношении.

В настоящее время в животноводстве остро встает проблема неспецифических реакций в благополучных по туберкулезу хозяйствах, где у реагирующего на ППД-туберкулин крупного рогатого скота при ветеринарно-санитарной экспертизе во внутренних органах, как правило, не обнаруживают изменений, характерных для туберкулеза, и диагноз не подтверждается бактериологическим исследованием биоматериала [6-10].

По данным литературы следует, что одной из причин проявления неспецифических реакций на ППД-туберкулин у крупного рогатого скота являются атипичные микобактерии. Такие неспецифические реакции, как известно, обуславливают неясность эпизоотической ситуации, необоснованный убой продуктивных животных, потерю продукции и приплода, ограничение племенной работы, а также дополнительные затраты на дифференциальную диагностику. По нашим данным, положительно реагируют на ППД-туберкулин от 2,5 до 15,3% всех исследуемых животных [8, 11]. Нами проведены комплексные ветеринарно-диагностические исследования в благополучных по туберкулезу хозяйствах Омской и Новосибирской областей. Результаты представлены в таблице.

Таблица

Результаты комплексных ветеринарно-диагностических исследований в благополучных по туберкулезу хозяйствах Омской и Новосибирской областей

Хозяйство	Ис-след. голов	В/кожн. проба ППД	Паль-пебр. проба ППД	После-убойная экспертиза (гол.)	Бактериология	Биопроба	ХЛ метод: гол / ре-зультат
ЗАО Дружба Марьяновского района	3904	192	3	15/без туб.измен.	Атипичные микобактерии 3 и 4 групп по Раньону	Отрицат.	6/отриц.
ЗАО Неудачино Татарского района	4482	131	12	24/без туб.измен.	Атипичные микобактерии 3и 4 групп по Раньону	Отрицат.	107/отрицат.
ЗАО «Азовское» Азовского р-на	1970	19	6	4/без туб.измен.	Атипичные микобактерии 3и 4 групп по Раньону	Отрицат.	18/ отриц.
КФХ «Люфт» Азовского р-на	563	6	2	2/без туб.измен.	Не исслед.	Не ис-след.	2/ отриц.
ООО АК Ударное Горьковского района	1257	31	-	19/без туб.измен.	Атипичные микобактерии 3 группы по Раньону	Отрицат.	19/ отриц.
ООО Булатовское Куйбышевского района	2648	278	16	35/без туб.измен.	Атипичные микобактерии 4 группы по Раньону	Отрицат.	132 /отриц.
СПК Восход Куйбышевского района	253	16	Не ис-след.	4/без туб.измен.	Атипичные микобактерии 4 группы по Раньону	Отрицат.	4/ отрицат.
ИТОГО:	15077	673	39	103	АМБ	Отрицат.	288/отриц.

Из таблицы видно, что при проведении внутрикожной туберкулиновой пробой 15077 исследований К.Р.С. положительно реагировали 673 головы (4,46%), которые дополнительно были исследованы пальпебральной пробой [12]. От 288 голов КРС, давших положительную реакцию на пальпебральную пробу и максимальную - на внутрикожную, до убоя дополнительно исследованы пробы крови прижизненным хемилюминесцентным (ХЛ) методом. Во всех пробах получены отрицательные результаты - нет превышения уровня свечения исследуемых проб по сравнению с контрольными. При контрольно-

диагностическом убое 103 (15,3% от положительно реагирующих) голов крупного рогатого скота при секционном осмотре внутренних органов, изменений, характерных для туберкулеза, не обнаружено. При бактериологическом исследовании биоматериала на питательных средах Левенштейна-Йенсена, Фаст-3Л, СФД с фитодобавками во всех случаях выделены атипичные микобактерии 3 и 4 групп по классификации Раньона. Результаты биологической пробы на морских свинках отрицательные во всех случаях.

Таким образом, при комплексном исследовании на туберкулез поголовья крупного рогатого скота вышеназванных хозяйств подтверждено их благополучие по туберкулезу. Для дальнейшего хозяйственного использования сохранены 570 голов крупного рогатого скота, и продукция от них используется без ограничений.

Так же результаты наших исследований свидетельствуют, что атипичные микобактерии, выделяемые от реагирующих на туберкулин животных, их идентичные свойства с возбудителями туберкулеза крупного рогатого скота, в ряде случаев осложняют диагностику туберкулеза, а присущие этим видам потенциальная патогенность и сенсибилизирующие свойства требуют дальнейшего изучения их характеристик, методов дифференциации и идентификации для оптимизации методов борьбы с туберкулезом и предупреждения необоснованного убоя животных, инфицированных атипичными микобактериями.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Оттен Т.Ф., Васильев А.В. Микобактериоз. СПб.: Медицинская пресса, 2005. 224 с.

2. Овдиенко Н.П., Найманов А.Х., Толстенко Н.Г. и др. Совершенствование системы противотуберкулезных мероприятий в сельских очагах туберкулеза // Ветеринарный врач. 2009. №4. С. 37-39.

3. Новожилова И.А. Микобактериозы: прошлое, настоящее и будущее // Проблемы туберкулеза. 2004. № 9. С. 3-9.

4. Макарова М.В. Нетуберкулезные микобактерии: классификация, эпидемиология, патология у людей и животных, лабораторная диагностика (Обзор литературы) // Проблемы туберкулеза и болезней легких. 2007. №10. С. 7- 12.

5. Куварин А.С., Власенко В.С., Новиков А.Н., Кощеев Н.Н. Оценка иммунного статуса у крупного рогатого скота, инфицированного атипичными микобактериями // Эпизоотология, диагностика и профилактика хронических инфекционных болезней животных: Матер. междунар. науч. конф., посвящ.

175-летию аграрной науки Сибири (Омск, 24-26 июня 2003 г.). Омск, 2003. С. 131-138.

6. Зубехин А.В., Казбаев А.С., Бейскенов Н.Н. и др. Эффективность туберкулиновых тестов для дифференциации аллергических реакций у крупного рогатого скота в благополучных по туберкулезу хозяйствующих субъектах // Состояние и перспективы диагностики инфекционных болезней: материалы межд. конф. Астана, 2008. С.222-225.

7. Колычев Н.М., Кисленко В.Н., Каримова Л.М. Индикация, дифференциация и идентификация микобактерий. Омск: ИВМ ОмГАУ, 2004. 298 с.

8. Ощепков В.Г., Таллер Л.А, Дюсенова Г.М. Динамика возможного проявления неспецифических реакций на туберкулин у крупного рогатого скота в хозяйствах, благополучных по туберкулезу // Инфекционная патология животных: Сб. науч. тр. ВНИИБТЖ. Омск, 2001. С. 211-215.

9. Ощепков В.Г., Боганец Н.С., Дюсенова Г.М., Свириденко Н.А. и др. Комплекс ускоренной дифференциальной диагностики туберкулиновых реакций у крупного рогатого скота в благополучных хозяйствах: Метод. рекомендации. Омск, 2010. 15 с.

10. Бажин М.А., Смолянинов Ю.И., Ощепков В.Г. и др. Вакцинопрофилактика в комплексе противотуберкулезных мероприятий // Ветеринарная патология. 2004. №1-2(9). С. 139-142.

11. Дюсенова Г.М., Таллер Л.А. Бордюг В. Ф. и др. Значение пальпебральной и симультанной проб при дифференциальной диагностике туберкулиновых реакций у крупного рогатого скота в благополучных по туберкулезу хозяйствах // Ветеринария и кормление. 2009. №4. С. 14-17.

12. Наставление по диагностике туберкулеза. М., 2002. 63 с.

THE SIGNIFICANCE OF ATYPICAL MYCOBACTERIA IN THE DIFFERENTIAL DIAGNOSTICS OF NON-SPECIFIC REACTIONS OF CATTLE IN WELL-BEING FOR TUBERCULOSIS OF FARMS

G.M. Dyusenova

The publication presents the results of complex veterinary diagnostic measures for the differential diagnosis of nonspecific reactions of cattle in tuberculosis-free farms. The work was carried out as a commission jointly with specialists from farms and agricultural departments of the regions.

Keywords: *cattle, diagnostics, differential diagnostics, non-specific reactions.*

УДК 619: 616.98:579.873.21:636.22/.28

ПРОБЛЕМА ТУБЕРКУЛЕЗА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА В РОССИИ

Г.М. Дюсенова, *канд. биол. наук*

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Омский аграрный научный центр», г. Омск, РФ

Представлен анализ эпизоотической ситуации по туберкулезу крупного рогатого скота в РФ за 2017-2020 гг.

***Ключевые слова**: туберкулез, микобактерии, диагностика, лекарственная устойчивость, крупный рогатый скот, аллергические исследования.*

Проблема туберкулеза после периода потери к ней интереса с каждым годом привлекает все большее внимание. Это связано с ростом заболеваемости у людей, появлением тяжелых форм заболевания со смертельным исходом в странах Западной Европы, США и России, тогда как еще совсем недавно туберкулез рассматривали как исчезающую болезнь. Ежегодное снижение заболеваемости туберкулезом в экономически высокоразвитых странах в какой-то степени поддерживало представление о процессе ликвидации туберкулеза как массового заболевания, хотя в странах Азии, Африки, Тихоокеанского бассейна, Южной Америки сохранялась высокая заболеваемость и смертность, и это считалось проблемой для развивающихся стран, а в Европе и Северной Америке она потеряла важное значение для здравоохранения. Почти во всех странах Европы фтизиатрия, как научная дисциплина и врачебная специальность, трансформировалась и слилась с пульмонологией в качестве одного из ее разделов. Но в 1991 г. Генеральная Ассамблея Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) была вынуждена констатировать, что туберкулез все еще является приоритетной международной и национальной проблемой здравоохранения не только в развивающихся, но и в экономически высокоразвитых странах. В мире ежегодно заболевают туберкулезом более 8 млн. человек, 95% из них - жители развивающихся стран, а 3 млн. человек ежегодно умирают. В конце 20-го века казалось, что болезнь уже окончательно уйдет в историю. Однако не все оказалось просто. Туберкулез начал очередной поход против человечества. По оценкам экспертов, носителями туберкулеза человеческого вида

являются до трети населения, т.е. около 2 миллиардов человек. Один больной за год инфицирует около ста человек. На таком эпидемическом фоне растет риск заражения животных M. tuberculosis. А если к этому прибавить все возрастающие находки антибиотико-устойчивых микобактерий, станет понятен масштаб возрастающей угрозы [1].

В России самая низкая заболеваемость туберкулезом была в 1991 г. – 34,0 случая на 100 тыс. населения - на уровне среднеевропейской, но уже к 1995 г. этот показатель увеличился до 57,4 случая на 100 тыс. Причинами увеличения заболеваемости можно считать снижение жизненного уровня большой группы населения, ухудшение питания со значительным уменьшением белковых продуктов, а также возникновение стрессовых ситуаций в связи с неустойчивым положением в стране, военными столкновениями и войнами в ряде регионов; резко увеличившаяся миграция больших групп населения, практически выпадающих из поля зрения лечебно-профилактических учреждений; ухудшение проведения комплекса противотуберкулезных мероприятий, особенно направленных на профилактику и раннее выявление туберкулеза у взрослого населения, в частности, у беженцев; увеличение числа больных с тяжелыми формами заболевания, особенно вызванными лекарственно-устойчивыми микобактериями, что затрудняет проведение эффективного лечения, способствует развитию необратимых хронических форм и обусловливает высокую летальность. Указанные причины привели к неуправляемости туберкулеза в условиях большого резервуара туберкулезной инфекции и высокой инфицированности населения.

В частности, в России в настоящее время наибольшее распространение больных с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ-ТБ) и широкой лекарственной устойчивостью (ШЛУ-ТБ) в РФ наблюдаются в Сибирском и Приволжском ФО, причем в Сибирском ФО распространенность МЛУ и ШЛУ существенно превышает аналогичный показатель для остальных ФО - распространенность на 100 тыс. населения МЛУ-ТБ 63,1; ШЛУ-ТБ 12,6. По РФ распространенность МЛУ-ТБ 34,2; ШЛУ-ТБ 6,8 [2]. Также следует отметить, что у лиц пожилого и старческого возраста старше 65 лет заболеваемость снизилась, но повысилась смертность в 4,8 - 9,2 раза из-за более частой кардиореспираторной патологии, более редкой генерализации и наличия сопутствующей ВИЧ [3]. Во многих регионах имеется и другой, дополнительный резервуар инфекции - пораженный туберку-

лезом крупный рогатый скот. Туберкулез крупного рогатого скота в России начали регистрировать с 1889 г., однако широкомасштабные мероприятия по борьбе с ним стали проводить с 1951 г.

Несмотря на все усилия в борьбе с туберкулезом сельскохозяйственных животных, проблема туберкулеза продолжает оставаться одной из наиболее сложных не только в медицинской, но и в ветеринарной науке и практике [4]. К туберкулезу восприимчивы практически все виды млекопитающих и птиц, из сельскохозяйственных - в наибольшей степени крупный рогатый скот, свиньи и куры. Больной туберкулезом скот представляет опасность для людей, и одна из главных задач ветеринарных специалистов - своевременное выявление больных животных и исключение их из основного стада [5]. Основой оздоровления является своевременное выявление и убой зараженных туберкулезом животных, изолированное выращивание здорового молодняка, обеззараживание молока и обрата, проведение всего комплекса ветеринарно-санитарных мероприятий при постоянном контроле государственной ветеринарной службы [6].

Внедрение в практику положений, утвержденных нормативных актов позволило значительно снизить заболеваемость крупного рогатого скота туберкулезом. На 01.01.2017 г. в РФ оставалось 6 неблагополучных пунктов, на 01.01.2018 г. их количество увеличилось до 12, на 01.01.2019 г. стало 10 (в Омской области -3, в Белгородской и Пензенской – по 2, в Республике Дагестан, Республике Крым и Саратовской области – по 1), а на 01.02.2020 г. -13 (в Белгородской, Орловской и Омской областях – по 2, в Липецкой, Тульской, Пензенской, Самарской, Саратовской, Иркутской областях и Республике Крым - по 1). Из представленных данных видно, что с 2017 г. по 2020 г. число неблагополучных пунктов увеличилось в 2 раза. Также при анализе эпизоотической ситуации установлено, что в длительно благополучных (10-20 лет) по туберкулезу субъектах РФ периодически возникают очаги туберкулеза. При этом туберкулезный процесс характеризовался значительным распространением инфекции среди крупного рогатого скота, у которого отмечали ярко выраженные патологоанатомические изменения в лимфатических узлах и внутренних органах. Как правило, в этих хозяйствах оздоровительные мероприятия проводят с единовременной и полной заменой неблагополучного поголовья здоровыми животными (Московская, Калужская, Тульская, Орлов-

ская области и др.). Несмотря на то, что в целом по стране эпизоотическая ситуация по туберкулезу улучшается, увеличивается количество реагирующих животных с неспецифическими реакциями на туберкулин в благополучных хозяйствах. За 2001- 2018 гг. в РФ было выявлено реагирующих на туберкулин 837, 913 тыс. животных, из них в благополучных хозяйствах – 762, 349 тыс. голов (90, 9%), а в неблагополучных хозяйствах – 76, 564 тыс. (9,1%), т.е. в 10 раз меньше.

Таким образом, эпизоотическая ситуация по туберкулезу крупного рогатого скота при ее непрерывном контроле с 1951 г. по 2020 г. улучшилась, однако увеличилось количество животных с неспецифическими реакциями на туберкулин. В длительно благополучных субъектах РФ возникают неблагополучные очаги с животными с запущенной стадией болезни и характерными для туберкулеза патологоанатомическими изменениями [7].

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Колычев Н.М. О системе противотуберкулезных мероприятий и контроле ее выполнения // Актуальные проблемы инфекционных и незаразных патологий животных: Сб. науч. тр. Омск, 2010. С. 130-134.

2. Тестов В.В., Васильева И.А., Стерликов С.А, Медвинский И.Д., Глебов К.А., Антонова Е.Г., Филина Е.Д., Сидорова А.И. Распространенность туберкулеза с множественной и широкой лекарственной устойчивостью по данным федерального регистра лиц, больных туберкулезом // Туберкулез и болезни легких 2019. Т. 97. № 12. С.64-65.

3. Савоненкова И.О., Рузов В.И., Мидленко О.В., Анисимова С.В. Особенности течения туберкулеза у лиц пожилого и старческого возраста // Туберкулез и болезни легких. 2019. Т. 97. №12. С. 22-26.

4. Власенко В.С. Оптимизация методов контроля и коррекции иммунного статуса при туберкулезе и лейкозе крупного рогатого скота: автореф. дис. …докт. биол. наук. Казань, 2011. 43 с.

5. Донченко А.С. Ветеринарные проблемы Сибирского животноводства // Матер. Всерос. науч. конф. по проблемам хронических инфекций (г. Омск, 16-17 мая 2001 г.). Омск, 2001. С. 4-15.

6. Наставление по диагностике туберкулеза животных. М., 2002, 63 с.

7. Муковнин А.А., Найманов А.Х., Гулюкин А.М. Туберкулез крупного рогатого скота // Ветеринария. 2020. №7. С.19-23.

CATTLE TUBERCULOSIS PROBLEM IN RUSSIA

G.M. Dyusenova

An analysis of the epizootic situation of tuberculosis in cattle in the Russian Federation for 2017-2020 is presented.

Keywords: *tuberculosis, mycobacteria, diagnostics, drug resistance, cattle, allergic studies.*

УДК 619: 616.982.2:612.017.1

ИММУНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЙ ТЕСТ BOVIDTB START- РАК ДЛЯ ПРИЖИЗНЕННОЙ ДИАГНОСТИКИ ТУБЕРКУЛЕЗА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Г.М. Дюсенова, *канд. биол. наук*

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Омский аграрный научный центр», г. Омск, РФ

Дана характеристика специфичности и чувствительности нового метода прижизненной диагностики туберкулеза, разработанного фирмой «Chembio, Diagnostic Systems Inc.» (США), в условиях Западной Сибири.

Ключевые слова: *прижизненная диагностика, туберкулез, тест иммунохроматографический.*

В системе противотуберкулезных мероприятий решающая роль отводится диагностике, так как успех борьбы с этой антропозоонозной инфекцией во многом зависит от полного и своевременного выявления источников возбудителя болезни. Между тем, многолетний опыт использования традиционных методов диагностики туберкулеза выявил ряд свойственных им недостатков. В частности, основной метод массовых исследований - туберкулиновая внутрикожная проба, не выявляет в стаде всех больных туберкулезом животных [1-6]. Это вынуждает проводить многократные повторные исследования, что значительно затягивает сроки и эффективность оздоровления неблагополучных стад.

Более того, при исследовании животных, находящихся в благополучных стадах, довольно часто проявляются неспецифические реакции на ППД-туберкулин, вследствие чего приходиться проводить

дополнительные дорогостоящие и порой длительные исследования.

Несовершенство методов диагностики этого заболевания приводит к тому, что ежегодно сдаются на убой тысячи продуктивных животных, в том числе и высокоудойные коровы, не являющиеся больными туберкулезом, а это неизбежно увеличивает прямые и косвенные потери животноводства [7]. Современные достижения зарубежной и отечественной науки в области молекулярно-клеточной биологии и медицины открывают возможности в создании нового поколения средств и методов диагностики туберкулеза, обладающих более высокой чувствительностью и специфичностью.

В числе таковых следует рассматривать биохемилюминесцентные, радиоавтографические, иммунохроматографические и другие тесты, в которых могут быть использованы реагенты, создаваемые на основе новых генно-инженерных технологий и, следовательно, имеющие высокую точность и надежность.

В настоящем сообщении мы приводим данные, полученные при испытании иммунохроматографического (ИХГ) теста BovidTB, созданного американской фирмой «Chembio, Diagnostic Systems Inc.» и предназначенного для выявления в сыворотке животных, больных туберкулезом, иммуноглобулинов, специфичных к антигенам патогенных микобактерий M. bovis, M. tuberculosis и др.

Материалы и методы. Испытание BovidTB теста проводилось в хозяйствах Омской и Новосибирской областей. Было исследовано 249 проб сыворотки крови, из которых 127 были взяты от крупного рогатого скота, находящегося в благополучных, и 122 в неблагополучных по туберкулезу фермах.

В набор теста входили: хроматографические пластинки с заранее внесенными на них специфическими антигенами патогенных микобактерий; пробирки для хранения сыворотки крови емкостью 0,5 мл; буферный раствор, содержащий протеино-латексный комплекс; микропипетки емкостью 30 мкл.

Антиген, используемый в этом тесте, готовится по генно-инженерной технологии, включающую секвенцию ДНК патогенных микобактерий и встраивание генов, кодирующих специфическую структуру их антигенов, в ДНК кишечных бактерий E.coli, синтезирующих эти антигены в нужных количествах. Такие рекомбинантные антигены обычно отличаются высокой специфичностью и взаимодействуют, как считают авторы этой технологии (Les S., Stuzman et al.),

только с антигенами к патогенным микобактериям (M. tuberculosis, M. bovis и др.). До использования диагностический комплект теста (хроматографические пластинки с антигеном, буферный раствор, сыворотки крови), хранили в оригинальной упаковке фирмы-изготовителя при температуре +2-8°С с обязательным учетом сроков его изготовления. BovidTB тест первоначально применяли строго в соответствии с инструкцией, предложенной разработчиками, а в последующем с нашими корректировками отдельных элементов постановки и учета этого теста, возникшими в ходе его испытания. В окончательном варианте методика постановки и учета теста осуществлялась в следующем порядке. Перед началом работы хроматографические пластинки нумеровали и раскладывали по планшетам. Затем вносили на них по 30 мкл тестируемой сыворотки, полученной из проб цельной крови, взятой из яремной вены исследуемых животных. После этого на хроматографические пластинки наносили буферный раствор в объеме 30 или 90 мкл.

Если в исследуемой сыворотке присутствовали специфические антитела, то они вместе с буферным раствором мигрировали по хроматографической пластинке и взаимодействовали в зоне, обозначенной буквой «Т», с фиксированным антигеном и в результате образования иммунного комплекса антиген + антитело в этой зоне появлялась синяя поперечная линия. При отсутствии специфических антител синяя линия не появлялась в зоне «Т», а испытуемая сыворотка с буферным раствором продолжала мигрировать по хроматографической пластинке до зоны, обозначенной буквой «С», в которой также появлялась поперечная синяя линия (контрольная), свидетельствующая о том, что все реагенты теста работают правильно.

Учет результатов проводили через 15 минут. Тест считали положительным, если на хроматографической пластинке появлялись две поперечные синие линии: в зоне «Т» и в зоне «С». Если появлялась только одна линия в зоне «С», то тест считали отрицательным.

Полученные при исследовании проб сыворотки показания BovidTB теста в необходимых случаях сопоставлялись с общепринятыми прижизненными и послеубойными методами диагностики: аллергическим (внутрикожная проба с ППД-туберкулином), патолого-анатомическим, микроскопическим, культуральным и биологическим (биопроба на морских свинках). Такие сопоставления были проведены по 154 пробам сыворотки крови, в том числе в благополучных

хозяйствах по 103 пробам и неблагополучных - по 51 пробе.

Результаты исследований и их обсуждение. Из данных, представленных в таблице, видно, что диагностическая значимость иммунохроматографического теста в целом значительно выше, чем внутрикожной пробы с ППД-туберкулином.

Таблица

Диагностическая значимость BovidTB теста в благополучных по туберкулезу хозяйствах

Хозяйство	Исследовано голов в/к пробой с ППД-туберкулином	Реагировало положительно на в/к пробу		Из них реагировало положительно в BovidTB	
		Всего	%	Всего	%
№ 1	63	12	19,4	9	14,2
№ 2	540	40	7,4	20	3,7
Итого	603	52	8,6	29	4,8

Так, при исследовании 63 голов крупного рогатого скота из благополучного хозяйства № 1, ложноположительные аллергические реакции на ППД-туберкулин были установлены у 12 гол. (19,0%), а при исследовании BovidTB тестом положительные сероreакции выявлены только у 9 гол (14,2%). Еще более контрастные результаты были получены во втором благополучном хозяйстве (№ 2), где при аллергическом исследовании 540 голов крупного рогатого скота положительно реагировали на ППД-туберкулин 40 животных (7,4%). При иммунохроматографическом исследовании этих 40 реагирующих на аллерген голов крупного рогатого скота, только 20 (50%) дали положительную реакцию. Всего по этим двум хозяйствам из 603 голов крупного рогатого скота 52 (8,6%) положительно реагировали на ППД-туберкулин, из них реагировало положительно в BovidTB тесте лишь 29 гол. (4,8%).

Если оценивать диагностическую эффективность BovidTB теста в неблагополучных по туберкулезу хозяйствах, то нужно отметить, что иммунохроматографический тест в этих условиях показал довольно хорошие результаты. В восьми хозяйствах при исследовании 860 голов крупного рогатого скота с его помощью было выявлено 51 положительно реагирующих животных и имеющих характерные признаки туберкулеза. Очень важно отметить, что у 47 (92,1%) наличие тубер-

кулеза было подтверждено другими традиционными методами.

При этом положительный результат испытуемого теста в 100% совпал с положительной внутрикожной аллергической пробой; в 60,7% - с положительным результатом микроскопических исследований и в 56,8% - выделением культур возбудителя туберкулеза M.bovis на питательных средах.

Таким образом, диагностический тест CHEMBIO BovidTB START-PAK (США) в условиях благополучных и неблагополучных по туберкулезу хозяйств показал, что он обладает необходимой специфичностью и достаточно высокой чувствительностью, и может быть использован как экспресс - диагностический тест в комплексе ветеринарно-диагностических мероприятий для прижизненной диагностики туберкулеза крупного рогатого скота и выбора животных для контрольно-диагностического убоя.

Выводы:

1. Иммунохроматографический тест CHEMBIO BovidTB START-PAK (BovidTB) обладает достаточной специфичностью и может быть использован для прижизненной диагностики туберкулеза крупного рогатого скота;

2. При диагностических исследованиях в условиях неблагополучных по туберкулезу скотоводческих ферм чувствительность BovidTB теста достигает 92,1%, при этом показания этого теста в 56,8-60,7% случаев совпадают с данными, полученными бактериологическим методом.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Донченко А.С., Овдиенко Н.П., Донченко Н.А. Диагностика туберкулеза крупного рогатого скота. Новосибирск, 2004. С. 22-58.

2. Дюсенова Г.М., Ощепков В.Г. Способ прижизненной диагностики туберкулеза // Патент РФ № 2296334 от 27 марта 2007 г.

3. Жумаш А.С., Тургенбаев К.А. Пути оздоровления хозяйств от туберкулеза крупного рогатого скота. Алматы, 2005. С. 68-83.

4. Ощепков В.Г., Овдиенко Н.П., Найманов А.Х. Современные проблемы диагностики и профилактики туберкулеза животных // Ветеринарный консультант. М., 2003. №20. С. 9-10.

5. Ощепков В.Г., Таллер Л.А., Дюсенова Г.М. Динамика возможного проявления неспецифических реакций на туберкулин у крупного рогатого скота в хозяйствах, благополучных по туберкулезу // Инфекционная патология животных: Сб. науч. тр. СО РАСХН. ВНИИБТЖ. Омск, 2001. С. 211-215.

6. Туберкулез сельскохозяйственных животных. Под ред. академиков В.П. Шишкова и В.П.Урбана. М., 1991. С. 87-101.

7. Найманов А.Х., Толстенко Н.Г., Ткач Н.М. Эпизоотическая ситуация по туберкулезу крупного рогатого скота в Российской Федерации // Современные проблемы диагностики и профилактики хронических зооантропонозных инфекций. Сб. науч. тр. ВНИИБТЖ. Омск, 2009. С. 140-142.

8. Наставление по диагностике туберкулеза животных. М., 2002. 63с.

IMMUNOCHROMATOGRAPHIC TEST BOVIDTB START-PAK FOR LIFETIME DIAGNOSIS OF TUBERCULOSIS IN CATTLE

G.M. Dyusenova

The characteristic of the specificity and sensitivity of a new method of in vivo diagnosis of tuberculosis, developed by Chembio, Diagnostic Systems Inc. (USA), in the conditions of Western Siberia.

Keywords: *lifetime diagnostics, tuberculosis, immunochromatographic test.*

УДК 619: 616.982.2:612.017.1:636.22/.28

СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О МОЛЕКУЛЯРНО-КЛЕТОЧНЫХ МЕХАНИЗМАХ ИНФЕКЦИОННОГО ПРОЦЕССА ПРИ ТУБЕРКУЛЕЗЕ. ПАТОГЕНЕЗ

Г.М. Дюсенова, *канд. биол. наук*

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Омский аграрный научный центр», г. Омск, РФ

В статье изложены основные сведения по вопросам патогенеза туберкулеза.

Ключевые слова: *туберкулез, иммунитет, первичный туберкулезный комплекс, генерализованная форма, хронический туберкулез, фиброз.*

Туберкулез – инфекционное заболевание сельскохозяйственных животных и человека, наносящее огромный экономический и социальный ущерб обществу. Причиняемый ущерб складывается из потерь продукции животноводства вследствие падежа или вынужденного убоя, утилизации и преждевременной выбраковки животных, а также снижения санитарного качества и сортности продукции, потери племенной ценности животных, недополучения приплода [1-3].

Характерные особенности патогенеза и патологической морфологии определяются древностью этой инфекции, хроническим течением и волнообразным проявлением клинико-анатомических форм. Также туберкулез является инфекцией, при которой с исключительной яркостью выражены все типы аллергических и парааллергических реакций при непосредственной зависимости клинико-анатомического облика этого заболевания от состояния общей и иммунологической реактивности зараженного организма. С этой стороны туберкулез представляет модельную инфекцию, при которой наглядно выявляется решающее значение вторичных патогенетических механизмов «аллобиотического» характера, возникающих в зараженном организме под влиянием инфекции и, в свою очередь, в значительной мере определяющих течение и исход инфекционного процесса, т.е. туберкулез - циклически протекающее заболевание, последовательные стадии которого патогенетически связаны с соответствующими фазами аллергической и иммунологической перестройки организма, закономерно развертывающейся в нем на протяжении инфекции и под ее влиянием.

В развитии туберкулеза необходимо различать последовательные стадии: первичный туберкулезный комплекс, генерализованную форму туберкулеза и хронический туберкулез органов. В первой стадии, соответствующей начальному туберкулезу, на месте инфекции образуется так называемый первичный аффект, который может быть полным (одновременное поражение регионарного и отдаленного лимфатических узлов или органов) и неполным (поражение только регионарного лимфатического узла). Для него характерно лимфогенное распространение инфекции, а также наличие преимущественно продуктивных изменений, которым лишь в продромальной фазе предшествует экссудативное воспаление. В сумме же первичный комплекс характеризуется нормэргическим сочетанием экссудативных и продуктивных изменений. Чаще всего первичный комплекс формируется в легких, но иногда образуется в кишечнике и других органах. Судьба первичного комплекса может быть двоякой: или он подвергается обратной инволюции с фиброзом и петрификацией (самоизлечение), или же происходит обострение процесса, сопровождающееся экссудативным воспалением, в результате чего первичный комплекс превращается в источник генерализованной инфекции. Из первичных очагов патогенные микобактерии могут попасть в кровь, что приводит к генерализации инфекционного процесса и развитию в различ-

ных органах и тканях вторичных туберкул (вторичный комплекс). В этом случае туберкулез переходит во вторую стадию своего развития, которая характеризуется распространением инфекции за пределы первичного комплекса, причем, в отличие от первой стадии, это распространение осуществляется не только по лимфатическим путям, но и по сосудистой сети (гематогенно), а также внутри преформированных каналов и полостей. В результате происходит генерализация туберкулеза с образованием метастазов в различных органах или с развитием миллиарного обсеменения всего организма. Эта стадия генерализованного туберкулеза развивается на фоне расцвета аллергии при наличии резко выраженной повышенной чувствительности организма к возбудителю и продуктам его обмена (отрицательная фаза иммунитета). В соответствии с этим вторая стадия туберкулеза характеризуется преимущественно экссудативным, гиперэргическим типом гистопатологических изменений при максимально выраженных аллергических реакциях с туберкулином.

При дальнейшем развитии туберкулезный процесс переходит в третью стадию, на протяжении которой начинают преобладать явления относительного иммунитета, а повышенная чувствительность отступает на задний план. Распространение и метастазирование возбудителя при этом прекращаются, и туберкулез приобретает местный характер, обнаруживая в то же время тенденцию к обратной инволюции (фиброз). При этом развиваются обширные поражения в легких, соответственно нарушается газообмен, угнетается эритропоэз, наблюдается анемия, понижается продуктивность, наступает истощение и смерть животного [4].

Все стадии в патогенезе туберкулеза отображают смену гиперэргии иммуногенной аллергией. Возбудитель туберкулеза, попадая в пищеварительный тракт, легкие и другие ворота инфекции человека и животных, мигрирует по лимфатическим и кровеносным сосудам. Экзотоксины бактерий вызывают раздражение, а затем и повреждение ткани, эмиграцию нейтрофильных лейкоцитов, размножение макрофагов. Лизосомные ферменты фагоцитов усиливают альтеративную фазу воспаления, разрушают капилляры в очаге воспаления, который становится бессосудистым. Из поврежденных сосудов выделяется плазма крови, она свертывается и в смеси с омертвевшими элементами местных тканей образует казеозную массу, макроскопи-

чески напоминающую творог, весьма характерную для туберкулезного поражения. В творожистой массе довольно быстро откладываются глыбки извести, а впоследствии возможно значительное обызвествление очага некроза. При микроскопическом исследовании в относительно гомогенной некротической массе видны комковатые, сморщенные ядра и их обломки-следы кариопикноза и кариорексиса клеточных элементов [5]. Специфические очаги - туберкулы могут возникать в любых органах и тканях зараженного животного и иметь размер от просяного зернышка до горошины, куриного яйца и более.

Таким образом, эволюция туберкулезных поражений зависит от взаимодействия гиперчувствительности замедленного типа, бактериальной нагрузки и циркулирующих антител. При большой антигенной нагрузке в присутствии высоких титров возникает некроз и отмечается размножение микобактерий внутри клеток, тогда как при умеренном количестве микобактерий, сильно выраженной ГЗТ и средних титрах антител развиваются компактные гранулемы, в последующем подвергающиеся рассасыванию. При благоприятном течении туберкулезного процесса эпителиоидно-клеточные гранулемы могут бесследно рассасываться или подвергаться рубцеванию. Разрастание соединительной ткани в эпителиоидно-клеточных гранулемах, вызванных БЦЖ, объясняют двумя взаимосвязанными процессами: инфильтрацией гранулем фибробластами и продукцией эпителиоидными клетками фактора, активирующего фибробласты, с интенсификацией синтеза в них коллагена.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Урбан В.П., Шишков В.П. Туберкулез сельскохозяйственных животных. М.: ВО Агропромиздат, 1991. С. 59-79.

2. Донченко А.С., Донченко В.Н. Туберкулез крупного рогатого скота, верблюдов, яков, овец и пантовых оленей. Новосибирск, 1994. 354 с.

3. Смолянинов Ю.И., Падалица А.М. Особенности проявления неспецифических реакций на туберкулин у крупного рогатого скота // Тез. докл. науч.-практ. конф. ИЭВСиДВ. Новосибирск, 1995. С. 42-43.

4. Юсковец М.К. Туберкулез сельскохозяйственных животных и птиц. Минск: Сельхозиздат, 1965. 449 с.

5. Хазипов Н.З., Сафин М.А., Идрисов Г.З. Туберкулез крупного рогатого скота. М.: Агропромиздат, 1985. 127 с.

MODERN CONCEPTS ABOUT MOLECULAR CELL MECHANISMS OF INFECTIOUS PROCESS IN TUBERCULOSIS. PATHOGENESIS

G.M. Dyusenova

The article provides basic information on the pathogenesis of tuberculosis.
Keywords: *tuberculosis, immunity, primary tuberculosis complex, generalized form, chronic tuberculosis, fibrosis.*

УДК 619:611-018:636.97

ИЗМЕНЕНИЯ В ЛЕГКИХ ПОД ДЕЙСТВИЕМ ПРОТИВОТУБЕРКУЛЕЗНОГО ПРЕПАРАТА КИМ-М2 НА МОДЕЛИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ТУБЕРКУЛЕЗА

Е.А. Кособоков

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Омский аграрный научный центр», г. Омск, РФ

В статье приведены результаты гистологических исследований легких морских свинок, инфицированных M.bovis, и через 14 суток, обработанных препаратом КИМ-М2, в сопоставлении с изменениями в легких у животных, зараженных вирулентной культурой, но не получавших специфический иммуномодулятор.
Ключевые слова: *туберкулез, морские свинки, гистологические изменения, противотуберкулезный препарат.*

Усилия по ликвидации туберкулеза крупного рогатого скота, предпринятые еще в прошлом веке, снизили распространенность этой инфекции, тем не менее, это заболевание по-прежнему остается серьезной проблемой для здоровья человека и животных во всем мире и для борьбы с ним необходимы новые средства [1-3].

За последние десятилетия достигнут значительный прогресс в разработке улучшенных вакцин для людей и животных [4, 5]. Перспективной концепцией конструирования противотуберкулезных препаратов является конъюгация иммуногенной фракции, выделенной из вакцинных бактерий, со стимулирующим компонентом [6]. В соответствии с этой концепцией был получен комплексный иммуномодулятор микробного происхождения (КИМ-М), который при испытании на лабораторных животных обладал протективными свой-

ствами, способностью восстанавливать нарушенную иммунологическую реактивность, а также усиливал протективные свойства вакцины БЦЖ. Однако морфофункциональные изменения тканей и органов под воздействием этого препарата недостаточно изучены, что не позволяет более детально раскрыть его влияние на повышение устойчивости организма к действию патогенных факторов [7].

Также необходимо отметить, что многие вопросы патоморфологических, и в особенности гистологических изменений, развивающихся в организме животных, вовлеченных в туберкулезный инфекционный процесс, остаются недостаточно изученными [8-10].

Материалы и методы. Исследования проводили в соответствии с требованиями Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях.

Комплекс антигенов для конъюгации с полиэлектролитами выделяли из культуры вакцинного штамма БЦЖ, которую выращивали на жидкой синтетической среде Сотона, затем подвергали ультразвуковой дезинтеграции на аппарате УЗДН-1 (22 кГц, 60–70 Вт/см^2 в течение 30 мин). Полученную взвесь центрифугировали и в надосадочной жидкости определяли содержание белка с помощью биуретовой пробы на фотометре – 5010 V5+ [11].

Исследования проведены на 10 половозрелых морских свинках самцах, содержащихся в условиях специализированного вивария для проведения опытов с инфекционным агентом. Были сформированы 2 группы животных. Особей первой группы (n=5) инфицировали вирулентной культурой M. bovis шт. 8 путем ее подкожного введения в дозе 0,001 мг/мл, животных второй группы (n=5) также подвергали заражению по идентичной схеме, а затем через 14 суток подкожно вводили противотуберкулезный препарат КИМ-М2 в дозе 500 мкг/мл белка. Животных выводили из эксперимента на 45-е сутки после заражения путем декапитации (под эфирным наркозом) и подвергали тотальному обескровливанию. Перед инфицированием и убоем животные были исследованы ППД-туберкулином для млекопитающих в дозе 25 МЕ в 0,1 мл внутрикожно, читку реакции осуществляли через 72 часа.

Материалом для гистологического исследования служили аутопсии легких, которые фиксировали в 10% нейтральном растворе формалина на фосфатном буфере. Гистологические препараты были изготовлены методом заливки в парафин с использованием станции

пробоподготовки STP-120 и станции заливки парафином EC-350. На микротоме роторного типа готовили срезы толщиной 3-5 мкм, размещали на стандартных по толщине предметных стеклах с последующей окраской по классической методике гематоксилином и эозином. После окраски срезы заключали в синтетическую заливочную среду BioMount и покрывали стандартными по толщине покровными стеклами.

Микрофотосъемку гистологических препаратов и их оцифровку проводили на микроскопе Axio-Imager A1 с использованием компьютерного программного комплекса Axiovision ver-4.7.

Результаты исследования и их обсуждение. При гистологическом исследовании легких морских свинок 1-й группы отмечали интенсивную пролиферацию макрофагов в перибронхиальной соединительной ткани и в стенках альвеол. По периферии легочной ткани утолщение стенок альвеол сочеталось с развитием эмфиземы. Отмечалась также эктазия мелких бронхов. По всей поверхности среза периферической части долей легких свинок рассеяны многочисленные разного размера лимфатические фолликулы (рисунок 1).

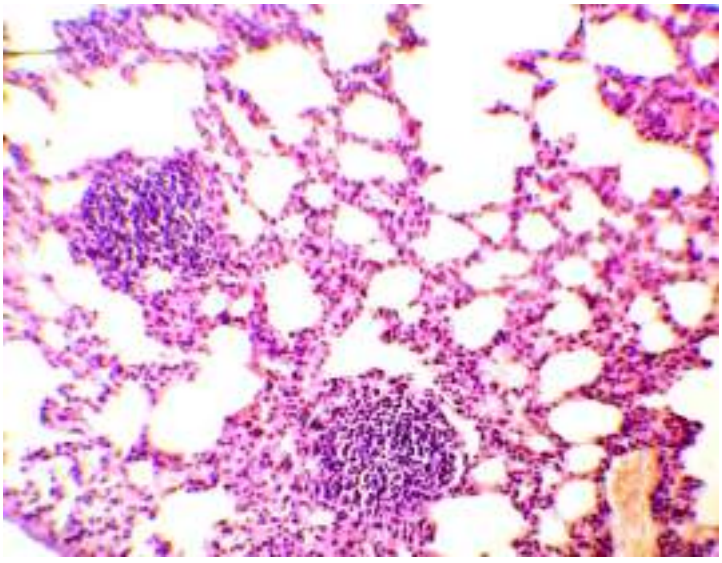

Рисунок 1 - Периферический участок доли легкого. Лимфатические фолликулы. Утолщение стенок альвеол. Эмфизема. (1-я экспериментальная группа). Окр. гематоксилин эозином. Ув. х 100.

Прослеживается тесная связь лимфатических фолликулов в ткани легкого с кровеносными сосудами разного калибра. В начальной стадии развития фолликулов лимфоциты окружают кровеносный сосуд в

виде муфты. В дальнейшем разрастание лимфоидной ткани происходит эксцентрично с образованием типичного фолликула (рисунок 2).

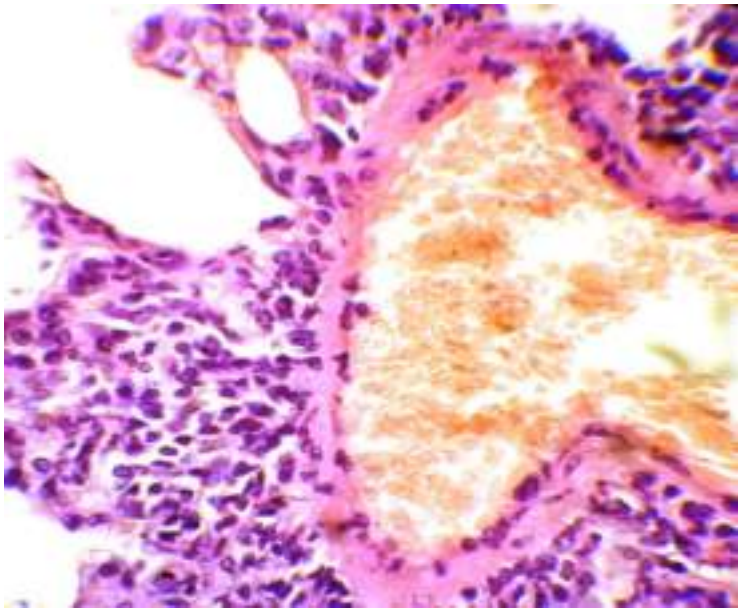

Рисунок 2 - Разрастание лимфоцитов вокруг вен разного калибра. Мукоидное набухание в стенке крупной вены. (1-я экспериментальная группа). Окр. гематоксилин эозином. Ув. х200.

В центре фолликулов появляются клетки с относительно крупным светлым ядром и оксифильной цитоплазмой – дендритные ретикулоциты, а по периферии обнаруживаются бластные формы плазмоцитов и немногочисленные зрелые плазмоциты.

Основными клеточными элементами утолщенных межальвеолярных перегородок являются клетки с оксифильной, иногда вакуолизированной, цитоплазмой. По внешнему виду эти пролиферирующие клетки похожи на эпителиоидные макрофаги, но это могут быть и альвеолярные макрофаги. В наиболее широких межальвеолярных перегородках обнаруживаются фигуры митоза, а также рассеянные между макрофагами лимфоциты и немногочисленные гранулоциты.

Пролиферативные процессы в ткани легких зараженных M. bovis морских свинок наиболее выражены в области ответвления главных бронхов. Бронхи, а также сопровождающие их кровеносные сосуды окружены сплошными полями из пролиферирующих макрофагов, среди которых обнаруживаются крупные лимфатические фолликулы и участки, инфильтрированные лимфоидными клетками. Лимфатические капилляры в этих участках расширены, наблюдается отек пери-

бронхиальной и периваскулярной соединительной ткани, а также ее мукоидное набухание.

В одном случае нами отмечен в зоне отека перибронхиальной ткани лизис стенки крупного бронха, в результате которого просвет бронха сообщается с окружающей тканью. Обращает на себя внимание тот факт, что ни в содержимом бронха, ни в прилегающей к месту разрушения бронха ткани нет скопления гранулоцитов. То есть лизис не является результатом гнойного воспаления, а возникает в результате некроза, вызванного нарушением кровоснабжения этого участка.

При гистологическом исследовании легких морских свинок, убитых на 45 сутки после заражения M. bovis, установлено, что к этому периоду в органе возникает иммунный ответ на генерализацию возбудителя, заключающийся в пролиферации вокруг кровеносных сосудов лимфоцитов и образованием типичных лимфатических фолликулов. Вместе с тем, отмечается незначительное количество плазмоцитов, продуцируемых этими фолликулами. Под действием M. bovis, происходит пролиферация макрофагов в интерстициальной ткани органа, приводящая к утолщению межальвеолярных перегородок, что снижает его сократительную способность и дренажную функцию бронхов. Обширные зоны пролиферации в области отхождения крупных бронхов сдавливают кровеносные и лимфатические сосуды. В результате этого развивается отек, сопровождающийся лизисом тканевых структур.

В легких морских свинок, зараженных M. bovis с последующей, через 14 дней, инъекцией препарата КИМ-М2, отмечен ряд патогистологических изменений отличающихся от изменений при заражении только культурой M. bovis. У морских свинок 2-й группы, как и у свинок 1-й группы, отмечается пролиферация эпителиоидных макрофагов в стенках альвеол, а также в периваскулярной и перибронхиальной соединительной ткани респираторного отдела и образование в респираторном отделе лимфатических фолликулов. Однако у них не наблюдается диффузного равномерного утолщения в результате пролиферации макрофагов стенок альвеол по всему респираторному отделу. Оно выражено в крупных, видимых невооруженным глазом очагах уплотнения, в которых за счет пролиферации макрофагов стенки альвеол утолщаются, а их просветы становятся невидимыми. Большая часть этих очагов инфильтрирована лимфоцитами, которые в некоторых участках этих уплотнений образует фолликулы.

В отличие от морских свинок 1-й группы, в легких морских свинок 2-й группы не выражена интенсивная пролиферация макрофагов и лимфоцитов в зоне ответвления главного бронха. Не отмечено нами и некроза прилегающих к нему очагов уплотнения с лизисом стенки бронха и поступлением в него некротических масс (рисунок 3).

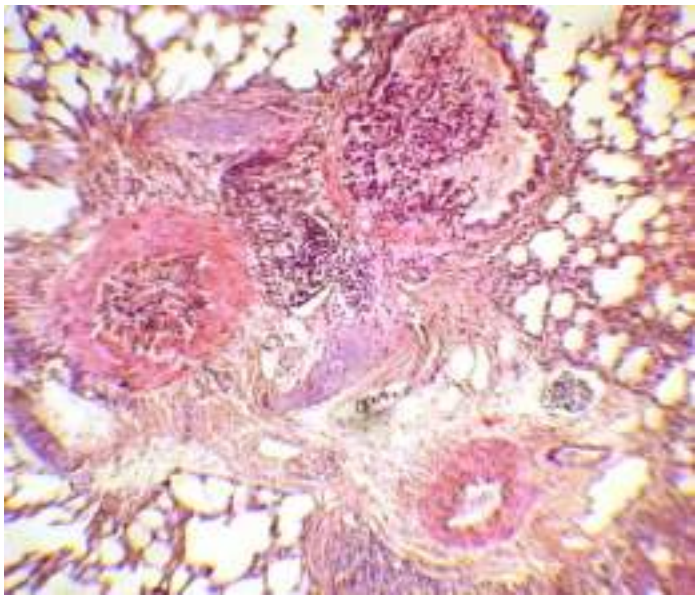

Рисунок 3 - Ткань легкого в области бифуркации. Отсутствует пролиферация макрофагов и лимфоцитов вокруг главного бронха и артерий. Наблюдается отек окружающих эти структуры тканей. (2-я экспериментальная группа). Окр. гематоксилином и эозином. Ув. х100.

В крупных не функционирующих бронхах, оказавшихся в крупных очагах уплотнения, где не осуществляется дыхательная функция легких, происходит пролиферация эпителия. При этом образуются многочисленные складки, заполняющие просвет бронха.

Заключение. Гистологические исследования легких морских свинок, инфицированных M. bovis, и через 14 суток, обработанных препаратом КИМ-М2, выявили ряд патологоанатомических изменений, отличающихся от таковых в легких у животных, зараженных вирулентной культурой, но не получавших КИМ-М2.

В частности, отмечена менее выраженная пролиферация макрофагов в стенках альвеол, в перибронхиальной и периваскулярной ткани. Она ограничивалась различного размера очагами, которые образовывались в результате пролиферации лимфоцитов и макрофагов по ходу ветвящихся артериальных сосудов. Поэтому они имели пре-

имущественно коническую форму с основанием, обращенным к периферии респираторного отдела (к плевре).

Лимфоцитарная пролиферация наблюдалась в большей части респираторного отдела только по ходу кровеносных сосудов. При этом образовывались периваскулярные муфты и лимфатические фолликулы.

Обширных участков уплотнения, в которых в результате пролиферации макрофагов и лимфоцитов просветов альвеол не видно, в области ответвления крупных бронхов не отмечено.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Franco M.M., Paes A.C., Ribeiro M.G. et al. Occurrence of Mycobacteria in bovine milk samples from both individual and collective bulk tanks at farms and informal markets in the southeast region of Sao Paulo, Brazil // BMC Veterinary Research. 2013. Vol. 9. P. 85-92.

2. Parlane N.A., Buddle B.M. Immunity and vaccination against tuberculosis in cattle // Current Clinical Microbiology Reports. 2015. Vol. 2 (1). P. 44-53.

3. Власенко В.С. Оптимизация методов контроля и коррекции иммунного статуса при туберкулезе и лейкозе крупного рогатого скота: автореф. дис. …докт. биол. наук. Казань, 2011. 43 с.

4. Buddle B.M., Parlane N.A., Wedlock D.N., Heiser A. Overview of vaccination trials for control of tuberculosis in cattle, wildlife and humans // Transbound Emerg Dis. 2013. Vol. 60. Suppl. 1. P. 136-146.

5. Lahey T., Von Reyn C.F. Mycobacterium bovis BCG and new vaccines for the prevention of tuberculosis // Microbiology Spectrum. 2016. Vol. 4 (5). TNMI7-0003-2016.

6. Бажин М.А., Власенко В.С., Неворотова Г.П. Получение специфических антиген-полимерных комплексов и оценка их протективных свойств // Вестник Омского ГАУ. 2016. № 4(24). С. 124-133.

7. Власенко В.С. Гичев Ю.М., Дудоладова Т.С., Кособоков Е.А., Кошкин И.Н. Гистопатоморфологические изменения внутренних органов морских свинок при введении противотуберкулезного препарата КИМ-М2 // Вестник КрасГАУ. 2019. № 8 (149). С. 97-102.

8. Кособоков Е.А., Дудоладова Т.С., Аржаков П.В. Влияние Mycobacteria bovis на легкие у морских свинок // Матер. науч.-практ. конф., посвящ. 190-летию опытного дела в Сибири, 100-летию сельскохозяйственной науки в Омском Прииртышье и 85-летию образования Сибирского НИИ сельского хозяйства. 2018. С. 295-299.

9. O'Garra A., Redford P.S., McNab F.W., Blom C.I. et al. The immune response in tuberculosis. Annual Review of Immunology, 2013, 31: 475-527.

10. Pollok J.M., Rodgers J.D., Welsh M.D., McNair J. Pathogenesis of bovine

tuberculosis: the role of experimental models of infection. Veterinary Microbiology, 2006, 112 (2-4): 141-150.

11. Пат. 2478399 РФ. Способ получения специфического иммуномодулятора / Бажин М.А., Новиков А.Н., Власенко В.С., Неворотова Г.П., Петров С.Ю., Шулико Е.М., Назарова В.А.; № 2011124695; заявл. 16.06.11; опубл. 10.04.13, Бюл. № 10.

CHANGES IN THE LUNGS UNDER THE ACTION OF ANTITUBERCULOSIS DRUG KIM-M2 ON THE MODEL OF EXPERIMENTAL TUBERCULOSIS

E.A. Kosobokov

The article presents the results of histological studies of the lungs of guinea pigs infected with M. bovis, and after 14 days, treated with the KIM-M2 preparation, in comparison with changes in the lungs in animals infected with a virulent culture, but not receiving a specific immunomodulator.

Keywords: *tuberculosis, guinea pigs, histological changes, anti-tuberculosis drug.*

УДК 619:611-018:636.97

ВЛИЯНИЕ ТУБЕРКУЛЕЗНОЙ ИНФЕКЦИИ НА ЛИМФОИДНЫЕ ФОЛЛИКУЛЫ СЕЛЕЗЕНКИ

Е.А. Кособоков, Т.С. Дудоладова*, канд. биол. наук*

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Омский аграрный научный центр», г. Омск, РФ

В статье отображена динамика изменений лимфоидных фолликул в селезенке животных, зараженных туберкулезом на ранних сроках развития инфекции. По результатам опыта на модели морской свинки было установлено, что размеры диаметра лимфоидных фолликул превышает норму (контроль) и реактивные центры увеличиваются в зависимости от сроков заражения в прогрессирующей динамике. Развитие туберкулезного процесса вызывает деструктивные изменения в селезенке, что является следствием утраты своих иммунологических функций, тем самым позволяя инфекции распространяться с большей интенсивностью.

Ключевые слова: *туберкулез, селезенка, микобактерии, морские свинки, патологический процесс.*

Анализ изменений во внутренних органах животных, зараженных микобактериями в зависимости от срока заражения, позволяет более детально отследить развитие туберкулезного процесса вызванного искусственным заражением лабораторных животных, а также выявить четкую локализацию изменений в органах и тканях. Морфометрический метод позволяет дифференцировать патологический процесс, возникший на определенных сроках инфицирования животных, характерных для развития тех или иных патологий. Таким образом, исследователю открывается более обширное представление о данном виде инфекции, что несомненно оказывает благотворное влияние на развитие науки и позволяет разрабатывать новые методы диагностики, профилактики и лечения, а также дает возможность усовершенствовать существующие методы и внедрять их в работу научных организаций и животноводческих хозяйств, для более эффективной борьбы с данным видом заболевания [1, 2].

Одним из первых органов, реагирующих на неблагоприятные факторы, воздействующие на организм, является селезенка. Она выполняет функции ретикулоэндотелиального, лимфатического и кроветворного органа, оперативно реагирующего на воздействие патологического агента [3].

В сравнении с другими органами селезенка отличается более выраженной чувствительностью к микобактериям туберкулеза и их токсинам. От момента попадания туберкулезного инфекционного агента в ткани и до возникновения первых симптомов туберкулезного поражения, может пройти короткое время. В ряде случаев наблюдается так называемое молниеносное развитие данного заболевания [4].

Пораженные ткани селезенки при этом не могут выполнять свои функции, а при прогрессировании болезни полностью атрофируются.

Материалы и методы. Работа выполнена в лаборатории диагностических исследований и биотехнологии, отдела ветеринарии (ВНИИБТЖ), ФГБНУ «Омского АНЦ». Исследования проведены на 20 половозрелых морских свинках самцах, содержащихся в условиях специализированного вивария для проведения опытов с микобактериями. Сформированы 2 группы животных. 10-ти морским свинкам подкожно вводили вирулентную культуру Mycobacterium bovis штамм 8 в дозе 0,001 мг/мл. Животным контрольной группы (n=10) вводили стерильный физиологический раствор в дозе 1 мл. Животных выводили из эксперимента на 7- е и 14-е сутки после заражения

путем декапитации (под эфирным наркозом) и подвергали тотальному обескровливанию. Перед инфицированием и убоем животных исследовали ППД-туберкулином для млекопитающих в дозе 25 МЕ в 0,1 мл внутрикожно. Учет реакции осуществляли через 72 часа. По результатам реакции у животных опытных групп имелись специфические уплотнения, а у контрольных животных изменений отмечено не было.

Материалом для морфометрических исследований служила селезенка от экспериментальных морских свинок. Кусочки органа фиксировали в 10% нейтральном растворе формалина на фосфатном буфере. Гистологические препараты готовили методом заливки в парафин с использованием станции пробоподготовки STP-120 и станции заливки EC-350. На микротомах роторного типа готовили срезы толщиной 3-5 мкм, размещали на стандартных по толщине предметных стеклах с последующей окраской по классической методике гематоксилином и эозином. После окраски срезы заключали в синтетическую заливочную среду BioMount и покрывали стандартными по толщине покровными стеклами [5].

Результаты исследования и их обсуждение. По результатам микроскопических и морфометрических исследований на 7 сутки после заражения у животных отмечаются следующие изменения в сравнении с интактными животными. Лимфоидные фолликулы увеличены в 1,4 раза, имеют округлую форму и состоят из плотно прилегающих друг к другу мелких лимфоцитов, среднее значение диаметра лимфоидных фолликулов 206,72±28,229 мкм ($p \leq 0,05$). Мантийный слой приемущественно состоит из малых В-лимфоцитов и макрофагов. Реактивный центр повторяет форму фолликула и окрашен в светлый тон, образован крупными клетками со светлыми ядрами и базофильной цитоплазмой. Увеличен в 1,8 раза. Среднее значение реактивного центра 84,47±17,450 мкм ($p \leq 0,05$) (таблица). Маргинальная зона лежит на границе с красной пульпой. Она образована редко расположенными клетками и многочисленными капилярами. Маргинальная зона всегда является местом иммунного ответа независимо от антигена и способа его проникновения. Кроме того, маргинальная зона служит местом поступления, из центральных органов кроветворения, предшественников Т- и В- лимфоцитов, распределяющихся в соответствующие зоны.

Таблица

Размеры лимфоидных фолликул в селезенке морских свинок инфицированных туберкулезом, M±m

Исследуемые показатели, мкм	Контроль	7 сутки после заражения	14 сутки после заражения
Диаметр лимфоидного фолликула	143,12±13,535	206,72±28,229 p≤0,05	272,57±14,958 p≤0,001
Диаметр герминатив-ного центра	45,96±13,224	84,47±17,450 p≤0,001	181,82±11,606 p≤0,001

При исследовании структуры селезенки на 14 сутки после инфицирования у опытных животных установлены следующие изменения в сравнении с контрольными животными.

Лимфоидные фолликулы увеличены в 1,9 раза, овальной формы. Отдельные фолликулы сливаются друг с другом. Среднее значение размера лимфоидных фолликулов 272,57±14,958 мкм (p≤0,001). Мантийный слой (корона) фолликула четко выражен. Герментативный центр окрашен в светлый тон, увеличен в 3,6 раза и имеет форму лимфотического узелка, с ярко выраженными границами. Среднее значение реактивного центра 181,82±11,606 мкм (p≤0,001) (таблица). В маргинальной зоне лимфоидных фолликулов отмечаются обширные скопления малых В-лимфоцитов и лимфоцитов костно-мозгового происхождения, макрофагов, лимфобластов и ретикулярных клеток.

Заключение. В результате проведенных исследований установлено, что в условиях патологического процесса на ранних сроках заражения в селезенке на 7 сутки наблюдается увеличение лимфоидных узелков и реактивных центров в них, что свидетельствует об активации иммунного ответа на патологический агент.

На 14 сутки развитие туберкулезного процесса прогрессирует в динамике. Диаметр лимфоидных фолликул превышает в 1,3 раза, в сравнении с 7 сутками, а реактивные центры увеличиваются в 2 раза. Такой процесс сигнализирует о трансформации Т-клеток в В-лимфоциты, под воздействием микобактерий. Развитие туберкулезного процесса вызывает деструктивные изменения в селезенке, что является следствием утраты своих кроветворных и иммунологических функций, тем самым позволяя инфекции распространяться с большей интенсивностью.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙСПИСОК

1. Vlasenko V.S., Pleshakova V.I., Gichev Y.M. Influence of anti-tuberculosis drug KIM-M2 on morphology of lymph nodes, spleen, liver and lungs of guinea pigs infected with M. bovis // International scientific and practical conference “Digital agriculture - development strategy” (ISPC 2019). 2019. Vol. 167. P. 183-187.

2. Власенко В.С., Гичев Ю.М., Дудоладова Т.С., Кособоков Е.А., Кошкин И.Н. Гистопатоморфологические изменения внутренних органов морских свинок при введении противотуберкулезного препарата КИМ-М2 // Вестник КрасГАУ. 2019. № 8 (149). С. 97-102.

3. Жункейра Л.К., Карнейро Ж. Гистология. Атлас : учеб. пособие. пер. с англ. под ред. В.Л. Быкова. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. 576 с.

4. Domingo M., Vidal E., Marco A. Pathology of bovine tuberculosis // Res. Vet. Sci. 2014. Vol. 97. P. 20-29.

5. Семченко В.В., Барашкова С.А., Ноздрин В.И., Артемьев В.Н. Гистологическая техника: учебное пособие. Омск-Орел: Омская областная типография, 2006. 290 с.

THE IMPACT OF TUBERCULOSIS INFECTION IN THE LYMPHOID FOLLICLES OF THE SPLEEN

E.A. Kosobokov, T.S. Dudoladova

The article shows the dynamics of changes in lymphoid follicles in the spleen of animals infected with tuberculosis in the early stages of the development of infection. According to the results of the experiment on the guinea pig model, it was found that the size of the diameter of the lymphoid follicles exceeds the norm (control) and the reactive centers increase depending on the timing of infection in progressive dynamics. The development of the tuberculosis process causes destructive changes in the spleen, which is a consequence of the loss of its immunological functions, thereby allowing the infection to spread with greater intensity.

Keyword: *tuberculosis, spleen, mycobacteria, Guinea pigs, pathological process.*

Научное издание

СОВРЕМЕННЫЕ НАУЧНЫЕ ПОДХОДЫ К РЕШЕНИЮ ПРОБЛЕМЫ БРУЦЕЛЛЕЗА

Сборник материалов конференции
(Омск, 11 ноября 2020 года)

Редакционная коллегия:

Л.Н. Гордиенко, *кандидат ветеринарных наук*,
В.С. Власенко, *доктор биологических наук*

Компьютерная верстка В.П. Каштановой

Подписано к печати 27.11.2020. Формат бумаги 60 х 84 1/16.
Печать оперативная. Гарнитура Times New Roman.
Усл. печ. л. 9,06. Тираж 100 экз.
Издательство ИП Макшеевой Е.А.
644034, г. Омск, ул. Долгирева, 126. Тел.: 89083194462