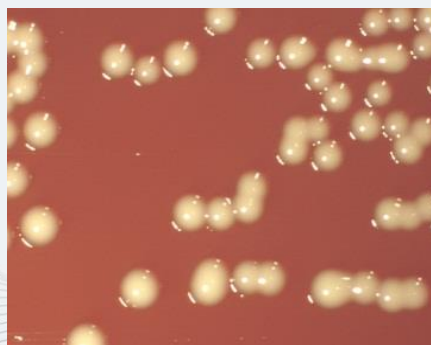




**РОССЕЛЬХОЗНАДЗОР**  
Федеральное государственное бюджетное  
учреждение «Всероссийский государственный  
Центр качества и стандартизации  
лекарственных средств для животных и кормов»  
ФГБУ «ВГНКИ»



## ОСОБЕННОСТИ ДИАГНОСТИКИ И СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ПРОФИЛАКТИКИ БРУЦЕЛЛЕЗА ЖИВОТНЫХ



Copyright © 2004 Dennis Kunkel Microscopy, Inc.



Заведующий лабораторией  
качества и стандартизации  
бактерийных лекарственных средств,  
д.в.н. О.Д. Скляр  
Тел. 8 (916) 9596530  
[scliarov@yandex.ru](mailto:scliarov@yandex.ru)



**БРУЦЕЛЛЕЗ** (BRUCELOSIS) - зоонозная хронически протекающая болезнь животных разных видов, в том числе и морских млекопитающих, а также людей, вызываемая бактериями рода *Brucella*.

Болезнь имеет тенденцию к широкому распространению при скоплении (групповом содержании) животных и проявляется в виде массовых аборт, бесплодия, снижения их продуктивности и жизнеспособности приплода.

Источником возбудителя инфекции, являются больные животные.

Заражение происходит в основном алиментарным путем при употреблении животными контаминированных бруцеллами кормов и воды, а также при контакте с инфицированными абортированными плодами, плодовыми оболочками и водами, фекалиями, подстилкой и пр.



• Доказано заражение половым и аспирационным путем. Бруцеллы обладают высокой инвазивностью, в организм животных они внедряется через:

- мацерированную или травмированную кожу;
- неповрежденные слизистые оболочки органов дыхания, желудочно-кишечного тракта, половых путей и конъюнктиву.

Возможно внутриутробное и перинатальное заражение с развитием у приплода латентной инфекции.

Заражение поголовья благополучных по бруцеллезу отдельных или групп обычно происходит при введении в них больных животных.





- Человек вторичный хозяин и вероятность заражения больным другим человеком невысока, за исключением случаев лабораторного заражения.
- Заболевания людей, исключая случаи лабораторного заражения, регистрируют, преимущественно, при эпизоотиях.
- Человек заражается преимущественно контактным (с больными животными или патологическим материалом, сырьем и продуктами животного происхождения от больных животных) или алиментарным путем.





**ДАННЫЕ ПО 1669 СЛУЧАЯМ 37 БАКТЕРИАЛЬНЫХ БОЛЕЗНЕЙ,  
ЗАРЕГИСТРИРОВАННЫХ  
СРЕДИ СОТРУДНИКОВ ЛАБОРАТОРИЙ**

Заболевание или возбудитель		Число случаев			Число летальных исходов
		в США	другие страны	Общее число	
1	<b>Бруцеллез</b>	<b>347</b>	<b>76</b>	<b>423</b>	<b>5</b>
2	Сыпной тиф	61	195	256	20
3	Туляремия	216	9	225	2
4	Туберкулез	163	13	176	4
5	Streptococcus sp.	69	9	78	4
6	Лептоспироз	24	43	67	10
7	Шигеллез	49	9	58	0
8	Сальмонеллез	21	27	48	0
9	Возвратная лихорадка	19	26	45	2
10	Сибирская язва	40	5	45	5
11	Эризепелоид	32	11	43	0
12	Дифтерия	24	9	33	0
13	Staphylococcus sp	26	3	29	1



14	Крысиный тиф	16	5	21	0
15	Сап	9	11	20	7
16	Сифилис	5	10	15	0
17	Холера	4	8	12	4
18	Чума	4	6	10	4
19	<i>Neisseria meningitidis</i>	6	2	8	1
20	<i>Burkholderia mallei</i>	2	6	8	0
21	<i>Clostridium</i>	3	3	6	0
22	Столбнячный токсин	1	4	5	0
23	<i>Diplococcus pneumoniae</i>	0	0	5	0
24	<i>Serratia marcescens</i>	0	0	5	0
25	<i>Haemophilus influenzae</i>	0	0	4	0
26	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	0	0	3	0
27	<i>Escherichia coli</i>	0	0	2	0
28	<i>Listeria monocytogenes</i>	-	-	1	0



29	<b>Pasteurella multocida</b>	-	-	2	0
30	<b>Klebsiella pneumoniae</b>	-	-	1	0
31	<b>Mycobacterium leprae</b>	-	-	1	0
32	<b>Bartonella bacilliformis</b>	-	-	1	0
33	<b>Fusobacterium fusiforme</b>	-	-	1	0
34	<b>Vibrio fetus</b>	-	-	1	0
35	<b>Vibrio parahaemolyticus</b>	-	-	1	0
36	<b>Смешанная инфекция</b>	4	1	5	0
37	<b>Микоплазмы</b>	-	-	4	0
<b>ВСЕГО</b>		<b>1145</b>	<b>491</b>	<b>1669</b>	<b>69</b>





## По классификации Объединенного Комитета экспертов ФАО/ВОЗ по бруцеллезу род *Brucella* объединяет десять видов, часть из которых подразделяется на биовары

Вид	Биовар	Восприимчивые животные (основной хозяин)	Патогенность для человека
<b><i>B.abortus</i></b>	1	Крупный рогатый скот и другие полорогие	Умеренная, обычно спорадические случаи заболевания
	2		
	3*		
	4		
	5		
	6*		
<b><i>B.melitensis</i></b>	1	Овцы (козы)	Высокая, эпидемический характер заболевания
	2		
	3		
	4		
<b><i>B.suis</i></b>	1	Свиньи	Высокая
	2	Свиньи, зайцы	Нет сообщений
	3	Свиньи	Высокая
	4	Северные олени	Умеренная
	5	Мыши и другие грызуны	Высокая
<b><i>B.neotomae</i></b>	-	Пустынные кустарниковые крысы и лесные хомяки	Нет сообщений
<b><i>B.ovis</i></b>	-	Бараны	Нет сообщений
<b><i>B.canis</i></b>	-	Собаки	Умеренная
<b><i>B.ceti</i></b>	-	Китообразные	Умеренная
<b><i>B.pinnipedialis</i></b>	-	Ластоногие	Умеренная
<b><i>B.microti</i></b>	-	Полевка обыкновенная	Нет сообщений
<b><i>B.inopinata</i></b>	-	Один изолят, выделенный от человека. Животный хозяин не установлен	Нет сообщений





## Диагностика бруцеллеза животных (29.09.2003 г.)

- **Клинико-эпизоотологические данные**

- **Бактериологическое исследование**

- бактериоскопия;
- выделение культуры;
- биопроба.

- **Серологическое исследование**

РА, РСК (РДСК), РИД с О-ПС, РБП, КР с молоком, РНГА, ИФА

- **Аллергическое исследование**

бруцеллин, бруцеллоовин.

- **Молекулярно-генетическое исследование (ПЦР)**





## **Бактериологическое исследование на бруцеллез материала от животных всех видов включает:**

- бактериоскопию;
- выделение культуры бруцелл на питательных средах;
- биологическую пробу на морских свинках.

Бактериологическому исследованию (включая постановку биопробы) подвергают биоматериал от животных с целью уточнения диагноза при положительных результатах серологического исследования и (или) в случае наличия у них признаков, вызывающих подозрение на заболевание бруцеллезом. Все абортированные плоды подлежат обязательному исследованию на бруцеллез.



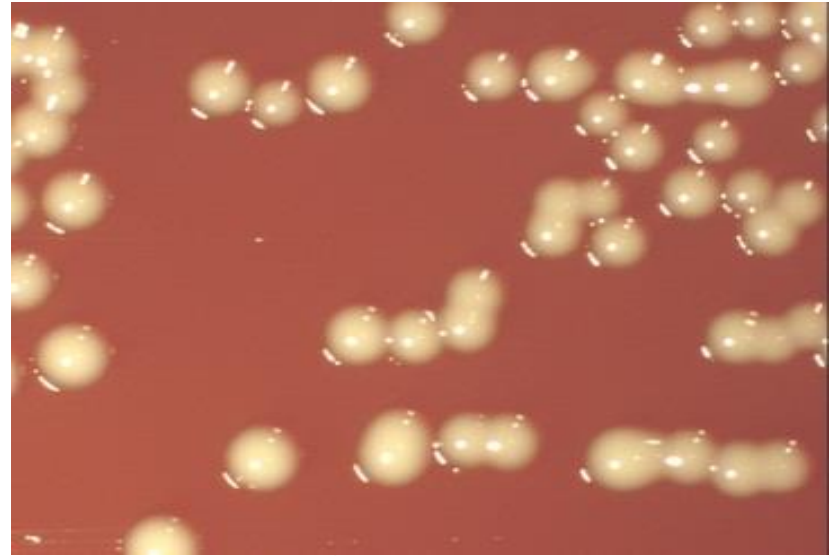












Copyright © 2004 Dennis Kunkel Microscopy, Inc.







# Дифференциально-диагностическая оценка бруцелл

			Лизирование фагами							
			Tb		Wb	Iz1	R/C			
Виды	Морфология колоний	Требование сыворотки	RTD	104 RTD	RTD	RTD	RTD	Оксидаза	Уреазная активность	Хозяин
<i>B. abortus</i>	S	-	+	+	+	+	-	+e	+f	КРС
<i>B. suis</i>	S	-	-	+	+g	+g	-	+	+h	Биовар 1: свинья
										Биовар 2: Свинья, заяц
										Биовар 3: свинья
										Биовар 4: северный олень
										Биовар 5: Дикие грызуны
<i>B. melitensis</i>	S	-	-	-	-i	+	-	+	+j	Овцы и козы
<i>B. neotomae</i>	S	-	-k	+	+	+	-	-	+h	Пустынная крыса
<i>B. ovis</i>	R	+	-	-	-	-	+	-	-	баран
<i>B. canis</i>	R	-	-	-	-	-	+	+	+h	собака
<i>B. ceti</i>	S		+m		+n	+o	-	+	+	китообразные
<i>B. pinnipedialis</i>	S		+m		+n	+o	-	+	+	ластоногие
<i>B. microti</i>	S	-	-	+	+			+	+	полевка



Виды	Биовар	Требование CO2	Производство H2S	Рост в присутствии красителя		Моноспецифичные сыворотки		
				Тионин	Фуксин	A	M	R
<i>B. melitensis</i>	1	-	-	+d	+	-	+	-
	2	-	-	+	+	+	-	-
	3	-	-	+	+	+	+	-
<i>B. abortus</i>	1	+b	+	-	+	+	-	-
	2	+b	+	-	-	+	-	-
	3	+b	+	+	+	+	-	-
	4	+b	+	-	+c	-	+	-
	5	-	-	+	+	-	+	-
	6	-	-	+	+	+	-	-
	9	+ или -	+	+	+	-	+	-
<i>B. suis</i>	1	-	+	+	-e	+	-	-
	2	-	-	+	-	+	-	-
	3	-	-	+	+	+	-	-
	4	-	-	+	-f	+	+	-
	5	-	-	-	-	-	+	-
<i>B. neotomae</i>	-	-	+	-g	-	+	-	-
<i>B. ovis</i>	-	+	-	+	-f	-	-	+
<i>B. canis</i>	-	-	-	+	-f	-	-	+
<i>B. ceti</i>	-	-	-	+d	+	+	-f	-
<i>B. pinnipedialis</i>	-	+	-	+	+	+	-f	-
<i>B. microti</i>	-	-	-	+	+	-	+	-
<i>B. inopinata</i>	-	-	+	+	+	-	+	-



**Результаты сравнительного серологического, молекулярно-генетического и бактериологического исследования на бруцеллез и иерсиниоз 14 образцов сыворотки крови, 11 образцов молока и 96 образцов лимфатических узлов и внутренних органов коров из неблагополучного по бруцеллезу хозяйства**

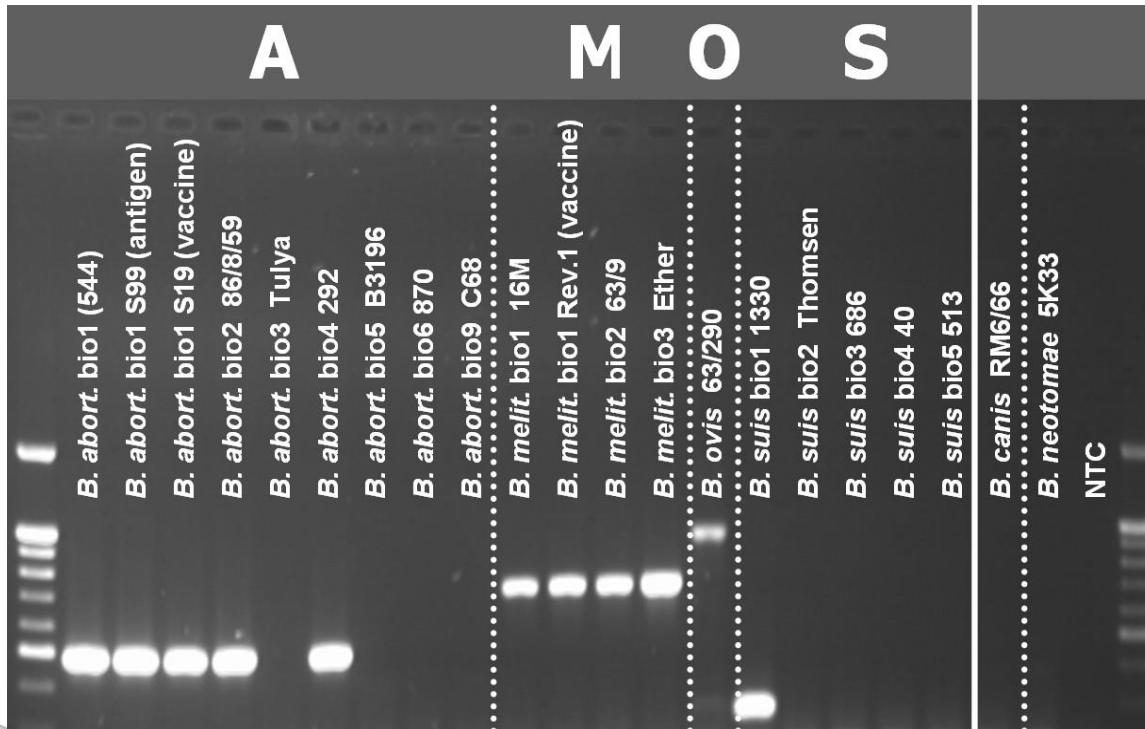
№ п/п	Инв. ном.	РА	РСК	РПБ	ИФА 0,244	РНГА 1:200 +++	КР	ПЦР/бак.исследование			ПЦР "Энтеркол"
								кровь	молоко	Л.узлы, Внутр. органы	
1	99	200+	10+	+	0,362 +	1600 +	-	+/-	+/-	+10/+4	-
2	3787	100+	10+	+	0,303 +	800+	-	+/-	+/-	Не иссл.	-
3	3466	100+	20+	+	0,304 +	1600 +	-	+/-	-/-	+3/+1	-
4	3113	200+	5+	+	0,454 +	800+	+	-/-	+/-	Не иссл.	-
5	3260	200+	10+	+	0,387 +	3200 +	-	-/-	+/-	+12/+7	-
6	3471	200+	10+	+	0,262 +	800+	+	+/-	+/-	Не иссл.	-
7	2344	-	-	-	0,281 +	-	-	+/-	+/-	Не иссл.	-
8	230	200+	-	-	0,141-	400+	+	+/-	+/-	-/-	-
9	3089	100+	10+	+	0,306 +	400+	+	+/-	+/-	Не иссл.	-
10	3457	-	-	-	0,210-	-	-	+/-	+/-	+1/-	-
11	3491	400+	40+	+	0,245 +	3200 +	+	+/-	+/-	+8/+2	-
12	3699	50	-	+	0,238-	400+	-	+/-	Н.л.	Не иссл.	-
13	3157	-	-	-	0,349 +	50-	-	+/-	Н.л.	+3/+1	-
14	3572	100+	-	+	0,278 +	400+	-	+/-	Н.л.	Не иссл.	-
<b>Всего: положительно</b>		<b>10</b>	<b>8</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>11</b>	<b>5</b>	<b>12/-</b>	<b>10/-</b>	<b>(6) 37- 40,4 % / (5) 15- 15,3 %</b>	<b>-</b>



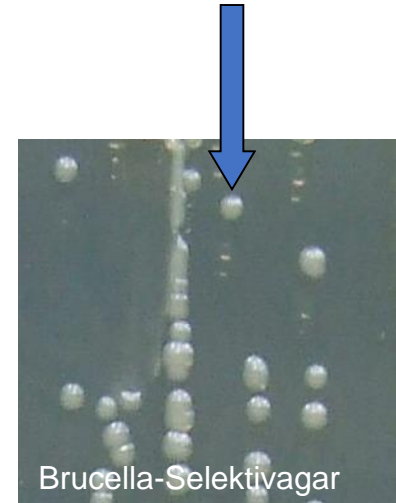
# Целесообразно широкое применение методов молекулярно-генетического тестирования при диагностике бруцеллеза: Diagnosis (colony material)

Species:  
AMOS-PCR (Halling et al., 1993; Bricker et al., 1994)  
repetitive DNA Sequenz IS711

*B. abortus* Biovar 1, 2 und 4                      498 bp  
*B. melitensis*    731 bp  
*B. ovis*    976 bp  
*B. suis* Biovar 1    285 bp



Which  
*Brucella* spp.?





- Сегодня разработаны новые подходы к дифференциации бруцелл в ПЦР на основе **на анализа локусных переменных тандемных повторов возбудителя** (multiple locus variable number tandem repeats analysis – MLVA или VNTR) с праймерами, ограничивающими эти локусы
- MLVA с успехом используются для дифференциации видов и биоваров бруцелл и изучения генетического полиморфизма и родственных связей между изолятами разных видов бруцелл.
- В геномах бруцелл присутствуют **более 100 тандемных повторов**, различной длины от 8 нуклеотидных пар и более, копийности, имеющих видовой и штаммовый генетический полиморфизм
- Этот метод позволяет выходить на новый уровень дифференциации возбудителя бруцеллеза до уровня штамма, что позволит не только дифференцировать вакцинные штаммы от полевых изолятов, но и устанавливать источник инфекции в случае вспышки инфекции, изучать пути передачи, резервуары и ареалы распространения конкретных изолятов бруцелл.



## Результат серологического исследования на бруцеллез крупного рогатого скота, принадлежащих ООО «Аврора» с. Сабуровщино Бабынинского района Калужской области

№ п/п	№ Инв.	Пол, год рождения	Результат исследования											
			РБП	РА МЕ/мл	РСК	РИД	РНГА	ИФА		ПЦР				Бак. исследование
								1*	2*	«Бру-ком»		«Энтеркол»		
										молоко	л.у.	молоко, л.у.		
1	1250	корова 2007	пол.	пол. 200	пол. 1/10	отр.	пол. 6400	отр.	отр.	отр.	отр.	пол.	пол.	пол.
2	3629	теленки 2013	отр.	отр.	отр.	отр.	отр.	отр.	отр.	н.и.	н.и.	н.и.	н.и.	н.и.

Примечание: - 1\* - Набор для диагностики и дифференциальной диагностики бруцеллеза животных иммуноферментным методом (ФГУП «Курская биофабрика»); 2\* - «Набор диагностический для выявления индивидуальных специфических антител класса G к бактериям рода Brucella в сыворотке (плазме) крови крупного рогатого скота иммуноферментным методом» - «Сиббиотест» (г. Новосибирск); л.у. – лимфатические узлы; н.и. – не исследовали.





# СРЕДСТВА И МЕТОДЫ (РЕАКЦИИ) ДИАГНОСТИКИ БРУЦЕЛЛЕЗА ЖИВОТНЫХ, ПРИМЕНЯЕМЫЕ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Название диагностического средства (Организация-производитель)	Название реакции или метода	Интерпретация результата
<b>РАЗРАБОТАНЫ И ВНЕДРЕНЫ В ПРАКТИКУ до 2000 г.</b>		
1. Набор компонентов для диагностики бруцеллеза животных в РА, РСК, РДСК - (ФКП «Щелковский биокомбинат»)	Реакция агглютинации (РА)	Подтверждающий диагноз
	Реакция связывания Комплекмента S-LPS	Подтверждающий
2. Набор компонентов для диагностики бруцеллеза животных в роз бенгал пробе - (ФКП «Щелковский биокомбинат»)	Роз бенгал проба (РБП) (экспресс-тест) S-LPS	Ориентировочный
3. Набор компонентов для диагностики бруцеллеза животных в кольцевой реакции с молоком - (ФКП «Щелковский биокомбинат»)	Кольцевая реакция с молоком (КР) S-LPS	Ориентировочный
4. Набор для серологической диагностики бруцеллеза крупного и мелкого рогатого скота в реакции непрямо́й гемагглютинации (РНГА) – (ООО «Ветмедсервис»)	Реакция непрямо́й гемагглютинации (РНГА) S-LPS	Подтверждающий (альтернативный)
5. Тест-система для диагностики бруцеллеза крупного и мелкого рогатого скота и северных оленей в РИД – (ООО НПЦ «ВетБиоТест»)	Реакция иммунодиффузии в агаровом геле S- OPS	Подтверждающий (дифференциальный)



## РАЗРАБОТАНЫ И ВНЕДРЕНЫ В ПРАКТИКУ ПОСЛЕ 2000 года

<b>6. Набор для выявления антител к антигену S-LPS <i>Brucella abortus</i> и <i>Brucella melitensis</i> иммуноферментным методом «Бруцелла-СЕРОТЕСТ» - (ООО «Ветбиохим)</b>	<b>Конкурентный иммуноферментный анализ S-LPS</b>	<b>Подтверждающий (альтернативный)</b>
<b>7. Набор для выявления иммуноферментным методом собак и других плотоядных, инфицированных <i>B.canis</i> (ФГУП «Курская биофабрика»)</b>	<b>Конкурентный иммуноферментный анализ R - антигеном</b>	<b>Подтверждающий (альтернативный)</b>
<b>8. Набор для диагностики бруцеллеза собак, вызываемого <i>B.canis</i>, в реакции агглютинации и реакции иммунодиффузии - (ООО «Агровет)</b>	<b>РА и РИД R - антигеном</b>	<b>Подтверждающий</b>
<b>9. Набор для дифференциальной серологической диагностики бруцеллеза и контроля иммунного ответа крупного рогатого скота, иммунизированного вакциной из штамма <i>B. abortus</i> 82 - (ФГБУ «ФЦТРБ»)</b>	<b>РСК R - антигеном</b>	<b>Подтверждающий (дифференциальный)</b>
<b>10. Иммунохроматографическая тест-система для определения антител к ЛПС антигену <i>B. abortus</i> и <i>B. melitensis</i> в сыворотке крови крупного рогатого скота и овец - (ФКП «Курская биофабрика»)</b>	<b>Иммунохроматографический S-LPS</b>	<b>Ориентировочный</b>





<p><b>11. Набор для диагностики бруцеллёза крупного и мелкого рогатого скота иммуноферментным методом - (ООО «Научно-производственная фирма Иммунобиотех» г. Курск)</b></p>	<p><b>Непрямой иммуноферментный анализ (ИФА) S-OPS</b></p>	<p><b>Подтверждающий (альтернативный)</b></p>
<p><b>12. «Набор диагностический для выявления индивидуальных специфических антител класса G к бактериям рода Brucella в сыворотке (плазме) крови крупного рогатого скота иммуноферментным методом» - (ООО «Сиббиотест» (г. Новосибирск))*</b></p>	<p><b>Конкурентный иммуноферментный анализ S-LPS</b></p>	<p><b>Подтверждающий</b></p>
<p><b>13. Тест-система «Бру-ком» для выявления возбудителя бруцеллеза животных методом полимеразной цепной реакции - (ООО«ИнтерЛабСервис»)</b></p>	<p><b>Полимерная цепная реакция (ПЦР)</b></p>	<p><b>Подтверждающий</b></p>





## Средства и методы диагностики бруцеллеза собак, вызываемого *B.canis*, зарегистрированные или задекларированные в РФ

Наименование диагностического средства	Наименование реакции или метода	Интерпретация результата
1. Набор компонентов для диагностики бруцеллеза животных в РА, РСК, РДСК	РА	Подтверждающий диагноз
	РСК	Подтверждающий
2. Набор для диагностики и дифференциальной диагностики бруцеллеза животных иммуноферментным методом (ФКП Курская биофабрика)	Конкурентный иммуноферментный анализ	Подтверждающий (дифференциальный)
3. Набор для выявления иммуноферментным методом собак и других плотоядных, инфицированных <i>B.canis</i> (ФКП «Курская биофабрика»)	Конкурентный иммуноферментный анализ	Подтверждающий (альтернативный)
4. Набор для диагностики бруцеллеза собак, вызываемого <i>B.canis</i> , в реакции агглютинации и реакции иммунодиффузии (ООО «Агровет»)	РА и РИД	Подтверждающий
5. Набор для выявления антител к возбудителю бруцеллеза у собак с помощью реакции быстрой агглютинации на стекле (RSAT) "D-TEC CB" ООО "Зоэтис")	РА	Ориентировочный
6. Одношаговый экспресс-тест VetExpert С. Brucella Ab для выявления антител против бруцелл собак "Bionot inc"	ИХА	Подтверждающий
7. Тест-система «Бру-ком» для выявления возбудителя бруцеллеза животных методом полимеразной цепной реакции (ООО «ИнтерЛабСервис»)	Полимерная цепная реакция (ПЦР)	Подтверждающий



# DIAGNOSTIC TECHNIQUES OIE (Terrestrial Manual 2016)

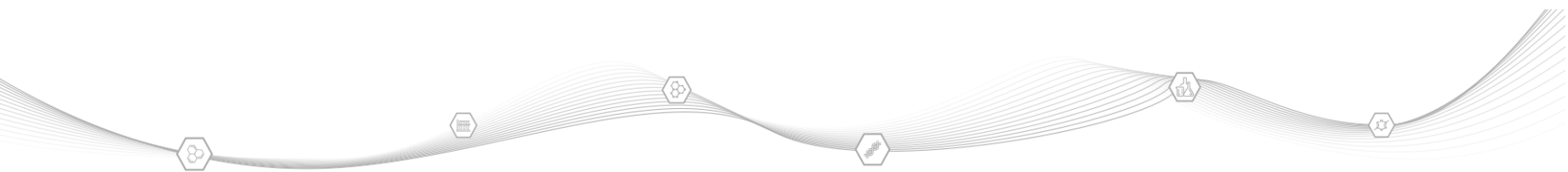
## TEST METHODS AVAILABLE FOR THE DIAGNOSIS OF INFECTION WITH BRUCELLA ABORTUS, MELITENSIS OR SUIS

METHOD	PURPOSE / ЦЕЛЬ					
	Population freedom from infection Свободная от инфекции	Individual animal freedom from infection Отдельная свобода от инфекции	Contribute to eradication policies' Искоренение болезни	Confirmation of suspect or clinical cases Клиника – подтверждение болезни	Herd/flock prevalence of infection – surveillance Распространенность инфекции	Immune status in individual animals or populations post-vaccination Отдельные особи или вакцинация
<b>AGENT IDENTIFICATION / ИДЕНТИФИКАЦИЯ ВОЗБУДИТЕЛЯ</b>						
STAINING METHODS	-	-	-	+	-	n/a
CULTURE	-	-	-	+++	-	n/a
PCR <sup>D</sup>	-	-	-	+ / ++	-	n/a
<b>DETECTION OF IMMUNE RESPONSE / РЕГИСТРАЦИЯ ИММУННОГО ОТВЕТА</b>						
BBAT (RBT or BPAT)	+++	++	+++	+	+++	n/a
FPA	++	++	+	++	++	n/a
CFT	++	++	+++	++	+++	n/a
I-ELISA	+++	++	+++	++	+++	n/a
C-ELISA	++	+	+	+	++	n/a
BST	++	-	+	+++	++	n/a
SAT	++	+	+	-	+	n/a
NH and cytosol protein-based tests <sup>f</sup>	-	-	+	++	-	n/a
BULK MILK TESTS MILK I-ELISA OR MILK RING-TEST	+++	-	+++	+	+++	n/a



Ключ: (+ + +) - рекомендуемый метод; (++) - подходящий метод; (+) - может использоваться в некоторых ситуациях, но стоимость, надежность или другие факторы сильно ограничивают его применение; (-) - не подходит для для исследования с указанной целью; (n/a) - не применимо.

**ПЦР** - полимеразная цепная реакция; **ВВАТ** – Тесты с забуференными бруцеллезными антигенами (т. е. **RBT** [роз бенгал тест] и **ВРАТ** [забуференная пластинчатая реакция агглютинации]); **FPA** - флуоресцентный поляризационный анализ; **CFT** - реакция связывания комплемента; **I-** или **C-ELISA** - не прямой или конкурентный твердофазный иммуноферментный анализ; **BST** – Бруцеллиновый кожный тест; **SAT** – Реакция агглютинации; **NH** - гаптенный тест для выявления неполных антител, распространяется только на стадах/группах, стран или зон, свободных от бруцеллеза.



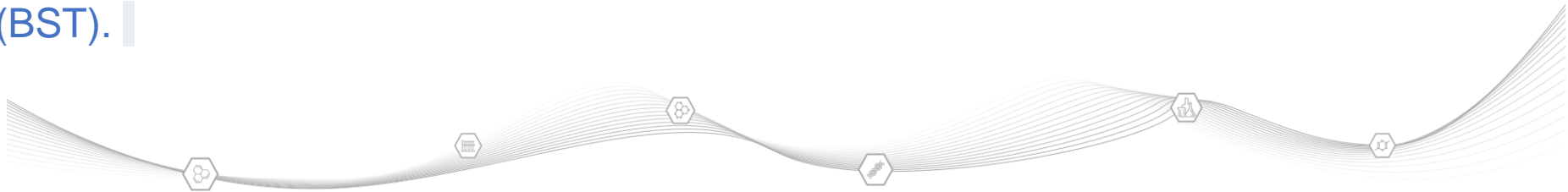


Для повышения эффективности исследования при оздоровлении неблагополучных стад /групп, рекомендуется параллельное тестирование с целью повышения чувствительности диагностики, т. е. использование двух серологических тестов, например, ВВАТ или FPA и CFT или i-ELISA. Чувствительность может быть увеличена путем параллельного серологического и аллергического тестирования.

Низкая распространенность КИИ или почти свободные зоны - прогнозирующее значение положительных результатов для серологических тестов может быть очень низким. В таких ситуациях идентификация агента обычно необходима для подтверждения клинических случаев.

В инфицированных стадах/стадах, положительный результат любого серологического теста может рассматриваться как подтверждение клинического случая. Любой реагирующий в любом серологическом тесте следует считать инфицированным даже при отсутствии клинических признаков.

В зонах с низким уровнем распространенности или почти свободных зонах одиночные серологические реакции могут быть подтверждены выделением культуры (культуральный метод) или ДНК возбудителя (ПЦР) или положительным результатом аллергического исследования с бруцеллином (BST).





В свободных странах или зонах подозреваемые животные являются теми, кто положительно относится как к скринингу, так и к подтверждающему серологическому тесту (тесты последовательно) и могут быть подтверждены культурой (или ПЦР) и/или BST. В EALISE - могут регистрироваться положительные результаты.

Чувствительность и специфичность серологических испытаний у свиней гораздо ниже, чем у жвачных. Поэтому практически невозможно осуществить крупномасштабное серо-наблюдение за популяцией свиней (из-за отсутствия специфики).

Кроме того, в неэндемичных районах, клинические или серологические подозрения должны почти всегда быть подтверждено выделением культуры (или ДНК - в ПЦР) или в аллергической пробе (BST). В зонах, где проводится подкожная вакцинация S19 или Rev. 1, этот тест может помочь в дифференцировании антител.





## Специфическая профилактика бруцеллеза ЖИВОТНЫХ

Разработкой и испытанием противобруцеллезных вакцин в стране начали заниматься в 20-х годах прошлого столетия. при этом было получено (выделено и селекционировано) и изучено более 50 штаммов бруцелл и апробировано более 30 вакцин.

Штаммы и вакцины, считавшиеся наиболее перспективными для применения, были изучены по основным показателям качества «безвредность», «агглютиногенность» «иммуногенная активность» в комиссионных опытах на морских свинках, крупном и мелком рогатом скоте.





# НАИБОЛЕЕ ИЗУЧЕННЫЕ ВАКЦИННЫЕ ШТАММЫ БРУЦЕЛЛ И БРУЦЕЛЛЕЗНЫЕ ВАКЦИНЫ, ЧАСТЬ ИЗ КОТОРЫХ ВНЕДРЕНА В ПРАКТИКУ

№ П/П	НАИМЕНОВАНИЕ ШТАММА	ГОД ВНЕДРЕНИЯ	АВТОРЫ	ВИД ЖИВОТНЫХ	ВНЕДРЕНА В ПРАКТИКУ
1	<b>B.ABORTUS 82</b>	<b>1960</b>	<b>К.М. САЛМАКОВ</b>	<b>КРС</b>	<b>+</b>
2	<b>B.ABORTUS 75/79-AB</b>	<b>1996</b>	<b>К.В. ШУМИЛОВ И.П. НИКИФОРОВ И ДР.</b>	<b>КРС</b>	<b>+</b>
	<b>B.ABORTUS 19</b>	<b>1952</b>	<b>J.M.BUCK</b>	<b>КРС, ОВЦЫ</b>	<b>+</b>
3	<b>B.MELITENSIS REV-1</b>	<b>(1953) 1974</b>	<b>S. ELBERG M. HERZBERG</b>	<b>ОВЦЫ, КОЗЫ</b>	<b>+</b>
4	<b>B.ABORTUS RB-51</b>	<b>1993</b>		<b>CATTLE</b>	<b>+</b>
5	<b>B.ABORTUS KB 17/100</b>	<b>1997</b>	<b>К.В. ШУМИЛОВ В.В. КАЛМЫКОВ</b>	<b>КРС</b>	<b>+</b>
6	<b>B.ABORTUS 45/20</b>	<b>1922</b>	<b>ME EVEN A.D</b>	<b>КРС</b>	<b>+</b>
7	<b>B.MELITENSIS 53H38</b>		<b>RENOUX G.</b>	<b>КРС, МРС</b>	<b>+</b>
8	B.abortus 104 M	1970	К.В. Шумилов, Х.С. Котлярова	крс, овцы	+
9	B.abortus21	1960	В.С. Рягузов	крс	-
10	B.abortus 8	1955	П.Н. Жованик	крс	-
11	B.abortus B-8	1955	П.Н. Жованик	крс	-
12	B.abortus 7/26	1980	П.Н. Жованик	крс	-
13	B.abortus 519	1966	И.А. Косилов	крс	-
14	B.abortus 82 ПЧ	1979	К.М. Салмаков, Г. А. Белозерова	крс	-
15	B.фbortus B-1	1948	Е.С. Орлов	крс	-
16	B.abortus 4004/1	1962	Е.С. Орлов	крс	-
17	B.abortus 16/4	1967-71	П.А. Триленко	крс	-
18	B.abortus 70		К.П. Студенцов	крс	-
19	B. melitensis 56		Е.С. Орлов, А.А. Клочков	крс	-
20	B. melitensis K-24	1971	П.А. Триленко	овцы, козы	-
21	B. melitensis «Невский 12»	1959	И.Н. Невский, М.С. Абиджанов	крс	-
22	B. melitensis «Невский 13»	1980	Р.Г. Яраев, К.В. Шумилов и др.	крс	-
23	B. melitensis 89/23	1964	Л.В. Кириллов	крс	-
24	B.suis 61		М.К. Юсовец	крс	-





# СНИЖЕНИЕ ЧИСЛЕННОСТИ НЕБЛАГОПОЛУЧНЫХ ПУНКТОВ И ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ КРС БРУЦЕЛЛЕЗОМ В БЫВШЕМ СССР

Система вет.-сан. и оздоровительных мероприятий, включающая применение средств специфической профилактики (период)	Кол-во неблагополучных пунктов	Заболе-ло, тыс. гол.	Больных на конец года, тыс. гол.
1. Без применения средств специфической профилактики: 1902 – 1952 гг.	13580	279,6	249,3
2. Иммунизация телок и коров живой сухой вакциной из шт. <i>B.abortus</i> 19: 1953-1970 гг.	3519	156,2	102,9
3 Иммунизация вакциной из шт. <i>B.abortus</i> 19 только телок 5-8 месячного возраста: 1971 - 1974 гг.	5570	286,7	148,3
4. 1975-2019 ( 9 мес.) гг.: иммунизация живой сухой вакциной из шт. <i>B.abortus</i> 82 телок и коров; вакциной из шт. <i>B. abortus</i> 19 - телок 5-8 мес. возраста; с 1997 г. по наст. время - еще и живой сухой вакциной из шт. <i>B. abortus</i> 75/79-AB. Инактивированной адъювант-вакциной из шт. <i>B.abortus</i> KB 17/100.	128	9,057	0,216



# ВАКЦИНЫ ПРОТИВ БРУЦЕЛЛЕЗА , ВЫПУСКАЕМЫЕ И ПРИМЕНЯЕМЫЕ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ В ПЕРИОД С 2009 ПО 2018 ГГ. ВКЛЮЧИТЕЛЬНО

ВАКЦИНА ИЗ ШТАММА	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019
<b>КРУПНЫЙ РОГАТЫЙ СКОТ, ТЫС. ГОЛ.</b>										
<b>B. ABORTUS 82</b>	1722,303	1608,506	1669,541	1740,735	1915,381	1692,519	1400,867	1261,378	1644,324	1612,491
<b>B. ABORTUS 75/79-AB</b>	134,593	111,370	91,258	74,409	110,106	108,453	117,408	89,067	81,651	81,651
<b>B. ABORTUS 19</b>	12,533	11,239	13,437	11,533	12,825	11,101	8,226	5,599	8,078	8,123
<b>МЕЛКИЙ РОГАТЫЙ СКОТ, ТЫС. ГОЛ.</b>										
<b>B. MELITENSIS REV-1</b>	3959,003	3153,001	3510,586	4626,785	3921,257	1879,209	3439,033	2057,894	3352,337	3352,34
<b>B. ABORTUS 19</b>	1694,585	1662,322	1572,127	1650,148	1478,597	1393,122	1318,327	944,315	1180,021	1227,766.



В целом можно утверждать, что вакцины против бруцеллеза, вызываемого *B.abortus*, в первую очередь, против абортос играют центральную роль в программах борьбы с бруцеллезом крупного рогатого скота и успешно используются во всем мире на протяжении десятилетий. Однако из-за некоторых недостатков, выявленных присущих этим вакцинам, было предпринято много усилий для разработки новых вакцин, более безопасных и эффективных, которые также могли бы быть использованы у других восприимчивых видов животных.





Согласно Schurig et al. [2] и Ko и Splitter [3], идеальная вакцина против бруцеллеза должна обладать следующими характеристиками:

бруцеллеза должна обладать следующими характеристиками:

(i) быть живой и способной обеспечить сильный Т-хелперный иммунный ответ типа 1 (Th1);

(ii) не индуцировать антитела, которые мешают серологическим тестам, используемым при диагностике инфицированного крупного рогатого скота, независимо от маршрута, дозы введения, возраста или пола животных;

(iii) быть ослабленной и не вызывать заболевания или персистирующей инфекции у иммунизированных животных и не быть патогенной для человека.;

(iv) быть способной индуцировать сильную и длительную защиту от системных и маточных инфекций, помимо предотвращения аборт, даже у беременных животных, привитых однократной дозой;

(v) не приводить к сероконверсии при ревакцинации;

(vi) быть стабильным и не возвращать вирулентность *in vivo* или *in vitro*;

(vii) быть недорогим, простым в производстве и применении.



Вакцинный штамм RB51 был разработан в 1982 году группой профессора Герхардта Шурига и получен из вирулентного гладкого штамма *B. abortus* biovar 1 2308 [59]. Это естественный мутант, полученный путем последовательных пассажей на средах, содержащих субинибиторные концентрации рифампицина или пенициллина, и отбора одиночных колоний в R-форме. [59]. Вакцина стабильна во время пассажей *in vitro* и *in vivo* и не возвращается к вирулентному фенотипу [59]. Применяется достаточно широко в странах Южной Америки.





Многочисленные достижения в области геномики, протеомики, технологии рекомбинантных ДНК и также в области вакцинологии побудили проведение исследований по созданию вакцин без недостатков, характерных для живых препаратов. В итоге были выполнены исследования по разработке, проверке эффективности или оценке иммунологических реакций к *B. abortus* генно-инженерных вакцин с использованием рекомбинантных генов, белков, векторов и модифицированных штаммов, в основном на мышах.

Однако, за некоторыми исключениями, большинство этих рекомбинантных вакцин не были протестированы или не защищали крупный рогатый скот. Кроме того, важно учитывать, что рекомбинантные вакцины, особенно неживые, имеют ограничения в отношении экономической эффективности из-за необходимости многократных иммунизаций и комбинирования антигенов.



**ДНК-ВАКЦИНЫ.** ДНК-вакцины дают возможность индуцировать как клеточные, так и гуморальные реакции, экспрессия антигенов пролонгирована, они обладают лучшей стабильностью и не требуют создания низкой температуры при хранении. Было исследовано несколько антигенов в качестве ДНК-вакцин против *B. abortus*, обеспечивающих различные уровни защиты.

Однако, несмотря на то, что некоторые показали очень многообещающие результаты на мышах, по крайней мере после четырех бустерных вакцинаций, а также высокая стоимость использования у крупных животных, делают этот тип вакцины непрактичным для крупного рогатого скота, основной цели вакцинации против бруцеллеза.

Более того, за исключением исследований на мышах, практически ни одна ДНК-вакцина не была исследована в естественных хозяевах.



**СУБЪЕДИНИЧНЫЕ ВАКЦИНЫ.** Многие из антигенов, протестированных в качестве ДНК-вакцин, также были оценены как потенциальные антигены для субъединиц вакцин (L7/L12 рибосомный белок; P39; BLS; **OMP16**; Cu/Zn SOD) [14,21,24,37,40].

**Белки наружной мембраны (OMP) V. abortus**, потенциальные иммуногенные антигены, широко изучались в качестве субъединиц вакцин [37,39,43,45]. Нелипидированные рекомбинантные **OMP16** и **OMP19**, а также инкапсулированная рекомбинантная липосома **OMP25** давали защиту, сравнимую с **S19** у вакцинированных мышей после заражения [37,39,45]. Кроме того, субъединица вакцины **OMP28** повышала устойчивость к заражению вирулентной культурой *V. abortus*, но на более низком уровне, чем живые аттенуированные вакцины [43].

Потенциальное применение субъединичных вакцин *V. abortus* в полевых условиях весьма ограничено, хотя и были получены некоторые обнадеживающие результаты. **Потребность в каких-то промоторах, адъювантах и комбинации нескольких антигенов пока делает их экономически непригодным для крупного рогатого скота.** Кроме того, важно учитывать, что реакция, наблюдаемая у мышей, может не отражать защиту, достигнутую у естественных хозяев после вакцинации.



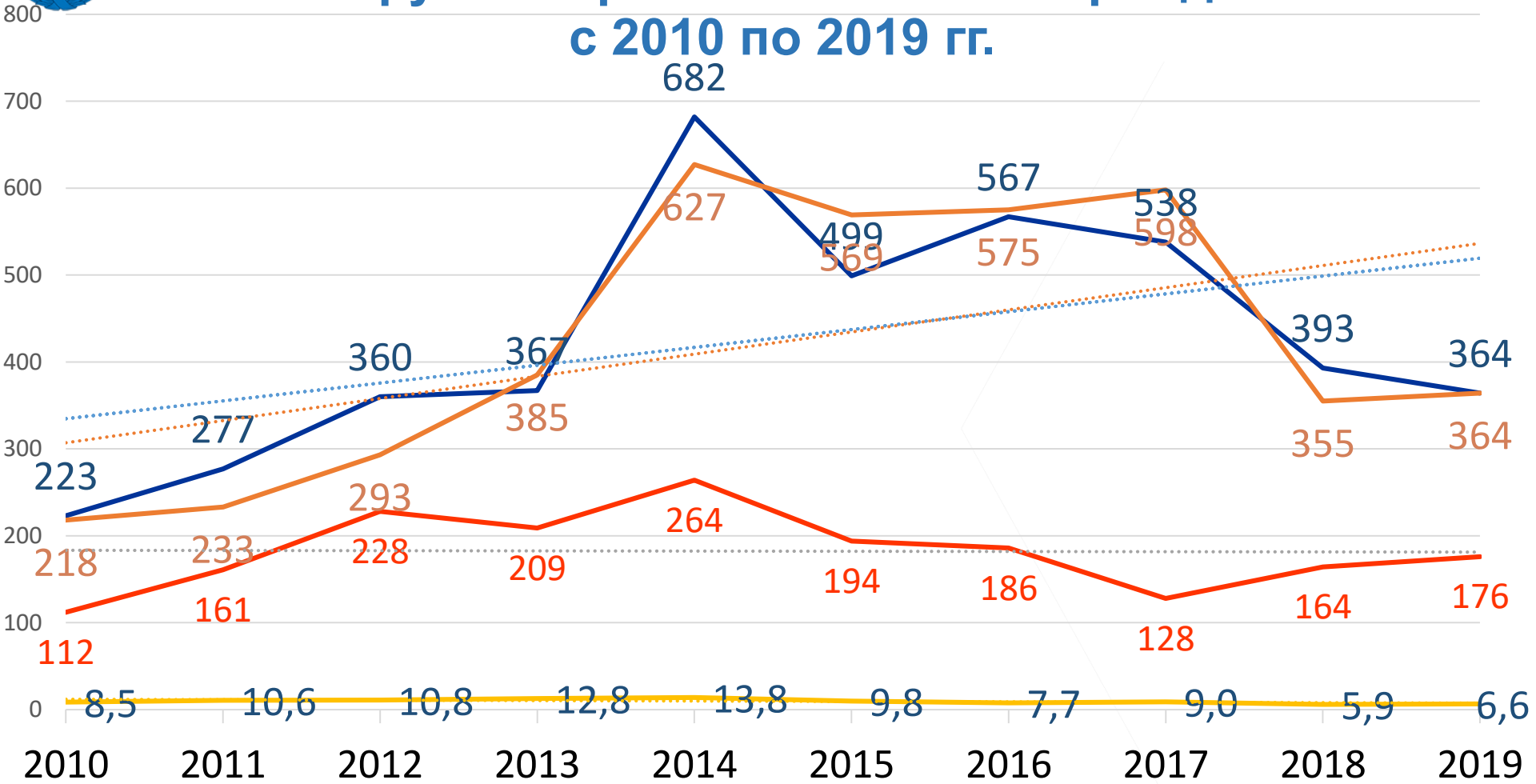


**Векторные вакцины.** В качестве альтернативы гены, кодирующие иммунодоминантные антигены *B. abortus*, могут быть введены в аттенуированные вирусы или бактерии, которые служат векторными вакцинами. Гены *B. abortus* были успешно экспрессированы в вирусах (вирус леса Семлики и вирус осповакцины) и бактерии (*Escherichia coli*, *Ochrobactrum anthropi*, *Lactococcus lactis*, *Salmonella enterica* subsp *enterica* serovar *Typhimurium* и *B. abortus*) [16,20,26,28,35,38,44,86]. *Escherichia coli*, *O. anthropi* (плюс неметирированные CpG-мотивы) и *L. lactis*, экспрессирующие Cu/Zn СОД-антиген *B. abortus* были способны вызывать иммунный ответ Th1 и защищать мышей после заражения вирулентным *B. abortus* [20,28,44,86].





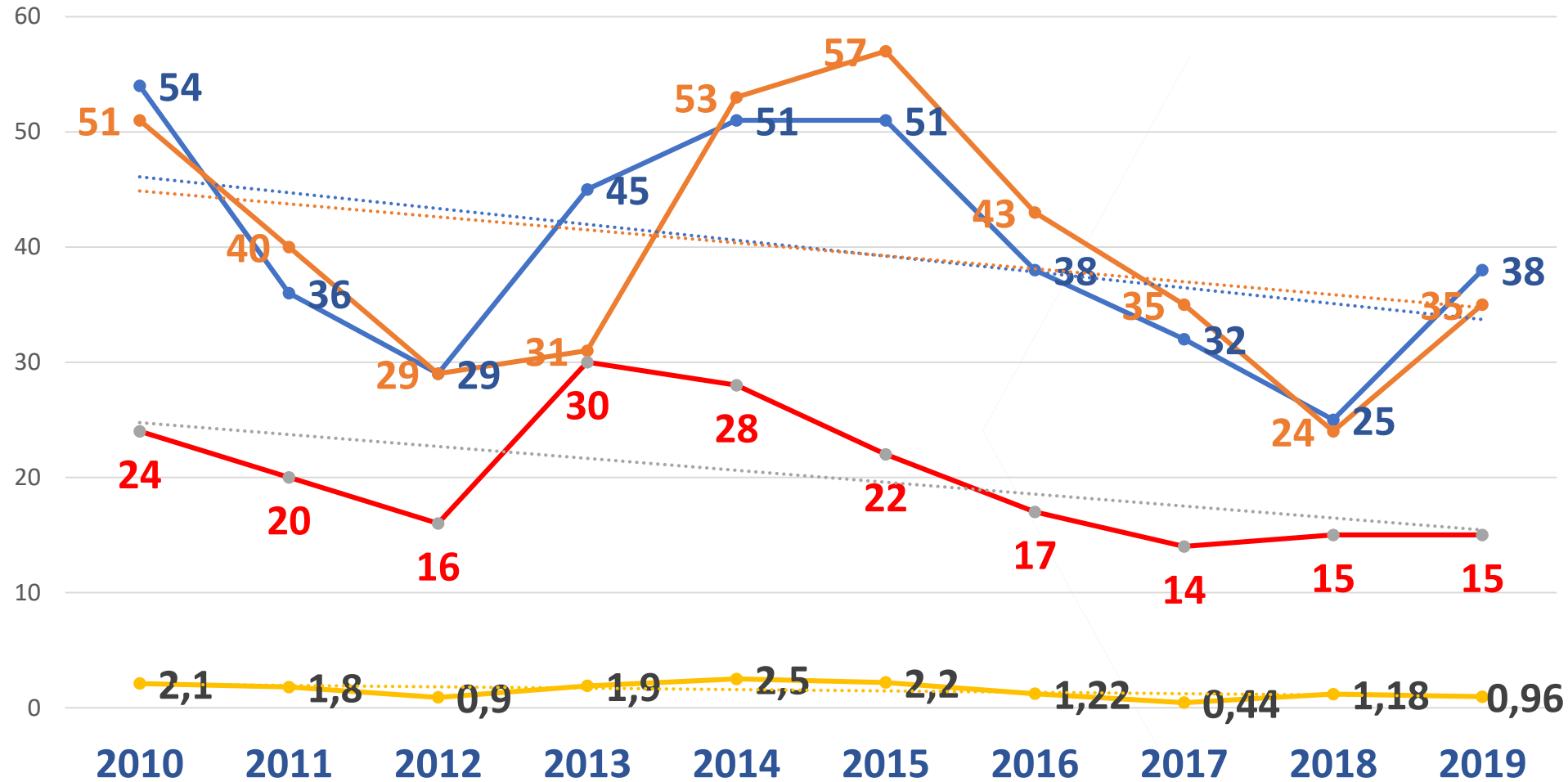
# Эпизоотологические данные по бруцеллезу крупного рогатого скота в период с 2010 по 2019 гг.



- Выявлено н.п. КРС в течение года
- Оздоровлено н.п. КРС в течение года
- Осталось н.п. на конец года
- Заболело, тыс. гол.
- ..... Линейная (Выявлено н.п. КРС в течение года)
- ..... Линейная (Выявлено н.п. КРС в течение года)
- ..... Линейная (Оздоровлено н.п. КРС в течение года)
- ..... Линейная (Заболело, тыс. гол.)



# Эпизоотологические данные по бруцеллезу мелкого рогатого скота в период с 2010 по 2019 гг.



—●— Выявлено новых н.п. МРС в течение года

—●— Оздоровлено н.п. МРС в течение года

—●— Осталось н.п. на конец года

—●— Заболело, тыс.гол.

..... Линейная (Выявлено новых н.п. МРС в течение года)

..... Линейная (Оздоровлено н.п. МРС в течение года)

..... Линейная (Осталось н.п. на конец года)

..... Линейная (Заболело, тыс.гол.)



В плане совершенствования системы контроля бруцеллеза в период с 2010 года по настоящее время в стране разработаны нормативные документы или их проекты, регламентирующие проведение диагностики и специфической профилактики болезни, ограничительных, ветеринарно-санитарных и организационно-хозяйственных мероприятий.





ГОСТ 33675-2015  
МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ  
Животные

ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА БРУЦЕЛЛЕЗА  
Бактериологические методы

Animals. Laboratory diagnostics of brucellosis. Bacteriological methods  
Дата введения 2017-07-01

ГОСТ 34105-2-17  
МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ  
Животные

ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА БРУЦЕЛЛЕЗА  
Серологические методы

Animals. Laboratory diagnostics of brucellosis. Serological methods  
Дата введения 2018-07-01





# «ВЕТЕРИНАРНЫЕ ПРАВИЛА ПРОВЕДЕНИЯ РЕГИОНАЛИЗАЦИИ ТЕРРИТОРИИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ»

(утв. приказом Министерства сельского хозяйства РФ от 14 декабря 2015 г. № 635)

Зарегистрировано в Минюсте РФ 23 марта 2016 г.

Регистрационный № 41508

Регламентируют принятие решений, в случае возникновения угрозы распространения заразных болезней животных, о запрете перемещения, ограничении перемещения или установлении условий перемещения восприимчивых к данной болезни животных и подконтрольных товаров в регион, где имеется субпопуляция восприимчивых животных, которые могут повлечь за собой занос заразной болезни животных (ее возбудителя) в данный регион, при следующих типах перевозок:

- при ввозе из неблагополучного региона в регион с неустановленным статусом;
- при ввозе из неблагополучного региона в благополучный регион;
- при ввозе из региона с неустановленным статусом в благополучный регион;
- при ввозе из региона с вакцинацией в регион без вакцинации;
- при ввозе из региона высокого риска в регион низкого риска;
- при ввозе из региона высокого риска в регион среднего риска;
- при ввозе из региона среднего риска в регион низкого риска;
- при вывозе из зоны исключения, при вывозе из защитной зоны.



# «ВЕТЕРИНАРНЫЕ ПРАВИЛА ОСУЩЕСТВЛЕНИЯ ПРОФИЛАКТИЧЕСКИХ, ДИАГНОСТИЧЕСКИХ, ОГРАНИЧИТЕЛЬНЫХ И ИНЫХ МЕРОПРИЯТИЙ, УСТАНОВЛЕНИЯ ОГРАНИЧЕНИЙ НАПРАВЛЕННЫХ НА ПРЕДОТВРАЩЕНИЕ ВОЗНИКНОВЕНИЯ, РАСПРОСТРАНЕНИЯ И ЛИКВИДАЦИЮ ОЧАГОВ БРУЦЕЛЛЕЗА ЖИВОТНЫХ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ»

Правилами предусмотрено максимально широко использовать при оздоровлении неблагополучных по бруцеллезу хозяйств способ полной замены поголовья неблагополучного по бруцеллезу пункта здоровыми животными.

Установлены диагностические критерии для всех основных видов животных, восприимчивых к заболеванию бруцеллезом.

С целью максимально быстрой диагностики болезни при получении положительных результатов серологических тестов, недостаточных для установления диагноза у животных благополучных по бруцеллезу хозяйств, предусмотрено проведение дополнительного комплекса дифференциально-диагностических исследований (РИД с О-ПС антигеном, ИФА с О-ПС антигеном, молекулярно-генетические исследования, направленные на выявление наличия в патологическом материале ДНК бруцелл и иерсиний)





## СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ СИСТЕМЫ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ПРОФИЛАКТИКИ БРУЦЕЛЛЕЗА ЖИВОТНЫХ ПРЕДПОЛАГАЕТСЯ ЗА СЧЕТ ШИРОКОГО ПРИМЕНЕНИЯ НОВЫХ ПРОВОЦИРУЮЩИХ АНТИГЕНОВ, ЗАРЕГИСТРИРОВАННЫХ В РФ В 2013 г.:

- «Антиген из штамма *Brucella abortus* R-1096 для выявления латентных форм бруцеллеза у крупного рогатого скота» - ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ»  
Антиген предназначен для:

- провокации S-бруцеллезных антител у инфицированных бруцеллами животных с латентной или скрытой формой болезни с целью выявления и удаления их стада;

- сенсibilизации неиммунизированного против бруцеллеза крупного рогатого скота в неблагополучных по бруцеллезу хозяйствах или в благополучных хозяйствах, угрожаемых по заносу возбудителя инфекции перед иммунизацией вакциной из штамма *B. abortus* 82 с целью профилактики, вызываемых ею абортотв;

- ежегодного в течение 2-3 лет введения коровам, иммунизированным вакциной из штамма *B. abortus* 82 с целью поддержания перманентного иммунитета без поствакцинальной серопозитивности.





## «Антиген БИВ для выявления скрытых форм бруцеллеза у крупного рогатого скота» - ФКП «Щелковский биокомбинат»

### Антиген предназначен для:

- выявления скрытых форм бруцеллеза у крупного рогатого скота в хозяйствах всех форм собственности неблагополучных и угрожаемых по заносу возбудителя, в которых не проводится специфическая профилактика болезни.

Антиген вводят крупному рогатому скоту, начиная с 3-х месячного возраста.

Перед применением антигена животных исследуют на бруцеллез в РА и РСК или РНГА, или ИФА. В хозяйствах неблагополучных по бруцеллезу на убой сдают положительно и сомнительно реагирующих животных; в угрожаемых - положительно реагирующих.

Антиген вводят животным не более 4 раз в год с интервалом 3 месяца. Через 15 и 30 суток животных исследуют на бруцеллез в РА и РСК (РДСК) или РНГА, или ИФА и далее через каждые 30 суток до получения двух подряд отрицательных результатов. Всех животных положительно и сомнительно реагирующих на бруцеллез сдают на убой.





## ПРЕДЛОЖЕНА НОВАЯ РЕДАКЦИЯ ПОРЯДКА ОТМЕНЫ ОГРАНИЧЕНИЙ В ХОЗЯЙСТВАХ НЕБЛАГОПОЛУЧНЫХ ПО БРУЦЕЛЛЕЗУ, ПРЕДУСМАТРИВАЮЩАЯ РЕАЛИЗАЦИЮ:

- убоя больных животных в срок не более 15 дней после их выявления;
- получения двукратных с интервалом в 30 дней отрицательных результатов серологических исследований поголовья оздоравливаемого неблагополучного пункта (за исключением карантинируемого ввозного поголовья животных, реагирующего при серологическом исследовании на бруцеллез в диагностических титрах, вся группа (партия) которого должна быть отправлена на убой);
- исследования с отрицательным результатом всего поголовья восприимчивых животных других видов, в том числе собак, в эпизоотическом очаге (неблагополучном пункте) и проведения других мероприятий, предусмотренных Правилами;
- - получение двукратных отрицательных результатов серологических исследований поголовья неблагополучного пункта с интервалом не менее 3 месяцев в течение 6 месячного контрольного срока.





## С целью искоренение бруцеллеза необходимо решить следующие, преимущественно организационно хозяйственные проблемы :

- включения бруцеллеза в перечень особо опасных болезней;
- компенсации владельцам убытка, неизбежного при изъятии больных животных, в первую очередь, в условиях ведения отгонного животноводства;
- создания на территориях субъектов РФ неблагополучных по бруцеллезу мясокомбинатов и боен, выполняющих убой больных бруцеллезом животных (решает проблему неполного, несвоевременного и антисанитарного убоя);
- разработки дифференциальной диагностики бруцеллеза овец, вакцинированных агглютиногенными вакцинами;
- прекращения введения нетелей и ярок в стада и отары взрослых животных;
- ограничения концентрация поголовья в хозяйствах молочного направления деятельности на территориях неблагополучных по бруцеллезу;
- оперативного завершения реализуемой в стране программы идентификации (мечения) животных.





**РОССЕЛЬХОЗНАДЗОР**  
Федеральное государственное бюджетное  
учреждение «Всероссийский  
государственный  
Центр качества и стандартизации  
лекарственных средств для животных и  
кормов»  
ФГБУ «ВГНКИ»



**Спасибо за внимание !**

