DOI CrossRef: 10.30917/ATT-VK-1814-9588-2018-2-12

УДК 619:616.98:579.841.93

Научные достижения и основные результаты исследований Прикаспийского зонального НИВИ по проблеме бруцеллеза

Scientific achievements and main results of investigations of the Caspian zonal research veterinary institute on the problem of brucellosis

Кабардиев С.Ш.

г. Махачкала

РЕЗЮМЕ / SUMMARY

Ключевые слова: пальпебральная проба, бруцеллин ВИЭВ, вакцина из штамма *B.melitensis* Rev-1, эритроцитарный антиген, реакция непрямой гемагглютинации.

Key words: palpebral test, brucellin VIEV, vaccine from strain *B.melitensis* Rev-1, erythrocyte antigen, indirect hemagglutination test.

В статье изложены научные достижения и основные результаты исследований по усовершенствованию мер борьбы с бруцеллезом животных, проведенных Прикаспийским зональным НИВИ, совместно с ВИЭВ, ВГНКИ и другими научными учреждениями за период, прошедший после организации лаборатории эпизоотологии, диагностики и профилактики бруцеллеза.

In the article briefly are started the scientific achievements and the main results of research on improving of measures to combat with brucellosis of animals conducted by the Caspian zonal research veterinary institute in cooperation with VIEV, VGNKI and other scientific institutions for the period after the organization of the laboratory of epizootology, diagnosis and prevention of brucellosis.

Учитывая актуальность усовершенствования мер борьбы с бруцеллезом, в Прикаспийском зональном НИВИ в 1969 г. была организована специальная лаборатория по изучению бруцеллеза, которая впоследствии была преобразована в лабораторию эпизоотологии, диагностики и профилактики бруцеллеза. Первым заведующим лабораторией был известный в нашей стране и в странах СНГ ученый, ученик профессора Н.А. Михина и академика С.Н. Вышелесского, доктор ветеринарных наук, профессор А.А. Аливердиев, который и ранее, будучи директором НИВС, проводил исследования по проблеме бруцеллеза.

С 1970 г. по настоящее время лабораторией руководит Заслуженный ветеринарный врач и заслуженный деятель науки РД, д.в.н., профессор О.Ю. Юсупов, окончивший под руководством Заслуженного деятеля науки РФ профессора Е.С. Орлова очную аспирантуру ВИЭВ, которому и после аспирантуры посчастливилось более 20 лет работать с профессором П.С. Уласевичем, затем с профессорами К.В. Шумиловым, О.Д. Скларовым, ведущим научным сотрудником А.И. Климановым (ВГНКИ), а также профессорами В.Г. Ощепковым и Л.В. Дегтяренко (ВНИИБТЖ).

С целью испытания пальпебральной пробы научные сотрудники института, совместно со с.н.с. ВИЭВ, к.в.н. А.Н.

Касьяновым, который впоследствии стал заведующим лабораторией по изучению бруцеллеза ВИЭВ, исследовали 61,5 тыс. гол. овец. При этом, каждой овце вводили под кожу нижнего века (пальпебрально) бруцеллин и внутрикожно – бруцеллизат или бруцеллогидролизат, в ряде случаев в одну подхвостную складку – бруцеллизат, другую – бруцеллогидролизат. Из указанного количества 30,8 тыс. гол. овец параллельно, для сравнения результатов, исследовали в РА и РСК.

Проведенные исследования показали, что пальпебральная проба с применением бруцеллина является ценным методом аллергической диагностики бруцеллеза овец и коз, более чувствительным, чем внутрикожная проба с бруцеллизатом или бруцеллогидролизатом и в тоже время значительно облегчающим труд ветеринарных специалистов. Наряду с испытанием диагностического значения бруцеллина, изучали также ряд вопросов, связанных с его применением, в частности, оптимальную дозу, срок годности, сенсибилизирующие, провоцирующие и другие свойства препарата.

Большие трудности в условиях отгонно-пастбищного овцеводства Дагестана представляло оздоровление овцепоголовья от бруцеллеза. Для иммунизации овец в этих условиях нужна была вакцина, создающая у привитых животных длительный и напряженный иммунитет.

С целью изыскания эффективной противобруцеллезной вакцины для овец в 3-х стационарно неблагополучных по бруцеллезу хозяйствах Республики Дагестан, совместно с ВИЭВ (П.С. Уласевич), в 1966–1971 гг., впервые в нашей стране, институтом при участии практических ветеринарных специалистов на 20 тыс. ярок было проведено производственное испытание вакцины из штамма Рев-1, предложенной ВОЗ для дальнейшего изучения и испытания на практике в системе противобруцеллезных мероприятий.

В 1971 г. результаты испытания вакцины из штамма Рев-1 были доложены на совещании, состоявшемся в ГУВ МСХ СССР, на котором было принято решение о широком ее применении для иммунизации ярок во всех хозяйствах Дагестана. Однако, к этому времени промышленная технология изготовления вакцины Рев-1 еще не была разработана и производство ее не было освоено биофабриками. В целях скорейшего внедрения вакцины в широкую практику и оздоровления хозяйств, институтом, с разрешения ГУВ МСХ СССР, в лабораторных условиях при участии Республиканской ветеринарной лаборатории было организовано серийное производство жидкой вакцины и совместно с ВИЭВ разработано временное наставление по ее применению, утвержденное ГУВ МСХ СССР. За 1971–1972 годы было изготовлено и выпущено для практического применения 540 тыс. доз препарата. Одновременно по договору с Алма-Атинским биокombинатом начали работу по изготовлению опытных серий сухой вакцины из штамма Рев-1.

С 1971 г., в соответствии с приказом ГУВ МСХ СССР, под научно-методическим руководством ВИЭВ и Дагестанского НИВИ, вакцину из штамма Рев-1 испытывали в Республике Дагестан для иммунизации ярок в порядке широко-

Информация об авторах / Information about the authors

Кабардиев С.Ш., доктор ветеринарных наук, профессор, директор института
Юсупов О.Ю., доктор ветеринарных наук, профессор, главный научный сотрудник
ФГБНУ Прикаспийский зональный НИВИ, г. Махачкала, pznivi05@mail.ru
Kabardiev S., Yusupov O.

го производственного опыта. За период с 1971 по 1977 годы этой вакциной в 317 хозяйствах 34 районов республики было привито 1 млн 743 тыс. ярок.

Эпизоотическая ситуация по бруцеллезу овец в Дагестане до начала применения вакцины из штамма Рев-1 была сложной. В республике регистрировалось 199 неблагополучных пунктов по бруцеллезу овец. В ряде хозяйств наблюдались аборт у овцематок бруцеллезной этиологии. Крайне серьезной оставалась эпидемическая обстановка по бруцеллезу. К 1977 г., когда неблагополучное по бруцеллезу овцеголовье было заменено вакцинированными ярками и полученным от них молодняком, овцеводческие хозяйства Республики Дагестан были практически оздоровлены от бруцеллеза. Критерием оздоровления служили отсутствие абортов, отрицательные результаты бактериологических и массовых серологических исследований вакцинированных овец, отсутствие случаев заболевания людей в хозяйствах, где проводили иммунизацию ярок.

Оздоровление овец было достигнуто путем ежегодной иммунизации нарождающихся ярок и постепенной замены ими и полученным от них молодняком неблагополучных по бруцеллезу взрослых овец. По данным Центра санэпиднадзора по Республике Дагестан и результатам проведенного анализа эпизоотической ситуации, заболеваемость людей бруцеллезом в целом по республике никогда не была столь низкой, как в этот период, когда с применением вакцины из штамма Рев-1 овцеголовье было оздоровлено от бруцеллеза.

В процессе испытания вакцины из штамма Рев-1 ВИЭВом и Дагестанским НИВИ была разработана система мер борьбы с бруцеллезом овец, позволяющая с наименьшими затратами и в сравнительно короткие сроки оздоровить овцеводческие хозяйства со значительной пораженностью животных бруцеллезом и обеспечить благополучие их по данной болезни, основные положения которой изложены в методических указаниях и наставлении по применению вакцины из штамма Рев-1, утвержденных ГУВ МСХ СССР.

Параллельно с производственным испытанием вакцины из штамма Рев-1 сотрудниками лаборатории проведена большая работа по изучению этой вакцины в экспериментальных условиях. В частности, на 40 ярах и 2636 взрослых матках были проведены опыты по изучению диссеминации и длительности приживаемости бруцелл вакцинного штамма Рев-1 в организме животных, возможности выделения их с молоком и определению иммуноморфологических изменений в организме вакцинированных овец, а также по изучению безвредности, безопасности и эффективности иммунизации овцематок. В 5 опытах на 410 ярах изучали иммуногенные свойства вакцины из штамма Рев-1.

Проведенные исследования экспериментально подтвердили, что у ярок, привитых вакциной из штамма Рев-1, вырабатывается длительный иммунитет к заражению вирулентной культурой *B. melitensis*, сохраняющийся до 5 лет (срок наблюдения). Установлена способность у ярок раннего возраста к выработке напряженного иммунитета к заражению бруцеллезом и целесообразность иммунизации их вакциной из штамма Рев-1 в неблагополучных по бруцеллезу хозяйствах в 2–3-месячном возрасте.

Особенно убедительно иммуногенные свойства вакцины из штамма Рев-1 были иллюстрированы в комиссионном опыте по сравнительному испытанию на овцах иммуногенных свойств 7 вакцинных штаммов бруцелл, проведенном на базе института в 1969–1970 гг. по заданию ГУВ МСХ СССР 5 научно-исследовательскими ветеринарными институтами (ВИЭВ, ВГНКИ, ЛенНИВИ, ДагНИВИ, УзНИВИ) с участием ведущих ученых специалистов по бруцеллезу, в том числе и авторов этой статьи, с целью отбора штамма, наиболее пригодного для использования при изготовлении вакцины против бруцеллеза мелкого рогатого скота. В данном опыте овцы, привитые вакциной из штамма Рев-1, проявили наиболее высокую степень защиты к заражению вирулентной культурой *B. melitensis*, по сравнению со всеми

испытываемыми противобруцеллезными вакцинами. В частности, в группе овец, привитых вакциной из штамма Рев-1, иммунитет установлен у 92% животных, а от заразившихся 2-х овец выделено только 4 культуры бруцелл заражающего штамма из лимфатических узлов и за период, прошедший после искусственного заражения до убоя, ни одна овца не абортировала на почве бруцеллеза, тогда как из числа, привитых вакциной из штамма 19, противостояло заражению только 37,1% овец, а у 17 заразившихся животных установлена высокая обсемененность организма бруцеллами (выделена 81 культура) и 3 овцы (13,6%) абортировали.

Материалы экспериментального изучения и производственного испытания вакцины из штамма Рев-1, по представлению ВИЭВ и Дагестанского НИВИ, в 1973–1974 гг. были рассмотрены и одобрены:

– Межведомственной научно-методической комиссией при министерстве здравоохранения СССР и министерстве сельского хозяйства СССР;

– Учеными советами ВИЭВ и ВГНКИ;

– Ветеринарной секцией НТС МСХ СССР.

На основании положительных заключений ВИЭВ, ВГНКИ и НТС, Главное управление ветеринарии МСХ СССР приняло решение о проведении широкого производственного испытания вакцины из штамма Рев-1 для иммунизации мелкого рогатого скота в зонах отгонного овцеводства и районах значительного распространения болезни и об изготовлении сухой вакцины Рев-1 на Алма-Атинском биокombинате.

Испытание вакцины проводилось с 1975 по 1980 годы в Казахской, Киргизской, Туркменской, Азербайджанской, Армянской, Грузинской, Таджикской, Узбекской ССР и РСФСР. Оно продолжалось и в Дагестане. Всего за указанный период было иммунизировано 67,3 млн ярок.

Широкое применение вакцины стало возможным благодаря тому, что под научно-методическим руководством и при участии ВИЭВ и ДагНИВИ Алма-Атинский биокombинат освоил производство сухой вакцины из указанного штамма и изготовил в течение 5-ти лет 122 млн доз вакцины.

Результаты широкого производственного испытания вакцины из штамма Рев-1 в октябре 1980 г. были обсуждены на заседаниях Ученого совета ВГНКИ и НТС МСХ СССР.

На основании рекомендаций Ученого совета ВГНКИ и НТС МСХ СССР, а также заключений ГУВ МСХ союзных республик и научно-исследовательских ветеринарных учреждений, в 1981 г. сухая вакцина из штамма *B. melitensis* Рев-1 была принята в ветеринарную практику для иммунизации ярок в системе профилактических и оздоровительных противобруцеллезных мероприятий.

В результате исследований, проведенных в экспериментальных и производственных условиях, получены убедительные данные, свидетельствующие о безвредности, безопасности и эффективности применения вакцины из штамма Рев-1 для иммунизации ярок и овцематок. Доказано, что у овцематок, вакцинированных за 1–2 месяца до случки, не наблюдаются поствакцинальные аборты, не выделяется культура штамма Рев-1 с молоком, при ягнении с абортированными плодами и вагинальным секретом. Показано, что в течение 3-х месяцев организм вакцинированных маток освобождается от бруцелл вакцинного штамма. Иммунизация всех овцематок и ярок вакциной из штамма Рев-1 в первый год применения вакцины и ежегодная однократная вакцинация нарождающихся ярок значительно повышают эффективность оздоровительных мероприятий. Результаты проведенных исследований дали основание внести коррективы в наставление по применению сухой вакцины из штамма Рев-1 и предусмотреть в нем проведение иммунизации ярок, начиная с 3-х месячного возраста.

Крайне неудовлетворительная эпизоотическая обстановка сложилась в Дагестане и по бруцеллезу крупного рогатого скота. Вплоть до 1956 года мероприятия по борьбе с бруцеллезом животных в республике проводили общими мерами путем диагностических исследований, в основном,

с применением РА, выявления и убоя положительно реагирующих животных. С 1957 г. в системе противобруцеллезных мероприятий широко стали применять вакцину из штамма B.abortus 19. Несмотря на положительные результаты применения вакцины из штамма 19, было отмечено, что у привитых животных, особенно коров, длительное время сохраняются поствакцинальные иммунологические реакции (РА, РСК), которые создают большие трудности в оценке результатов диагностических исследований.

Практике нужна была неагглютиногенная вакцина, пригодная для иммунизации не только телок, но и коров, так как сохранить устойчивое благополучие и оздоровить хозяйства без применения вакцины в условиях Дагестана практически невозможно.

С целью изыскания такой вакцины в 1971–1973 гг. в институте, с участием ВИЭВ, ВГНКИ, ЛенНИВИ, Казанского ветеринарного института, УЗНИВИ, УкрИЭВ и Донского сельхозинститута, по заданию ГВБ МСХ СССР был проведен комиссионный опыт на 340 телках по сравнительному испытанию 9 вакцинных штаммов бруцелл, предложенных различными институтами для иммунизации крупного рогатого скота, который позволил определить наиболее иммуногенные и перспективные для дальнейшего изучения и внедрения в практику вакцинные штаммы бруцелл.

Результаты комиссионного опыта в 1974 г. были рассмотрены на заседаниях Ученого совета ВГНКИ и НТС МСХ СССР, которые рекомендовали вакцины из штаммов 82 и Н-12 для широкого производственного испытания. Одна из этих вакцин (из штамма 82) внедрена в ветеринарную практику и в настоящее время широко применяется в системе мер борьбы с бруцеллезом по всей РФ, в том числе, в Дагестане.

Огромная работа выполнена лабораторией по широкому производственному испытанию этой вакцины, изучению эффективности различных схем специфической профилактики бруцеллеза с ее применением и оздоровлению животноводческих комплексов и ферм от этой болезни.

Диагностические исследования, проведенные с участием научных сотрудников института, показали, что из общего количества 31 молочно-товарной фермы района 30 были неблагополучны по бруцеллезу и 27 – по туберкулезу. Из них 14 ферм, где содержалось 1570 голов скота, в том числе более 1300 коров, пораженных двойной инфекцией, являлись, по существу, изоляторами, так как от 53 до 94% животных в них было заражено бруцеллезом и туберкулезом. В среднем по всем неблагополучным фермам более 35% скота и 45% коров при комиссионном исследовании оказались инфицированными возбудителями указанных болезней.

Ликвидация бруцеллеза и туберкулеза в создавшихся условиях представляла нелегкую проблему. Поэтому, приступая к этой работе, институтом при участии практических ветеринарных специалистов, руководителей хозяйств и председателей сельских советов по каждому хозяйству были разработаны комплексные планы оздоровления от указанных болезней, утвержденные Ученым советом института и руководством района. Все фермы были огорожены и оканавлены с оборудованием у входа шлагбаумов с дезбарьерами и установлением сторожевых будок с помещениями для спецодежды и круглосуточной охраной. Во всех населенных пунктах для проведения ветеринарных обработок скота частного сектора были построены капитальные загоны с расколами. Только в частном секторе было выявлено и сдано на убой 2100 голов крупного рогатого скота, в том числе 1700 больных бруцеллезом и более 400 – туберкулезом.

Все поголовье скота хозяйств и ферм, сильно пораженных бруцеллезом и туберкулезом, включая полученный от них молодняк, вместе со всем больным скотом, выделенным при диагностических исследованиях, было сдано на убой и для его замены приобретено и завезено в район 1,1 тыс. коров и 2,7 тыс. племенных и улучшенных нетелей и телок.

Во всех хозяйствах вновь завезенных животных ставили на профилактический контроль и при участии сотрудников института исследовали на бруцеллез и туберкулез, а затем до надежной естественной санации пастбищ и устранения угрозы заражения их держали на стойловом содержании.

Учитывая большую угрозу заражения бруцеллезом коров, нетелей и телок, завезенных для оздоровления неблагополучных ферм, их иммунизировали вакциной из штамма 19 в уменьшенной дозе. Вакцинированные животные в течение двух лет находились под ветеринарным наблюдением. Среди них не отмечались случаи аборт, а при контрольных исследованиях у животных наблюдалось постепенное снижение титров поствакцинальных реакций (РА, РСК) и полное исчезновение их в течение 2-х лет после вакцинации. В дальнейшем для реиммунизации коров и иммунизации полученных от них телят применялась вакцина из штамма 82.

В результате проведенной работы район полностью был оздоровлен от бруцеллеза и туберкулеза. Оздоровление 20 ферм осуществлено методом полной замены поголовья и проведением жестких ветеринарно-санитарных мероприятий с применением вакцины из штамма 19 в малой дозе. Остальные фермы были оздоровлены от бруцеллеза и туберкулеза путем систематических исследований, сдачи на убой больных животных и частичной замены неблагополучного скота.

Таким образом, проведенными исследованиями показана возможность полного оздоровления в короткие сроки животноводческих хозяйств и ферм в масштабе целого района с широким распространением бруцеллеза и туберкулеза путем полной замены скота здоровыми животными, приобретенными из благополучных по этим болезням областей. Наряду с этим, установлено также, что такой метод оздоровления хозяйств является наиболее радикальным и экономически оправданным.

Параллельно с изучением указанных выше вопросов и широкомасштабной работой по оздоровлению овцепоголовья и крупного рогатого скота от бруцеллеза, в институте проводились исследования по усовершенствованию диагностики этой болезни.

Учитывая, что по признанию многих исследователей, одним из наиболее перспективных методов диагностики бруцеллеза является реакция непрямой гемагглютинации, основные усилия сотрудников лаборатории были направлены на разработку способа изготовления антигена для РНГА и изучение диагностического значения этой реакции, по сравнению с другими диагностическими тестами. Эту реакцию всегда по праву считали специфичной и наиболее чувствительной при серологической диагностике бруцеллеза у разных видов животных. Однако, она не была внедрена в ветеринарную практику, из-за недостаточной изученности ее при бруцеллезе и отсутствия апробированного, стандартного, стабильного и высокочувствительного антигена для ее постановки. Кроме того, для ее внедрения и широкого практического применения необходимо было доказать и убедить работников ветеринарных лабораторий в преимуществах данной реакции с разработанным новым антигеном, по сравнению с традиционными, применяемыми во всем мире десятилетиями для диагностики бруцеллеза, ставшими классическими серологическими реакциями РА и РСК (РДСК) и другими серологическими реакциями.

В результате многолетних исследований, выполненных в соответствии с утвержденными планами НИР, научными сотрудниками лаборатории (О.Ю. Юсупов, С.Г. Хаиров) совместно с ВГНКИ (К.В. Шумилов, О.Д. Скларов, А.И. Климанов) и ВНИИБТЖ (В.Г. Ощепков, Л.В. Дегтяренко) был разработан и внедрен в ветеринарную практику высокоэффективный стандартный и стабильный бруцеллезный эритроцитарный антиген для РНГА.

РНГА с разработанным новым антигеном, согласно приказу Департамента ветеринарии Минсельхоза РФ, в течение более 5 лет (1999–2004 гг.) подвергалась широко-

му производственному испытанию ветеринарными лабораториями 17 областей, краев и республик РФ для диагностики бруцеллеза у крупного рогатого скота и овец, по сравнению с РА и РСК.

На основании результатов широкого производственного испытания Республиканские, краевые и областные ветеринарные лаборатории субъектов РФ пришли к заключению, что эта реакция специфична, высокочувствительна, выявляет больных бруцеллезом животных наиболее полно, по сравнению с широко применяемыми в ветеринарной практике серологическими реакциями (РА, РСК) и в более ранние сроки после инфицирования. Кроме того, согласно их заключениям, она проста в постановке, дает четкие результаты, позволяет избежать некоторые технические погрешности, которые неизбежно возникают при исследовании сывороток крови с применением других диагностических тестов. При использовании ее не требуются такие дорогостоящие компоненты, как комплемент, гемолитическая сыворотка и эритроциты барана.

Антиген в настоящее время выпускается в виде "Набора для серологической диагностики бруцеллеза крупного и мелкого рогатого скота в реакции непрямой гемагглютинации (РНГА)". Производство и серийный выпуск его налажены в НПП ООО "Ветмедсервис", созданном на базе Прикаспийского ЗНИВИ. Препарат апробирован ВГНКИ при участии ЦНМВЛ, зарегистрирован Россельхознадзором с утверждением нормативных документов (инструкция по применению, ТУ и др.).

Высокая диагностическая эффективность применения Набора для РНГА подтверждена ведущими НИУ страны (ВИЭВ, ВГНКИ, ВНИИБТЖ, ИЭВС и ДВ, Прикаспийский ЗНИВИ и др.), ЦНМВЛ и всеми ветеринарными лабораториями 17 субъектов РФ, испытывавшими его.

Набор для РНГА удостоен Диплома и Золотой медали Российской агропромышленной выставки "Золотая осень". Применение его в широкой практике рекомендовано Бюро Отделения ветеринарной медицины Россельхозакадемии.

К настоящему времени накопилось много данных, свидетельствующих о том, что РНГА с новым диагностикумом является наиболее эффективным и простым методом диагностики бруцеллеза, по сравнению с широко применяемыми в практике серологическими реакциями (РА, РСК и др.).

Необходимо отметить, что заслуга в выполнении указанных выше крупных научных разработок и во внедрении их в ветеринарную практику, а также большие достижения в работе по оздоровлению овцепоголовья и молочных ферм от бруцеллеза принадлежит не только научным сотрудникам института. Добиться таких результатов удалось благодаря тому, что вся указанная работа была выполнена совместно с ВИЭВ (Я.Р.Коваленко, Г.Ф. Коромыслов, М.И. Гулюкин, Е.С. Орлов, П.С. Уласевич, О.Н. Касьянов), ВГНКИ (М.М. Иванов, К.В. Шумилов, О.Д. Складов, А.И.Климанов), за что авторы настоящей статьи и весь Прикаспийский ЗНИВИ выражают большую благодарность.