



<https://doi.org/10.26898/0370-8799-2023-11-6>

УДК: 619:616.995.122

Тип статьи: оригинальная

Type of article: original

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ ИФА С МОЛОКОМ И СЫВОРОТКОЙ КРОВИ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ БРУЦЕЛЛЕЗА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Донченко Н.А.¹, Куренская Н.И.¹, Сизов А.А.¹, Стеблевая Г.М.¹, Сизов Д.А.¹, Воробьев В.И.²

¹Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий Российской академии наук
Новосибирская область, р.п. Краснообск, Россия

²Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт
Алматы, Республика Казахстан

e-mail: kurenskaya-nat@mail.ru

Иммуноферментный анализ как более чувствительный метод позволяет выявить специфические антитела в пробах сборного молока. С учетом доступности и простоты выполнения данного метода исследование методом ИФА сборного молока в хозяйствах может стать важнейшим элементом в системе противобруцеллезных мероприятий по части контроля за эпизоотическим состоянием в хозяйствах. Для скрининговой экспресс-диагностики бруцеллеза крупного рогатого скота разработана методика постановки иммуноферментного анализа с молоком коров. Иммуноферментный анализ с сывороткой молока является специфичным, чувствительным, простым в постановке, учете и интерпретации результатов методом. Установлено, что условия хранения и транспортировки проб молока, соответствующие значениям комнатной температуры и приводящие к сквашиванию, не оказывают влияния на уровень специфических противобруцеллезных иммуноглобулинов в течение 8 сут, что снимает вопрос о применении холодовой цепи при транспортировке до места проведения анализа проб молока, подлежащих исследованию. При отработке оптимальной пробоподготовки разница в специфическом сигнале при постановке ИФА между сывороткой молока, полученной при высокоскоростном центрифугировании, и сывороткой молока, полученной методом сквашивания в течение 24 ч, составляла менее 10%. В связи с этим для подготовки проб сыворотки молока при исследовании ИФА выбрано сквозное центрифугирование. Изучены возможности применения ИФА с сывороткой молока на вакцинированном и не вакцинированном против бруцеллеза поголовье крупного рогатого скота. Молоко и кровь для исследования в ИФА необходимо брать через 6 мес и более после вакцинации (в инструктивные сроки). Установлен высокий уровень корреляции между данными ИФА с молоком и данными ИФА с сывороткой крови вне зависимости от эпизоотического или иммунного статуса (благополучные и неблагополучные стада, привитые и непривитые животные), который составил 86,8–92,0%.

Ключевые слова: бруцеллез, крупный рогатый скот, поствакцинальная диагностика, сыворотка крови, молоко, иммуноферментный анализ

COMPARATIVE STUDY OF THE ELISA USE WITH MILK AND BLOOD SERUM FOR BOVINE BRUCELLOSIS DIAGNOSIS

Donchenko N.A.¹, Kurenskaya N.I.¹, Sizov A.A.¹, Stebleva G.M.¹, Sizov D.A.¹, Vorobiov V.I.²

¹Siberian Federal Scientific Centre of Agro-BioTechnologies of the Russian Academy of Sciences
Krasnoobsk, Novosibirsk Region, Russia

²Kazakh Scientific Research Veterinary Institute
Almaty, Republic of Kazakhstan

e-mail: kurenskaya-nat@mail.ru

Enzyme immunoassay, being a more sensitive method, makes it possible to identify specific antibodies in samples of combined milk. The ELISA study of harvested milk in farms can become an

important element in the system of anti-brucellosis measures regarding the control of the epizootic state in farms taking into account the availability and ease of implementation of this method. For screening express-diagnoses of bovine brucellosis the method of enzyme immunoassay with milk of cows has been developed. ELISA with milk serum is specific, sensitive, easy to formulate, account for and interpret the results. It has been found that the conditions of storage and transportation of milk samples corresponding to room temperature values and leading to fermentation do not affect the level of specific anti-viral immunoglobulins for eight days, and the question of the use of a cold chain during transportation of milk samples to be examined to the place of analysis can be withdrawn from the agenda. When working out the optimal sample preparation, the difference in the specific signal when setting the ELISA between the milk serum obtained by high-speed centrifugation and the milk serum obtained by fermentation for 24 hours was less than 10%. Therefore, high-speed centrifugation was chosen for the preparation of milk serum samples during the ELISA study. The possibilities of using ELISA with milk serum on vaccinated and non-vaccinated cattle against brucellosis have been studied. Milk and blood for testing in the ELISA should be taken 6 months or more after vaccination (within the instructional time frame). A high level of correlation was established between ELISA data with milk and ELISA data with blood serum, regardless of epizootic or immune status (satisfactory and unfavorable herds, vaccinated and unvaccinated animals), which amounted to 86.8–92.0%.

Keywords: brucellosis, cattle, post-vaccination diagnostics, blood serum, milk, enzyme immunoassay

Для цитирования: Донченко Н.А., Куренская Н.И., Сизов А.А., Стеблева Г.М., Сизов Д.А., Воробьев В.И. Сравнительное изучение применения ИФА с молоком и сывороткой крови для диагностики бруцеллеза крупного рогатого скота // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. 2023. Т. 53. № 11. С. 53–62. <https://doi.org/10.26898/0370-8799-2023-11-6>

For citation: Donchenko N.A., Kurenskaya N.I., Sizov A.A., Stebleva G.M., Sizov D.A., Vorobyov V.I. Comparative study of the ELISA use with milk and blood serum for bovine brucellosis diagnosis. *Sibirskii vestnik sel'skokhozyaistvennoi nauki = Siberian Herald of Agricultural Science*, 2023, vol. 53, no. 11, pp. 53–62. <https://doi.org/10.26898/0370-8799-2023-11-6>

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

ВВЕДЕНИЕ

Бруцеллез сельскохозяйственных животных все еще имеет распространение в нашей стране. По-прежнему сохраняется опасность заражения людей, поэтому проблема полного искоренения этой инфекции остается актуальной.

Многократные прививки создают проблему постvakцинальной диагностики. В связи с этим для диагностики бруцеллеза используют целый комплекс тестов (реакция агглютинации (РА), реакция связывания комплемента (РСК), реакция непрямой гемагглютинации (РНГА), реакция иммунодиффузии (РИД) с О-ПС-антителом, иммуноферментный анализ (ИФА) и др.), объектом исследования является сыворотка крови [1–3]. Важно изыскать несложные, легкодоступные экспресс-методы, с помощью которых можно

легко контролировать благополучие ферм по бруцеллезу [4]. Такими методами могут быть тесты с использованием молока¹. Исследование молока в кольцевой реакции (КР) и РНГА позволяет применять для диагностики бруцеллеза простой метод отбора проб, который не вызывает стрессового состояния у животных, а также вовлекать в диагностические исследования молочную железу, которая при бруцеллезе является одним из мест проникновения, локализации и распространения возбудителя инфекции [5, 6].

Наиболее перспективными методами исследований стали кольцевая реакция и иммуноферментный анализ с молоком, получившие высокую оценку отечественных и зарубежных исследователей [7–9]. Кольцевая реакция – наиболее апробированный и широко распространенный метод предварительного обследования на бруцеллез стад коров

¹Попова Т.Г. Диагностическое значение методов исследования на бруцеллез молока коров, реиммунизированных противобруцеллезными вакцинами (шт. 19 и шт. 82): автореф. дис. ... канд. вет. наук. Новосибирск, 1990. 16 с.

и отдельных животных. Колебания титров в отдельных четвертях вымени указывают на бруцеллезную инфекцию, одинаковый титр во всех четвертях вымени – скорее, на постvakцинальные титры. Комитет экспертов по бруцеллезу ФАО/ВОЗ рекомендует эту реакцию для широкого применения во всех странах в качестве дополнительного метода [5, 6, 10].

С помощью ИФА можно проводить как массовое обследование стад крупного рогатого скота, так и поставить окончательный диагноз у конкретного животного². Имуноферментные тест-системы по сравнению с другими методами выявления антигенов и антител обладают следующими преимуществами: высокой чувствительностью, специфичностью, воспроизводимостью полученных результатов, стабильностью при хранении всех необходимых реагентов (до года и более), простотой проведения реакции и возможностью использования минимальных объемов исследуемого материала, наличием инструментального (в качественном и количественном варианте) учета реакции и возможностью автоматизации всех ее этапов [11, 12]. Материалом для исследования методом иммуноферментного анализа могут служить секрет вымени сухостойных коров, молозиво и молоко³. ИФА с молоком проводят так же, как и с сывороткой крови [13].

Уже доказано, что применение метода ИФА для диагностики бруцеллеза сельскохозяйственных животных является достаточно эффективным. При сравнительном исследовании коров с помощью этого теста в сыворотке крови выявлено антител на 50–72% больше, чем в РА, РСК, РА с риванолом и РБП, вместе взятых, в молоке в 5–6 раз больше, чем в кольцевой реакции [8, 13].

С помощью ИФА можно определить титр антител, что особенно важно при исследовании вакцинированных животных, когда требуется по высоте титров отличить постvak-

цинальные реакции от возникших при естественном течении бруцеллеза [11, 14, 15].

Имуноферментный анализ – более чувствительный метод, поэтому позволяет выявить специфические антитела в пробах сборного молока. Если учесть доступность и простоту выполнения данного метода, то исследование методом ИФА сборного молока в хозяйствах может стать важнейшим элементом в системе противобруцеллезных мероприятий по части контроля за эпизоотическим состоянием в хозяйствах [11, 14].

Цель исследования – сравнительное изучение разработанного теста ИФА с молоком и с сывороткой крови при бруцеллезе крупного рогатого скота.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследования проведены в лаборатории оптимизации противоэпизоотических систем Института экспериментальной ветеринарии Сибири и Дальнего Востока СФНЦА РАН.

Для разработки методики получения сыворотки молока для постановки ИФА с молоком при диагностике бруцеллеза крупного рогатого скота пробы молока отбирали от вакцинированных и не привитых против бруцеллеза коров. Для проведения сравнительного анализа от этих же животных одновременно отбирали пробы крови.

Из молока получали молочную сыворотку высокоскоростным центрифугированием и методом сквашивания, которую использовали для постановки ИФА. Сыворотку крови получали традиционным методом. Постановку ИФА с сывороткой молока и сывороткой крови осуществляли в классическом варианте. Результаты реакции регистрировали на спектрофотометре. Оптическую плотность измеряли при длине волн 450 нм.

Параллельно с исследованиями сыворотки крови и сыворотки молока в ИФА проводили обязательный для диагностики бруцеллеза

²Верковский О.А. Лабораторная диагностика инфекционных болезней крупного рогатого скота с использованием иммуноферментного анализа (лейкоз, ящур, бруцеллез) // Ветеринария Кубани. 2007. № 2. С. 11–12.

³Vanzini V.R., Aguirre N., Lugaresi C.I., Echaide S.T., Canavesio V.G., Guglielmone A.A., Marchesino M.D., Nielsen K. Evaluation of an indirect ELISA for the diagnosis of bovine brucellosis in milk and serum samples in dairy cattle in Argentina // Preventive veterinary medicine. 1998. № 3. P. 211–217. DOI: 10.1016/s0167-5877(98)00080-4.

комплекс серологических тестов – реакцию агглютинации, реакцию связывания комплемента с S-антителом и реакцию иммунодиффузии с O-ПС-антителом.

Проведен эпизоотологический анализ по бруцеллезу крупного рогатого скота на основе статистических данных, материалов ветеринарных учета и отчетности, результатов лабораторных исследований, проводимых в ветеринарных лабораториях, и литературных данных.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При отработке оптимальной пробоподготовки установлено, что разница в специфическом сигнале при ИФА между молочной сывороткой, полученной при высокоскоростном центрифугировании, и сывороткой, полученной методом сквашивания в течение 24 ч, составила менее 10%, что является не-принципиальным для проведения анализа (см. табл. 1).

В ходе работы проведены исследования по длительности сохранности специфических иммуноглобулинов в сыворотке молока при транспортировке и хранении проб при комнатной температуре. Установлено, что уровень специфического сигнала положительных сывороток молока в ИФА сохраняется неизменным в течение 7–8 сут, затем наблюдается его снижение, вплоть до отсутствия реагирования в низкотитражных пробах (см. табл. 2).

В ходе работы проведены исследования по изучению корреляции между ИФА с молоком и ИФА с сывороткой крови. Ранее установлено, что ИФА является специфичным и чувствительным методом для диагностики бруцеллеза крупного рогатого скота. Также для сравнения взяли результаты обязательного комплекса серологических тестов.

В 1-й группе животных из благополучного хозяйства отобрано 50 коров, неоднократно вакцинированных против бруцеллеза. От них одновременно взяты пробы молока и кровь в ранние сроки (через 1,5 мес) после очередной ревакцинации.

При исследовании вакцинированных животных в ИФА с молоком получены полу-

Табл. 1. Уровень сигнала в ИФА специфических противобруцеллезных иммуноглобулинов молока при различных типах пробоподготовки

Table 1. The signal level in the ELISA of specific anti-brucellosis immunoglobulins of milk in various types of sample preparation

Номер пробы	Тип пробы	Высокоскоростное центрифугирование, Δ_{450} , о.е.	Сквашивание, Δ_{450} , о.е.
1	Отрицательная	0,154	0,168
2	»	0,122	0,136
3	»	0,126	0,132
4	»	0,137	0,144
5	Положительная	1,857	1,890
6	»	0,560	0,578
7	»	0,823	0,843
8	»	0,455	0,623
9	»	2,216	2,237
10	»	0,445	0,534
11	»	1,235	1,362
12	»	1,583	1,603
13	»	1,129	1,341
14	»	1,529	1,627
15	»	0,481	0,503
16	»	0,639	0,681
17	»	0,885	0,912
18	»	2,251	2,282
19	»	0,772	0,781
20	»	0,981	0,923
21	»	1,112	1,182
22	»	0,991	1,121
23	»	1,651	1,668
24	»	1,225	1,284

Табл. 2. Уровень сигнала в ИФА специфических противобруцеллезных иммуноглобулинов молока в различные сроки инкубации

Table. 2. Signal level in the ELISA of specific anti-brucellosis immunoglobulins of milk at different incubation periods

Инкубация, сут	Номер пробы											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	1,857	0,560	0,823	0,455	2,216	0,445	1,235	1,583	1,129	1,529	0,481	0,639
2	1,861	0,564	0,818	0,455	2,231	0,443	1,238	1,579	1,220	1,534	0,501	0,649
3	1,868	0,568	0,842	0,458	2,239	0,454	1,309	1,603	1,258	1,561	0,534	0,651
4	1,867	0,561	0,839	0,463	2,225	0,461	1,287	1,591	1,129	1,553	0,498	0,648
5	1,849	0,571	0,835	0,458	2,258	0,449	1,277	1,599	1,209	1,549	0,511	0,643
6	1,872	0,567	0,846	0,465	2,256	0,462	1,289	1,584	1,131	1,551	0,489	0,650
7	1,864	0,564	0,829	0,467	2,273	0,458	1,301	1,595	1,142	1,521	0,490	0,649
8	1,853	0,569	0,801	0,461	2,254	0,449	1,278	1,601	1,132	1,499	0,488	0,647
9	1,812	0,559	0,811	0,435	2,234	0,438	1,263	1,584	1,113	1,541	0,485	0,635
10	1,801	0,551	0,802	0,448	2,012	0,421	1,235	1,579	1,108	1,488	0,451	0,621
11	1,785	0,502	0,783	0,425	1,983	0,398	1,176	1,521	0,961	1,112	0,455	0,599
12	1,631	0,463	0,731	0,385	1,832	0,335	0,890	1,381	0,633	0,899	0,401	0,457
13	1,402	0,364	0,632	0,322	1,788	0,301	0,670	1,278	0,563	0,654	0,378	0,384
14	1,299	0,320	0,554	0,301	1,701	0,256	0,598	1,012	0,488	0,599	0,322	0,341

Примечание. Жирным шрифтом выделены пробы с результатом в ИФА как нереагирующие.

жительные результаты в 46 пробах (92%), в ИФА с сывороткой крови – во всех 50 (100%). Только в четырех пробах с молоком результаты были сомнительными при положительных результатах в пробах с сывороткой крови, т.е. зарегистрирована корреляция в 92,0% исследованных проб (см. табл. 3).

При сопоставлении полученных результатов с исследованиями сывороток крови традиционными методами установлено, что лишь 16 животных реагировали в РА в низких титрах, что характерно для поствакцинальных реакций. Результаты РСК с S-антителом и РИД с О-ПС-антителом оказались отрицательными.

Данная группа животных была привита против бруцеллеза, а кровь и молоко от них взяли в ранние ненормативные сроки. В связи с этим результаты в ИФА с молоком и с сывороткой крови оказались положительными в большинстве случаев, что объясняется более высокой чувствительностью метода. Также становится очевидным, что молоко и кровь у привитых животных для иммуноферментного анализа следует брать через 6 мес и более после вакцинации.

Во 2-ю группу животных отобрано 39 коров, от них одновременно взяты пробы молока и крови. Данная группа животных никогда ранее не была привита противобруцеллезны-

Табл. 3. Результаты исследования молока и сыворотки крови на вакцинированном против бруцеллеза поголовье крупного рогатого скота (благополучное стадо)

Table 3. Results of milk and blood serum testing on brucellosis-vaccinated cattle (satisfactory herd)

Но- мер п/п	Инвентарный номер	ИФА с молоком		ИФА с сывороткой крови		Другие серологические тесты		
		Показа- тель	Результат	Показа- тель	Результат	РА	PCK-S	РИД
1	KZF192340333	2,272	Положительный	1,861	Положи- тельный	Отрицательный	Отрица- тельный	Отрица- тельный
2	KZF191261907	1,744	»	2,011	То же	»	То же	То же
3	KZF192340331	2,232	»	2,288	»	50 МЕ*	»	»
4	KZF192340343	1,565	»	1,960	»	Отрицательный	»	»
5	KZF192340386	2,302	»	1,561	»	50 МЕ*	»	»
6	KZF192340334	1,852	»	2,080	»	Отрицательный	»	»
7	KZF192359717	1,828	»	2,148	»	»	»	»
8	KZF192037298	0,830	»	2,210	»	»	»	»
9	KZF192340335	1,527	»	2,040	»	50 МЕ*	»	»
10	KZF192340328	1,017	»	2,088	»	Отрицательный	»	»
11	KZF192359715	1,619	»	1,913	»	50 МЕ*	»	»
12	KZF192340382	0,897	»	1,419	»	Отрицательный	»	»
13	KZF191088986	1,428	»	1,875	»	»	»	»
14	KZF191088635	2,113	»	2,424	»	50 МЕ*	»	»
15	KZF191088978	0,770	»	1,866	»	50 МЕ*	»	»
16	KZF192340348	1,290	»	1,415	»	Отрицательный	»	»
17	KZF189138202	1,393	»	2,036	»	»	»	»
18	KZF192359721	2,283	»	2,016	»	»	»	»
19	KZF192340395	1,604	»	2,294	»	»	»	»
20	KZF191261835	2,296	»	1,898	»	»	»	»
21	KZF191089174	1,342	»	1,874	»	»	»	»
22	KZF191261922	1,016	»	2,108	»	»	»	»
23	KZF190473568	2,191	»	2,181	»	50 МЕ*	»	»
24	KZF192340332	0,540	Сомнительный	1,558	«	Отрицательный	«	«
25	KZF189857819	1,196	Положительный	1,771	«	50 МЕ*	«	«
26	KZF192340392	0,906	»	1,647	»	50 МЕ*	»	»
27	KZF189211198	1,959	»	2,191	»	Отрицательный	»	»
28	KZF191089171	1,898	»	2,023	»	50 МЕ*	»	»
29	KZF191089163	1,001	»	1,536	»	50 МЕ*	»	»
30	KZF189857842	0,946	»	2,126	»	50 МЕ*	»	»
31	KZF190096431	1,729	»	1,935	»	50 МЕ*	»	»
32	KZF190121536	2,113	»	2,086	»	Отрицательный	»	»
33	KZF191261920	1,955	»	2,364	»	50 МЕ*	»	»
34	KZF192340369	1,897	»	1,931	»	Отрицательный	»	»
35	KZF192340387	1,367	»	1,951	»	»	»	»
36	KZF192359725	0,843	»	1,502	»	»	»	»
37	KZF191089025	1,615	»	1,900	»	50 МЕ*	»	»
38	KZF191126039	1,529	»	2,089	»	Отрицательный	»	»
39	KZF192367987	1,908	»	2,258	»	»	»	»
40	KZF192340381	0,923	»	1,112	»	»	»	»
41	KZF189429652	0,648	Сомнительный	1,969	»	»	»	»
42	KZF192340337	2,074	Положительный	2,223	»	»	»	»
43	KZF190096491	1,161	»	1,512	»	»	»	»
44	KZF191261908	0,373	Сомнительный	1,409	»	»	»	»
45	KZF191261840	1,975	Положительный	1,914	»	»	»	»
46	KZF190096500	1,084	»	2,264	»	»	»	»
47	KZF189429656	0,317	Сомнительный	1,525	»	»	»	»
48	KZF190096419	0,720	Положительный.	2,043	»	»	»	»
49	KZF192340336	0,987	»	1,499	»	50 МЕ*	»	»
50	KZF192368020	2,212	»	1,967	Сыворот- ка отсут- ствует	Отрицательный	»	»

*Результат РА 50 МЕ на вакцинированном против бруцеллеза поголовье крупного рогатого скота (в благополучном стаде) считается сомнительным.

ми вакцинами. Как показали исследования, в стаде выявлено большое количество больных животных, оно признано неблагополучным по бруцеллезу.

На невакцинированном поголовье крупного рогатого скота в ИФА с молоком получены положительные результаты в 34 пробах из 39 (87,2%), в ИФА с сывороткой крови – в 37 пробах из 38 (97,2%). Зарегистрирована кор-

реляция в 86,8% исследованных проб (33 из 39 проб) (см. табл. 4).

Анализируя полученные результаты, можно сделать заключение, что вне зависимости от эпизоотического или иммунного статуса (благополучные и неблагополучные стада, привитые и непривитые животные) корреляция между ИФА с молоком и ИФА с сывороткой крови колеблется от 86,8 до 92,0%.

Табл. 4. Результаты исследования молока и сыворотки крови на не вакцинированном против бруцеллеза поголовье крупного рогатого скота (неблагополучное стадо)

Table 4. Results of milk and blood serum testing on bovine cattle not vaccinated against brucellosis (unfavorable herd)

Номер пробы	Инвентарный номер	ИФА с молоком		ИФА с сывороткой крови		Другие серологические тесты		
		Показатель	Результат	Показатель	Результат	РА	РСК-С	РИД
1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	90097334**	2,139	Положительный	2,275	Положительный	Отрицательный	1 : 10+++	Отрицательный
2	90097053**	2,292	То же	2,321	То же	200 МЕ*	1 : 20++++	+48 ч
3	90633070**	2,193	»	2,317	»	Отрицательный	1 : 5+++	Отрицательный
4	90097363**	2,274	»	2,357	»	200 МЕ*	1 : 20++++	+24 ч
5	90097050**	2,146	»	2,322	»	200 МЕ*	1 : 20++++	+24 ч
6	90097064**	2,165	»	2,107	»	50 МЕ	1 : 5+++	Отрицательный
7	90097056**	2,132	»	2,151	»	200 МЕ*	1 : 10++	»
8	90321543	0,142	Отрицательный	1,208	»	Отрицательный	Отрицательный	»
9	90097357**	2,235	Положительный	2,112	»	50 МЕ	1 : 20++++	»
10	90097337**	2,310	То же	2,401	»	200 МЕ*	1 : 20++	+48 ч
11	90097095**	2,100	»	2,276	»	Отрицательный	1 : 20++++	Отрицательный
12	90097324**	2,293	»	2,311	»	50 МЕ	1 : 5++++	«
13	90097078**	2,369	»	2,391	»	200 МЕ **	1 : 20++++	+24 ч
14	90097089**	0,458	Сомнительный	1,553	»	50 МЕ	1 : 20++++	Отрицательный
15	90097079**	2,364	Положительный	2,382	»	200 МЕ*	1 : 20++++	+24 ч
16	90324551	0,072	Отрицательный	0,241	Отрицательный	Отрицательный	Отрицательный	Отрицательный
17	90097371**	2,214	Положительный	2,361	Положительный	100 МЕ*	1 : 20++++	+24 ч
18	91073268**	0,018	Отрицательный	2,252	То же	50 МЕ*	1 : 10++++	+48 ч
19	90097372	1,658	Положительный	2,151	»	Отрицательный	Отрицательный	Отрицательный
20	90097039**	2,098	То же	2,344	»	100 МЕ*	1 : 20+++	»
21	90097355**	2,417	»	2,334	»	200 МЕ *	1 : 20++++	»
22	90097336**	2,172	»	2,352	»	200 МЕ*	1 : 20++++	+24 ч
23	90097076**	2,390	»	2,453	»	200 МЕ*	1 : 20++++	+24 ч
24	90633071**	2,178	»	2,372	»	200 МЕ*	1 : 20+++	+24 ч
25	90097331**	2,035	»	2,450	»	50 МЕ	1 : 20+++	+24 ч
26	90097342**	2,207	»	2,208	»	50 МЕ	1 : 5++++	Отрицательный
27	90097333**	2,259	»	2,405	»	100 МЕ*	1 : 20++++	+24 ч
28	90097062**	2,285	»	2,322	»	100 МЕ**	1 : 20+++	+48 ч

Окончание табл. 4

1	2	3	4	5	6	7	8	9
29	90097325**	2,232	Положи- тельный	2,358	Положи- тельный	50 МЕ	1 : 20++++	Отрица- тельный
30	90321801**	2,302	То же	2,361	То же	50 МЕ	1 : 5++++	То же
31	90097055**	2,167	»	2,156	»	100 МЕ*	1 : 10++	»
32	90097362**	2,291	»	2,301	»	50 МЕ	1 : 20+++	»
33	90321768**	1,903	»	2,325	»	100 МЕ*	1 : 10+++	+48 ч
34	90097351**	2,203	»	2,260	»	200 МЕ*	1 : 20+++	+24 ч
35	90097356	0,670	Сомните- тельный	1,189	»	Отрица- тельный	Отрицательный	Отрица- тельный
36	90097048**	2,102	Положи- тельный	2,325	»	50 МЕ	1 : 10++	То же
37	97073220**	2,207	То же	2,421	»	100 МЕ*	1 : 20++++	+24 ч
38	91073265**	2,238	»	2,322	»	100 МЕ*	1:20++++	+48 ч
39	89202667**	2,330	»	2,347	Не исследо- вано	Отрица- тельный	1 : 10+++	Отрица- тельный

*Результат РА 100 МЕ и выше и/или РСК 1 : 5 и выше на невакцинированном против бруцеллеза поголовье крупного рогатого скота (в неблагополучном стаде) считается положительным.

** Животные признаны больными и отправлены на убой.

ВЫВОДЫ

1. Установлено, что иммуноферментная диагностическая тест-система, разработанная ИЭВСиДВ СФНЦА РАН совместно с ООО НПФ «Сибибиотест», пригодна для определения специфических противобруцеллезных иммуноглобулинов в сыворотке молока.

2. Показано, что условия хранения и транспортировки проб молока, соответствующие значениям комнатной температуры и приводящие к сквашиванию, не оказывают влияния на уровень специфических противобруцеллезных иммуноглобулинов по крайней мере в течение 8 сут, что снимает вопрос о применении холодовой цепи при транспортировании до места проведения анализа проб молока, подлежащих исследованию.

3. Установлено, что на вакцинированном против бруцеллеза поголовье крупного рогатого скота корреляция между ИФА с молоком и ИФА с сывороткой крови составляет 92,0%. Следует отметить, что молоко и кровь для исследования в ИФА необходимо брать через 6 мес и более после вакцинации (в инструктивные сроки).

4. На не вакцинированном против бруцеллеза поголовье крупного рогатого скота корреляция между ИФА с молоком и ИФА с сывороткой крови составляет 86,8% (результаты совпали в 33 пробах из 39).

5. Вне зависимости от эпизоотического или иммунного статуса (благополучные и неблагополучные стада, привитые и непривитые животные) корреляция между ИФА с мо-

локом и ИФА с сывороткой крови колеблется от 86,8 до 92,0%.

6. Высокий процент корреляции дает основания для диагностики бруцеллеза использовать первоначально молоко, а затем при наличии положительных проб проводить взятие крови от таких животных для их комплексного исследования на бруцеллез.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Аракелян П.К., Христенко Н.В., Гайворонская Ю.Е., Димова А.С., Димов С.К., Янченко Т.А. Технологичность разных схем иммунизации крупного рогатого скота против бруцеллеза с возможностью ранней постvakцинальной диагностики // Ветеринария. 2023. № 5. С. 11–16. DOI: 10.30896/0042-4846.2023.26.5.11-15.
- Аракелян П.К., Гайворонская Ю.Е., Руденко А.В., Ильин Е.Н., Димова А.С., Димов С.К., Янченко Т.А. Серологическая реактивность здоровых овец, иммунизированных против бруцеллеза живой вакциной из штамма *B. abortus* 19 // Ветеринария. 2022. № 4. С. 21–25. DOI: 10.30896/0042-4846.2022.25.4.21-25.
- Гордиенко Л.Н., Новиков А.Н., Куликова Е.В. Эффективность дифференциального теста при диагностике бруцеллеза северных оленей // Ветеринария. 2020. № 11. С. 7–10. DOI: 10.30896/0042-4846.2020.23.11.07-10.
- Аракелян П.К., Христенко Н.В., Гайворонская Ю.Е., Трегубов А.Н., Вергун А.А., Димова А.С., Димов С.К., Янченко Т.А. Оценка эпизоотического благополучия по бруцелле-

- зу стад крупного рогатого скота при применении живых слабоагглютиногенных вакцин // Ветеринария. 2022. № 1. С. 9–14. DOI: 10.30896/0042-4846.2022.25.01.09-14.
5. Сакидибиров О.П., Джамбулатов З.М., Баратов М.О. Кольцевая реакция с молоком для диагностики бруцеллеза у лактирующих коров и коз // Ветеринария. 2020. № 11. С. 10–12 DOI: 10.30896/0042-4846.2020.23.11.10-12.
6. Халиков А.А., Микаилов М.М., Яникова Э.А., Гулиева А.Т. Применение РНГА с молоком при диагностике бруцеллеза коров // Ветеринария и кормление. 2020. № 4. С. 50–53. DOI: 10.30917/ATT-VK-1814-9588-2020-4-18.
7. Димова А.С., Сизов Д.А., Машинин А.В., Воробьев В.И. Эффективность тест-системы ИФА IDEXX для серологической диагностики бруцеллеза крупного рогатого скота в невакцинированных против данной инфекции стадах // Ветеринария. 2017. № 10. С. 14–16.
8. Сизов А.А., Димова А.С., Димов С.К., Сизов Д.А., Аракелян П.К., Чекишев В.М. Эффективность использования О-ПС антигена в ИФА для дифференциальной экспресс-диагностики бруцеллеза крупного рогатого скота // Ветеринария. 2018. № 1. С. 9–14.
9. Novoa M.B., Aguirre N.P., Valentini B., Torionide-Echaide S., Signorini M.L., Primo M.E., Elena S., Vanzini V.R. Development, validation and field evaluation of an indirect ELISA for the detection of antibodies against *Brucella abortus* in bulk and individual milk samples in dairy cattle // Preventive Veterinary Medicine. 2022. Vol. 208. P. 105740. DOI: 10.1016/j.prevetmed.2022.105740
10. Скляров О.Д., Климанов А.И., Калядин Д.В., Шунаева Н.А., Букова Н.К. Совершенствование теста для дифференциальной диагностики бруцеллеза животных // Ветеринария. 2019. № 1. С. 28–31. DOI: 10.30896/0042-4846.2019.22.1.28-31.
11. Жанбырбаев М.С., Курбанова А.С., Оспанова М.С., Осербай А.Ж., Курбанова К.С. Диагностическая эффективность кольцевой реакции при исследовании молока на бруцеллез // Вестник науки Южного Казахстана. 2020. № 1 (9). С. 236–240.
12. Аракелян П.К., Трегубов А.Н., Руденко А.В., Вергун А.А., Ильин Е.Н., Христенко А.С., Димова А.С., Димов С.К. Анализ эффективности борьбы с бруцеллезом крупного рогатого скота без вакцинации // Ветеринария. 2019. № 5. С. 9–12. DOI: 10.30896/0042-4846.2019.22.5.9-12.
13. Аракелян П.К., Трегубов А.Н., Вергун А.А., Руденко А.В., Димова А.С., Димов С.К., Янченко Т.А. Бруцеллез сельскохозяйственных животных: почему научно управляемая инфекция может быть практически неуправляемой? (научно-аналитический обзор) // Вестник ветеринарии. 2020. № 4 (95). С. 51–58.
14. Калядин Д.В., Матович Н.А., Час В.Ю., Кленов А.С., Вавилова О.В., Моторыгин А.В., Скляров О.Д. Сравнительное изучение чувствительности серологических тестов при диагностике бруцеллеза животных // Биотика. 2021. № 2 (39). С. 40–44.
15. Wang Yu., Robertson I., Cheng S., Wang Y., Hou L., Wang G., Wu X., Li X., Chen Y., Guo A. Evaluation of a milk ELISA as an alternative to a serum ELISA in the determination of the prevalence and incidence of brucellosis in dairy herds in Hubei Province, China // Preventive Veterinary Medicine. 2020. Vol. 182. P. 105086. DOI: 10.1016/j.prevetmed.2020.105086.

REFERENCES

1. Arakelyan P.K., Khristenko N.V., Gaivoronskaya Yu.E., Dimova A.S., Dimov S.K., Yanchenko T.A. Manufacturability of different schemes of immunization of cattle against brucellosis with the possibility of early post-vaccination diagnosis. *Veterinariya = Veterinary medicine*, 2023, no. 5, pp. 11–16. (In Russian). DOI: 10.30896/0042-4846.2023.26.5.11-15.
2. Arakelyan P.K., Gaivoronskaya Yu.E., Rudenko A.V., Ilyin E.N., Dimova A.S., Dimov S.K., Yanchenko T.A. Serological reactivity of healthy sheep immunized against brucellosis with a live vaccine from the *B. abortus* strain 19. *Veterinariya = Veterinary medicine*, 2022, no. 4, pp. 21–25. (In Russian). DOI: 10.30896/0042-4846.2022.25.4.21-25.
3. Gordienko L.N., Novikov A.N., Kulikova E.V. Effectiveness of the differential test at using in the diagnosis of reindeer brucellosis. *Veterinariya = Veterinary medicine*, 2020, no. 11, pp. 7–10. (In Russian). DOI: 10.30896/0042-4846.2020.23.11.07-10.
4. Arakelyan P.K., Khristenko N.V., Gaivoronskaya Yu.E., Tregubov A.N., Vergun A.A., Dimova A.S., Dimov S.K., Yanchenko T.A. Evaluation of epizootic welfare for brucellosis of cattle herds in conditions of using live weakly agglutinogenic vaccines. *Veterinariya = Veterinary medicine*, 2022, no. 1, pp. 9–14. (In Russian). DOI: 10.30896/0042-4846.2022.25.01.09-14.
5. Sakidibirov O.P., Dzhambulatov Z.M., Baratov M.O. Ring reaction with milk for diagnostics of brucellosis in lactating cows and goats. *Vet-*

- erinariya = Veterinary medicine*, 2020, no. 11. pp. 10–12. (In Russian). DOI: 10.30896/0042-4846.2020.23.11.10-12.
6. Khalikov A.A., Mikailov M.M., Yanikova E.A., Guliyeva A.T. The use of IHT with milk in the diagnosis of bovine brucellosis. *Veterinariya i kormlenie = Veterinaria i kormlenie*, 2020, no. 4, pp. 50–53. (In Russian). DOI: 10.30917/ATT-VK-1814-9588-2020-4-18.
7. Dimova A.S., Sizov D.A., Mashnin A.V., Vorobyov V.I. Efficiency of the idexx ELISA system for serological diagnostics of brucellosis in non-vaccinated cattle livestock. *Veterinariya = Veterinary medicine*, 2017, no. 10, pp. 14–16. (In Russian).
8. Sizov A.A., Dimova A.S., Dimov S.K., Sizov D.A., Arakelyan P.K., Chekishev V.M. Efficiency of using O-polysaccharide antigen in ELISA for the rapid differential diagnosis of brucellosis in cattle. *Veterinariya = Veterinary medicine*, 2018, no. 1, pp. 9–14. (In Russian).
9. Novoa M.B., Aguirre N.P., Valentini B., Torioni-de-Echay S., Signorini M.L., Primo M.E., Elena S., Vanzini V.R. Development, validation and field evaluation of indirect ELISA for the detection of antibodies against *Brucella abortus* in mass and individual milk samples from dairy cattle. *Preventive veterinary medicine*, 2022, vol. 208, p. 105740. DOI: 10.1016/j.prevetmed.2022.105740.
10. Sklyarov O.D., Klimanov A.I., Kalyadind D.V., Shumaeva N.A., Bukova N.K. Improvement of the test for differential diagnosis of animals' brucellosis. *Veterinariya = Veterinary medicine*, 2019, no. 1, pp. 28–31. (In Russian). DOI: 10.30896/0042-4846.2019.22.1.28-31.
11. Zhanbyrbaev M.S., Kurbanova A.S., Ospanova M.S., Oserbai A.Zh., Kurbanova K.S. Diagnostic effectiveness of the ring reaction in the study of milk for brucellosis. *Vestnik nauki Yuzhnogo Kazakhstana = Bulletin of Science of Southern Kazakhstan*, 2020, no. 1 (9), pp. 236–240. (In Russian).
12. Arakelyan P.K., Tregubov A.N., Rudenko A.V., Vergun A.A., Ilyin E.N., Khristenko A.S., Dimova A.S., Dimov S.K. Efficiency of combating bovine brucellosis without vaccination. *Veterinariya = Veterinary medicine*, 2019, no. 5, pp. 9–12. (In Russian). DOI: 10.30896/0042-4846.2019.22.5.9-12.
13. Arakelyan P.K., Tregubov A.N., Vergun A.A., Rudenko A.V., Dimova A.S., Dimov S.K., Yanchenko T.A. Brucellosis of farm animals: why a scientifically controlled infection could be practically non-control? (scientific and analytical review). *Vestnik veterinarii = Vestnik Veterinarii*, 2020, no. 4 (95), pp. 51–58. (In Russian).
14. Kalyadin D.V., Matovich N.A., Chaus V.Yu., Klenov A.S., Vavilova O.V., Motorygin A.V., Sklyarov O.D. Comparative study of the sensitivity of serological tests in the diagnosis of brucellosis of animals. *Biotika = Biotika*, 2021, no. 2 (39), pp. 40–44. (In Russian).
15. Wang Yu., Robertson I., Chen S., Wang Yu., Hou L., Wang G., Wu H., Li H., Chen Yu., Guo A. Evaluation of milk ELISA as an alternative to serum ELISA in determining the prevalence and incidence of brucellosis in dairy herds in Hubei province, China. *Preventive veterinary Medicine*, 2020, vol. 182, p. 105086. DOI: 10.1016/j.prevetmed.2020.105086.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Донченко Н.А., член-корреспондент РАН,
доктор ветеринарных наук

 **Куренская Н.И.**, кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник; **адрес для переписки:** Россия, 630501, Новосибирская область, р.п. Краснообск, а/я 371; e-mail: kurenskaya-nat@mail.ru

Сизов А.А., кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник

Стеблева Г.М., кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник

Сизов Д.А., научный сотрудник

Воробьев В.И., научный сотрудник

AUTHOR INFORMATION

Nikolay A. Donchenko, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Doctor of Science in Veterinary Medicine

 **Natalia I. Kurenskaya**, Candidate of Science in Veterinary Medicine, Senior Researcher; **address:** PO Box 371, Krasnoobsk, Novosibirsk Region, 630501; e-mail: kurenskaya-nat@mail.ru

Alexander A. Sizov, Candidate of Science in Biology, Lead Researcher

Galina M. Stebleva, Candidate of Science in Veterinary Medicine, Senior Researcher

Dmitry A. Sizov, Researcher

Viktor I. Vorobyev, Researcher