

ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ЦЕННОСТЬ ЭКСПРЕСС-ТЕСТОВ С МОЛОКОМ ПРИ БРУЦЕЛЛЕЗЕ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА**Дегтяренко Л.В.***ГНУ Всероссийский научно-исследовательский институт бруцеллеза и туберкулеза животных
Российской академии сельскохозяйственных наук, г. Омск, Российская Федерация***Каликин И.Н.***ГУ ОО «Омская областная ветеринарная лаборатория», г. Омск, Российская Федерация*

Бруцеллез крупного рогатого скота до настоящего времени представляет эпизоотологическую и эпидемиологическую опасность, наносит значительный экономический ущерб животноводству во многих странах мира.

В последние годы в РФ наметилась тенденция к ухудшению эпизоотической обстановки по бруцеллезу крупного рогатого скота. По данным ФГУ «Центр ветеринарии» за 11 месяцев 2012 года выявлено 352 новых неблагополучных пунктов по бруцеллезу крупного рогатого скота, на 01.12.2012 г. числилось 276 неблагополучных пунктов.

Серологическую диагностику бруцеллеза сельскохозяйственных животных в России осуществляют с помощью РА, РСК, РДСК, РБП, РИД, КР с молоком. Вместе с тем, даже комплексное применение этих тестов не обеспечивает полного выявления источников инфекции – больных животных, что обусловлено латентным течением заболевания [1, 2, 3, 4].

Для осуществления эпизоотического контроля за благополучием по бруцеллезу крупного рогатого скота необходимы диагностические средства и методы, предпочтительно экспрессные, обеспечивающие своевременную и объективную постановку диагноза у не привитых животных, а также позволяющие на фоне применения противобруцеллезных вакцин проводить достоверную дифференциацию больных бруцеллезом животных от здоровых, реагирующих на вакцину.

Изыскание эффективных экспресс-методов выявления бруцеллезных антител в молоке крупного рогатого скота, как наиболее доступном биоматериале при проведении исследований, имеет большое практическое значение в целях упрощения диагностики.

Во ВНИИБТЖ и ИЭВСИДВ была разработана кольцевая реакция (КР) с молоком для обследования крупного рогатого скота, привитого вакциной из штамма 82, доказана ее диагностическая и противозооотическая эффективность, но до сих пор официально реакцию не применяют в ветеринарных лабораториях [5].

В 2006 году был внедрен в ветеринарную практику для определения бруцеллезных антител в сыворотке крови не привитого, а также иммунизированного вакцинами из штаммов *B. abortus* 82, 75/79АВ крупного рогатого скота бруцеллезный эритроцитарный диагностикум для РНГА, разработанный нами совместно с ДагЗНИВИ и ВГНКИ [6].

Цель работы. Изучение диагностической ценности РНГА с молоком при использовании нового эритроцитарного бруцеллезного антигена и реакции агглютинации пластинчатой с цветным антигеном (РАП), разработанной во ВНИИБТЖ.

В задачи исследований входило: изучение специфичности РНГА, РАП с молоком и определение диагностической эффективности тестов при исследовании молока коров из хозяйств с различной эпизоотической обстановкой по бруцеллезу.

Материалы и методы исследований. Постановку РНГА с молоком и РАП осуществляли по разработанным нами методикам. При изучении специфичности РНГА с молоком и РАП в сравнительном аспекте с КР определяли влияние на показание реакций маститов у коров, в том числе обусловленных глубокой стельностью. С этой целью в двух благополучных по бруцеллезу хозяйствах обследовали 518 не привитых противобруцеллезными вакцинами коров, из которых 437 находились в состоянии лактации, 69 были глубокоствельными.

Диагностику мастита у животных проводили при постановке пробы с мастидином в соответствии с наставлением по его применению.

Специфичность РНГА с молоком и РАП изучали при исследовании молока от 1600 голов не привитого противобруцеллезными вакцинами крупного рогатого скота из шести благополучных по бруцеллезу хозяйств Омской области.

Изучение специфичности испытуемых тестов и определение диагностического титра РНГА с молоком осуществляли при обследовании 2046-и коров, привитых вакциной из штамма *B. abortus* 82, в сроки от 1 до 15-и месяцев после иммунизации из семи благополучных по бруцеллезу хозяйств Омской области.

Чувствительность РНГА, РАП в сравнительном аспекте с КР определяли при исследовании 4378 проб молока от коров, привитых вакциной из штамма *B. abortus* 82, из пяти неблагополучных по бруцеллезу хозяйств Омской области. При этом большими бруцеллезом по показаниям КР считали коров, имевших позитивные результаты в разведении молока 1:4 и выше.

Выяснение эпизоотической опасности животных с положительными результатами в РНГА с молоком и РАП проводили при исследовании сыворотки крови и молока в разных серологических реакциях от пяти не привитых противобруцеллезными вакцинами коров из неблагополучного по бруцеллезу пункта с постановкой биопробы на 15-ти морских свинках. Кроме того, исследовали молоко коров методом ПЦР.

Результаты исследований и их обсуждение. При изучении возможности использования РНГА с молоком и РАП у лактирующих коров с заболеваниями молочных желез маститом у 196-ти (44,9 %) особей диагностировали мастит в клинической и субклинических формах. Положительные показания КР с цельным молоком установлены у 5,0 % коров с наличием маститов, тогда как при использовании РНГА с молоком и РАП результаты были отрицательными.

Изменения физико-химических свойств молока коров в состоянии глубокой стельности влияли на показания РАП – 18,2 % реагирующих, в КР имели позитивные показатели 27,3 % животных. РНГА с молоком была более специфичной, положительные результаты получены только в 1,4 % случаев.

В результате исследования молока от 1600 не привитых противобруцеллезными вакцинами коров получили отрицательные показатели в РНГА, РАП с молоком, что указывает на специфичность тестов.

При исследовании молока от 2046 коров из благополучных по бруцеллезу хозяйств, привитых вакциной из штамма *B. abortus* 82, в ранние (1–2 мес.) и отдаленные (15 мес.) сроки после иммунизации результаты КР с молоком в титре 1:4, РНГА в разведении молока 1:100 и РАП были отрицательными. Лишь в 0,2 % случаев в молоке коров регистрировали гемагглютинины в титре 1:50.

При исследовании 4378 проб молока от животных, привитых вакциной из штамма *B. abortus* 82, из неблагополучных по бруцел-

лезу гуртов комплексом КР+РНГА+РАП виявлено 121 реагуючих особей, в т. ч. в КР с молоком позитивные результаты имели 96 коров (79,3 %), в РНГА с молоком 116 (95,9 %), в РАП – 84 (69,4 %). При этом процент совпадения позитивных показателей КР с молоком и РНГА составлял 96,4 %, с РАП – 89,3 %.

Несмотря на более низкую чувствительность РАП в сравнении с КР и РНГА с молоком необходимо подчеркнуть, что во всех неблагополучных по бруцеллезу хозяйствах с помощью этого теста были выявлены больные бруцеллезом животные, что подтверждено результатами исследования сыворотки крови от них в РА, РСК, РНГА и РИД.

При изучении эпизоотической опасности животных, реагировавших с испытуемыми антигенами в РНГА и РАП с молоком, установлено, что позитивные результаты в РА и РСК имели 100,0 % животных, в РНГА гемагглютинины в сыворотке крови обнаружены у 80,0 % голов. Из числа коров с положительными результатами молока в РНГА и РАП в 75,0 % случаев отмечали высокие титры гемагглютининов (1:800) и обнаруживали преципитины в РИД при исследовании сыворотки крови (табл.).

Таблица – Иммунологические реакции у коров из неблагополучных по бруцеллезу гуртов

| Порядковый номер коров | Результаты исследования | | | | | | | | Выделена культура |
|------------------------|-------------------------|------|-------|-----|--------|-------|-----|-----|-------------------|
| | сыворотки крови | | | | молока | | | | |
| | РА (МЕ) | РСК | РНГА | РИД | КР | РНГА | РАП | ПЦР | |
| 1 | – | 1:20 | 1:800 | + | 1:2 | 1:100 | + | + | – |
| 2 | 50 | 1:10 | 1:800 | + | – | 1:50 | + | + | – |
| 3 | – | 1:10 | 1:100 | – | – | – | – | + | н/и |
| 4 | 100 | 1:80 | 1:800 | + | 1:8 | 1:800 | + | + | + |
| 5 | – | 1:10 | – | – | – | 1:50 | + | + | н/и |

Положительный результат биопробы на морских свинках получен у коровы № 4, от нее выделили культуру, которая идентифицирована как эпизоотический штамм бруцелл. При этом животное имело положительный результат РНГА с молоком (титр 1:800), РАП и в КР определяли агглютинины в титре 1:8.

При исследовании методом ПЦР генетический материал микроорганизмов рода *Brucella* был обнаружен в образцах молока от всех коров, что подтверждает достоверность результатов РНГА с молоком, РАП и доказывает эпизоотическую опасность животных, реагировавших в испытуемых тестах.

Выводы. РНГА с молоком при использовании нового эритроцитарного бруцеллезного диагностикума и РАП обладают специфичностью, на их показания не влияют заболевания лактирующих коров маститами, и достаточной чувствительностью. Разработанные экспресс-тесты целесообразно применять в качестве рекогносцировочных при контроле эпизоотической обстановки по бруцеллезу на не привитых противобруцеллезными вакцинами животными, а также иммунизированных слабоагглютиногенными вакцинами в благополучных по бруцеллезу хозяйствах и при оздоровлении неблагополучных стад через 1 месяц и в последующие сроки после вакцинации с целью выявления коров с локализацией возбудителя бруцеллеза в молочной железе.

Список литературы

1. Скляр, О.Д. Разработка и совершенствование средств и методов диагностики бруцеллеза и компиобактериоза животных [Текст] : автореф. дис ... д-ра вет. наук / О.Д. Скляр. – М., 2006. – 48 с.
2. Толерантность в иммунной защите животных [Текст] / А.А. Новицкий [и др.]. – Петрозавловск, 2007. – 257 с.
3. Жанбырбаев, М. Сравнительное изучение методов диагностики бруцеллеза животных [Текст] / М. Жанбырбаев // Материалы междунар. конф., посвящ. 80-летию Самарской НИВС Россельхозакад. – Самара, 2009. – С. 155–158.
4. Перспективность диагностических тестов при проведении противобруцеллезных мероприятий [Текст] / В.Б. Тен [и др.] // Теорет. и практ. аспекты развития соврем. вет. науки : сб. науч. тр. – Алматы, 2012. – Т. LVIII. – С. 267–273.
5. Концептуальная схема иммунизации диагностики болезней, вызываемых у животных бруцеллами, и результаты ее практической реализации [Текст] / Л.В. Дегтяренко [и др.] // Сибирский вестн. с.-х. науки. – 2005. – № 1. – С. 84–90.
6. Инструкция по применению набора для серологической диагностики бруцеллеза крупного и мелкого рогатого скота в реакции непрямой гемагглютинации (РНГА) [Текст]. – М., 2006. – 11 с.

THE DIAGNOSTIC VALUE OF RAPID TESTS FOR BRUCELLOSIS AND MILK CATTLE

Degtyarenko L.V.

*All-Russian Scientific Research institute of animal brucellosis and tuberculosis
of the Russian Academy of Agricultural Sciences, Omsk, Russia*

Kalikin I.N.

State Institution «Omsk Regional Veterinary Laboratory», Omsk, Russia

The studies were conducted to investigate the diagnostic value of the indirect hemagglutination (IHA) and reaction of agglutination plate (RAP) with milk in the study of 8547 samples of milk from cows from farms with different epizootic situation on brucellosis.

There was identified that IHA with milk and RAP are specific reactions, achieve negative results in a study of 196 cows with diseases of mammary gland mastitis in clinical and subclinical forms. There are established the advisability of use IHA, RAP with milk under the control of epizootic situation on brucellosis and rehabilitation of disadvantaged households in 1 month and next time after immunization of cattle vaccine strain B. abortus 82 in a study of 2046 cows from advantaged farms and 4378 animals from disadvantaged farms on brucellosis.

In the advantaged farms at the unimmunized cows and cows vaccinated from strain B. abortus 82 there are yielded negative results IHA and RAP with milk, in disadvantaged on brucellosis herds there was higher diagnostic sensitivity IHA with milk – 95,9 % reacting animals of the total number animals with positive results test with milk, in the Ring test and RAP with milk respectively 79,3 % and 69,4 %.

The reliability of the IHA and the RAP with milk cows in the study of disadvantaged households with brucellosis confirmed through serological complex RA+ RCF+IHA+RID, bacteriological and PCR techniques.