

На правах рукописи



ХАЛИКОВ АХМЕД АЛИАСХАБОВИЧ

**ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ РНГА С СЫВОРОТКОЙ КРОВИ И
МОЛОКОМ ПРИ БРУЦЕЛЛЕЗЕ ОВЕЦ И КОЗ**

06.02.02 ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с
микотоксикологией и иммунология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата ветеринарных наук

Краснодар – 2022

Работа выполнена в Прикаспийском зональном научно-исследовательском ветеринарном институте – филиал ФГБНУ «ФАНЦ РД» (г. Махачкала)

Научный руководитель **Юсупов Омар Юсупович,**
Заслуженный ветврач и Заслуженный деятель науки Республики Дагестан, доктор ветеринарных наук, профессор.

Официальные оппоненты **Агольцов Валерий Александрович,**
Доктор ветеринарных наук, профессор кафедры «Болезни животных и ветеринарно-санитарная экспертиза» ФГБОУ ВО «Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И. Вавилова»

Дмитриев Анатолий Федорович,
Заслуженный деятель науки РФ, доктор ветеринарных наук, профессор кафедры «Эпизоотологии и микробиологии» ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет»

Ведущая организация Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Омский аграрный научный центр»

Защита диссертации состоится «14» апреля 2022 г. в 13:00 часов на заседании диссертационного совета Д 220.038.07 на базе ФГБОУ ВО «Кубанский государственный аграрный университет имени И.Т. Трубилина» по адресу: 350044, г. Краснодар, ул. Калинина, 13, корпус факультета ветеринарной медицины.

С диссертацией и авторефератом можно ознакомиться в библиотеке университета и на сайтах: ФГБОУ ВО «Кубанский государственный аграрный университет имени И.Т. Трубилина» - [http: // www. Kubsau.ru](http://www.Kubsau.ru) [http: и ВАК // Vak.ed.gov.ru](http://Vak.ed.gov.ru)

Автореферат разослан «___» _____ 2022 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
кандидат ветеринарных наук



Диана Петровна Винокурова

Общая характеристика работы

Актуальность темы. Бруцеллез овец и коз имеет широкое распространение во многих странах мира и ряде областей, краев и республик РФ, особенно широко – в Южном и Северо – Кавказском федеральных округах, в том числе и в Дагестане. Заболевание наносит большой экономический ущерб и представляет серьезную опасность здоровью людей.

Характерной особенностью бруцеллеза овец и коз является длительное хроническое, часто, латентное течение болезни. В связи с этим, своевременное выявление больных животных имеет при бруцеллезе важное значение. Однако, широко применяемые в практике для прижизненной диагностики методы (РА, РСК, РБП, РИД) не позволяют выявить значительный процент зараженных бруцеллезом животных, особенно в свежих очагах инфекции, когда важно своевременное их выявление (Е.С. Орлов, К.В. Шумилов, 1971; G. Kolar, 1984; R. Festerbank, 1977; М.Е. Тавамайшвили, 1986 и др.)

Большие трудности возникают при диагностике бруцеллеза у овец и коз.

По мнению G. Kolar (1984), для исследования овец и коз на бруцеллез обычно применяются те же диагностические тесты, какие используются для диагностики бруцеллеза у крупного рогатого скота, но эффективность их в отношении мелкого рогатого скота ниже. При этом часто не удается выявить всех зараженных овец, особенно коз.

R. Festerbank (1977) по линии Международного эпизоотического бюро (МЭБ) проанализировал отчеты о результатах испытания и применения в различных странах разных методов диагностики бруцеллеза овец и коз. На основании проведенного анализа и результатов собственных исследований он пришел к заключению, что применяемый в практике комплекс диагностических тестов не позволяет идентифицировать более 70% инфицированных бруцеллезом овец и коз.

Орлов Е.С. (1971) объясняет недостаточную эффективность традиционных методов диагностики бруцеллеза овец и коз (РА, РСК) слабой серологической активностью специфических антител у животных данного вида. К такому же выводу пришел П.А. Триленко (1954), который установил, что иммунные бруцеллезные сыворотки и молоко у овец отличаются по свойству агглютинировать гомологичный антиген, то есть проявляют разную иммунную активность. По мнению автора, очень часто многократные исследования в РА, даже в сочетании с РСК, не приводят к очистке стада от больных бруцеллезом животных.

Отличительной особенностью бруцеллеза овец и коз является также низкое содержание в сыворотке крови и молоке специфических антител, что затрудняет диагностику болезни.

По мнению известного испанского ученого В. Szyfres (1964), основная трудность при осуществлении профилактики бруцеллеза у мелких жвачных животных состоит в отсутствии точных диагностических средств для обнаружения и удаления из стад зараженных животных, в связи с чем, ученые

должны стремиться к совершенствованию диагностических методов выявления бруцеллеза у животных данного вида.

Анализ имеющихся литературных данных свидетельствует о целесообразности применения для диагностики бруцеллеза овец и коз РНГА с эритроцитарным антигеном, разработанным по способу Прикаспийского зонального НИВИ, ВГНКИ и ВНИИБТЖ.

О применении для диагностики бруцеллеза у овец и коз РНГА имеются сообщения отдельных исследователей (С.Г. Хаиров, 2005; И.Ф. Таран, Б.П. Цыбин, 1977; П.К. Аракелян, О.В. Бондарева и др. 2011 и др.), которые установили специфичность, более высокую чувствительность этой реакции, по сравнению с РА, РСК, а также пригодность применения её для диагностики бруцеллеза у животных данного вида.

Однако, специальные исследования по изучению диагностического значения РНГА при бруцеллезе овец и коз, в сравнении с другими серологическими реакциями, с подробным и глубоким анализом результатов исследований еще не проведены.

Что касается применения РНГА с молоком для диагностики бруцеллеза овец и коз, то до наших исследований этот вопрос оставался неизученным и работа проведена впервые. Учитывая изложенное, нами выполнены специальные опыты по испытанию РНГА с применением высокочувствительного эритроцитарного диагностикума для исследования сывороток крови и молока при бруцеллезе овец и коз.

Степень разработанности проблемы. Рост народонаселения на планете и растущие потребности в высокоценных продуктах питания, в частности, мясе и молоке диктуют необходимость дальнейшего развития животноводства и ставят перед ветеринарной наукой и практикой сложные задачи совершенствования системы ветеринарно-санитарных мероприятий с целью снижения потерь от заболеваемости и падежа животных при опасных инфекционных и других болезнях и улучшения качества продуктов питания, в частности, бруцеллезе животных. Однако, искоренение бруцеллеза представляет нелегкую проблему, которая в значительной степени зависит от эффективности применяемых в практике мер борьбы, в частности, методов диагностики.

Исследования по разработке и совершенствованию методов диагностики бруцеллеза проводились отечественными и зарубежными исследователями (С.Н. Вышелесский 1955, П.Ф. Здродовский 1972, П.А. Вершилова 1974, М.К. Юсковец 1960, Е.С. Орлов 1954, П.С. Уласевич 1980, М.М. Иванов 1976, П.А. Триленко 1954, А.Н. Касьянов 1987, П.И. Жованик 1975, О.И. Морякова 1961, К.В. Шумилов 2007, О.Д. Склярлов 2011, М.П. Альбертян 2004, Л.В. Дегтяренко 2005, П.К. Аракелян 2013, В. Huber 2002, J. Marie 2016, G. Alton 1981 и др.) на протяжении всего периода после открытия возбудителя болезни и продолжают до сих пор.

Тем не менее, применяемые в настоящее время методы массовой диагностики бруцеллеза животных, особенно овец и коз, не во всех случаях достаточно эффективны и требуют дальнейшего совершенствования.

Цель и задачи исследований. Основная цель исследований заключалась в разработке способа изготовления высокоэффективного бруцеллезного эритроцитарного диагностикума для РНГА и изучении диагностического значения применения его для исследования сыворотки крови и молока овец и коз в РНГА, в сравнении с другими, широко применяемыми в практике, серологическими реакциями (РА, РСК, РБП и др.).

Для её реализации ставились следующие задачи:

- разработать способ изготовления высокоэффективного бруцеллезного эритроцитарного диагностикума для РНГА;
- провести контрольную проверку вновь изготовленного бруцеллезного эритроцитарного диагностикума для РНГА, в сравнении с эритроцитарным диагностикумом, изготовленным по известному способу Прикаспийского зонального НИВИ, ВГНКИ и ВНИИБТЖ, для диагностики бруцеллеза овец и коз;
- провести испытание эффективности РНГА с сывороткой крови, в сравнении с РА и РСК, для диагностики бруцеллеза овец и коз;
- изучить диагностическое значение РНГА с сывороткой крови при исследовании овец и коз на бруцеллез в сравнении с Роз-бенгал пробой;
- испытать РНГА с сывороткой крови для диагностики бруцеллеза овец и коз в сравнении с РИД с О-ПС антигеном;
- изучить диагностическое значение РНГА с сывороткой крови при бруцеллезе овец и коз в сравнении с методом ИФА;
- определить диагностическое значение нового экспресс-метода диагностики бруцеллеза у лактирующих овец и коз с применением РНГА с молоком.

Основные положения, выносимые на защиту:

- разработка способа изготовления высокоэффективного эритроцитарного диагностикума для РНГА;
- изучение диагностической ценности РНГА для исследования овец и коз на бруцеллез, в сравнении с РА, РСК, РБП, РИД с О-ПС антигеном, ИФА;
- разработать новый экспресс-метод диагностики бруцеллеза у лактирующих овец и коз с применением РНГА с молоком.

Научная новизна. Впервые разработан высокоспецифичный и высокоактивный бруцеллезный эритроцитарный диагностикум для РНГА. На способ получения бруцеллезного эритроцитарного диагностикума для реакции непрямой гемагглютинации (РНГА) получен патент на изобретение (RU 2667121 от 31.10.2016).

Впервые изучена диагностическая эффективность РНГА с новым эритроцитарным диагностикумом и доказаны её значительные преимущества, по сравнению с РА, РСК, РБП, РИД с О-ПС антигеном и ИФА, для диагностики бруцеллеза мелкого рогатого скота.

Разработан новый экспресс-метод диагностики с применением РНГА с молоком для диагностики бруцеллеза у лактирующих овец и коз.

Теоретическая и практическая значимость работы. Проведенными исследованиями автором установлено, что при бруцеллезе овец и коз РНГА с

испытуемым диагностикумом является наиболее чувствительной диагностической реакцией, которая позволяет выявить всех животных как с положительными, так и сомнительными показаниями РА, РСК, РБП и РИД с О-ПС антигеном и в более ранние сроки после заражения бруцеллезом.

Материалы диссертационной работы использованы при составлении:

- Методических рекомендаций «Диагностика бруцеллеза овец и коз с применением реакции непрямой гемагглютинации (РНГА)», / утвержденных Ученым советом Прикаспийского зонального НИВИ – филиал ФГБНУ «ФАНЦ РД» (протокол № 4 от 31 июля 2019 г.);

- Методических рекомендаций «Применение РНГА с усовершенствованным антигеном в Наборе для серологической диагностики бруцеллеза крупного и мелкого рогатого скота в реакции непрямой гемагглютинации (РНГА)» / рассмотренных и одобренных Ученым советом СКЗНИВИ – филиал ФГБНУ ФРАНЦ (протокол № 2 от 24 марта 2020 г.) и утвержденный Управлением ветеринарии Ростовской области от 8 апреля 2020 г.

Степень достоверности и апробация результатов исследований

Достоверность полученных результатов подтверждается использованием большого объема фактического материала и современных методик исследований, а в необходимых случаях – проведением повторных исследований.

Основные положения диссертационной работы доложены и обсуждены на: заседаниях Ученого совета Прикаспийского зонального НИВИ – филиал «ФАНЦ РД» и научных конференциях;

- международной юбилейной научно-практической конференции, посвященной 50-летию ФГБНУ Прикаспийского зонального НИВИ «Успехи современной ветеринарной медицины в установлении благополучия региона по заболеваниям сельскохозяйственных животных» (Махачкала 6-7 сентября 2017 г.);

- региональной научно-практической конференции «Проблемы ветеринарной науки и пути их решения» (Махачкала 4-5 сентября 2019 г.);

- международной научно-практической конференции «Современные тенденции и успехи в борьбе с зооантропонозами сельскохозяйственных животных и птиц» (Махачкала 3-4 декабря 2020 г.).

Научные публикации.

Материалы диссертации отражены в научных трудах: 15 статьях, 10 из которых – в изданиях ВАК Минобрнауки РФ, 2-х методических рекомендациях. Новизна полученных данных подтверждена 1 Патентом РФ.

Личный вклад соискателя. Автором проведен глубокий анализ научной литературы и подробное обоснование темы диссертации, что дало основание наметить цель и задачи исследований.

Выполнен большой объем поисковой и экспериментальной работы. На основании результатов проведенных исследований соискатель пришел к заключению и выводам, имеющим большое научное и практическое значение.

Большинство экспериментов, анализ результатов исследований, обобщение и оформление диссертационных материалов сделаны автором лично.

Часть исследований по испытанию РНГА с молоком при бруцеллезе овец и коз проведена при участии научных сотрудников лаборатории Э.А. Яниковой, М.М. Микаилова. Исследования сывороток крови овец и коз на бруцеллез в ИФА выполнены на базе ГБУ «Кропоткинская краевая ветеринарная лаборатория» Краснодарского края, совместно с сотрудниками лаборатории, при участии диссертанта.

Внедрение результатов исследований. Результаты исследований внедрены в производство. Предприятие ООО «Ветмедсервис», созданное на базе Прикаспийского зонального НИВИ, освоило производство и готовит по заявкам ветеринарных служб субъектов Российской Федерации бруцеллезный эритроцитарный диагностикум для РНГА, по разработанному диссертантом способу для практического применения.

Структура диссертации.

Диссертация изложена на 121 страницах компьютерного текста и состоит из введения, обзора литературы, собственных исследований, заключения, выводов, списка литературы и приложений. Работа иллюстрирована 20 таблицами.

Список литературы включает 186 источников, в том числе 56 – иностранных авторов.

2 СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Материалы и методы исследования

Исследования проводились с 2015 по 2021 гг. в лаборатории инфекционной патологии сельскохозяйственных животных Прикаспийского зонального НИВИ – филиал ФГБНУ «ФАНЦ РД», согласно утвержденным тематическим планам НИР по заданиям: «22. Молекулярно-биологические и нанобиотехнологические методы создания биопрепаратов нового поколения, технологии и способы их применения с целью борьбы с особо опасными инфекционными, паразитарными и незаразными болезнями животных» (№ госрегистрации 7.721017821.11.8.001.7) и «Оптимизация методов профилактики и борьбы с наиболее распространенными и опасными хроническими инфекционными заболеваниями животных: лейкозом и туберкулезом крупного рогатого скота, бруцеллезом крупного и мелкого рогатого скота в условиях Прикаспийского региона России с применением научно-обоснованных ветеринарно-санитарных мероприятий и усовершенствованных способов диагностики» (№ госрегистрации 0733-2019-0010).

При изготовлении бруцеллезного эритроцитарного диагностикума для РНГА сенситин для нагрузки (сенсibilизации) стабилизированных эритроцитов извлекали из бакмассы бруцелл слабовирулентного высокоантигенного штамма V.abortus 19, выращенных на плотной питательной среде путем автоклавирования в гипертоническом 12%-ном растворе хлористого натрия, т.е. методом солевого извлечения.

Формалинизацию эритроцитов барана проводили по методу Weinbach в модификации Прикаспийского зонального НИВИ.

Исследования сывороток крови в РА, РСК, РБП, РИД с О-ПС антигеном проводили по общепринятым методикам, используя биофабричные антигены.

ИФА ставили с применением тест-системы производства фирмы ООО «Сиббиотест» на базе ГБУ «Крапоткинская краевая ветеринарная лаборатория» Краснодарского края, с участием автора диссертации.

Для изучения диагностического значения РНГА с испытуемым эритроцитарным диагностикумом исследовали сыворотки крови 6234 овец и коз разного возраста благополучных и неблагополучных по бруцеллезу хозяйств, а также 14 сывороток крови овце- и козematок, абортировавших на почве бруцеллеза, 41 сыворотку крови племенных баранов, положительно реагирующих в РДСК на инфекционный эпидидимит, пробы молока от 615 овец и коз благополучных и 443 овец и коз – неблагополучных по бруцеллезу хозяйств, а также молоко от абортировавших и свежеинфицированных 11 овец и коз.

2.2 Результаты исследований по разработке способа изготовления бруцеллезного эритроцитарного диагностикума для РНГА

Диагностическое значение РНГА при бруцеллезе овец и коз начали изучать с применения эритроцитарного диагностикума, изготовленного по способу, разработанному Прикаспийским зональным НИВИ, ВГНКИ и ВНИИБТЖ – метода, обладающего высокой диагностической эффективностью при бруцеллезе животных, по сравнению с широко применяемыми в практике традиционными диагностическими тестами – РА, РСК, РБП.

Однако, в процессе работы по испытанию РНГА и изготовлению эритроцитарного диагностикума возникла непредвиденная проблема. Вскоре после развала Советского Союза Новочеркасский завод синтетических продуктов (НЗСП) – единственное в стране предприятие – производитель детергента – «Прогресс», необходимого для изготовления эритроцитарного диагностикума, был закрыт из-за банкротства и производство препарата «Прогресс» было прекращено.

В результате проведенной поисковой работы, нами установлена возможность замены препарата «Прогресс» НЗСП отечественными поверхностноактивными средствами: концентрированным поверхностно активным универсальным моющим средством «Прогресс», производства ООО «АМС Медиа» (г. Лосино-Петровский Московской области), в сочетании с препаратом додецилсульфатом натрия.

При сочетанном применении в оптимальных концентрациях для обработки суспензии бруцелл указанных детергентов и последующей сенсibilизации этой композицией формализированных эритроцитов не только улучшалось экстрагирование из бруцелл антигенных комплексов, как это было показано С.Г. Хаировым и А.А. Шахбановым (2001), но и повышались адсорбционные свойства эритроцитов, в связи с чем происходило полное насыщение рецепторов эритроцитов антигенными комплексами бруцелл, в результате чего повышалась активность диагностикума (таблица 1).

Таблица 1 – Результаты проверки активности и специфичности диагностикума, изготовленного путем обработки суспензии бруцелл новыми детергентами

Количество антигена на 1мл 10% взвеси формализированных эритроцитов в	Титры РНГА							
	со стандартным образцом сыворотки антибруцелла абортус					с негативной сывороткой		
	1:200	1:400	1:800	1:1600	1:3200	1:50	1:100	1:200
1,0	++++	++++	+++	++	-	-	-	-
1,5	++++	++++	++++	+++	-	-	-	-
2,0	++++	++++	++++	++++	+	-	-	-
2,5	++++	++++	++++	++++	++	-	-	-
3,0	++++	++++	++++	++++	++	-	-	-

Как видно из данных, приведенных в таблице 1, вновь изготовленный диагностикум обладал специфичностью и высокой активностью, имел титр со стандартной сывороткой 1:1600 +++++, что соответствует требованиям ТУ.

В процессе работы по изготовлению диагностикума нами установлено, что оптимальными концентрациями, обеспечивающими получение специфичного и высокоактивного диагностикума являются: для средства «Прогресс» - 4,0-4,5%, додецилсульфата натрия – 0,2-0,25% к объему 70-80 миллиардной (в 1 мл) взвеси бруцелл в 12%-ном гипертоническом растворе хлористого натрия. Из методов стабилизации эритроцитов наиболее простым и позволяющим получить высокоактивный препарат, при его серийном производстве, как показали наши исследования, является способ формализации эритроцитов, предложенный Вайнбах в модификации Прикаспийского зонального НИВИ.

Что касается режима сенсibilизации эритроцитов, то наши исследования показали, что адсорбция антигена (сенситина) формализированными эритроцитами происходит наиболее интенсивно при более высокой температуре (45-50° С), что позволяет уменьшить время сенсibilизации эритроцитов с 16-18 до 2-х часов.

Немаловажное значение для получения высокоактивного и стандартного эритроцитарного диагностикума имело также применение сенситина в оптимальной дозе, которую следует определять путем титрации сенситина с использованием стандартного образца сыворотки антибруцелла абортус.

Таким образом, в результате проведенных исследований нами были определены основные технологические решения, позволяющие получить высокочувствительный эритроцитарный диагностикум для РНГА.

2.3 Результаты контрольных испытаний вновь изготовленного эритроцитарного диагностикума для РНГА, в сравнении с эритроцитарным диагностикумом, изготовленным по известному способу

При контрольной проверке с применением стандартного образца сыворотки антибруцелла абортус было установлено, что эритроцитарный диагностикум, изготовленный с сочетанным применением новых детергентов, обладал такой же активностью, как эритроцитарный диагностикум, получаемый по известному способу Прикаспийского зонального НИВИ, ВГНКИ и ВНИИБТЖ, с применением поверхностно-активного средства «Прогресс» НЗСП. Активность обоих диагностикумов при исследовании в РНГА стандартного образца сыворотки антибруцелла абортус обеспечивал титр 1:1600 с интенсивностью в 4 креста, что соответствует требованиям, утвержденным ТУ.

При исследовании негативной сыворотки с обоими диагностикумами получена отрицательная РНГА, что свидетельствует о специфичности показаний диагностикумов.

Оба диагностикума были испытаны нами для исследования в РНГА, в сравнении с РА, РСК, РБП, РИД, сывороток крови 52 овец и коз из неблагополучного по бруцеллезу хозяйства. При этом с применением обоих диагностикумов получили одинаковые результаты. Испытуемый новый диагностикум, так же как диагностикум, изготовленный по известному способу, при использовании для постановки РНГА выявил всех животных, положительно реагирующих на бруцеллез в широко применяемых в ветеринарной практике серологических реакциях (РА, РСК, РБП, РИД с О-ПС антигеном).

С применением нового способа предприятие ООО «Ветмедсервис», созданное на базе Прикаспийского зонального НИВИ, изготовило в 2017 и 2018 гг. 771 и 710 «Наборов для серологической диагностики бруцеллеза крупного и мелкого рогатого скота в реакции непрямой гемагглютинации (РНГА)». Результаты испытания Наборов с целью контроля их качества были одобрены Отделом сертификации ФГБНУ «ВГНКИ» с выдачей Декларации о соответствии, что дает право для их реализации и практического применения. Все Наборы были использованы ветеринарными лабораториями Республики Дагестан и некоторых других субъектов РФ, рекламаций на них не поступило.

Таким образом, в результате проведенных исследований нами был разработан способ изготовления высокоактивного специфичного и стандартного эритроцитарного диагностикума для РНГА, не отличающегося от диагностикума, получаемого по известному способу Прикаспийского зонального НИВИ, ВГНКИ и ВНИИБТЖ. На способ изготовления диагностикума получен патент на изобретение (RU 2667121 от 31.10.2016).

2.4 Результаты изучения диагностического значения РНГА с сывороткой крови и молоком при бруцеллезе овец и коз

2.4.1 Испытание эффективности РНГА с сывороткой крови, в сравнении с РА и РСК, для диагностики бруцеллеза овец и коз

Специфичность РНГА с применением изготовленного в лабораторных условиях испытуемого эритроцитарного диагностикума изучали путем

исследования на бруцеллез, в сравнении с РА и РСК, сывороток крови 323 овцематок, 165 ярок и 129 племенных баранов из благополучных по бруцеллезу хозяйств и 14 проб сывороток крови племенных баранов, положительно реагирующих в РДСК на инфекционный эпидидимит.

Ни в одном случае положительно или сомнительно реагирующих в РНГА на бруцеллез животных, так же как и по другим диагностическим тестам, не выявлено, что свидетельствует о специфичности РНГА с применением изготовленного нами в лабораторных условиях эритроцитарного диагностикума.

С целью изучения диагностического значения РНГА в одном неблагополучном по бруцеллезу хозяйстве (ЛПХ Кизилюртовского района РД) со свежезанесенной инфекцией, вскоре после регистрации первых случаев абортов исследовали сыворотки крови от 776 овцематок (таблица 2).

Таблица 2 – Результаты испытания РНГА, в сравнении с РА и РСК, для исследования сывороток крови овцематок неблагополучного по бруцеллезу хозяйства

РНГА		РА, МЕ				РСК			РА+РСК		
титр	к-во	отр	25	50	100	пол	сом	отр	пол	сом	отр
отр	635	635	-	-	-	-	-	635			635
1:25	28	12	16	-	-	2	3	23	2	16	10
1:50	46	24	12	10	-	3	3	40	13	8	25
1:100	32	18	8	5	1	8	5	19	18	4	10
1:200	15	2	3	7	3	14	1	-	15	-	-
1:400	20	4	2	6	8	19	1	-	20	-	-
В т.ч.											
пол	113		40				46			68	
%	14,5		5,1				5,9			8,7	
сом	28		41				13			28	
Всего	776		776				776			776	

Как видно из приведенных в таблице 2 данных, РНГА является из всех испытанных методов наиболее чувствительной диагностической реакцией. Применение её позволило выявить 14,5% больных бруцеллезом овец, тогда как с помощью комплекса РА+РСК диагноз на бруцеллез был установлен у 8,7% животных.

С целью испытания преимущества РНГА, по сравнению с РА и РСК, для установления этиологии абортов и выявления свежеинфицированных бруцеллезом овец, были исследованы сыворотки крови 6 абортировавших вскоре после заноса в хозяйства возбудителя бруцеллеза и содержащихся с ними в одной отаре 24 нормально обьягнвившихся маток одной племенной овцеводческой бригады. При этом у 5 маток из 6 абортировавших и у 2-х из 24 нормально обьягнвившихся, получена положительная РНГА в титрах 1:100 – 1:800; положительно в РА реагировало 4, сомнительно – 3 овцематки. Положительная РСК получена у 5 овцематок. Эти данные свидетельствуют о преимуществе РНГА перед другими реакциями при исследовании на бруцеллез абортировавших и свежеинфицированных овцематок.

На этой же овцеводческой ферме в РНГА, в сравнении с РА и РСК, были исследованы сыворотки крови 318 племенных баранов (таблицы 3).

Таблица 3 – Результаты исследования сывороток крови племенных баранов неблагополучного по бруцеллезу хозяйства в РНГА, РА, РСК

Исследовано проб	РНГА		РА		РСК		РА+РСК	
	пол.	сом.	пол.	сом.	пол.	сом.	пол.	сом.
318	17	9	4	4	8	2	10	3
%	5,3		1,8		2,5		3,1	

Из приведенных в таблице 3 данных видно, что наиболее эффективной из испытанных диагностических тестов является РНГА, которая выявила дополнительно к комплексу РА+РСК 7 положительно реагирующих на бруцеллез баранов, наименее чувствительным методом диагностики оказалась РА, с помощью которой бруцеллез установлен только у 4-х баранов.

В другой неблагополучной по бруцеллезу отаре в РНГА, в сравнении с РА и РСК, исследовали сыворотки крови 946 овцематок и ярок (таблица 4).

Таблица 4 – Результаты исследования на бруцеллез сывороток крови овцематок и ярок различными методами диагностики

Исследовано проб	РНГА		РА		РСК		РА+РСК	
	пол.	сом.	пол.	сом.	пол.	сом.	пол.	сом.
946	85	5	17	18	45	3	46	14
100%	9,0%		1,8%		4,7%		4,8%	

Из таблицы 4 видно, что РНГА выявила на 4,2 % больше реагирующих на бруцеллез овец, чем РА и РСК, вместе взятые.

Пробирочная РА, по сравнению с РНГА, недовыявила 68 больных бруцеллезом овец, что составляет 7,1% от числа исследованных животных.

Результаты изучения диагностического значения РНГА с применением испытуемого эритроцитарного диагностикума дают основание рекомендовать широкое применение этой реакции для раннего и более полного выявления зараженных бруцеллезом овец и коз и контроля благополучия овцеводческих хозяйств по бруцеллезу.

Что касается диагностического значения пробирочной РА, то проведенные исследования показали, что эта реакция является наименее чувствительным и малоприменимым для практического применения методом диагностики бруцеллеза.

2.4.2 Результаты испытания РНГА с сывороткой крови для диагностики бруцеллеза овец и коз, в сравнении с Роз-бенгал пробой (РБП)

С применением РНГА и РБП на бруцеллез исследовали, в сравнении с РА и РСК, сыворотки крови 210 овцематок, 165 ярок, 129 племенных баранов благополучных по бруцеллезу хозяйств, а также 27 плембаранов, больных инфекционным эпидидимитом. Со всеми сыворотками во всех реакциях получены отрицательные результаты, что свидетельствует о специфичности показаний испытанных реакций.

Поскольку РБП, по данным многих отечественных и зарубежных исследователей (М.И. Искандаров, 2009; Л.В. Дегтяренко, 2011; Д.М. Мирзоев,

2012; С.А. Расулов, 2018; D.G. Croft, 1972; W.I. Brinlay – Morgan, 1974; M.J. Ductoroy, 2017;), улавливает в сыворотке крови животных специфические антитела, в большинстве случаев, в более ранние сроки после заражения бруцеллезом, чем традиционные серологические реакции, нами впервые была испытана эта реакция, в сравнении с РНГА с применением изготовленного предприятием ООО «Ветмедсервис» с нашим участием эритроцитарного диагностикума и в РА и РСК, для установления этиологии абортот и выявления свежееинфицированных бруцеллезом овец и коз.

С этой целью в РНГА, РБП, РА и РСК на бруцеллез были исследованы сыворотки крови 8 абортировавших овцематок и 3-х коз, а также 32 нормально обьягившихся овце-, козематок, содержащихся с ними в одной отаре с остропротекающей инфекцией и высокой зараженностью животных бруцеллезом. При этом РНГА выявила специфические бруцеллезные антитела у всех абортировавших и 4-х нормально обьягивших овец и коз. Эта реакция позволила установить этиологию абортот у всех абортировавших и выявить 4-х свежееинфицированных бруцеллезом овец и коз (из 32 гол.)

Второе место по количеству выявленных бруцеллезных животных среди абортировавших и нормально обьягившихся овец и коз занимала РБП.

В неблагополучном по бруцеллезу хозяйстве, где была зарегистрирована острая вспышка бруцеллеза, сопровождавшаяся массовыми абортотами, в РНГА, в сравнении с РБП и другими серологическими реакциями (РА, РСК), были исследованы сыворотки крови 580 овцематок (таблица 5).

Таблица 5 – Результаты испытания РНГА для диагностики бруцеллеза овец, в сравнении с РБП и другими серологическими реакциями, в остром очаге бруцеллезной инфекции

РНГА		РБП	РА,МЕ				РСК				РА+РСК
титр	кол		25	50	100	200	1:5	1:10	1:20	1:40	
1:25	26	24					5	2			7
1:50	52	40	1	5	1		12	6	4	6	28
1:100	21	14		7	1		2	4	3	9	18
1:200	18	12	2	6	4	6	2	2	4	10	18
1:400	27	20		7	11	7			2	19	25
1:800	11	8		2	5	4				10	11
1:1600	6	3				6				6	6
Итого	161	121	3	27	22	23	21	14	13	60	114
пол	135	121	72				108				114
%	23,2	20,8	12,4				18,6				19,6
сомит.	26		3				-				3
отриц.	419	459	505				472				463
Всего	580	580	580				580				580

Проведенный сравнительный анализ результатов исследований показал, что все овцы как с положительными, так и сомнительными показаниями РА, РСК, РБП, реагируют и в РНГА. Вместе с тем, РНГА выявила дополнительно к

РА+РСК – 21 (3,7%), РБП – 14 (2,4%) положительно реагирующих на бруцеллез овец.

С помощью Роз-бенгал пробы бруцеллез установлен у 121 (20,8%) овцематки и эта реакция уступила по количеству выделенных больных бруцеллезом овец только РНГА. Исследования подтвердили высокую чувствительность РБП и пригодность её для диагностики бруцеллеза у мелкого рогатого скота.

2.4.3 Испытание РНГА с сывороткой крови для диагностики бруцеллеза у овец и коз, в сравнении с РИД с О-ПС антигеном

По имеющимся данным, мнения исследователей (В.М. Чекишев, 1993; П.К. Аракелян, 1996; Л.В. Дегтяренко, А.А. Новицкий и др. 2002; Н.А. Морозова, 2002; С.Г. Хаиров, 2007; Е.Г. Бондарев, 2017 и др.) в отношении диагностического значения РИД с О-ПС антигеном расходятся и несмотря на это, ветеринарные лаборатории продолжают широко применять её в своей работе, особенно для дифференциации поствакцинальных реакций у крупного рогатого скота, иммунизированного вакциной из штамма 82 от реакций зараженного бруцеллезом.

Учитывая, что объективная оценка широко применяемых в ветеринарии методов диагностики бруцеллеза имеет большое научное и практическое значение, нами проведены специальные исследования по изучению диагностического значения РИД с О-ПС антигеном, в сравнении с РНГА и другими официально принятыми серологическими реакциями, при бруцеллезе мелкого рогатого скота.

С этой целью исследовали сыворотки крови 600 овцематок неблагополучной по бруцеллезу отары, ЛПХ Ногайского района, где была зарегистрирована острая вспышка бруцеллеза, сопровождавшаяся массовыми абортами и высокой заболеваемостью маток (таблица 6).

Таблица 6 – Результаты испытания РНГА для диагностики бруцеллеза овец и коз, в сравнении с РИД и другими серологическими реакциями, в остром очаге бруцеллезной инфекции

РНГА		РИД	РА,МЕ					РСК				РА+РСК
титр	кол-во		25	50	100	200	400	1:5	1:10	1:20	1:40	
1:25	26	1						5	2			7
1:50	62	3	1	5	1			12	6	4	6	33
1:100	26	1		7	1			3	5	3	9	20
1:200	23	2	2	6	4	7		2	2	4	10	23
1:400	27	11		7	11	6	1			2	21	26
1:800	11	8		2	5	3	1				10	11
1:1600	6	4				2	4				6	6
Итого	225	30	3	27	22	18	6	22	15	13	62	126
в т.ч. пол.	155	30	73					112				126
%	25,8	5,0	12,0					18,7				21,5

Продолжение												
РНГА		РИД	РА,МЕ					РСК				РА+РСК
тирт	кол-во		25	50	100	200	400	1:5	1:10	1:20	1:40	
сомн.	26	-	3					-				3
отриц.	419	570	524					488				471
Всего	600	600	600					600				600

Проведенный сравнительный анализ результатов исследований (таблица 6) показал, что все овцы как с положительными, так и сомнительными показаниями РА, РСК и РИД, реагируют и в РНГА и эта реакция выявляет дополнительно к РИД 125 (20,8%), РА+РСК – 29 (4,8%) положительно реагирующих на бруцеллез овец. Вместе с тем, РИД с О-ПС антигеном, по сравнению с РНГА, не выявила 125 больных бруцеллезом овец. Причем, отрицательные результаты РИД с О-ПС антигеном были получены с сыворотками крови 17 овец, реагировавших в РНГА в титрах 1:400-1:1600 и одновременно в РСК – 1:40, а также 23-х овец, реагировавших в РНГА 1:200 и РСК в высоких титрах (1:20 – 1:40), т.е. даже в тех случаях, когда животные заболели острым бруцеллезом в генерализованной форме и инфицированность животных возбудителем бруцеллеза не вызывает сомнений.

Таким образом, проведенные исследования показали непригодность использования РИД с О-ПС антигеном в качестве метода диагностики бруцеллеза овец.

2.4.4 Диагностическое значение РНГА с сывороткой крови при бруцеллезе овец и коз, в сравнении с ИФА

Учитывая высокую диагностическую эффективность ИФА и РНГА при бруцеллезе, нами проведены специальные исследования по сравнительному испытанию этих диагностических тестов при бруцеллезе овец и коз.

Для изучения специфичности РНГА с испытуемым эритроцитарным диагностикумом и ИФА с применением тест-системы производства Сиббиотест под контролем РА, РСК, РБП и РИД были исследованы сыворотки крови 50 овец и коз из благополучного по бруцеллезу хозяйства.

По всем реакциям получены отрицательные результаты.

С целью выявления естественного бруцеллеза, РНГА, в сравнении с ИФА, была испытана для исследования сывороток крови 54 голов мелкого рогатого скота одного неблагополучного по бруцеллезу фермерского хозяйства (таблица 7).

Таблица 7 – Результаты испытания РНГА, в сравнении с ИФА, для исследования на бруцеллез сывороток крови мелкого рогатого скота неблагополучного по бруцеллезу хозяйства

П/П №	К-во овец	Результаты исследования									
		РНГА					ИФА	РА, МЕ	РСК	РБП	РИД
		1:25	1:50	1:100	1:200	1:400					
1	1	#	#	#	+++	++	сом.	-	1:5	пол.	-
2	1	#	#	+++	++	-	сом.	-	1:5	-	-
3	1	#	#	+++	++	-	сом.	-	1:20	пол.	-

Продолжение											
П/П №	к-во овец	РНГА					ИФА	РА, МЕ	РСК	РБП	РИД
		1:25	1:50	1:100	1:200	1:400					
4	1	#	#	#	#	#	сом.	200	1:40	пол.	пол.
5	1	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	1	#	#	++	-	-	-	-	-	-	-
7	1	#	#	+++	-	-	сом.	-	1:20	-	-
8	1	-	-	-	-	-	-	-	1:20	-	-
9	1	#	#	+++	-	-	сом.	25	1:5	пол.	-
10	1	+++	-	-	-	-	сом.	-	1:5	-	-
11	1	#	#	#	#	+++	пол.	-	1:40	пол.	-
12	1	#	+++	++	-	-	сом.	50	-	-	-
13	1	#	#	#	#	+++	пол.	-	1:20	пол.	-
14	41	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Итого	пол.	10					2	2	7	6	1
	сомн.	2					8	1	3	-	-
	отр.	42					44	51	44	48	53

Как видно из приведенных в таблице 7 данных, при исследовании на бруцеллез сывороток крови 54 овец и коз, положительная РНГА в тирах 1:50 – 1:400 получена у 10 (18,5%), сомнительная – 2-х (3,7%) голов, положительная ИФА – 2-х (3,7%), сомнительная – 8 (14,8%). Из остальных серологических реакций положительный диагноз на бруцеллез был установлен с помощью РСК – у 7 (13%), РА – 2-х (3,7%), РБП – 6 (11,1%) и РИД с О-ПС антигеном – у одной головы (1,9%).

Всего в РНГА реагировало 12, ИФА – 10 овец и коз. Причем, из реагировавших в РНГА 12 животных, 3 имели высокий титр гемагглютининов, тогда как из реагировавших в ИФА 10 овец в 8 случаях был сомнительный результат.

Таким образом, проведенные исследования показали, что РНГА по диагностической эффективности значительно превосходит все остальные тесты, в том числе и ИФА. Однако, несмотря на эти результаты, мы не делаем окончательный вывод о том, что РНГА, по сравнению с ИФА, при диагностике бруцеллеза овец и коз обладает более высокой чувствительностью. Для изучения этого вопроса требуется проведение дальнейших специальных исследований с применением других тест-систем ИФА и на большем количестве животных.

2.4.5 Диагностическое значение нового экспресс-метода диагностики бруцеллеза у лактирующих овец и коз с применением РНГА с молоком

В связи с тем, что при бруцеллезе овец и коз возбудитель часто локализуется в вымени и длительное время сохраняется в нем, изыскание метода выявления специфических антител в молоке для диагностики бруцеллеза заслуживает большего внимания. Для этого предложен целый ряд реакций. Из них наиболее демонстративной и простой в выполнении является кольцевая реакция с молоком (КР). Она официально применяется для исследования на бруцеллез коровьего молока.

Однако, у исследователей нет единого мнения о пригодности её для исследования молока овец и коз и, видимо, по этой причине она не входит в число официально принятых методов диагностики бруцеллеза мелкого рогатого скота и не используется в практике.

Одним из существенных недостатков КР с молоком овец и коз является недостаточная чувствительность этой реакции, из-за низкого содержания в молоке специфических антител и слабой серологической активности, по сравнению с антителами, содержащимися в коровьем молоке (G. Kolar, 1984; П.А. Триленко, 1954). В связи с этим, для их выявления возникает необходимость в применении более чувствительного метода диагностики. С этой целью нами была испытана РНГА с применением эритроцитарного диагностикума, изготовленного с нашим участием в ООО «Ветмедсервис».

Для этого в РНГА, в сравнении с КР с молоком и РА и РСК, были исследованы пробы молока от 615 овец и коз из благополучных и 443 овец и коз – неблагополучных по бруцеллезу хозяйств Республики Дагестан.

При исследовании в РНГА молока от овец и коз благополучных по бруцеллезу хозяйств, не реагирующих в РНГА, РА и РСК с сывороткой крови, во всех случаях получены отрицательные результаты, т.е. неспецифические реакции не получены.

Результаты исследования в РНГА с молоком овец и коз неблагополучных по бруцеллезу хозяйств приведены в таблице 8.

Таблица 8 – Результаты испытания РНГА для исследования молока овец и коз неблагополучных по бруцеллезу хозяйств

Исследовано овец и коз	Реагировало положительно в			
	РНГА с молоком	КР с молоком	РНГА с сывороткой крови	РА+РСК
443	32	12	32	25
100%	7,2%	2,7%	7,2%	5,6%

Как видно из приведенных в таблице 8 данных, РНГА с молоком, по сравнению с КР с молоком и РА и РСК, является более чувствительной реакцией, которая выявила дополнительно к КР с молоком - 20 и дополнительно к комплексу РА+РСК – 7 больных бруцеллезом овец и коз, что составляет, соответственно, 4,5% и 1,5% к числу подвергнутых исследованию животных.

При испытании РНГА с молоком для исследования на бруцеллез сывороток крови абортировавших 8 коз и 3-х овцематок, также установлено большое преимущество этой реакции по сравнению с КР с молоком и РА и РСК с сывороткой крови и целесообразность применения её для установления этиологии абортотворения и выявления свежееинфицированных бруцеллезом овце-, козематок в острых очагах инфекции.

3 ВЫВОДЫ

1. Анализ имеющихся литературных источников по изучению особенностей течения бруцеллеза овец и коз, разработке и испытанию различных методов диагностики свидетельствует о необходимости изыскания для исследования на бруцеллез животных данного вида эффективных методов и средств диагностики и целесообразность испытания для этой цели реакции непрямой гемагглютинации (РНГА) с применением высокоактивного эритроцитарного диагностикума.

2. Разработан новый способ изготовления специфичного и высокочувствительного бруцеллезного эритроцитарного диагностикума для РНГА, с применением в качестве детергентов поверхностно-активного средства «Прогресс» производства ООО «АМС Медиа» (г. Лосино-Петровский Московской области), в сочетании с поверхностно-активным препаратом – додецилсульфатом натрия. На способ изготовления диагностикума получен патент на изобретение (RU 2667121).

3. Экспериментально доказано что новый способ позволяет изготовить такой же высокоактивный, специфичный, стандартный и стабильный бруцеллезный эритроцитарный диагностикум для РНГА, получаемого по известному способу предложенному Прикаспийским зональным НИВИ, ВГНКИ и ВНИИБТЖ, имеющий такой же титр (1:1600 с оценкой в четыре или три креста) со стандартным образцом сыворотки антибруцелла абортус.

Оба диагностикума были равноценны по диагностической эффективности и выявляли в неблагополучном по бруцеллезу стаде одинаковое количество больных бруцеллезом овец и коз.

4. На большом фактическом материале установлено, что РНГА с применением нового диагностикума является наиболее эффективным диагностическим тестом, по сравнению с применяемыми в практике методами серологической диагностики бруцеллеза (РА, РСК, РБП, РИД), заслуживающим широкого применения в качестве самостоятельного метода диагностики для исследования сывороток крови овец и коз на бруцеллез в системе профилактических и оздоровительных противобруцеллезных мероприятий и пригодным для массовых исследований животных с целью осуществления эпизоотического контроля за благополучием отар по бруцеллезу.

5. В результате сравнительных исследований на бруцеллез сывороток крови овец и коз разными диагностическими тестами доказано, что РНГА практически во всех случаях полностью поглощает показания РА, РСК, РБП и РИД, в связи с чем одна эта реакция может заменить все широко применяемые для диагностики бруцеллеза серологические методы.

6. Установлено большое преимущество РНГА с применением сконструированного нами нового эритроцитарного диагностикума, которое заключается в том, что она выявляет зараженных бруцеллезом овец и коз в более ранние сроки, чем РА, РСК и РБП, после инфицирования *B. melitensis*, что имеет важное практическое значение.

7. Предложен новый экспресс-метод диагностики бруцеллеза у лактирующих овце-, козematок с применением РНГА со сконструированным нами

эритроцитарным диагностикумом для исследования овечьего и козьего молока. Установлена специфичность и более высокая чувствительность его по сравнению с КР с молоком и широко применяемыми в практике традиционными серологическими реакциями (РА, РСК с сывороткой крови) при диагностике бруцеллеза.

8. Определены диагностические титры РНГА с молоком овец и коз, с использованием для постановки этой реакции нового бруцеллезного эритроцитарного диагностикума.

Доказано, что наличие титра РНГА в разведениях молока 1:8 и выше, с оценкой в четыре или три креста, является достоверным показателем бруцеллезной инфекции у овце-, козematок. РНГА с оценкой в четыре или три креста с цельным молоком и разведениями молока – 1:2-1:4 следует считать сомнительным результатом.

9. РНГА с молоком с использованием нового эритроцитарного диагностикума выявляет больных бруцеллезом овец и коз в более ранние сроки после заражения, чем кольцевая реакция с молоком (КР) и РА и РСК с сывороткой крови, что дает основание рекомендовать применение её для исследования абортировавших и свежеинфицированных маток и контроля благополучия отар по бруцеллезу.

4 ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

Результаты наших исследований дают основание широко применять в практике разработанный нами эритроцитарный диагностикум для массового исследования овец и коз в РНГА в качестве самостоятельного экспресс – метода диагностики бруцеллеза, в системе профилактических и оздоровительных противобруцеллезных мероприятий и для эпизоотического контроля благополучия овцеводческих хозяйств по этой болезни.

Результаты испытания РНГА с молоком для диагностики бруцеллеза у лактирующих овец и коз, дают основание рекомендовать применение этой реакции для раннего выявления инфицированных бруцеллезом овец и коз и при осуществлении контроля за благополучием хозяйств по бруцеллезу.

Предложен «Способ получения бруцеллезного эритроцитарного диагностикума для реакции непрямой гемагглютинации» (патент на изобретение № 2667121 от 31.10.2016 г.).

Результаты испытания диагностикума для исследования овец и коз на бруцеллез в реакции непрямой гемагглютинации (РНГА) вошли в:

- «Ветеринарные правила осуществления профилактических, диагностических, ограничительных и иных мероприятий, установления и отмены карантина и иных ограничений, направленных на предотвращение распространения и ликвидацию очагов бруцеллеза (включая инфекционный эпидидимит баранов)», утвержденные приказом Министерства сельского хозяйства РФ № 533, 08.09.2020 г.;

- методические рекомендации «Диагностика бруцеллеза овец и коз с применением реакции непрямой гемагглютинации (РНГА)», утвержденные

Ученым советом Прикаспийского зонального НИВИ – филиал ФГБНУ «ФАНЦ РД» 31.07.2019 г.;

- методические рекомендации «Применение РНГА с усовершенствованным антигеном в «Наборе для серологической диагностики бруцеллеза крупного и мелкого рогатого скота в РНГА», утвержденные Управлением ветеринарии Ростовской области 08.04.2020 г.

5 СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Шапиев М.Ш. О мероприятиях по организации борьбы с нодулярным дерматитом крупного рогатого скота, оспой овец и бруцеллезом животных в РД / М.Ш. Шапиев, М.Г. Газимагомедов, С.Ш. Кабардиев, О.Ю. Юсупов, Н.Р. Будулов, **А.А. Халиков** // Проблемы развития АПК региона. – 2016. – Т. 1. - № 1-1 (25). – С. 152 – 159.

2. Юсупов О.Ю. Способ получения бруцеллезного эритроцитарного диагностикума для реакции непрямой гемагглютинации / О.Ю. Юсупов, М.М. Микаилов, **А.А. Халиков**, Г.М. Шехилалиева, Э.А. Яникова, П.М. Кабахова, М.О. Дугричилова // Патент на изобретение № 2667121. – 31.10.2016.

3. Юсупов О.Ю. Диагностическое значение РНГА при бруцеллезе крупного рогатого скота и овец / О.Ю. Юсупов, С.Ш. Кабардиев, Э.А. Яникова, **А.А. Халиков**, О.Д. Скляр, А.И. Климанов // Био. - № 11. – С. 10 – 15.

4. Юсупов О.Ю. Вакцина из штамма *V. melitensis* Rev – 1 для профилактики бруцеллеза овец и коз / О.Ю. Юсупов, С.Ш. Кабардиев, М.Г. Газимагомедов, **А.А. Халиков**, Д.А. Девришов, О.Д. Скляр, А.И. Климанов // Ветеринария. - № 11. – С. 21 – 24.

5. Юсупов О.Ю. Диагностика бруцеллеза крупного рогатого скота с применением РНГА с сывороткой крови и молоком / О.Ю. Юсупов, М.М. Микаилов, **А.А. Халиков** // Ветеринария и кормление. – 2017. - № 5. – С. 9 – 12.

6. **Халиков А.А.** Диагностическое значение РНГА при бруцеллезе овец и коз / **А.А. Халиков** // Ветеринария и кормление. – 2017. - № 5. – С. 13 – 16.

7. Юсупов О.Ю. Динамика поствакцинальных иммунологических реакций, у овец, привитых вакциной из штамма *V.melitensis* Rev-1 / О.Ю. Юсупов, М.М. Микаилов, **А.А. Халиков** // Международная юбилейная научно-практическая конференция, посвященная 50-летию ФГБНУ Прикаспийского зонального НИВИ «Успехи современной ветеринарной медицины в установлении благополучия региона по заболеваниям сельскохозяйственных животных» (Махачкала 6-7 сентября 2017 г.). – С. 125 – 131.

8. Микаилов М.М. Мониторинг эпизоотической ситуации по бруцеллезу крупного и мелкого рогатого скота в Республике Дагестан за 2008 – 2017 г. / М.М. Микаилов, О.Ю. Юсупов, Э.А. Яникова, П.М. Кабахова, **А.А. Халиков**, А.Т. Гулиева, Г.М. Шехилалиева, Ш.А. Гунашев // Проблемы развития АПК региона. – 2018. - № 4 (36). – С. 137 – 142.

9. **Халиков А.А.** Диагностическое значение кольцевой реакции с молоком для диагностики бруцеллеза овец и коз / **А.А. Халиков**, М.М. Микаилов,

П.М. Кабахова, Э.А. Яникова, Г.М. Шехилалиева, А.Т. Гулиева // Горное сельское хозяйство. – Махачкала. – 2019. - № 1. – С. 101 – 104.

10. Микаилов М.М. Экспресс – метод диагностики бруцеллеза овец и коз / М.М. Микаилов, О.Ю. Юсупов, Э.А. Яникова, А.А. Халиков, А.Т. Гулиева, К.М. Казимагомедов // Методические рекомендации. – Махачкала. – 2019. – 16 с.

11. **Халиков А.А.** Сравнительная диагностика с помощью РНГА и РИД с ОПС антигеном при бруцеллезе овец и коз / **А.А. Халиков**, О.Ю. Юсупов, М.М. Микаилов, П.М. Кабахова, Г.М. Шехилалиева // Региональная научно-практическая конференция «Проблемы ветеринарной науки и пути их решения» (Махачкала 4-5 сентября 2019 г.). – С. 263 – 271.

12. Юсупов О.Ю. Диагностика бруцеллеза у лактирующих овец и коз с применением РНГА с молоком / О.Ю. Юсупов, М.М. Микаилов, **А.А. Халиков**, Э.А. Яникова, М.Р. Шарипов // Ветеринария и кормление. 2019. – № 2. – С. 20 – 23.

13. Микаилов М.М. Эпизоотическая ситуация по бруцеллезу животных в Чеченской республике / М.М. Микаилов, Э.А. Яникова, **А.А. Халиков**, А.Т. Гулиева // Ветеринария и кормление. – 2020. - № 4. – С. 40 – 41.

14. **Халиков А.А.** Применение РНГА с молоком при диагностике бруцеллеза коров / А.А. Халиков, М.М. Микаилов, Э.А. Яникова, А.Т. Гулиева // Ветеринария и кормление. – 2020. - № 4. – С. 50 – 53.

15. Микаилов М.М. Применение РНГА с усовершенствованным антигеном в «Наборе для серологической диагностики бруцеллеза крупного и мелкого рогатого скота в реакции непрямой гемагглютинации (РНГА)» / М.М. Микаилов, Э.А. Яникова, О.Ю. Черных, Р.А. Кривонос, А.М. Гулюкин, **А.А. Халиков** // Методические рекомендации. – Ростов – на – Дону. – 2020. – 16 с.

16. **Халиков А.А.** Эффективность противобруцеллезных мероприятий в Республике Дагестан за последние 5 лет / **А.А. Халиков**, М.М. Микаилов, Э.А. Яникова, А.Т. Гулиева, Г.А. Нурлыгаянова, Ш.А. Гунашев // Международная научно-практическая конференция «Современные тенденции и успехи в борьбе с зооантропонозами сельскохозяйственных животных и птиц» (Махачкала 3-4 декабря 2020 г.). – С. 421 – 425.

17. Микаилов М.М. Эффективность использования реакции непрямой гемагглютинации (РНГА) с сывороткой крови для диагностики бруцеллеза мелкого рогатого скота / М.М. Микаилов, Э.А. Яникова, **А.А. Халиков**, А.Т. Гулиева, О.Ю. Черных // Ветеринария Кубани. – 2021. - № 1. – С. 8 – 10.

18. Будулов Н.Р. Анализ современной эпизоотической обстановки по хроническим инфекционным заболеваниям в Республике Дагестан / Н.Р. Будулов, А.Ю. Алиев, М.М. Микаилов, Э.А. Яникова, **А.А. Халиков** // Ветеринария Кубани. – 2021. - № 2. – С. 9 – 12.

Халиков Ахмед Алиасхабович

**Диагностическое значение РНГА с сывороткой крови и молоком при
бруцеллезе овец и коз**

АВТОРЕФЕРАТ

Диссертации на соискание ученой степени
кандидата ветеринарных наук

Подписано в печать 2022 Уч.-изд. л. – 1,0.

Тираж 100 Заказ № _____

Типография Кубанского государственного
аграрного университета.

350044, г. Краснодар, ул. Калинина, 13