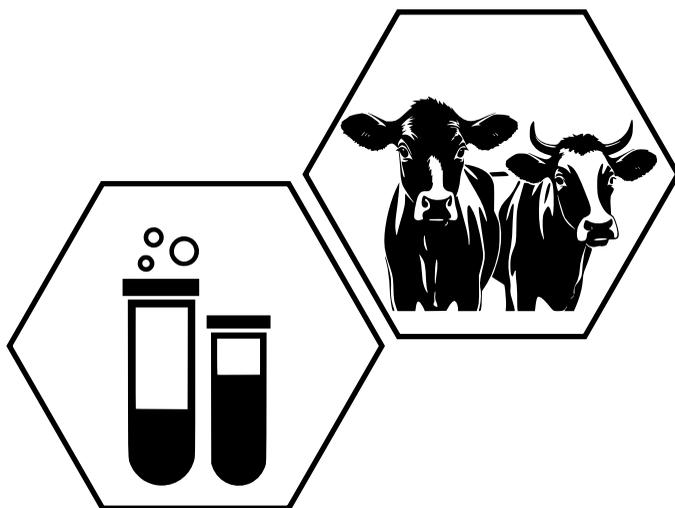


**Министерство науки и высшего образования Российской Федерации  
Федеральное государственное бюджетное научное учреждение  
«Омский аграрный научный центр»**



# **ТЕХНОЛОГИЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ СРЕДСТВ И МЕТОДОВ ДИАГНОСТИКИ БРУЦЕЛЛЕЗА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА**

**Методические рекомендации**



**Омск 2023**

УДК 619: 616.981.42: 636.2

ББК 48.73

Т- 384

*Рецензенты:*

**Аракелян П.К.** – заведующий научно-производственной лабораторией диагностики и профилактики бруцеллеза ГКУ СК «Ставропольская край СББЖ», доктор ветеринарных наук, профессор;

**Плешакова В.И.** – профессор кафедры ветеринарной микробиологии, инфекционных и инвазионных болезней Омского государственного аграрного университета (ФГБОУ ВО Омский ГАУ им. П.А. Столыпина), доктор ветеринарных наук, профессор.

**Т-384 Технология использования средств и методов диагностики бруцеллеза крупного рогатого скота: методические рекомендации /Омский АНЦ; сост.: Л.Н. Гордиенко, Е.В. Куликова, Т.А. Янченко, А.Н. Новиков. – Омск: ФГБНУ «Омский АНЦ», 2023. – 20 с.**

ISBN 978-5-98559-045-6

В материалах рекомендаций дано обоснование применения различных методов диагностики бруцеллеза животных, необходимости и целесообразности использования в общем комплексе дополнительных дифференциальных тестов с учетом эпизоотического статуса животноводческого предприятия (хозяйства) и применяемых средств специфической профилактики.

Рекомендации предназначены для специалистов научных и производственных ветеринарных лабораторий, врачей-эпизоотологов, преподавателей образовательных учреждений.

*Утверждены на заседании Ученого совета  
ФГБНУ «Омский аграрный научный центр»  
(протокол № 3 от 29.08.2023 г.)*

ISBN 978-5-98559-045-6

УДК 619: 616.981.42: 636.2

ББК 48.73

© ФГБНУ «Омский АНЦ», 2023

## ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение .....	4
1. Характеристика методов исследований, используемых для диагностики бруцеллеза .....	5
2. Методы диагностики бруцеллеза не вакцинированного крупного рогатого скота в благополучном предприятии (хозяйстве, ферме, подворье и др.) .....	7
3. Основные методы диагностики бруцеллеза крупного рогатого скота, иммунизированного неагглютиногенными вакцинами ( <i>B. abortus</i> РВ 51, <i>B. abortus</i> 1096 и др.) в благополучном предприятии (хозяйстве, ферме, подворье и др.) .....	10
4. Диагностика и дифференциальная диагностика бруцеллеза крупного рогатого скота, иммунизированного живыми вакцинами из слабоагглютиногенных штаммов <i>B. abortus</i> 82, <i>B. abortus</i> 75/79 в благополучном предприятии (хозяйстве, ферме, подворье и др.) .....	11
5. Проведение диагностических исследований на бруцеллез не вакцинированных животных в неблагополучном предприятии (хозяйстве, ферме, подворье и др.) .....	13
6. Исследование на бруцеллез животных, иммунизированных неагглютиногенными вакцинами ( <i>B. abortus</i> РВ 51, <i>B. abortus</i> 1096 и др.) в неблагополучном предприятии (хозяйстве, ферме, подворье и др.) .....	15
7. Диагностика и дифференциальная диагностика бруцеллеза животных, иммунизированных живыми вакцинами из слабоагглютиногенных штаммов ( <i>B. abortus</i> 82, <i>B. abortus</i> 75/79) в неблагополучном предприятии (хозяйстве, ферме, подворье и др.) ..	16
Заключение .....	18
Литература .....	19

## Введение

Бруцеллёз – хронически протекающее инфекционное заболевание, общее для животных и человека. В настоящее время в таксономию рода бруцелл входят двенадцать видов, из которых три признаны наиболее патогенными для животных и опасными для людей: *melitensis* (овец, коз), *abortus* (крупного рогатого скота), *suis* (свиней, северных оленей).

Применение в животноводстве научно обоснованной системы противобруцеллезных мероприятий позволило оздоровить от данной инфекции большинство регионов страны к концу прошлого столетия и обеспечить стойкое благополучие в течение последующих трёх десятилетий [1,2].

Вместе с этим на эндемичных территориях, в зонах с развитым животноводством (южные и юго-восточные регионы) сохраняются очаги бруцеллеза, которые представляют опасность миграции инфицированных животных и занос возбудителя бруцеллеза на благополучные территории [3].

В случае возникновения свежих очагов бруцеллеза на фоне длительного благополучия, заболевание проявляется с признаками, характерными для эмерджентной инфекции, имеющей характерные отличительные особенности [4].

При проведении противобруцеллезных мероприятий в животноводстве руководствуются нормативными документами [5-8].

Вместе с этим в каждом конкретном животноводческом предприятии и хозяйстве (ЛПХ, КФХ и др.) при составлении планов противоэпизоотических мероприятий, программ по оздоровлению и в процессе их реализации необходимо учитывать многочисленные факторы, влияющие на эпизоотическую ситуацию [9].

Основу комплекса противоэпизоотических мероприятий составляют диагностические исследования, включающие эпизоотологические, клинические и лабораторные методы.

Эпизоотологические исследования проводят с целью мониторинга для охраны территории хозяйства от заноса и распространения бруцеллеза, поддержания ветеринарного благополучия, контроля производства и качества сырья и продовольствия.

Бруцеллез, как хронически протекающая инфекция в большинстве случаев не вызывает выраженного проявления

клинических признаков болезни, за исключением отдельных животных в последние месяцы беременности. Поэтому только появление в стаде абортировавших животных может вызывать подозрение на наличие бруцеллезной инфекции.

Основными методами для контроля благополучия и эпизоотологического мониторинга, а также для выявления инфицированных животных в неблагополучных хозяйствах являются иммунологические методы (серологические и аллергические).

## **1. Характеристика методов исследований, используемых для диагностики бруцеллеза**

Диагноз на бруцеллез ставят на основании результатов комплекса исследований: серологического, аллергического, бактериологического, молекулярно-генетического.

Из многочисленных существующих диагностических тестов для выявления бруцеллеза у животных и контроля за эпизоотическим благополучием обоснованно выбраны и нашли широкое практическое применение ряд методов, позволяющих обнаружить заболевание в различных фазах инфекционного процесса.

При появлении у животных клинических признаков, характерных для бруцеллеза (аборты, артриты и др.) производят отбор биоматериала и исследуют его методами прямого обнаружения возбудителя:

- микроскопия мазков-отпечатков;
- бактериология с использованием элективных питательных сред;
- биопроба на лабораторных животных;
- полимеразная цепная реакция.

Из моносистемных методов в ветеринарной практике применяют реакции, в которых взаимодействуют два компонента антиген и антитело:

- пробирочную реакцию агглютинации (РА);
- кольцевую реакцию с молоком (КР);
- пластинчатую реакцию агглютинации (РА);
- реакцию преципитации в геле (РИД с О-ПС антигеном);
- роз-бенгал пробу (РБП).

Данные тесты просты в исполнении, не требуют дополнительных компонентов и дорогостоящего оборудования. За счёт значительной молекулярной массы иммуноглобулинов IgM, которые

синтезируются в первой фазе инфекционного процесса, образуют реакцию, которая легко оценивается визуально.

В последние десятилетия особое значение в диагностике бруцеллеза приобрела реакция непрямой гемагглютинации (РНГА). Метод основан на взаимодействии антигена со специфическим антителом с участием специально обработанных эритроцитов. За счет увеличения возможностей последних значительно повышается чувствительность и специфичность реакции. Установлено, что по диагностическим качествам РНГА превосходит другие серологические методы [10].

Во второй фазе инфекционного процесса, которая характеризуется генерализацией и выходом возбудителя в кровяное русло, у большинства заразившихся животных отмечают наиболее высокую концентрацию агглютининов преимущественно класса IgM (до 800 МЕ и выше).

В данный период иммунная система животных отвечает синтезом комплементсвязывающих антител IgG<sub>1</sub> и IgG<sub>2</sub>, которые обнаруживают в сыворотки крови.

Иммуноглобулины класса IgG отличаются высокой специфичностью, и их молекулярная масса более чем в 10 раз меньше, чем у IgM. При взаимодействии IgG с антигеном *in vitro* образуется агглютинат, который не представляется возможным оценить визуально из-за его мелких размеров. Для выявления образовавшегося комплекса антиген+антитело (АГ+АТ) при постановке диагностического теста используют вторую систему с заведомо известными компонентами (гемолитическая система АГ<sub>1</sub>+АТ<sub>1</sub>, соединяющиеся в присутствие комплемента), которая является индикатором.

На определенной стадии инфекционного процесса в сыворотке крови больных животных регистрируют одновременно специфические агглютинины и комплементсвязывающие антитела в высоких диагностических титрах.

В более поздней фазе инфекции происходит хронизация процесса, и организм перестает отвечать активным синтезом специфических иммуноглобулинов, улавливаемых в сыворотке крови *in vitro*.

Современный научно обоснованный комплекс диагностических исследований, регламентированный действующими нормативными документами, разработан с учетом особенностей паразито-хозяйинных

отношений при бруцеллезе животных; динамики синтеза и угасания гуморальной реакции в организме; физико-химических свойств специфических иммуноглобулинов; результатов многочисленных экспериментальных испытаний существующих, усовершенствованных и новых методов и средств, а также опыта их применения в производственных условиях и оценки противоэпизоотической эффективности.

При подозрении на заражение бруцеллезом животных (положительные серологические реакции или наличие клинических признаков, характерных для бруцеллеза) проводят исследования, направленные на обнаружение возбудителя или его генетического материала прямыми методами. С этой целью применяют бактериологическое исследование с использованием селективных питательных сред, биопробу на лабораторных животных и полимеразную цепную реакцию.

Каждый из перечисленных методов имеет преимущества перед другими и некоторые недостатки. Выбор метода исследований зависит от поставленных задач, наличия условий его проведения, материальных и технических возможностей учреждения.

## **2. Методы диагностики бруцеллеза не вакцинированного крупного рогатого скота в благополучном предприятии (хозяйстве, ферме, подворье и др.)**

Противобруцеллезные мероприятия в животноводческих предприятиях (хозяйствах) должны выполняться в соответствии со статусом региона, на территории которого находится хозяйство в соответствии с Ветеринарными правилами проведения регионализации территории Российской Федерации, утвержденные приказом № 635 Минсельхоза России от 14 декабря 2015 г.

В хозяйствах, расположенных в регионе со статусом «благополучный регион», плановые серологические исследования крупного рогатого скота проводят:

- всего поголовья, начиная с 2-месячного возраста – 1 раз в год;
- в хозяйствах, поставляющих молоко, все поголовье – 2 раза в год;
- быки-доноры спермы и быки-производители – 2 раза в год;
- совместно содержащееся маточное поголовье крупного рогатого скота мясного направления продуктивности в соответствии с репрезентативной выборкой (таблица 1).

Таблица 1

Репрезентативная выборка совместно содержащегося маточного поголовья крупного рогатого скота мясного направления в хозяйствах, расположенных в регионах, имеющих статус «благополучный регион» по бруцеллезу крупного рогатого скота

Количество животных, голов	Количество тестируемых животных, голов
265 и менее	Каждое животное
266-350	266
351-500	298
501-750	365
751-1500	417
1500-5000	489
5001 и более	493

Лабораторные исследования проводят в соответствии с ГОСТ 34105-2017 «Животные. Лабораторная диагностика бруцеллеза. Серологические методы». ГОСТ 33675-2015 Межгосударственный стандарт «Животные. Лабораторная диагностика бруцеллеза. Бактериологические методы», дата введения. Для проведения исследований используют коммерческие ветеринарные препараты, зарегистрированные в Российской Федерации (таблица 2).

Таблица 2

Методы и оценка результатов серологических исследований на бруцеллез невакцинированного крупного рогатого скота в благополучном предприятии (хозяйстве)

Метод исследования	Диагностическая оценка		Дополнительные методы исследований, подтверждающие сомнительный и положительный результаты
	Сомнительный результат	Положительный результат	
Роз-бенгал проба (РБП)	-	Выявлены антитела	РА и РСК (РДСК), РИД с ОПС-антигеном, ИФА с ОПС-антигеном, РНГА
Реакция агглютинации (РА)	50-100 МЕ	200 МЕ и выше	РСК (РДСК) и (или) ИФА с ОПС-антигеном и (или) РНГА
Реакция связывания	1:5+ и выше	1:10++ и выше	РА, ИФА с ОПС-

комплемента (РСК)			антигеном, РНГА
Реакция длительного связывания комплемента (РДСК)	1:5+	1:5++ и выше	РА, ИФА с ОПС-антигеном
Реакция непрямой гемагглютинации (РНГА)	1:50	1:100 и выше	РА, РСК, ИФА с ОПС-антигеном
Иммуноферментный анализ, разные варианты (ИФА)	-	выявлены антитела	в соответствии с инструкцией по применению диагностического препарата
Кольцевая реакция с молоком (КР)	+	++ или +++	РА и РСК (РДСК), РИД с ОПС-антигеном, ИФА с ОПС-антигеном, РНГА (дополнительное подтверждение требуется как при сомнительном, так и при положительном результате)
Реакция иммунодиффузии с О-полисахаридным антигеном (РИД с О-ПС антигеном)	-	выявлены антитела	одновременно с РА, при сомнительных реакциях РА и РСК (РДСК)
Иммунохроматографический анализ (ИХА)	-	выявлены антитела	в соответствии с инструкцией по применению диагностического препарата

Диагноз на бруцеллез крупного рогатого скота считают установленным в следующих случаях:

- выделен возбудитель при бактериологическом исследовании;
- получен положительный результат биологической пробы;

- получен положительный результат в реакции РА с наличием 200 МЕ и выше, РНГА в титрах 1:100 и выше, РСК (РДСК) – 1:10<sup>++</sup>, выявлении антител в РИД и (или) ИФА с О-ПС антигеном;
- выявлено повышение титров антител в 2 раза при повторном серологическом исследовании через 15-30 суток;
- выявлен генетический материал возбудителя.

### **3. Основные методы диагностики бруцеллеза крупного рогатого скота, иммунизированного неагглютиногенными вакцинами (В. abortus РВ 51, В. abortus 1096 и др.) в благополучном предприятии (хозяйстве, ферме, подворье и др.)**

Одной из основных составляющих научно обоснованной системы противобруцеллезных мероприятий является специфическая профилактика. Решение о проведении иммунизации крупного рогатого скота принимают руководители государственной ветеринарной службы в зависимости от сложившейся эпизоотической ситуации в хозяйстве и на прилегающей территории. Применение вакцин для иммунизации крупного рогатого скота осуществляется в соответствии с Инструкцией.

Противобруцеллезные вакцины вызывают формирование иммунного ответа у крупного рогатого скота в течение первых двух-трех недель после введения продолжительностью не менее 12 месяцев.

Неагглютиногенные противобруцеллезные вакцины представляют однородную популяцию клеток бруцелл в диссоциированной (R-форме), обладающих иммуногенными свойствами. Культура бруцелл вакцинного R-штамма не содержит на клеточной стенке О-боковых полисахаридных детерминантов и в организме животных не вызывает синтез специфических антител, выявляемых в серологических реакциях S-бруцеллезными антигенами.

В связи с этим диагностические исследования крупного рогатого скота, иммунизированного неагглютиногенными противобруцеллезными вакцинами, и оценку результатов серологических реакций проводят как невакцинированного поголовья в благополучном хозяйстве. Молекулярно-генетические исследования биоматериала не проводят. При выделении возбудителя при бактериологическом исследовании проводят идентификацию выделенных культур, исключая вакцинный штамм.

#### **4. Диагностика и дифференциальная диагностика бруцеллеза крупного рогатого скота, иммунизированного живыми вакцинами из слабоагглютиногенных штаммов *B. abortus* 82, *B. abortus* 75/79 в благополучном предприятии (хозяйстве, ферме, подворье и др.)**

Принятие решения о проведении специфической профилактики крупного рогатого скота является прерогативой руководителя государственной ветеринарной службы. Целесообразность и необходимость иммунизации крупного рогатого скота от бруцеллеза определяют в зависимости от эпизоотического состояния по данной инфекции в регионе и на приграничных территориях.

Многолетний опыт борьбы с бруцеллезом животных в нашей стране свидетельствует о высокой противоэпизоотической эффективности специфической профилактики с использованием вакцины из слабоагглютиногенных штаммов (*Brucella abortus* 82, *Brucella abortus* 75/79).

Вакцинные штаммы *Brucella abortus* 82 и *Brucella abortus* 75/79 представляют популяцию бруцелл, состоящую из клеток в S- и R-форме. Закрепленные фенотипические и генетические признаки штамма позволяют ему сохранять в течение нескольких десятилетий стабильность, иммуногенность и другие качества, отвечающие требованиям к вакцинным препаратам.

Основные преимущества вакцин из слабоагглютиногенных штаммов: непродолжительный период серопозитивности (до 6 месяцев), возможность дифференцировать поствакцинальные реакции от инфекционного процесса.

Вместе с этим у отдельных животных, вакцинированных в период стельности, возможны аборт или сохранение специфических иммуноглобулинов в сыворотке крови в течение более продолжительного времени (более 6 месяцев). Эти феномены необходимо учитывать при интерпретации результатов иммунологических исследований, оценке статуса, а также принятии решения о проведении последующих мероприятий.

При принятии решения о проведении в благополучном по бруцеллезу хозяйстве противоэпизоотических мероприятий с использованием слабоагглютиногенной вакцины для специфической профилактики крупного рогатого скота составляют план диагностических исследований и вакцинации. В плане указывают

ежемесячное количество животных, подвергающихся серологическому исследованию и иммунизации исходя из показателей хозяйственной деятельности предприятия: структура стада, передвижение и перегруппировка животных; формирование половозрастных групп; данные об искусственном осеменении, планируемом запуске коров, планируемых отелах.

При расчете учитывают зоотехнические показатели предыдущего периода (года) по выходу телят и сохранности молодняка.

Вакцину применяют в соответствии с инструкцией по ее применению. Плановые серологические исследования на бруцеллез проводятся через 10 месяцев после иммунизации животных, согласно той же инструкции.

В хозяйстве не допускается смешивать вакцинированных и невакцинированных животных.

При наличии сомнительных или положительных реакций у вакцинированных животных проводят дополнительные исследования с R-антигеном (таблица 3).

Таблица 3

Методы и оценка результатов серологических исследований на бруцеллез крупного рогатого скота, вакцинированного слабоагглютиногенными вакцинами в благополучном хозяйстве

Метод исследования	Диагностическая оценка		Дополнительные методы исследований, подтверждающие сомнительный и положительный результаты
	Сомнительный результат	Положительный результат	
Реакция агглютинации (РА)	50-100 МЕ	200 МЕ и выше	РИД с ОПС-антигеном, РСК и (или) РСК с S-и R-антигенами, ИФА с ОПС-антигеном, РНГА
РНГА	не выше 1:200	1:400 и выше	РА, РСК, РИД с ОПС-антигеном, ИФА с ОПС-антигеном

РСК (РДСК)	1:5+ и выше	1:10++ и выше	РА, РИД с ОПС-антигеном, РСК с S-и R-антигенами, ИФА с ОПС-антигеном, РНГА
РИД с О-ПС антигеном	-	выявлены антитела	в соответствии с инструкцией по применению диагностического препарата

Диагноз на бруцеллез крупного рогатого скота считают установленным в следующих случаях:

- выделен возбудитель при бактериологическом исследовании, не относящийся к вакцинным штаммам;
- получен положительный результат биологической пробы, если со дня вакцинации прошло не менее 24 месяцев;
- получен положительный результат в РА с наличием 200 МЕ и выше, РНГА в титрах 1:400 и выше, РСК (РДСК) с S- и R-антигенами – 1:10++, выявлении антител в РИД и (или) ИФА с О-ПС антигеном;
- выявлено повышение титров антител в 2 раза при повторном серологическом исследовании через 15-30 суток.

#### **5. Проведение диагностических исследований на бруцеллез не вакцинированных животных в неблагополучном предприятии (хозяйстве, ферме, подворье и др.)**

В хозяйствах, расположенных в регионе со статусом «неблагополучный регион» по бруцеллезу крупного рогатого скота, в которых ограничительные мероприятия не введены, плановые серологические исследования маточного поголовья крупного рогатого скота должны проводиться 2 раза в год, в том числе крупного рогатого скота на откорме, а также за 30 календарных дней до направления на убой (таблица 4).

Таблица 4

Методы и оценка результатов серологических исследований на бруцеллез крупного рогатого скота в неблагополучном хозяйстве

Метод исследования	Диагностическая оценка		Дополнительные методы исследований, подтверждающие сомнительный и положительный результаты
	Сомнительный результат	Положительный результат	
Роз-бенгал проба (РБП)	-	Выявлены антитела	РА и РСК (РДСК), РИД с ОПС-антигеном, ИФА с ОПС-антигеном, РНГА
Реакция агглютинации (РА)	50 МЕ	100 МЕ и выше	РСК (РДСК) и (или) ИФА с ОПС-антигеном и (или) РНГА
Реакция связывания комплемента (РСК)	1:5+ и выше	1:10++ и выше	РА, ИФА с ОПС-антигеном, РНГА
Реакция длительного связывания комплемента (РДСК)	1:5+	1:5++ и выше	РА, ИФА с ОПС-антигеном
Реакция непрямой гемагглютинации (РНГА)	1:50	1:100 и выше	РА, РСК, ИФА с ОПС-антигеном
Иммуноферментный анализ, разные варианты (ИФА)	-	выявлены антитела	в соответствии с инструкцией по применению диагностического препарата
Кольцевая реакция с молоком (КР)	+	++ или +++	РА и РСК (РДСК), РИД с ОПС-антигеном, ИФА с ОПС-антигеном, РНГА (дополнительное подтверждение требуется как при сомнительном, так и при положительном результате)
Реакция иммунодиффузии с О-полисахаридным антигеном (РИД с О-ПС антигеном)	-	выявлены антитела	одновременно с РА, при сомнительных реакциях РА и РСК (РДСК)
Иммунохроматографический анализ (ИХА)	-	выявлены антитела	в соответствии с инструкцией по применению диагностического препарата

Диагноз на бруцеллез крупного рогатого скота считают установленным в следующих случаях:

- выделен возбудитель при бактериологическом исследовании;
- получен положительном результате биологической пробы;
- получен положительный результат в реакции РА с наличием 100 МЕ и выше, РНГА в титрах 1:100 и выше, РСК – 1:10++, РДСК - 1:5++ и выше, выявлены антитела в РИД и (или) ИФА с ОПС антигеном;
- выявлено повышение титров антител в 2 раза при повторном серологическом исследовании через 15-30 суток;
- выявлен генетический материал возбудителя.

**6. Исследование на бруцеллез животных, иммунизированных неагглютиногенными вакцинами (В. abortus РВ 51, В. abortus 1096 и др.) в неблагополучном предприятии (хозяйстве, ферме, подворье и др.)**

В неблагополучных хозяйствах плановые серологические исследования основного поголовья должны проводиться 2 раза в год, в том числе животных на откорме – за 30 календарных дней до направления на убой.

Первое серологическое исследование проводят через 3-4 недели после введения вакцины в любых реакциях с S-бруцеллезными антигенами, в последующем в РА и РСК или РА и РИД с ОПС-антигеном, или РНГА, или в других реакциях (таблица 5).

*Таблица 5*

Методы и оценка результатов серологических исследований на бруцеллез крупного рогатого скота, вакцинированного неагглютиногенными вакцинами в неблагополучном хозяйстве

Метод исследования	Диагностическая оценка		Дополнительные методы исследований, подтверждающие сомнительный и положительный результаты
	Сомнительный результат	Положительный результат	
Реакция агглютинации (РА)	50 МЕ	100 МЕ и выше	РСК (РДСК) и (или) ИФА с ОПС-антигеном и (или) РНГА
РСК	1:5+ и выше	1:10++ и выше	РА, ИФА с ОПС-антигеном, РНГА.

РДСК	1:5+	1:5++ и выше	РА, ИФА с ОПС-антигеном
РНГА	1:50	1:100 и выше	РА, РСК, ИФА с ОПС-антигеном
ИФА	-	выявлены антитела	в соответствии с инструкцией по применению диагностического препарата
КР	+	++ или +++	РА и РСК (РДСК), РИД с ОПС-антигеном, ИФА с ОПС-антигеном, РНГА (дополнительное подтверждение требуется как при сомнительном, так и при положительном результате)
РИД с О-ПС антигеном	-	выявлены антитела	одновременно с РА, при сомнительных реакциях РА и РСК (РДСК)
ИХА	-	выявлены антитела	в соответствии с инструкцией по применению диагностического препарата

Диагноз на бруцеллез крупного рогатого скота считают установленным в следующих случаях:

- выделен возбудитель при бактериологическом исследовании, не относящийся к вакцинным штаммам;

- получен положительный результат биологической пробы, если со дня вакцинации прошло не менее 24 месяцев;

- получен положительный результат в РА с наличием 100 МЕ и выше, РНГА в титрах 1:100 и выше, РСК – 1:10++, РДСК - 1:5++ и выше, выявлены антитела в РИД и (или) ИФА с О-ПС антигеном;

- выявлено повышение титров антител в 2 раза при повторном серологическом исследовании через 15-30 суток.

**7. Диагностика и дифференциальная диагностика бруцеллеза животных, иммунизированных живыми вакцинами из слабоагглютиногенных штаммов (*B. abortus* 82, *B. abortus* 75/79) в неблагополучном предприятии (хозяйстве, ферме, подворье и др.)**

Телок, иммунизированных в 4-6 месяцев, исследуют серологически через 10 месяцев после иммунизации. Телок, не иммунизированных в 4-6 месячном возрасте, исследуют

серологически за 2-3 месяца до осеменения. Животных, не реагирующих на бруцеллез – вакцинируют.

Серологические исследования основного маточного поголовья (коровы, первотелки) на бруцеллез проводят 2 раза в год за 2-3 месяца до осеменения или через 1-2 месяца после отела. В РИД исследуют не ранее чем через 1,5 месяца после введения вакцины, далее ежемесячно.

Животных, реагирующих только в РА с содержанием не выше 200 МЕ антител и РСК в разведении сыворотки крови не выше 1:10, повторно исследуют через 15-30 суток в РА, РСК и РИД.

При повышении содержания антител в исследуемых сыворотках в РА и (или) РСК или положительной РИД заболевание считают установленным.

Животным, вакцинированным против бруцеллеза, поступившим в хозяйство, проводят плановые серологические исследования в период карантинирования, как основное поголовье, если исследование соответствует срокам, установленным инструкцией по применению вакцины против бруцеллеза в РА и РСК или РА и РИД с ОПС-антигеном, или РНГА, или в других реакциях (таблица 6).

*Таблица 6*

Методы и оценка результатов серологических исследований на бруцеллез крупного рогатого скота, иммунизированных живыми вакцинами из слабоагглютиногенных штаммов (*B. abortus* 82, *B. abortus* 75/79) в неблагополучном хозяйстве

Метод исследования	Диагностическая оценка		Дополнительные методы исследований, подтверждающие сомнительный и положительный результаты
	Сомнительный результат	Положительный результат	
Реакция агглютинации (РА)	50 МЕ	100 МЕ и выше	РИД с ОПС-антигеном, РСК с S и R антигенами, ИФА с ОПС-антигеном, РНГА.
РНГА	не выше 1:100	1:200 и выше	РА и РСК, РИД с ОПС-антигеном и (или) ИФА с ОПС-антигеном

РСК (РДСК)	1:5+ и выше	1:5 и выше	РА и РИД с ОПС-антигеном, РСК с S и R антигенами, ИФА с ОПС-антигеном, РНГА.
РИД с О-ПС антигеном	-	выявлены антитела	в соответствии с инструкцией по применению диагностического препарата

Диагноз на бруцеллез крупного рогатого скота считают установленным в следующих случаях:

- выделен возбудитель при бактериологическом исследовании, не относящийся к вакцинным штаммам;
- получен положительный результат биологической пробы, если со дня вакцинации прошло не менее 24 месяцев;
- получен положительный результат в РА с наличием 100 МЕ и выше, РНГА в титрах 1:200 и выше, РСК (РДСК) с S- и R-антигенами – 1:5++и выше, выявлены антитела в РИД и (или) ИФА с О-ПС антигеном;
- выявлено повышение титров антител в 2 раза при повторном серологическом исследовании через 15-30 суток.

### **Заключение**

В результате многолетней работы на животноводческих предприятиях различных форм собственности специалистами научных учреждений и ветеринарной практики накоплен материал и дана оценка эффективности комплекса противобруцеллезных мероприятий, проводимых в различных административно-хозяйственных и географических зонах.

Полученные результаты обобщены и явились обоснованием перспективных планов, программ по профилактике и оздоровлению крупного рогатого скота от бруцеллеза и использованы при разработке нормативных документов.

Применение определенного набора методов при диагностике бруцеллеза зависит от ряда факторов, которые необходимо учитывать:

- направление хозяйственной деятельности предприятия;
- эпизоотическая ситуация по бруцеллезу крупного рогатого скота в регионе, субъекте и на приграничной территории;
- эпизоотический статус животноводческого предприятия;
- метод оздоровления;

- регламент проведения специфической профилактики против бруцеллеза;

- вид применяемой в хозяйстве (ферме) противобруцеллезной вакцины и сроки ее введения.

В данной работе систематизированы и представлены методы и оценка результатов иммунологических исследований крупного рогатого скота на бруцеллез для хозяйств с различным эпизоотическим статусом.

Использование в общем комплексе диагностических исследований дифференциального теста с R-антигеном позволит определить этиологию серопозитивности у животных, иммунизированных слабоагглютиногенными вакцинами и предотвратить ущерб от необоснованного убоя.

### Литература

1. Бруцеллёз. Современное состояние проблемы/под ред. Г.Г. Онищенко, А.Н. Куличенко. – Ставрополь: ООО«Губерния», 2019. – 336 с.
2. Профилактические, диагностические, ограничительные и иные мероприятия, установление и отмена карантина и иных ограничений, направленных на предотвращение распространения и ликвидацию очагов бруцеллёза: методические рекомендации / сост. М.И. Гулюкин, М.И. Искандаров, А.М. Гулюкин, А.И. Федоров, С.С. Искандарова, Ю.Г. Исаев, О.Д. Скляр, Е.С. Слепцов, Н.В. Винокуров, О.И. Захарова, Н.А. Донченко, Л.Н. Гордиенко, Е.В. Куликова, П.К. Аракелян - М., 2020. – 36 с.
3. Пономаренко, О.Н. Скударева, А.А.Хачатурова, Д.Е.Лукашевич, И.В. Жаринова, А.В. Даурова, А.Н. Германова, О.В. Логвиненко, Е.Л. Ракитина, М.В. Костюченко, Е.А. Манин, О.В. Малецкая, А.Н. Куличенко// Бруцеллез: тенденции развития ситуации в мире и прогноз на 2022 г. в Российской Федерации. Проблемы особо опасных инфекций.- 2022. – С. 36-45.
4. Проявление эпизоотического процесса при возвращающейся инфекции на модели бруцеллеза/ Л.Н. Гордиенко, Е.В. Куликова, А.Н. Новиков //Инновационные решения актуальных вопросов биобезопасности: сборник материалов Международной научно-практической конференции. - 2022.- С. 170-173.

5. Приказ № 533 Об утверждении Ветеринарных правил 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) от 08 сентября 2020 г. утв. Минсельхоз России г. Москва.
6. ГОСТ 33675-2015 Межгосударственный стандарт «Животные. Лабораторная диагностика бруцеллеза. Бактериологические методы», дата введения 01.01.2017
7. ГОСТ 34105-2017 Межгосударственный стандарт «Животные. Лабораторная диагностика бруцеллеза. Серологические методы», дата введения 01.07.2018
8. Наставление по диагностике бруцеллеза № 13-5-02/0650, утв. 29.09.2003
9. Совершенствование системы специфической профилактики бруцеллеза крупного рогатого скота с применением вакцины из штамма *B. abortus* 82 и препарата из штамма *B. abortus* R-1096 / К.М. Салмаков, М.А. Косарев// Ветеринария. - 2023. - № 8. - С. 9-13.
10. Диагностическое значение РНГА при бруцеллезе крупного рогатого скота и овец / О.Ю. Юсупов, С.Г. Хаиров, С.Ш. Кабардиев, О.Д. Скляр, А.И. Климанов, В.Г. Ощепков, Л.В. Дегтяренко, Д.А. Девришов// Проблемы ветеринарной медицины в условиях реформирования сельскохозяйственного производства. - Махачкала, 2012.- С. 53-67.