

УДК 619:616–07:616.981.42+636.294:615.371

ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ ДИАГНОСТИКА БРУЦЕЛЛЕЗА СЕВЕРНЫХ ОЛЕНЕЙ, ИММУНИЗИРОВАННЫХ ЖИВОЙ ВАКЦИНОЙ

Л. Н. Гордиенко, кандидат ветеринарных наук

А. Н. Новиков, кандидат ветеринарных наук

Е. В. Куликова, научный сотрудник

Г. М. Гайдуцкая, младший научный сотрудник

Н. Б. Еланцева, младший научный сотрудник

Омский аграрный научный центр, отдел ветеринарии

(Всероссийский научно-исследовательский институт бруцеллеза и туберкулеза животных)

E-mail: lab.ecology.vniibtg@mail.ru

Ключевые слова: северные олени, бруцеллез, иммунизация, диагностика, дифференциальные реакции.

Реферат. Северное оленеводство является основной отраслью агропромышленного комплекса северных регионов Российской Федерации. Важным фактором, сдерживающим рентабельность отрасли, являются инфекционные болезни. Ведущее место в инфекционной патологии занимает бруцеллез. Сохранение природных очагов бруцеллеза на обширной территории Крайнего Севера представляет опасность заноса возбудителя инфекции в благополучные стада и распространение ее среди восприимчивого поголовья. Это вызывает необходимость и целесообразность иммунной защиты от бруцеллеза домашних северных оленей. Для иммунизации северных оленей официально принята живая вакцина из слабоагглютиногенного штамма *B. abortus* 82. Специфика отрасли северного оленеводства не всегда позволяет проводить ветеринарные мероприятия системно и массово. Часто при проведении диагностических мероприятий в числе обследованных животных оказываются вакцинированные олени. При получении положительных результатов исследований их оценивают как больных бруцеллезом. С целью объективной оценки эпизоотической ситуации по бруцеллезу в стадах, предотвращения ущерба от необоснованной выбраковки животных и повышения контроля качества получаемой продукции проводили дифференциальную диагностику на бруцеллез проб сывороток крови от обследованного поголовья. Изучена возможность использования в комплексе диагностических исследований дополнительных тестов, которые позволяют дифференцировать поствакцинальные реакции от инфекционного процесса животных. Установлено, что в стадах северных оленей, находящихся на неблагополучной по бруцеллезу территории, выявлено от 10 до 31 % положительно реагирующих животных. Использование R-бруцеллезного антигена в серологических реакциях позволило установить, что у большей части (61,8 %) реагирующих животных положительные реакции связаны с поствакцинальным процессом.

DIFFERENTIAL DIAGNOSTICS OF BRUCELLOSIS IN REINDEER IMMUNIZED WITH LIVE VACCINE

¹**L.N. Gordienko**, candidate of veterinary sciences

²**A.N. Novikov**, candidate of veterinary sciences

³**E.V. Kulikova**, researcher

⁴**G.M. Gaidutskaya**, junior researcher

⁵**N.B. Elantseva**, junior researcher

Omsk Agrarian Research Center, Department of Veterinary

(All-Russian Research Institute of Animal Brucellosis and Tuberculosis)

Key words: reindeer, brucellosis, immunization, diagnostics, differential reactions.

*Abstract. Northern reindeer breeding is the main branch of agro-industrial complex in the northern regions of the Russian Federation. Infectious diseases are an important factor, that decreases the profitability of this branch. Brucellosis is the most often occurring disease in the infectious pathology there. The focal areas of brucellosis that persist over the vast territory of the Russian High North constitute a danger of carrying the infection into satisfactory herds and its subsequent spread among susceptible animals. This makes immune protection of reindeer against brucellosis necessary and reasonable. The live vaccine based on weakly agglutinogenic strain *B.abortus* 82 is officially adopted as a means for reindeer immunization. The specificity of the northern reindeer breeding does not always allow to organize veterinary measures systematically and on a mass scale. It often happens that vaccinated reindeer are included in diagnostics, produce positive diagnostic responses and are considered to be infected with brucellosis. In order to objectively evaluate epizootic situation in terms of brucellosis in herds, to prevent losses from unreasonable reindeer disposal and to increase the production quality control a differential diagnostics of blood serum samples for brucellosis of the examined livestock was conducted. The possibility of including in the complex of diagnostic test some additional tests, which allow to differentiate vaccinal responses from infection processes in animals was studied. It was revealed that from 10 to 31 percent of animals having positive responses were found in the reindeer herds situated on the brucellosis unsatisfactory territory. The use of *R* brucellosis antigen in serological tests allowed to discover that the majority (61.8%) of positive responses in animals are connected with postvaccinal process.*

Северное оленеводство является основной экономически развитой и этнообразующей отраслью регионов Крайнего Севера [1]. В современных условиях оленеводство выполняет важные функции в жизнеобеспечении коренных малочисленных народов Севера и населения северных регионов [2]. Задача специалистов, занятых в оленеводстве, заключается в том, чтобы не только способствовать динамичному росту поголовья и повышению экономики отрасли, но, прежде всего, обеспечить качество и безопасность получаемой продукции [3]. Одним из факторов, сдерживающих рентабельность отрасли, являются инфекционные болезни [4]. Ведущее место в инфекционной патологии северных оленей занимает бруцеллез [5].

На территории Крайнего Севера РФ основными факторами, играющими важную роль в поддержании природных очагов бруцеллеза, являются дикая популяция оленей с источником инфекций среди многотысячного поголовья и резервуар возбудителя среди диких плотоядных и оленегонных собак [6]. Тесная связь домашних оленей с представителями дикой фауны через такой фактор передачи, как контаминация, при использовании одних и тех же пастбищ, водоемов и при непосредственном контакте с дикими оленями во время «гаремных» случек представляет высокую степень риска заноса возбудителя бруцеллеза в благополучные стада и перезаражения восприимчивых животных [7].

С целью сохранения эпизоотического благополучия в стадах домашних северных оленей и создания у них иммунной защиты к бруцеллезу разработаны и предложены способы специфической профилактики с использованием противобруцеллезных вакцин. В течение последних десятилетий (1980–2018 гг.) учеными и ветеринарными специалистами проведены многочисленные производственные опыты по оценке эффективности различных вакцинных препаратов на северных оленях [8–10].

Для изготовления большей части испытанных вакцин используют культуры штаммов *Brucella abortus*, которые не являются видоспецифичными для оленей. В связи с этим возникают вопросы, связанные с правомерностью их применения в оленеводстве. В настоящее время для специфической профилактики северных оленей от бруцеллеза официально принята сухая живая вакцина из слабоагглютиногенного штамма *B. abortus* 82 [11]. Основанием для производственного применения этой вакцины в оленеводстве явились ее положительные качества: высокая иммуногенность, возможность предотвращения реактогенных свойств в связи с технологией ведения отрасли и физиологических особенностей оленей, короткий срок сохранения серопозитивности, отличительные антигенные признаки.

В оленеводческих хозяйствах Ямало-Ненецкого автономного округа для иммунизации северных оленей от бруцеллеза также применяют сухую живую противобруцеллезную вакцину из штамма *B. abortus* 82. Учитывая специфичность отрасли северного оленеводства и физиологическое состояние животных, вакцинацию проводят в летние месяцы. Отбор крови для серологического исследования на бруцеллез осуществляют в большинстве случаев в летне-осеннее время, оптимально сочетая его с про-

ведением хозяйственных и зоотехнических мероприятий (просчет, противопаразитарные обработки, массовый убой и заготовка мяса).

В северном оленеводстве диагностические исследования на бруцеллез осуществляют выборочно, в объеме от 5 до 15% поголовья для групповой оценки эпизоотического состояния стада и проведения мониторинга. Поэтому среди многочисленного не идентифицированного поголовья оленей отбор проб крови может быть осуществлен от иммунизированных животных.

Для объективной оценки эпизоотической ситуации по бруцеллезу в стадах, предотвращения ущерба от необоснованной выбраковки животных и повышения контроля качества получаемой продукции посчитали целесообразным определить возможность проведения дифференциальной диагностики на бруцеллез проб сывороток крови от обследованного поголовья.

Объектом исследования являлись северные олени, принадлежащие хозяйствам Ямало-Ненецкого автономного округа.

Отбор проб крови от оленей осуществляли от убойного контингента в период планового массового убоя. Сыворотку крови получали методом отстаивания, консервировали борной кислотой и доставляли в лабораторию экологии Всероссийского научно-исследовательского института бруцеллеза и туберкулеза животных (г. Омск) для серологического исследования.

За период наблюдений исследовано 1300 проб крови от северных оленей из пяти оленеводческих бригад. Исследования проводили с использованием простых односистемных иммунологических реакций: роз-бенгал пробы (РБП), реакции агглютинации (РА), реакции иммунодиффузии в агаровом геле (РИД с ОПС-антигеном) и двухсистемной реакции связывания комплемента (РСК).

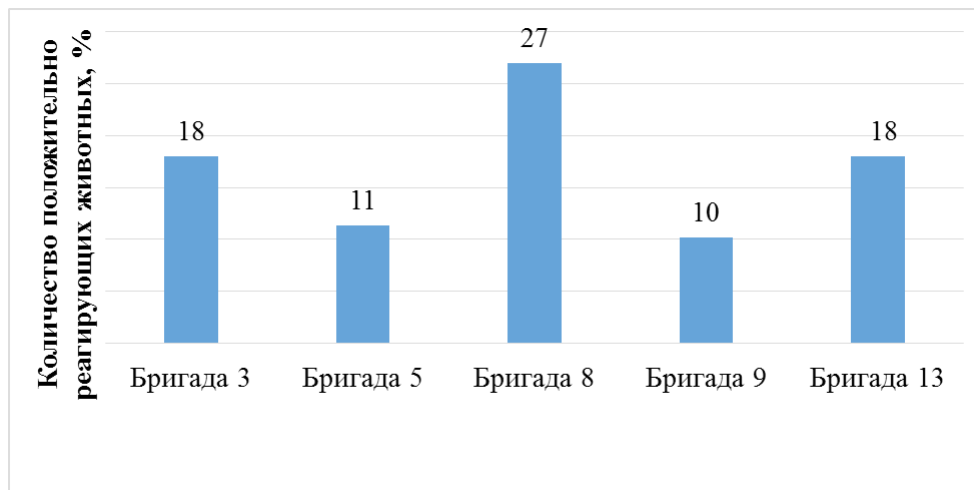
Постановку и учет результатов реакций осуществляли в соответствии с «Наставлением по диагностике бруцеллеза животных» (2003 г.). В качестве диагностических препаратов использовали единый бруцеллезный антиген (S-) для РА и РСК из коммерческих наборов и экспериментальные образцы антигенов, изготовленные в условиях лаборатории из бруцелл в R-форме.

Оценку дифференциальных тестов проводили на основании результатов учета диагностической активности реакций сывороток с бруцеллезными R- и S- антигенами.

Анализ данных эпизоотического состояния северных оленей в бригадах, находящихся под наблюдением, показал, что их летние и зимние пастбища расположены на неблагоприятной по бруцеллезу территории, граничащей с природными очагами. Взрослое поголовье оленей этих бригад иммунизируют против бруцеллеза ежегодно в весенне-летний период. Для диагностического исследования на бруцеллез осуществляют отбор проб крови выборочно, в объеме от 5 до 10% поголовья.

При проведении серологических исследований учет и оценку реакций проводили в крестах. Диагностическими титрами считали разведения сывороток крови, регламентированные для вакцинированных животных.

На основании проведенных исследований отмечено, что положительно реагирующие на бруцеллез животные были выявлены во всех бригадах, находящихся под наблюдением (рисунок).



Результаты серологических исследований на бруцеллез со стандартным S- антигеном

Из полученных результатов видно, что наибольшее количество животных, положительно реагирующих со стандартным бруцеллезным S-антигеном, выявлено в бригадах № 8 (27%) и № 13 (18%).

Для дифференциации поствакцинальных реакций проводили исследования в реакции агглютинации (РА) и реакции связывания комплемента (РСК) с антигенами, изготовленными из бруцелл в R-форме, гомологичных вакцинному штамму штамма *B. abortus* 82.

Перед проведением дифференциальных диагностических исследований сывороток крови от северных оленей активность и специфичность опытных образцов R-бруцеллезных антигенов определяли в условиях лаборатории с гомо- и гетерологичными штаммами бруцелл (табл. 1).

Таблица 1

Показатели активности и специфичности экспериментальных образцов R- бруцеллезных антигенов, используемых для дифференциальной диагностики поствакцинальных реакций

Наименование антигена	Результаты реакций с сыворотками					
	РСК			РА		
	S	R	N	S	R	N
R-антиген, изготовленный из шт. <i>B. abortus</i> 16/4 (Серия 3–2017)	Отр.	1:80	Отр.	Отр.	1:400	Отр.
Контроль, стандартный бруцеллезный S-антиген из коммерческого набора	1:160	Отр.	Отр.	1:400	Отр.	Отр.

Примечание. S – гипериммунная бруцеллезная сыворотка из коммерческих наборов; R – гипериммунная сыворотка, полученная от кроликов на введение бруцелл в R-форме; N – нормальная кроличья сыворотка.

Антиген, изготовленный из бруцелл в R-форме, проявлял диагностическую активность в реакции агглютинации с гомологичной бруцеллезной R-сывороткой в разведении 1:80, в реакции связывания комплемента – в разведении 1:320. Отрицательные результаты в реакциях с S-бруцеллезной и нормальной кроличьей сывороткой свидетельствуют о специфичности исследуемых антигенов.

При проведении серологических исследований с антигеном, изготовленным из R- форм, выявлены положительно реагирующие животные во всех стадах, находящихся под наблюдением (табл. 2).

Таблица 2

Результаты дифференциации поствакцинальных реакций северных оленей, иммунизированных против бруцеллеза

Номер бригады	Количество животных	Количество положительных проб со стандартным S – антигеном	В том числе с преимуществом титров в реакциях с R–антигеном (поствакцинальной реакции)	
			проб	% от положительно реагирующих
3	300	54	28	51,8
5	467	52	43	82,6
8	29	8	5	62,5
9	477	49	32	65,3
13	57	18	4	22,2
Всего по хозяйству	1330	181	112	61,8

У большей части реагирующих животных (155, или 85,6%) положительные реакции отмечали в минимальных диагностических титрах (РА 1:50; РСК 1:5). В единичных пробах сывороток крови положительные результаты в реакции агглютинации установлены в разведении 1:100 (8,6%) и 1:200 (2,7%), 1:400 (2,7%).

Использование в комплексе диагностических исследований дифференциального теста (бруцеллезного R-антигена) позволило установить, что у большей части реагирующих животных (61,8%) в сыворотке крови обнаружены антитела к R-формам бруцелл. Причем титры реакций с R-антигеном в серологических реакциях на 1–2 порядка были выше, чем в реакциях со стандартным S- антигеном.

У всех животных, положительно реагирующих с R-антигеном в реакции иммунодиффузии в агаровом геле с ОПС-антигеном, отмечали отрицательный результат.

Анализ полученных данных показывает, что на основании комплекса диагностических тестов: низкие титры серологических реакций со стандартным S-антигеном, положительные результаты с R-бруцеллезным антигеном и отрицательные реакции иммунодиффузии с ОПС-антигеном – возможно дифференцировать поствакцинальные реакции у северных оленей, иммунизированных живой слабоагглютиногенной вакциной из штамма *B. abortus* 82.

В заключение следует отметить, что при отборе проб крови для исследования на бруцеллез у северных оленей необходимо учитывать сроки их вакцинации. Для объективной оценки эпизоотической ситуации в стадах и предотвращения необоснованной выбраковки животных и ущерба при выявлении положительных реакций у животных, иммунизированных живой противобруцеллезной вакциной из штамма *B. abortus* 82, целесообразно проводить дифференциальную диагностику с использованием R-бруцеллезных антигенов.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Амерханов Х.А. Состояние северного оленеводства в Российской Федерации // Материалы всерос. науч.-практ. конф. в рамках мероприятий IV съезда оленеводов Российской Федерации, 17 марта 2017 г. – Якутск, 2017. – С. 6–11.
2. Клоков К.Б. Оленеводство как этносохраняющая отрасль северного хозяйства // Северное оленеводство: современное состояние, перспективы развития, новая концепция ветеринарного обслуживания: материалы науч.-практ. конф., 21–23 сент. 2011 г. – СПб. – Пушкин, 2012. – С. 17–23.
3. Забродин В.А., Комаров А.В. Северное оленеводство РФ: состояние, перспективы развития, научное обеспечение // Там же. – С. 3–12.
4. Казановский Е.С. Ветеринарные проблемы северного оленеводства и совершенствование технологии проведения массовых противозооотических мероприятий // Материалы всерос. науч.-практ. конф. в рамках мероприятий IV съезда оленеводов Российской Федерации, 17 марта 2017 г. – Якутск, 2017. – С. 173–177.
5. Хоч А.А., Слепцов Е.С. Проблема бруцеллеза северных оленей и перспективы ее решения // Сельское хозяйство Республики Саха (Якутия) в условиях переходного периода на рыночные отношения: материалы конф., 8–9 апр. 1992 г., г. Якутск. – Новосибирск, 1993. – С. 126.
6. Хищники – резервуар возбудителя бруцеллеза северных оленей / В.А. Забродин, Л.Н. Гордиенко, Е.Ю. Карепин, В.Г. Толстиков, Ю.П. Чабанов, Е.В. Куликова // Вет. консультант. – 2005. – № 8 (99). – С. 4–5.
7. Забродин В.А., Гордиенко Л.Н., Куликова Е.В. Особенности проявления эпизоотического процесса при бруцеллезе северных оленей на Ямале // Вет. врач. – 2015. – № 4. – С. 3–8.
8. Давыдов Н.Н., Лысков В.А. Испытание напряженности иммунитета на вакцину из штамма 82 у северных оленей // Тр. ЯНИИСХ, – 1978. – С. 38–42.
9. Производственный опыт применения северным оленям вакцин из штаммов *B. abortus* 82 и 19 / А.А. Хоч [и др.] // Селекция, разведение и болезни сельскохозяйственных животных в Якутии: сб. науч. тр. – Новосибирск, 1993. – С. 114–122.
10. Иммуногенность вакцин из штаммов *B. abortus* 19 и 82, *B. suis* 61 для северных оленей при различных методах введения / Е.С. Слепцов, Н.В. Винокуров, Ю.Ю. Устинцева [и др.] // Аграр. вестн. Урала. – 2014. – № 8 (126). – С. 21–22.
11. Зенов Н.И., Гордиенко Л.Н., Куликова Е.В. Применение сухой живой вакцины из слабоагглютиногенного штамма *B. abortus* 82 для профилактики бруцеллеза северных оленей // Ветеринария. – 2018. – № 6. – С. 31–33.

REFERENCES

1. Amerhanov H.A. Sostoyanie severnogo olenevodstva v Rossiyskoy Federatsii // Materialy vseros. nauch. – prakt. konf. v ramkah meropriyatiy IV s'ezda olenevodov Rossiyskoy Federatsii, 17 marta 2017 g. – Yakutsk, 2017. – S. 6–11.

2. Klovov K.B. Olenevodstvo kak etnosohranyayuschaya otrasl severnogo hozyaystva // Severnoe olenevodstvo: sovremennoe sostoyanie, perspektivy razvitiya, novaya kontseptsiya veterinarnogo obsluzhivaniya. / materialy nauch. – praktich. konf. 21–23 sent. 2011 g. SPb. – Pushkin, 2012. – S. 17–23.
3. Zabrodin V.A., Komarov A.V. Severnoe olenevodstvo RF: sostoyanie, perspektivy razvitiya, nauchnoe obespechenie // materialy nauch. – praktich. konf. 21–23 sent. 2011 g. SPb. – Pushkin, 2012. – S. 3–12.
4. Kazanovskiy E.S. Veterinarnyye problemy severnogo olenevodstva i sovershenstvovanie tekhnologii provedeniya massovykh protivopizooticheskikh meropriyatiy // materialy vsenos. nauch. – praktich. konf. v ramkah meropriyatiy IV s'ezda olenevodov Rossiyskoy Federatsii 17 marta 2017 g. – Yakutsk, 2017. – S. 173–177.
5. Hoch A.A., Sleptsov E.S. Problema brutselleza severnykh oleney i perspektivy ee resheniya // Selskoye hozyaystvo Respubliki Saha (Yakutiya) v usloviyakh perehodnogo perioda na ryinochnyye otnosheniya: materialy konf., 8–9 apr. 1992 g., g. Yakutsk – Novosibirsk, 1993. – S. 126.
6. Hishniki – rezervuar vozbuditelya brutselleza severnykh oleney / V.A. Zabrodin, L.N. Gordienko, E. Yu. Karepin, V.G. Tolstikov, Yu.P. Chabanov, E.V. Kulikova // G. Vet. konsultant. – 2005. – N 8 (99). – S. 4–5.
7. Zabrodin V.A., Gordienko L.N., Kulikova E.V. Osobennosti proyavleniya epizooticheskogo protsessa pri brutselleze severnykh oleney na Yamale // Vet. vrach. – 2015. – N 4. – S. 3–8.
8. Davydov N.N., Lyiskov V.A. Ispytanie napryazhennosti immuniteta na vaktsinu iz shtamma 82 u severnykh oleney // Tr. YaNIISH, – 1978. – S. 38–42.
9. Proizvodstvennyy opyt primeneniya severnyim olenyam vaktsin iz shtammov B.abortus 82 i 19 / A.A. Hoch [i dr.] // Seleksiya, razvedenie i bolezni selskohozyaystvennykh zhivotnykh v Yakutii: sb. nauch. tr. – Novosibirsk, 1993. – S. 114–122.
10. Immunogennost vaktsin iz shtammov B. abortus 19 i 82, B. suis 61 dlya severnykh oleney pri razlichnykh metodakh vvedeniya / E.S. Sleptsov, N.V. Vinokurov, Yu.Yu. Ustintseva [i dr.] // Agrar. vestn. Urala. – 2014. – N 8 (126). – S. 21–22.
11. Zenov N.I., Gordienko L.N., Kulikova E.V. Primenenie suhoy zhivoy vaktsiny iz slaboagglyutinogennogo shtamma B. abortus 82 dlya profilaktiki brutselleza severnykh oleney // Veterinariya. – 2018. – N 6. – S. 31–33.