

**VETERINARIYA ILMIY-TADQIQOT INSTITUTI HUZURIDAGI ILMIY
DARAJALAR BERUVCHI PhD 06/29.10.2021.V.139.01 RAQAMLI ILMIY
KENGASH**

VETERINARIYA ILMIY-TADQIQOT INSTITUTI

SAIDOV AKMALJON AKRAMOVICH

**HAYVONLAR BRUTSELLYOZINING DIAGNOSTIKA VOSITALARINI
TAKOMILLASHTIRISH**

**16.00.03 – Veterinariya mikrobiologiyasi, virusologiyasi, epizootologiyasi, mikologiyasi,
mikotoksikologiyasi va immunologiyasi**

**VETERINARIYA FANLARI BO‘YICHA FALSAFA DOKTORI (PhD)
DISSERTATSIYASI AVTOREFERATI**

Samarqand – 2024

**Veterinariya fanlari bo‘yicha falsafa doktori (PhD) dissertatsiyasi avtoreferati
mundarijasi**

**Оглавление автореферата диссертации доктора философии (PhD)
по ветеринарным наукам**

**Contents of dissertation abstract of doctor of philosophy (PhD)
on veterinary sciences**

Saidov Akmaljon Akramovich

Hayvonlar brutsellyozining diagnostika vositalarini takomillashtirish.....3

Саидов Акмалжон Акрамович

Совершенствование средств диагностики бруцеллеза животных 21

Saidov Akmaljon Akramovich

Improvement of diagnostic tools for animal brucellosis..... 41

E‘lon qilingan ishlar ro‘uxati

Список опубликованных работ

List of published works 45

**VETERINARIYA ILMIY-TADQIQOT INSTITUTI HUZURIDAGI ILMIY
DARAJALAR BERUVCHI PhD 06/29.10.2021.V.139.01 RAQAMLI ILMIY
KENGASH
VETERINARIYA ILMIY-TADQIQOT INSTITUTI**

SAIDOV AKMALJON AKRAMOVICH

**HAYVONLAR BRUTSELLYOZINING DIAGNOSTIKA VOSITALARINI
TAKOMILLASHTIRISH**

**16.00.03 – Veterinariya mikrobiologiyasi, virusologiyasi, epizootologiyasi, mikologiyasi,
mikotoksikologiyasi va immunologiyasi**

Veterinariya fanlari bo'yicha falsafa doktori (PhD) dissertatsiyasi AVTOREFERATI

Samarqand – 2024

Falsafa doktori (PhD) dissertatsiyasi mavzusi O‘zbekiston Respublikasi Oliy ta’lim, fan va innovatsiyalar vazirligi huzuridagi Oliy attestatsiya komissiyasida B2023.3.PhD/V98 raqam bilan ro‘yxatga olingan.

Falsafa doktori (PhD) dissertatsiyasi Veterinariya ilmiy-tadqiqot institutida bajarilgan.
Dissertatsiya avtoreferati uch tilda (o‘zbek, rus, ingliz (rezyume)) ilmiy kengash veb-sahifasi (www.viti.uz) va «ZiyoNet» axborot ta’lim portalida (www.ziynet.uz) joylashtirilgan.

Ilmiy rahbar: **Ruzimurodov Muxiddin Axrorovich**
veterinariya fanlari nomzodi, professor

Rasmiy opponentlar: **Xamdamov Xabibulo Ablokulovich**
veterinariya fanlari doktori, professor

Mamatova Zamira Baratovna
veterinariya fanlari nomzodi, dotsent

Yetakchi tashkilot: **Toshkent Davlat Agrar universiteti**

Dissertatsiya himoyasi Veterinariya ilmiy-tadqiqot instituti huzuridagi ilmiy darajalar beruvchi PhD 06/29.10.2021.V.139.01 raqamli ilmiy Kengashning 2024 yil _____ soat _____ majlisida bo‘lib o‘tadi. (Manzil: 141500, Samarqand viloyati, Toyloq tumani, Charog‘bon MFY, Yangi Toyloq 1 qishlog‘i 67 uy. Tel.: (+9966) 666 56 30; faks: (+9966) 666-56-76; e-mail: nivi@vetgov.uz)

Dissertatsiya bilan Veterinariya ilmiy-tadqiqot instituti Axborot-resurs markazida tanishish mumkin (_____ - raqami bilan ro‘yxatga olingan). (Manzil: 141500, Samarqand viloyati, Toyloq tumani, Charog‘bon MFY, Yangi Toyloq 1 qishlog‘i 67 uy. Tel.: (+9966) 666 56 30; faks: (+9966) 666-56-76.

Dissertatsiya avtoreferati 2024 yil “_____” _____ kuni tarqatildi.
(2024 yil “_____” _____ dagi _____-raqamli reestr bayonnomasi)

B.A.Elmuurodov

Ilmiy darajalar beruvchi ilmiy kengash raisi,
vet.fan doktori, professor

F.S.Pulotov

Ilmiy darajalar beruvchi ilmiy kengash ilmiy
kotibi, vet.f.f.d., katta ilmiy xodim

G.X.Mamadullayev

Ilmiy darajalar beruvchi ilmiy kengash
qoshidagi ilmiy seminar raisi, vet.fan
doktori, katta ilmiy xodim

KIRISH (falsafa doktori (PhD) dissertatsiyasi annotatsiyasi).

Dissertatsiya mavzusining dolzarbligi va zarurati. Bugungi kunda dunyoda brutsellyoz kasalligi bo'yicha epizootik va epidemiologik vaziyat bir muncha keskin va bu borada vaziyat anchagina murakkabligicha qolmoqda. Epizootik vaziyatning keskinlashuv tendensiyasi Markaziy Osiyoning barcha davlatlarida kuzatilmoqda. Ayrim hududlarda chorvachilikda brutsellyoz kasalligi bo'yicha nosog'lom epizootik holat kasallikka qarshi olib borilayotgan chora-tadbirlar, jumladan: diagnostik tadqiqotlar, maxsus profilaktika, veterinariya-sanitariya me'yorlari va qoidalariga rioya etilmasligi natijasida yuzaga keladi. Bunday qoida buzilishi va yo'l qo'yilgan kamchiliklar hayvonlar va odamlar orasida brutsellyozni keng tarqalishining asosiy sabablari hisoblanadi. Bu o'z navbatida chorvachilik sohasida katta iqtisodiy yo'qotishlarga va ijtimoiy oqibatlariga olib keladi.

Dunyoda brutsellyozga qarshi kurashning ikkita asosiy tizimi (yoki hozirda dasturlar deb ataladi) mavjud. «Bir tizimda emlash va diagnostikadan foydalaniladi, bunday dastur bo'yicha sog'lomlashtirish samaradorligi ko'pincha juda past. Boshqa tizimda esa emlash butunlay taqiqlanadi va faqat diagnostika (odatda serologik) qo'llaniladi. Bu birinchi tizimga qaraganda ancha samaralidir, chunki bu tizim ma'lum hududlar va mamlakatlarda brutsellyozni to'liq yo'q qilishga imkon beradi»¹. Biroq, ushbu dasturlarni amalga oshirish uchun yetarli miqdordagi diagnostikumlar zarur bo'lib, mamlakatdagi barcha chorva hayvonlarini diagnostika tekshirishlari bilan to'liq qamrab olishi zarur.

Respublikamizda veterinariya dori vositalari, jumladan, vaksinalar, diagnostika vositalari va reagentlarini sanoat usulida ishlab chiqarilishi mavjud ehtiyojni qoplamaydi. Mamlakatimizda hayvonlar kasalliklariga tashxis qo'yish bilan shug'ullanuvchi 145 ga yaqin diagnostika markazlari hamda 265 dan ortiq veterinariya-sanitariya ekspertiza laboratoriyalari mavjud bo'lib, ularning barchasi reaktivlar va diagnostika to'plamlari bilan to'liq ta'minlanmagan.

Mazkur dissertatsiya O'zbekiston Respublikasi Prezidentining 2022-yil 28-yanvardagi «2022-2026 yillarga mo'ljallangan Yangi O'zbekistonning taraqqiyot strategiyasi to'g'risida»² PF-60-sonli Farmoni, O'zbekiston Respublikasi Prezidenti va Vazirlar Mahkamasini tomonidan qator Farmon va qarorlar, jumladan: O'zbekiston Respublikasi Prezidentining 2020-yil 25-noyabrdagi PQ-4899-sonli «Biotexnologiyalarni rivojlantirish va mamlakatning biologik xavfsizligini ta'minlash tizimini takomillashtirish bo'yicha kompleks chora-tadbirlar to'g'risida»³, Vazirlar Mahkamasining 2018-yil 23-iyuldagi 564-sonli «Veterinariya dori vositalari ishlab chiqarishni yanada rivojlantirish chora-tadbirlari to'g'risida»⁴ farmon va qarorlari hamda sohaga doir boshqa huquqiy-me'yoriy hujjatlarda o'z aksini topib, ularda belgilangan vazifalarni amalga

¹ Игнатов П.Е. Некоторые аспекты патогенности бруцелл. – Новочеркасск. – 1994. – С. 66–74.

² O'zbekiston Respublikasi Prezidentining «2022-2026 Yangi O'zbekistonning taraqqiyot strategiyasi to'g'risida»gi PQ-60-son Farmoni.

³ LEX.UZ <https://lex.uz>. O'zR Prezidentining 2020-yil 25-noyabrdagi PQ-4899-sonli qarori

⁴ LEX.UZ <https://lex.uz>. O'zR Vazirlar Mahkamasining 2018-yil 23-iyuldagi 564-sonli qarori

oshirishda ushbu dissertatsiya doirasidagi tadqiqotlar ham muayyan darajada xizmat qiladi.

Tadqiqotlarning Respublika fan va texnologiyalari rivojlanishining ustuvor yo'nalishlariga mosligi. Mazkur tadqiqot Respublika fan va texnologiyalarni rivojlantirishining V. «Qishloq xo'jaligi biotexnologiya, ekologiya va atrof-muhit muhofazasi» ustuvor yo'nalishiga muvofiq bajarilgan.

Muammoning o'rganilganlik darajasi. Butun dunyoda bo'lgani kabi O'zbekistonda ham hayvonlarning brutsellyoz kasalligini aniqlash kompleks tarzda amalga oshiriladi.

Vujudga kelgan iqtisodiy qiyinchiliklar, xususiyl xo'jaliklardagi hayvonlar ustidan veterinariya-sanitariya nazoratining susayishi brutsellyoz kasalligi bo'yicha vaziyatning yanada keskinlashuviga sabab bo'ladi.

Bugungi kunda, xorijiy olimlar S.N.Vishelesskiy, P.F.Zdrodovski, P.A.Vershilova, K.P.Studensov, P.S.Ulasevich, P.A.Trilenko, S.N.Nevskiy, K.V.Shumilov, O.D.Sklyarov, J.Alton, Nicoletti, Rayt, Sempl, Smith, Alberg, J.Godfroid, M.Leypke, J.Blasko va boshqalar, o'zbek olimlari V.K.Grinko, M.A.Abidjanov, R.G.Yaraev, M.S.Mirzaeva, X.S.Salimov, X.A.Xamdamov, M.A.Ruzimurodov va boshqalarning ilmiy tadqiqotlarida brutsellyozning epizootologiyasi, patogenezini, diagnostikasi, immuniteti, maxsus profilaktikasining asosiy savollari o'rganilgan.

Bu usullar O'zbekistonda joriy qilingan bo'lsa-da, Respublikada asosiy muammo bu reaksiyalarda qo'llaniladigan va nazorat qilish uchun standart reagentlarning yo'qligi hisoblanadi. Reagentlarning barcha komponentlari kam miqdorda xorijdan keltirilib, unga katta mablag' sarflanmoqda. Veterinariya ilmiy-tadqiqot institutida 2007-2023-yillarda RBT, AR, KBR, KUBR, XR uchun asosiy brutsellyoz antigenlari ishlab chiqarilib, veterinariya amaliyotiga joriy qilinganligiga qaramasdan, ulardan brutsellyoz va boshqa o'ta xavfli infeksiyalar uchun zarur bo'lgan komplement, gemolizin, standart diagnostik zardoblar va boshqa komponentlar kabi reaktivlarning yetishmasligi tufayli zaruriy diagnostika tadbirlarini to'liq o'tkazishning imkoni yo'qligicha qolmoqda.

Shu munosabat bilan mahalliy xomashyo va ishlab chiqarish shtammlari asosida IFT, komplement, gemolizin va diagnostik zardoblar kabi serologik reaksiyalar uchun komponentlarni mahalliy ishlab chiqarishni yo'lga qo'yish maqsad qilib olingan.

Dissertatsiya tadqiqotining dissertatsiya bajarilgan ilmiy-tadqiqot muassasasida ilmiy-tadqiqot ishlari rejalari bilan bog'liqligi. Dissertatsiya tadqiqotlari Veterinariya ilmiy-tadqiqot institutining №BV-A-QX-2018-19: «Hayvonlar brutsellyozini maxsus oldini olish uchun mahalliy shtammlar asosida yangi brutsellyozga qarshi vaksinani yaratish» ilmiy-amaliy loyihasi (2018-2020 yy.), O'zbekiston Respublikasi Innovatsion rivojlanish vazirligi Hay'atining 2022-yil 31-maydagi 23-con qarori, hamda Innovatsion rivojlanish vazirligining 2022-yil 14-iyundagi 196-sonli buyrug'iga muvofiq 215/14-sonli tijoratlashtirish loyihasi asosida (2022-2023 yy), «O'zbekistonning sutchilik sohasida qo'shilgan qiymat zanjirini rivojlantirish» xalqaro loyihasi (2019-2021 yy.) va ilmiy-amaliy

davlat dasturlari doirasida bajarilgan.

Tadqiqotning maqsadi chorvachilik sohasiga va insonlar sog'lig'iga katta zarar yetkazadigan hayvonlarning keng tarqalgan brutsellyozning epizootik va epidemik holatini tahlil qilish, yangi, mahalliy diagnostika vositalarini yaratish, ishlab chiqarish va amaliyotga tadbiq etishdan iborat.

Tadqiqotning vazifalari:

Jizzax, Samarqand va Toshkent viloyatlari hududlarida aholi qaramog'idagi shaxsiy va fermer xo'jaliklariga tegishli chorva hayvonlarining brutsellyoz kasalligini va mahalliy diagnostik vositalarini qo'llash asosida epizootik holatini o'rganish;

mahalliy diagnostik qon zardoblarini yaratish uchun yuqori agglyutinogen bo'lgan ishlab chiqarish shtammini ajratib olish maqsadida seleksiya qilingan, B.abortus 104MUZ VI-biotip, B.melitensis Rev-1UZ, I-biotip va referens B.abortus 544 I-biotip (Angliya, Veybridj) hamda B.melitensis Novocherkassk-102 (Rossiya) shtammlarining kultural, morfologik, biokimyoviy, agglyutinogenlik va boshqa xususiyatlarini o'rganish va pasport ma'lumotlari bilan solishtirish;

hayvonlar brutsellyozini aniqlashda qo'llaniladigan mahalliy gemolizin, komplement, diagnostik qon zardoblar tayyorlash usullarini yaratish va standartlashtirish;

RBT, AR, KBR uchun «komplement» va «qon zardoblari» (reagentlar)ni liofilizatsiya qilish parametrlarini ishlab chiqish va laboratoriya sharoitida ularning faolligi, maxsusligi hamda barqarorligini sinab ko'rish;

mahalliy gemolizin, komplement, diagnostik qon zardoblarini tayyorlash usullarini ishlab chiqish, tajriba seriyalarini tayyorlash va ushbu reagentlarning faolligi hamda maxsusligini laboratoriya va ishlab chiqarish sharoitlarida sinovdan o'tkazish.

Tadqiqotning ob'ekti sifatida Jizzax, Samarqand hamda Toshkent viloyatlari chorvachilik xo'jaliklari, fermer va aholi xo'jaliklaridagi qoramol va mayda shoxli hayvonlar, itlar va turli laboratoriya hayvonlari, patologoanatomik, serologik, immunologik tadqiqot materiallaridan foydalanilgan.

Tadqiqotning predmeti sifatida dengiz cho'chqalari, quyonlar, qoramol va qo'ylarning qon ko'rsatgichlari, ichki a'zolari, brutsellalarning vaksina, referens shtammlari, brutsellyoz diagnostikumlari va oziqa muhitlaridan foydalanilgan.

Tadqiqotning usullari. Tadqiqotlarda epizootologik, klinik, bakteriologik, serologik, biokimyoviy, biotexnologik usullardan foydalanilgan.

Tadqiqotning ilmiy yangiligi quyidagilardan iborat:

Ilk bor Jizzax, Toshkent va Samarqand viloyatlari chorvachilik xo'jaliklarida brutsellyoz kasalligi bo'yicha epizootik holat tahlil qilinib, mahalliy diagnostikum va reaktivlardan foydalanish asosida ularning qiyosiy tavsiflari berilgan.

O'zbekistonda birinchi marta RBT, AR, KBR va KUBR uchun mahalliy reagentlar - standart ijobiy va salbiy zardoblar, texnologiyalar transferi asosida IFT (ELISA) to'plami ishlab chiqilib, ularning maxsusligi va faolligi o'rganilgan va immunizatsiya sxemalari hamda ularni liofilizatsiya parametrlari ishlab chiqilgan.

Virulentligi har xil bo'lgan brutsellalarning turlari va shtammlarini qiyosiy o'rganish natijasida mahalliy B.abortus 104MUZ, VI-biotipi eng yuqori agglyutinogen va eng past virulent xususiyatlarga ega ekanligi aniqlangan va shundan kelib chiqib, ushbu shtamm ishlab chiqarish shtammi sifatida standart diagnostik zardoblarni tayyorlash va ishlab chiqarish uchun tanlab olingan.

Mahalliy diagnostikum va reagentlardan foydalanib o'tkazilgan kompleks serologik va bakteriologik tekshirishlarda serologik testlarda kasallikni aniqlash va nazorat uchun qo'llangan antigen va reagentlari (P/z va N/z) o'zbek analoglarining samaradorligi (RBT va AR uchun - 100 foizgacha, IFT uchun esa - 91 foizgacha) yuqoriligi aniqlangan.

Tadqiqotlarning amaliy natijasi quydagilardan iborat:

Toshkent, Samarqand va Jizzax viloyatlarida retrospektiv tahlil va xususiy tadqiqotlar asosida mahalliy diagnostika vositalaridan foydalangan holda brutsellyozning haqiqiy epizootik holati aniqlanib, alohida fermer xo'jaliklarining sog'lomlik darajasiga qarab baholangan va kasallikka qarshi chora-tadbirlarni optimallashtirish chora-tadbirlari tavsiya etilgan.

Mahalliy lashtirilgan B.abortus 104MUZ, VI-biotip ishlab chiqarish shtammiga O'zbekiston Respublikasi Intellektual mulk agentligidan Foydali modelga Patent olingan (№FAP 02009, 29.06.2022) va ushbu shtamm ilk bor ishlab chiqarish shtammi sifatida joriy etilgan;

Standart diagnostik zardoblarni mahalliy B.abortus 104MUZ, VI-biotip shtammi asosida tayyorlash uchun qoramollarni giperimmunizatsiya sxemasi ishlab chiqilgan;

Hayvonlar brutsellyozini aniqlashda qo'llaniladigan gemolizin, komplement, diagnostik qon zardoblarini tayyorlash usullari ishlab chiqilgan va ularni standartlashtirish maqsadida liofilizatsiya parametrlari yaratilib, joriy qilingan;

Mahalliy diagnostik qon zardoblar, gemolizin, komplement va IFT to'plamlarini ishlab chiqarish reglamenti, Tashkilot standarti (Ts) va qo'llash bo'yicha yo'riqnomalari joriy etilgan.

Tadqiqot natijalarining ishonchiligi o'tkazilgan tadqiqotlarning FAO/JSST tomonidan amaldagi brutsella kulturalari bilan ishlash uchun tavsiya etilgan usullaridan foydalanilganligi, birlamchi ma'lumotlarga ishlov berish va ilmiy tahlil qilish, olingan nazariy natijalarining tajriba ma'lumotlari bilan to'g'ri kelishi, tadqiqotlar natijalarining xorij va mahalliy tajribalar bilan keng ilmiy tahlil qilinganligi, tajribalar dalolatnomalarga asoslanganligi, tasdiqlangan ilmiy texnik hujjatlar, tadqiqot natijalarining amaliyotga joriy etilganligi bilan isbotlangan.

Tadqiqot natijalarining ilmiy va amaliy ahamiyati. Tadqiqot natijalarining ilmiy ahamiyati brutsella kulturalarining biologik xususiyatlarini solishtirib o'rganish, seleksiyalash natijasida mahalliy diagnostik vositalarini ishlab chiqarish uchun mahalliy shtamm ajratilganligi, diagnostik vositalari ishlab chiqarilganligi, ularni standartlashtirish uchun liofilizatsiya parametrlarini takomillashtirish, joriy etish, ularning diagnostikum sifatiga ta'sir ko'rsatgichlari va etalon shtammlari asosida veterinariya biotexnologiya faniga yangi usullarni joriy etish va bu bilan serologiyadagi diagnostik xatolarning kamayishiga erishish hamda import o'rnini

bosuvchi diagnostik vositalarini yaratilishi bilan izohlanadi.

Tadqiqot natijalarining amaliy ahamiyati Respublikada ilk bor mahalliy lashtirilgan B.abortus 104MUZ past virulentli shtammi asosida mahalliy standart diagnostik qon zardoblari, gemolizin, komplement hamda IFT to'plamlarini yaratilganligi va ushbu diagnostik vositalarni ishlab chiqarish reglamenti, Tashkilot standarti (Ts) va qo'llash bo'yicha yo'riqnomalarini veterinariya amaliyotiga tavsiya va joriy etilganligi bilan ifodalanadi.

Tadqiqot natijalarining joriy qilinishi. O'zbekistonda hayvonlarda brutsellyoz diagnostikasi qo'yish maqsadida XEBning xalqaro tavsiyalarini inobatga olgan holda «Hayvonlar brutsellyoz kasalligining diagnostikasi bo'yicha ilmiy asoslangan TIZIM» ishlab chiqilgan va joriy etilgan. Hayvonlar brutsellyozining serologik diagnostikasini takomillashtirish bo'yicha olib borilgan ilmiy-tadqiqot natijalari asosida:

O'zbekistonda ilk bor yaratilgan "Brutsellyoz IgG-IFA" to'plami Veterinariya va chorvachilikni rivojlantirish davlat Qo'mitasi tomonidan 2022-yil 28-iyulda VP-001333-22 reestr raqami bilan davlat ro'yxatiga olingan. 110 ta «Brutsellyoz IgG-IFA» to'plami ishlab chiqarilgan. Ushbu IFT to'plamlari 440,0 mln.so'mga Respublika tashxis markazlariga joriy etilgan (O'zbekiston Respublikasi Qishloq xo'jaligi vazirligi huzuridagi Veterinariya va chorvachilikni rivojlantirish qo'mitasining 2024-yil 18-martdagi 02/23-180-son ma'lumotnomasi). Natijada, viloyat tashxis markazlarida hayvonlar brutsellyoziga kompleks, ju jumladan, IFT orqali malakali tashxis qo'yishga erishilgan.

Samarqand Davlat Veterinariya meditsinasi, chorvachilik va biotexnologiyalar universiteti olimlari ishtirokida «Методы диагностики бруцеллёза животных с использованием ИФА» uslubiy qo'llanmasi ishlab chiqilgan va amaliyotga joriy etilgan (O'zbekiston Respublikasi Qishloq xo'jaligi vazirligi huzuridagi Veterinariya va chorvachilikni rivojlantirish qo'mitasining 2024-yil 18-martdagi 02/23-180-son ma'lumotnomasi). Natijada universitet talabalari va veterinariya mutaxassislari uchun hayvonlar brutsellyozini diagnostikasini amaliyotda takomillashtirishga xizmat qilgan;

«Xo'jaliklarda qoramollarni parvarishlash va ularda olib boriladigan veterinariya-sanitariya tadbirlari bo'yicha qo'llanma» ishlab chiqilib, amaliyotga joriy etilgan (O'zbekiston Respublikasi Qishloq xo'jaligi vazirligi huzuridagi Veterinariya va chorvachilikni rivojlantirish qo'mitasining 2024-yil 18-martdagi 02/23-180-son ma'lumotnomasi). Natijada chorvachilik yo'nalishidagi fermer va aholi shaxsiy xo'jaliklarida brutsellyozning yashirin shakllarini aniqlash imkoni ko'payshiga erishilgan.

Gemolizin, komplement reagentlari va diagnostik zardoblarni respublikada ishlab chiqarishni yo'lga qo'yish - RBT hamda AR bilan bir qatorda brutsellyozning surunkali shakllarini aniqlash uchun KBR va B.ovis shtammi yoki qo'chqorlarning yuqumli epididimitiga sabab bo'ladigan brutsellyozni diagnostikasi uchun qo'llaniladigan KUBRni laboratoriya amaliyotiga joriy etish imkoniyati yaratildi (O'zbekiston Respublikasi Qishloq xo'jaligi vazirligi

huzuridagi Veterinariya va chorvachilikni rivojlantirish qo‘mitasining 2024-yil 18-martdagi 02/23-180-son ma‘lumotnomasi). Buning natijasida, hayvonlar brutsellyozi uchun qo‘llaniladigan diagnostik testlar ko‘lami kengaydi va kasallikning tarqalishi oldi olindi, hayvonlardan olingan chorvachilik mahsulotlarining (sut, sut mahsulotlari, go‘sht va go‘sht mahsulotlari) zararsizligi ta‘minlandi, shuningdek, insonlarning ushbu infeksiyani yuqtirib olish xavfi keskin kamaydi.

Tadqiqot natijalarining aprobatsiyasi. Mazkur ilmiy-tadqiqot natijalari jami 10 ta ilmiy-amaliy konferensiyalarida, jumladan 5 ta xalqaro, 5 ta respublika ilmiy-amaliy anjumanlarda muhokamadan o‘tkazilgan.

Tadqiqot natijalarining e‘lon qilinganligi. Dissertatsiya mavzusi bo‘yicha jami 21 ta ilmiy ish chop etilgan, O‘zbekiston Respublikasi Oliy Attestatsiya Komissiyasining doktorlik dissertatsiyalari natijalarini chop etishga tavsiya etilgan ilmiy nashrlarda 5 ta, jumladan 3 tasi xorijiy va 2 tasi respublika jurnallarida, 5 ta xalqaro va 5 ta respublika ilmiy konferensiya materiallari to‘plamlarida nashr etilgan. Olingan natijalar asosida 2 ta yo‘riqnoma, 2 ta qo‘llanma chop etilgan va 1 ta Foydali modelga patent olingan.

Dissertatsiyaning tuzilishi va hajmi. Dissertatsiya tarkibi kirish, to‘rtta bob, xulosalar, amaliy tavsiyalar, foydalanilgan adabiyotlar ro‘yxati va ilovalardan tashkil topgan. Dissertatsiyaning hajmi 116 betni tashkil etadi.

DISSERTATSIYANING ASOSIY MAZMUNI.

Dissertatsiyaning «**Kirish**» qismida tadqiqotlar mavzusining dolzarbligi va zarurati, mavzuning Respublika fan va texnologiyalarni rivojlantirish ustuvor yo‘nalishlariga bog‘liqligi, dissertatsiya mavzusi bo‘yicha xorijiy ilmiy tadqiqotlar sharhi, muammoning o‘rganilganlik holati, dissertatsiya mavzusining dissertatsiya bajarilgan ilmiy-tadqiqot muassasining ilmiy tadqiqot ishlari rejalari bilan bog‘liqligi, tadqiqot maqsadi, tadqiqotlarning vazifalari, tadqiqot ob‘ekti, tadqiqot predmeti, tadqiqotlarning uslublari, tadqiqotlarning ilmiy yangiligi, tadqiqotlarning amaliy natijalari, tadqiqot natijalarining ishonchliligi, ilmiy va amaliy ahamiyati, joriy qilinganligi, tadqiqot natijalarning aprobatsiyasi, nashr etilgan ishlar, dissertatsiyaning tuzilishi bo‘yicha ma‘lumotlar keltirilgan.

Dissertatsiyaning «**Adabiyotlar sharhi**» deb nomlangan birinchi bobida brutsellyozning tavsifi, kasallikning bugungi kundagi o‘rganilganlik darajasi, epizootologiyasi (epidemiologiyasi) va dunyoda tarqalish darajasi, brutsellyozga qarshi vaksinalarning qiyosiy tavsiflari va ulardan foydalanish bilan bog‘liq muammolar, brutsellyozning maxsus profilaktikasi va brutsellyozning serologik diagnostikasi bo‘yicha ma‘lumotlar va ularning tahlili bayon etilgan.

Bugungi kunda veterinariyada brutsellyoz diagnostikasi kompleks ravishda epizootologik, klinik, patologoanotomik, serologik va bakteriolitik tekshirish usullari hamda allergik test asosida amalga oshiriladi.

Dunyoning barcha davlatlarida bo‘lgani kabi, O‘zbekistonda ham qo‘llaniladigan yuqoridagi usullarning asosiy va eng ishonchlisi hayvon tirikligidagi o‘tkaziladigan serologik diagnostika hisoblanadi. Serologiyada asosiy

reaksiyalardan bo'lgan Komplement bog'lash reaksiyasi (KBR) uchun zarur bo'lgan gemolizin va komplement komponentlarini tayyorlash usullari, brutsellyoz bo'yicha insonlar orasidagi epidemiologik vaziyat tahlili, kasallikka qarshi vaktsinalarning tavsiflari va qo'llash bilan bog'liq muammolar bo'yicha keng ko'lamli ma'lumotlar berilgan.

«**Xususiy tadqiqotlar**» nomli dissertatsiyaning ikkinchi bobida tadqiqotlarning material va uslublari bayon etilgan.

Tadqiqotlarning ob'ekti, predmeti va hajmi borasida xususiy tadqiqotlarda diagnostik vositalarni tayyorlash uchun turlari va virulentligi bilan farq qiluvchi quyidagi brutsella kulturalaridan foydalanildi, ya'ni *B.abortus* 104M UZ hozirgi kunda O'zbekistonda RBT, AR, KBR va sut xalqali reaksiyasi (XR) uchun antigenlarni tayyorlash uchun qo'llanilmoqda. *B.melitensis* Rev-1 dunyoda qo'y va echkilar brutsellyoziga qarshi vaktsina tayyorlashda tavsiya etilgan va bugungi kunda Respublikamizda *B.melitensis* Rev-1UZ shtammi mahalliyashtirilib, ishlab chiqarish etalon shtammi sifatida vaktsina tayyorlash uchun tavsiya etilgan.

Samarqand, Jizzax, Toshkent viloyatlarida 2020-2023-yillar mobaynida brutsellyoz bo'yicha epizootik vaziyatni aniqlash maqsadida ilmiy tadqiqotlar 20 ta chorvachilikka ixtisoslashtirilgan fermer xo'jaliklarida olib borildi. Ushbu xo'jaliklar va laboratoriya hayvonlaridan jami 11455 qon zardoblari viloyat tashxis markazlarida, hamda institutning Brutsellyoz laboratoriyasida RBT, AR, KBR, IFT usullarida tekshirildi. Serologik reaksiyalar natijalarini shakllantirish va qayd etish "Hayvonlar brutsellyoz kasalligining diagnostikasi bo'yicha ilmiy asoslangan Tizim» (O'zR DVQ Ilmiy-Texnik Kengashining 2018-yil 12-dekabrda №19-son bayoni bilan tasdiqlangan) hamda "Методы диагностики бруцеллёза животных с использованием ИФА" (Методическое пособие Утвержденное Учёным Советом САМИВМ, протокол №11 от 03.07.2020 г.) qo'llanmalari yordamida amalga oshirildi.

Dissertatsiyaning «**Respublikada chorva hayvonlari orasida brutsellyoz bo'yicha epizootik va epidemik vaziyat tahlili**» deb nomlangan uchinchi bobida Respublikada chorva hayvonlari orasidagi epizootik va epidemik holat tahlili va Samarqand, Jizzax va Qashqadaryo viloyatlarida fermer xo'jaliklari va aholi qaramog'idagi chorva hayvonlarini brutsellyoz bo'yicha epizootik holatini o'rganish natijalari bayon etilgan.

Rasmiy statistik ma'lumotlarga ko'ra, 2018-yilda aholi o'rtasida 858 ta birlamchi brutsellyoz holati rasman qayd etilgan bo'lib, 100 ming aholiga nisbatan kasallanish darajasi 1,6 ni tashkil etgan. 2017-yilda esa ushbu ko'rsatkich 844 ta holatni, kasallanish darajasi esa 2,7 ni tashkil etgan. 2022-yil oxiriga kelib birlamchi brutsellyoz bilan kasallangan 1100 dan ortiq insonlar ro'yxatga olingan.

Aholi o'rtasida brutsellyoz bilan kasallanishning mavsumiyligi asosan quyidagicha: yanvar-mart oylarida 10,0% (111 holat), aprel-avgust oylarida 54,0% (597 holat), sentabr-dekabr oylarida 13,5% (150 holat) va birinchi navbatda urug'lantirish kampaniyasi bilan bevosita bog'liq ($R > 0,05$).

Veterinariya laboratoriyalarida diagnostika asboblari va reagentlarining yetishmasligi, hayvonlarni identifikatsiya qilish va chorva migratsiyasini kuzatish dasturining yo'qligi va boshqa muammolar tufayli veterinariya laboratoriyalarida

IFT va PZR kabi ilg'or diagnostika usullarining yetarli darajada joriy etilmaganligi hayvonlar orasida brutsellyozni odamlar uchun infeksiya manbai sifatida yo'q qilishga qaratilgan epizootiyaga qarshi yetarlicha chora-tadbirlar ko'rish imkonini bermayapti.

Respublikada davlat diagnostika markazlari tomonidan so'nggi besh yil davomida o'tkazilgan seromonitoring qiyosiy natijalari va shaxsiy tadqiqotlardan olingan ma'lumotlar 1-jadvalda keltirilgan.

1-jadval

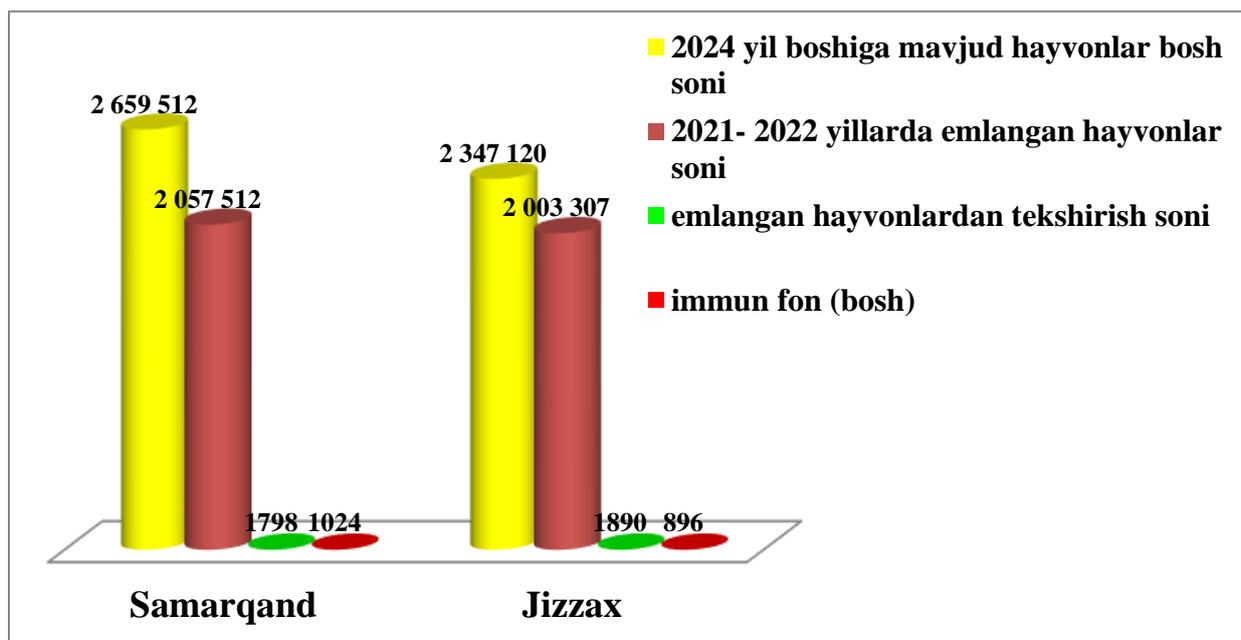
Respublikada 2021-2023-yillar davomida hayvonlar brutsellyozi bo'yicha o'tkazilgan seromonitoring natijalarining o'rtacha ko'rsatkichlari

Hayvon turi	Respublika bo'yicha mavjud chorva mollari umumiy bosh soni, mln.bosh	Sinovdan o'tkazildi (bosh soni)				Aniqlandi ijobiy reaksiya bergan (bosh soni)						Ijobiy reaksiya bergan hayvonlar % hisobida	
		Tashxis markazlari		VITI		Tashxis markazi	VITI (bosh)					Davl. markaz	VITI
		mln. bosh.	%	ming. bosh.	%	RBT, IFA.	RBT	AR	KBR	XR	IFT		
Qoramol	14,1	4,3	30,5	8,2	0,06	439	83	83	83	0	62	0,02	1,01
Qo'y va echki	24,1	2,3	9,5	5,1	0,02	681	93	93	93	0	104	0,04	2,04

Jadvalda keltirilgan ma'lumotlardan ko'rinib turibdiki, diagnostika markazlari mutaxassislari brutsellyozni tekshirishda asosan Rozbengal va IFT testlaridan foydalanadilar. Ushbu tahlillar yordamida har yili o'rtacha 439 bosh qoramol va 681 bosh mayda shoxli brutsellyoz bilan kasallangan hayvonlar aniqlanib, bu mos ravishda 0,02 va 0,04 foizni tashkil etadi. Natijada, statistik ma'lumotlarga muvofiq, O'zbekistonda keyingi uch yil davomida har yili 4,3 mln yirik va 2,2 mln mayda shoxli hayvonlar yoki umumiy bosh sonining mos ravishda o'rtacha 35% va 10,4 foizi brutsellyozga tekshirilib, bunda ijobiy reaksiya o'rtacha 439 bosh (0,02%) qoramol va 681 bosh (0,04%) qo'ylarda aniqlandi.

2021-2023-yillarda Samarqand va Jizzax viloyatlarida qishloq xo'jaligi hayvonlari o'rtasida brutsellyoz kasalligi bo'yicha o'tkazilgan monitoring natijalariga ko'ra quyidagilar aniqlandi:

Samarqand viloyati veterinariya va chorvachilikni rivojlantirish boshqarmasining ma'lumotlariga ko'ra, 2023-yil yakuniga viloyatda qariyb 1 million 390 ming 843 bosh qoramol va 1 million 963 ming 726 bosh mayda shoxli hayvonlar bo'lib, shundan 2019-2023-yillarda 2 mln. 57 ming 512 bosh mayda shoxli hayvonlar brutsellyozga qarshi *B.melitensis* Rev-1 shtamidan tayyorlangan vaksina bilan emlangan. Samarqand va Jizzax viloyatlari veterinariya va chorvachilikni rivojlantirish boshqarmalari bo'yicha emlangan hayvonlarning qoldiq immun fonini o'rganish natijalari 1-diagrammada keltirilgan.



1-diagramma. 2021-2022 yillarda Samarqand va Jizzax viloyatlarida mayda shoxli chorva hayvonlarining qoldiq immun fonining tahlil natijalari.

Dissertatsiyaning «**Hayvonlar brutsellyozini aniqlash uchun mahalliy diagnostik vositalar yaratish**» deb nomlangan to‘rtinchi bobida diagnostik vositalar yaratish maqsadida seleksiya qilingan, ishlab chiqarish va referens shtammlarining kultural, morfologik, biokimyoviy, agglyutinogenlik va boshqa xususiyatlarini o‘rganish natijalari va brutsellyozni aniqlash uchun diagnostik qon zardoblari, gemolizin, komplementni tayyorlash va standartlashtirish mezonlari, hayvonlar brutsellyozi tashxisida qo‘llaniladigan diagnostik qon zardoblari, gemolizin, komplement tayyorlash usullari va liofilizatsiya parametrlarini ishlab chiqish va standartlashtirish, laboratoriya hamda ishlab chiqarish sharoitida faollik hamda maxsuslik bo‘yicha sinash natijalari, mahalliy diagnostik qon zardoblari, komplement va gemolizin reagentlarining tajriba seriyalarining faolligi hamda maxsusligini ishlab chiqarish sharoitida sinovdan o‘tkazish, brutsellyoz diagnostikasida maxsus vositalarning (antigen va qon zardoblari) iqtisodiy samaradorligi bayon etilgan. Brutsellyoz diagnostikasida nazorat diagnostik brutsellyoz zardoblarini olish uchun ishlab chiqaruvchi sifatida 5 bosh qoramoldan foydalanildi, shundan 3 bosh urg‘ochi tanadan nativ ijobiy zardob (P/z) va 2 bosh buqadan tabiiy salbiy zardob (N/z) olish uchun foydalanildi.

Tajribada 3 bosh urg‘ochi tanalar va 2 bosh og‘irligi 250-300 kg bo‘lgan buqalarga RBT, AR va KBR kabi serologik usullar yordamida brutsellyozga qarshi antitelolar borligi tekshirildi va salbiy natija olgandan so‘ng, 3 bosh urg‘ochi tanalarga 2,5%-li yog‘li progesteron eritmasidan 5 ml hajmda yuborildi. Progesteron yuborilganidan keyin, 7-kuni barcha 3 bosh urg‘ochi tanalarga bo‘yin sohasining uchdan bir qismi teri ostiga *B.abortus* 104MUZ shtammining 80 mlrd. m.h. bo‘lgan 4 ml dozada inaktivatsiya qilingan ikki kunlik agar kulturasi yuborildi.

Immunizatsiyadan 8 kun o‘tgach, RBT ko‘rsatkichlari keskin ijobiy bo‘ldi, ammo barcha 3 bosh urg‘ochi tanalarda AR da antitelo titrlari ahamiyatsiz bo‘lib,

birinchi va ikkinchi tanalarda 100 XB/ml.ni va uchinchi tanada 200 XB/ml.ni tashkil etdi. Zardob faolligi uch marta qayta tekshirildi. Gormonal preparatni birinchi yuborishdan 15 kun o'tgach, 5 ml dozada 2,5% progesteronni yana qayta in'eksiya qilish bilan bir vaqtda, B.abortus 104MUZ shtammining faolsizlantirilgan ikki kunlik agar kulturasi avvalgiday bir xil dozasi (80 mlrd. m.h.) bilan giperimmunizatsiya o'tkazildi. Natijada, birinchi immunizatsiyadan keyin 22-24-kunlari va ikkinchi giperimmunizatsiyadan 7 kun o'tgach, barcha urg'ochi tanalarda antitelo titrlari keskin oshib, birinchisida 1:1400, ikkinchisida 1:1600 va uchinchisida yuqoriroq 1:1800 ni tashkil etdi. KBRda o'rtacha ko'rsatgichlar 40 XB/ml.ni tashkil etdi. RBT kuchli ijobiy bo'lib, 100% agglyutinatsiyaga sabab bo'ldi.

Mahalliy ishlab chiqarilgan ijobiy va salbiy zardoblarning sterilligi bo'yicha o'tkazilgan nazorat sinovlarda GPA, GPB, Kitt Tarossi kabi oziqa muhitlarida barcha kulturalar 10-12 kun davomida steril bo'lganligi aniqlandi. Shuningdek, tioglikol muhitida 8 kun davomida boshqa mikrofloralarning o'sishi kuzatilmadi.

Olingan eksperimental zardob namunalari, shuningdek, brutsella kulturalarini tipizatsiya qilishda bakteriologik tadqiqotlar uchun mo'ljallangan bo'lib, ular klassik usulda 1:25 suyultirilganda plastinkali va probirkali ARda faollik va maxsuslik uchun sinovdan o'tkazildi. Ushbu tajribada har xil tur va virulentlikka ega bo'lgan jami 30 ta brutsella shtamlari ishlatildi. Har bir shtamning ikki kunlik kulturasidan bitta petlya yuzasi o'rtacha $\sum X=1,5-2,0$ mlrd. m.h. predmet oynachasiga joylashtirildi va taxminan 0,3 ml miqdorda diagnostik zardobdan bir tomchi qo'shildi. Kuzatish vaqti 1-3 daqiqani tashkil qildi.

Tayyorlangan zardoblarning sezgirliigi va maxsusligini bakteriologik usullarda o'rganish natijalari 2-jadvalda keltirilgan.

2-jadval.

Brutsella kulturalarida mahalliy diagnostik zardoblar bilan tipizatsiya qilish maqsadida o'tkazilgan bakteriologik tadqiqotlar natijalari

№ t/r	Brutsella shtammlarining nomi	Tadqiqotlar soni	Plastinkali/probirkali AR da o'tkazilgan tadqiqotlar natijalari		
			STS antibrucella- abortus	P/z sinaladigan zardob	N/z sinaladi- gan zardob
<i>Nazorat (referens) shtammlar</i>					
1	<i>B. abortus 544</i>	3	+	+	-
2	<i>B.melitensis Novocherkassk 102</i>	3	+	+	-
3	<i>B.suis 1330</i>	3	+	+	-
<i>Ishlab chiqarish vaksina shtammlar</i>					
4	<i>B. abortus 104M UZ</i>	3	+	+	-
5	<i>B.melitensis Rev-1</i>	3	+	+	-
6	<i>B. abortus 19</i>	3	+	+	-
<i>Epizootik shtammlar</i>					
7	<i>B. abortus</i>	36	+	+	-
8	<i>B.melitensis</i>	36	+	+	-
JAMI		90	+	+	-

Izoh: STS – Xalqaro standart zardob; P/z – ijobiy zardob; N/z – salbiy zardob.

Natijada, mahalliy diagnostikum va reagentlardan foydalanib o'tkazilgan kompleks serologik va bakteriologik tekshirishlarda serologik testlarda kasallikni aniqlash va nazorat uchun qo'llangan antigen va reagentlarning (P/z va N/z) o'zbek analoglarining samaradorligi (RBT va RA uchun - 100 foizgacha, IFT uchun esa – 91 foizgacha) yuqoriligi aniqlandi.

Gemolizin tayyorlash jarayonida jami 30 bosh quyonlarga ko'rsatilgan sxema bo'yicha, ya'ni vena ichiga 0,25; 0,5, 0,75 ml. dozadan va chot sohasi teri ostiga 1,0; 1,25 ml dozada qo'chqor eritrotsitlarining 50%-li suspenziyasi 2 kun oralig'i bilan yuborilgandan so'ng, oxirgi in'eksiyadan 7 kun o'tgach, qon zardobi yuragidan total usulda olindi va zardobda quyon komplementini yo'q qilish maqsadida +58+60°C haroratda 30 daqiqa davomida inaktivatsiya qilindi. Shundan so'ng, steril glitserin yordamida 1:1 nisbatda konservatsiya qilinib, 100 sm³ hajmli flakonlarga quyildi. Komplement olish uchun jami 50 bosh 400-450 gramm bo'lgan sog'lom dengiz cho'chqalari ishlatildi, unda qon yurakdan steril holda olindi va xona haroratida bir soat davomida tindirildi, so'ngra zardobni ajratib bo'lgach, steril kolbaga olinib, 2 ml hajmdagi flakonlarga quyib chiqildi. Olingan gemolizin va komplementni nazorat qilish maqsadida vazelin moyi ostida 5-7 ml miqdordagi GPA, GPQ, GPJQ oziqa muhitlariga 0,3 ml gemolizin va komplement ekilib, 10 kun davomida sterillik uchun kuzatilganda, oziqa muhitlari mavjud har bir kolbalarda boshqa mikrofloralarning o'sishi kuzatilmadi. Gemolizin va komplement ekilgan barcha oziqa muhitlari +37°C ish rejimiga ega termostatda inkubatsiya qilindi va ularning sterilligi tasdiqlandi. O'tkazilgan nazorat natijalari 3-jadvalda keltirilgan.

3-jadval

Laboratoriya sharoitida tayyorlangan gemolizin va komplementlarning gemitizimda sifatini tekshirish natijalari

Reagentlar	Sterillik	Nazorat (gemolizin 1:100)		
		Gemolitik zardobning zararsizligi	Komplementning zararsizligi	Eritrotsitlar rezistentligi
Gemolizin	Steril	0,5	-	-
Komplement (1:20)	Steril	-	0,5	-
Fiziologik eritma		1,5	1,5	2,0
Qo'chqor eritrotsitlari (Alsiver eritmasidagi 2,5 %-li suspenziya)		0,5	0,5	0,5

Izoh: Probirkalar solingan shtativ chayqatildi va suv hammomida +37+38°C da 10 daqiqa ushlab turildi. Reaksiya natijalarini o'qish vizual tartibda xona yorug'ligida o'tkazildi.

Ushbu jadvalda keltirilgan nazorat natijalariga ko'ra, laboratoriyada ishlab chiqarilgan gemolizin va komplementning eksperimental namunalari gemotoksik va anti-komplementar xususiyatlarga ega emas, chunki ular eritrotsitlarning qarshiligiga ta'sir qilmaydi va shuning uchun eritrotsitlarning gemoliziga olib kelmaydi, ya'ni ular zararsiz hisoblanadi. Bu muhim omil hisoblanadi, chunki ijobiy va salbiy KBR ni vizual baholash ushbu ko'rsatkichlarga bog'liqdir.

Gemolizinning titrlash natijalari 1:1500 va 1:1750 bo'lgan mazkur preparatning tajriba namunalari faolligi bo'yicha Rossiyada ishlab chiqarilgan 1:1500 va 1:1750 titrli gemolizindan kam emasligi aniqlandi. Bu esa gemolizinni Respublikamizda laboratoriya sharoitida, hamda sanoat usulida mahalliy xom-ashyodan ishlab chiqarish imkoniyati mavjudligidan dalolat beradi.

Natijada, tayyorlangan gemolizinni titrlashda aniqlanishicha, uning faolligi (1:1500 va 1:1750 titrlarda) va maxsusligi Rossiyaning tijorat gemolizidan (1:1500 va 1:1750 titrlarda) qolishmasligi va mazkur reagentni respublikamizda mahalliy xom-ashyodan ishlab chiqarish imkoniyati mavjudligi isbotlandi.

VITI Brutsellyoz laboratoriyasida 50 bosh dengiz cho'chqalaridan olingan komplementning gemolitik tizimi Rossiyada ishlab chiqarilgan analog reagent bilan solishtirilganda aniqlangan titrlash natijalari 4-jadvalda keltirilgan.

4-jadval

Gemolitik tizimda «VITI» va «Shyolkovo biofabrikasi» komplementlarini qiyosiy titrlash natijalari

Komponentlar	Probirkalar raqamlari									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
VITI komplementi, O'zR (1:20)	0,02	0,04	0,06	0,08	0,10	0,12	0,14	0,16	0,18	0,20
«Shyolkovo» komplementi, RF (1:20)	0,02	0,04	0,06	0,08	0,10	0,12	0,14	0,16	0,18	0,20
Fiziologik eritma	0,18	0,16	0,14	0,12	0,10	0,08	0,06	0,04	0,02	-
Ikki marta ko'paytirilgan titrdagi gemolizin	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
2,5 foizli qo'chqor eritrotsiti suspenziyasi	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Fiziologik eritma	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
Suv hammomi 37-38°C haroratda 10 daqiqada										
Ruxsat etilgan minimal qiymat	QG	QG	QG	TG	TG	TG	TG	TG	TG	TG
VITI komplementi, O'zR (1:20)	QG	QG	QG	TG	TG	TG	TG	TG	TG	TG
«Shyolkovo» komplementi, RF (1:20)	QG	QG	QG	TG	TG	TG	TG	TG	TG	TG

Ushbu 6-jadvalda keltirilgan ma'lumotlardan ko'rinib turibdiki, 1:20 nisbatda suyultirilganda eng kichik miqdordagi komplementlar +37+38°C haroratda suv hammomida 10 daqiqa davomida eritrotsitlarning to'liq gemoliziga sabab bo'ldi, ya'ni, gemolitik tizimdagi barcha solishtirilgan komplementlarning titri 0,08 ni tashkil etdi va farq qilmadi.

Jami diagnostik brutsellyoz zardoblarini olish uchun ishlab chiqarish

sharoitida «BIOAGROVET» MChJga qarashli 5 bosh qoramollardan foydalanildi. Ushbu 5 bosh qoramollardan 3 boshi nativ pozitiv zardob (P/z) va 2 boshi nativ negativ zardob (N/z) olish uchun ishlatildi. Ikkala zardoblar ham referens-standartlar bo'lib, nazorat sifatida brutsellyoz antigenlarining maxsusligini, serologik testlarni o'tkazish texnikasining to'g'riligini (RBT, AR, KBR, KUBR, IFT, XR va boshqalar) tasdiqlash uchun, shuningdek, ajratilgan brutsella kulturalarini dastlabki tasdiqlash uchun bakteriologik tadqiqotlarda foydalanish uchun mo'ljallandi.

Ishlab chiqarilgan pozitiv va negativ zardoblarni nazorat qilish GOST 28085 (GF XI 2-qism, 187-192-betlar) bo'yicha GPA, GPQ Tioglikol, Kitt-Tarossi oziqa muhitlari yordamida sterillik sinovi orqali amalga oshirildi. Diagnostik zardoblar ishlab chiqarishning texnologik sxemasi quyidagi bosqichlaridan iborat: B.abortus 104MUZ vaksina shtammini tekshirish va immunizatsiya dozalarini tayyorlash; Emlash uchun mahsuldor hayvonlarni tayyorlash, ya'ni 5 bosh qoramollar dastlab RBT, AR va KBRda brutsellyozga qarshi antitelo titrlari mavjudligi uchun tekshirildi. Shundan so'ng, 3 bosh qoramolga 5 ml hajmdagi 2,5% progesteron eritmasi yuborildi.

Progesteron yuborilganidan 7, 15 va 30 kun o'tgach, qoramollarga B.abortus 104MUZ shtammidan bo'yinning uchdan bir qismiga teri ostiga 5 ml dozada 100 mlrd. m.h. bo'lgan inaktivatsiyalangan ikki kunlik agar kulturasi yuborildi. Oxirgi giperimmunizatsiyadan 20 kun o'tgach, ARdagi antitelolar darajasini tekshirish uchun qon tekshiruvi o'tkazildi.

Natijada, tanalarga 2,5 foizli progesteronni 5 ml dozada ikki marta yuborish, keyinchalik ularni B.abortus 104MUZ shtammidan 80 mlrd. m.h. (birinchi marta) va 100 mlrd. m.h. (qayta) dozada faolsizlantirilgan ikki kunlik kulturani ikki karra yuqtirish bilan giperimmunizatsiya orqali (25-30 kun) barcha hayvonlarda agglyutinin titrlari 1:1400 dan 1:1800 gacha keskin ortishiga erishildi, KBRda esa o'rtacha titrlar 40 XB/ml.ni tashkil etishi aniqlandi.

Qoniqarli nazorat natijalarini olganidan so'ng, hosil bo'lgan zardob hajmi 10 sm³ bo'lgan flakonlarga quyildi. Har bir flakonga 2,5 ml zardob solindi. Shu tarzda olingan diagnostik zardoblar Brutsellyoz laboratoriyasiga tegishli bo'lgan «Alpha 1-2 LD plus» laboratoriya qurilmasida liofilizatsiya qilindi.

Liofilizatsiya parametrlarini ishlab chiqish mahsulotni isitish harorati (T⁰C), mahsulotni muzlatish harorati (sublimatsiya-muzlash T⁰) va ularning ta'sir qilish vaqti bo'yicha amalga oshirildi.

Liofilizatsiya jarayoni ikkita asosiy bosqichni o'z ichiga oladi:

- muzlatish, bunda kassetalarda joylashtirilgan flakonlardagi zardoblar harorat oralig'i minus 25 dan minus 60⁰C gacha bo'lgan past haroratli kameraga joylashtirildi. Bunda muzlash asta-sekin atmosfera bosimida dastlab minus 25⁰C gacha, keyin 15 daqiqa ichida minus 40⁰C gacha tushirildi.

Bunda to'rtta harorat rejimi ishlab chiqildi: birinchisi - dastlabki haroratdan 0⁰C gacha, ikkinchisi – 0⁰C dan minus 5⁰C gacha. Keyinchalik, «harorat reversi»ni krioskopik haroratga, ya'ni uchinchi davr - suvning fazali muzga aylanishi va to'rtinchi aniqlangan harorat davri - muz va suyuqlik aralashmasining qattiqlashishi. Shu bilan birga, biz uchun to'rtinchi hal qiluvchi bosqichni aniqlash

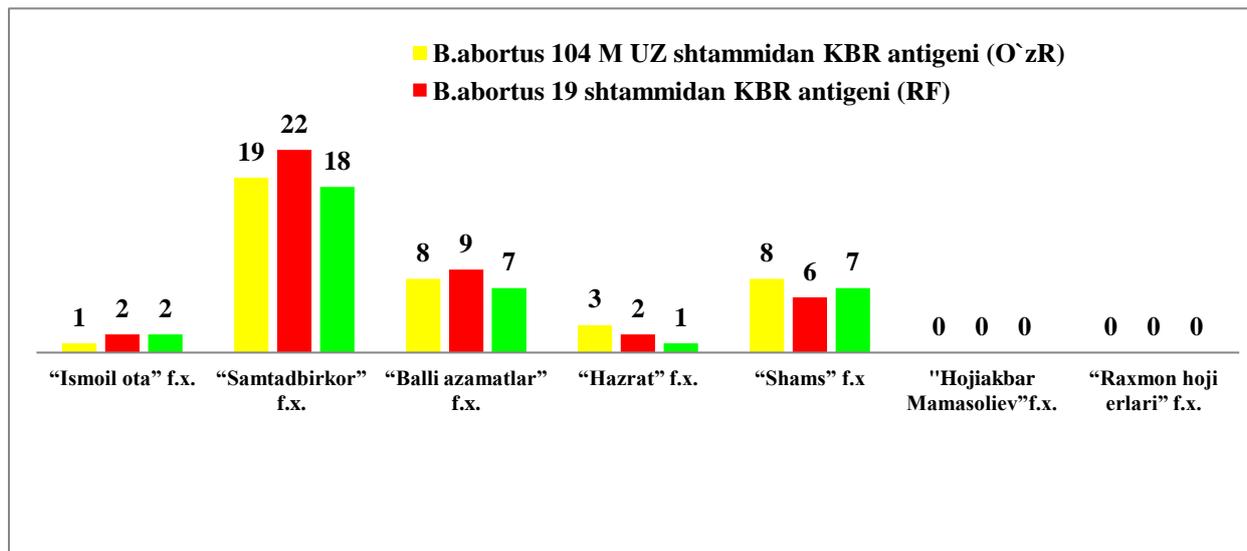
muhim edi, chunki to‘liq qotib qolish sodir bo‘ladigan vaqt oralig‘ini aniq bilish zarur.

Liofilizatsiyaning ikkinchi bosqichi sublimatsion quritishdan iborat bo‘lib, muzlatilgan zardob flakonlari tezda quritish kamerasiga o‘tkazilib, germetiklandi va vakuumda muzlatilgan namunadan namlik bug‘ini chiqarib tashlash uchun vakuum nasosi ishga tushirildi. Sublimatsion quritish davri ham ikki davrga bo‘lindi.

Birinchi davrda quritish vaqti noldan past haroratlarda qayd etildi, ikkinchi davrda esa quritish vaqti musbat haroratda aniqlandi. Ushbu davrlarni belgilash erkin va bog‘langan namlikni olib tashlash vaqtini aniqlash uchun zarur edi. Muzlatishning birinchi bosqichida 2,5 ml P/z, N/z zardobi va komplement quyilgan 10 sm³ hajmli steril flakonlar olinib, ular maxsus alohida kassetalarda raqamlanib, minus 30⁰C past haroratda muzlatgichga joylashtirildi. Diagnostik reagentlarni muzlatishning ushbu rejimi bilan harorat reversi 3 soatni tashkil etdi, ya’ni barcha sinovdagi preparatlarning kristall panjarasidagi to‘liq o‘zgarishlar qayd etildi. Bu bosqich eng muhim hisoblanadi, chunki u to‘liq qotish va liofilizatsiya boshlanishida sodir bo‘lgan vaqt oralig‘ini aniqlash imkonini beradi.

Muzlatilgandan so‘ng, reagentli barcha kassetalar «Alpha 1-2 LD plus» liofilizatsiya moslamasining vakuum kamerasi alohida javonlariga joylashtirildi, unga moslamaning vakuum nasosi ulanib, muzlatish kamerasi bilan bog‘landi. Bu davrda kameraning harorati minus 24⁰C ni tashkil qildi.

KBR uchun yaratilgan mahalliy gemolizin va komplementlarning tajriba seriyalari samaradorligini hamda maxsusligini aniqlash maqsadida Jizzax, Samarqand viloyatlardagi brutsellyoz kasalligi bo‘yicha har xil epizootik vaziyatiga ega bo‘lgan turli xo‘jaliklardan olib kelingan qon zardoblaridan foydalanildi. Ushbu tadqiqotlarning maqsadi turli korxonalar tomonidan ishlab chiqarilgan AR, KBR (KUBR) uchun yagona brutsellyoz antigenlaridan foydalanib, VITI Brutsellyoz laboratoriyasida ishlab chiqarilgan reagentlarning samaradorligi va maxsusligini umumiy baholashdan iborat edi. Mahalliy reagentlar sifatini qiyosiy baholash natijalari 2-diagrammada keltirilgan.



2-diagramma. Brutsellyoz bo‘yicha turli epizootik holatga ega bo‘lgan Samarqand

viloyati xo'jaliklari hayvonlarining qon zardoblari bilan mahalliy reagentlar bo'lgan komplement va gemolizinning KBRda samaradorligi va maxsusligini qiyosiy baholash natijalari.

Gemtizimda gemolizin va komplementni titrlash bo'yicha oldingi sinovlarda nazorat sifatida Rossiya va Qozog'istonda ishlab chiqarilgan tijorat komplementi va gemolizini ishlatilganligi sababli, ushbu mamlakatlar, xususan, Rossiya Federatsiyasining Shyolkovo biofabrikasi va Qozog'iston Respublikasining IChB «Antigen» korxonasi ishlab chiqarilgan AR, KBR (KUBR) uchun yagona brutsellyoz antigenlaridan foydalanishga qaror qilindi.

Natijada, brutsellyoz bo'yicha turlicha epizootik holat mavjud xo'jaliklardagi yirik va mayda shoxli hayvonlardan tayyorlangan qon zardoblarini komission tarzda laboratoriya va ishlab chiqarish sharoitlarida sinovlarda mahalliy reagentlar - gemolizin va komplementning - KBRda yuqori faollik va maxsuslikka egaligi hamda komplement bog'lovchi antitelolarni maksimal darajada aniqlandi.

Hozirgi kunda Rossiya Federatsiyada brutsellyoz tashxisida foydalaniladigan qon zardobi sotuvdagi narxi 2000 rubl (2 840 000 so'm), Qozog'iston Respublikasida brutsellyozni tashxislash uchun tayyorlangan qon zardobining sotuv narxi 1600 rubl (2 272 000 so'm) ga teng. Tadqiqotlarda brutsellyozni tashxislash uchun tayyorlangan qon zardobining sotuvdagi tannarxi 1 250 000 so'mni tashkil qiladi.

Demak, Qozog'iston Respublikasi «Brutsellyozni tashxislash uchun tayyorlangan qon zardobi»ning narxidan 1,82 marta, Rossiya Federatsiyasidagi «Brutsellyozni tashxislash uchun tayyorlangan qon zardobi»dan mahalliy qon zardobi 2,27 marta arzon ekanligi aniqlandi.

XULOSALAR

1. Statistik ma'lumotlarga muvofiq, O'zbekistonda keyingi uch yil davomida har yili 4,3 mln yirik va 2,2 mln mayda shoxli hayvonlar yoki umumiy bosh sonining mos ravishda o'rtacha 35% va 10,4 foizi brutsellyozga tekshirilib, bunda ijobiy reaksiya o'rtacha 439 bosh (0,02%) qoramol va 681 bosh (0,04%) qo'ylarda aniqlandi.

2. Samarqand, Jizzax, Qashqadaryo va Navoiy viloyatlarida hayvonlar o'rtasida brutsellyoz bilan kasallanishning eng yuqori darajasi aprel-avgust oylariga qayd etildi va 54,0 foizni (597 holat) tashkil etdi, sentabr-dekabr oylarida taxminan 13,5% (150 holat)ni va eng past ko'rsatkich 10,0% (111 holat) yanvar va fevral oylarida aniqlandi.

3. Mahalliy diagnostikum va reagentlardan foydalanib o'tkazilgan kompleks serologik va bakteriologik tekshirishlarda serologik testlarda kasallikni aniqlash va nazorat uchun qo'llangan antigen va reagentlarning (P/z va N/z) o'zbek analoglarining samaradorligi (RBT va AR uchun - 100 foizgacha, IFT uchun esa - 91 foizgacha) yuqoriligi aniqlandi.

4. Mahalliy reagentlar P/z va N/z, gemolizin va komplement serodiagnostikada RBT dan tashqari AR va KBR reyaksiyalarida ham qo'llash imkonini berdi, natijada brutsellyozga javob beradigan hayvonlar sezuvchanligi ikki baravarga oshib, qoramol va mayda shoxli hayvonlar orasida mos ravishda

0,39 va 0,44 foizni tashkil etishi aniqlandi.

5. Tanalarga 2,5 foizli progesteronni 5 ml dozada ikki marta yuborish, keyinchalik ularni B.abortus 104MUZ shtammidan 80 mlrd. m.h. (birinchi marta) va 100 mlrd. m.h. (qayta) dozada faolsizlantirilgan ikki kunlik kulturani ikki karra yuqtirish bilan giperimmunizatsiya orqali (25-30 kun) barcha hayvonlarda agglyutinin titrlari 1:1400 dan 1:1800 gacha keskin ortishiga erishildi, KBRda esa o'rtacha titrlar 40 XB/ml.ni tashkil etishi aniqlandi.

6. Mahalliy diagnostik zardoblar (P/z, N/z) va komplementning liofilizatsiyasi uchun haroratning mo'tadil ko'rsatkichlari, ya'ni yuqori nuqta T° -24 $^{\circ}$ C va quyi nuqta T° -3,7 $^{\circ}$ C ekanligi aniqlandi.

7. Tajribalarda aniqlanishicha, mahalliy reagentlarni liofilizatsiya qilish uchun evtetik harorat -7 $^{\circ}$ C -20 $^{\circ}$ C oralig'ida, sublimatsiya qilish uchun esa +3,6 $^{\circ}$ C +28,7 $^{\circ}$ C oralig'ida va bunda mo'tadil bosim 0,053-0,055 millibar bo'lishi zarurligi aniqlandi.

8. Muzlatish kamerasida ortiqcha namlik paydo bo'lishining oldini olish uchun teskari osmos (bosim) parametrlari o'rnatilgach, ular -52 $^{\circ}$ C dan -54 $^{\circ}$ C gacha bo'lgan harorat oralig'ida bo'lib, brutsellyoz zardoblari va komplementni 31 soat vaqt davomida sublimatsion quritishning to'liq siklini tashkil qilishi aniqlandi.

9. Tayyorlangan gemolizinni titrlashda aniqlanishicha, uning faolligi (1:1500 va 1:1750 titrlarda) va maxsusligi Rossiyaning tijorat gemolizidan (1:1500 va 1:1750 titrlarda) hech qolishmasligi va mazkur reagentni Respublikamizda mahalliy xom-ashyodan ishlab chiqarish imkoniyati mavjudligi isbotlandi.

10. Brutsellyoz bo'yicha turli epizootik holatli xo'jaliklardagi yirik va mayda shoxli hayvonlardan tayyorlangan qon zardoblarini komission tarzda laboratoriya va ishlab chiqarish sharoitlarida sinovlarda mahalliy reagentlar - gemolizin va komplementning - KBRda yuqori faollik va maxsuslikka egaligi hamda komplement bog'lovchi antitelolarni maksimal darajada aniqlashi isbotlandi.

11. Texnologiya transferi asosida ishlab chiqarilgan «G» sinfidagi brutsellyoz immunoglobulinlarini aniqlash uchun mo'ljallangan «Brutsellyoz IgG-IFT» diagnostika to'plamlari, yuqori sezuvchanlik va maxsuslikka egaligini ko'rsatdi, ya'ni AR bilan solishtirib 1010 bosh qoramol qon zardoblari namunalarini tekshirishda IFT usulida ijobiy reaksiya 56 boshga ko'proq ekanligi aniqlandi.

**НАУЧНЫЙ СОВЕТ PhD 06/29.10.2021.V.139.01 ПО ПРИСУЖДЕНИЮ
УЧЁНЫХ СТЕПЕНЕЙ ПРИ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОМ
ИНСТИТУТЕ ВЕТЕРИНАРИИ**

НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ВЕТЕРИНАРИИ

Для служебного пользования

экз. № _____

САИДОВ АКМАЛЖОН АКРАМОВИЧ

**СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ СРЕДСТВ ДИАГНОСТИКИ БРУЦЕЛЛЕЗА
ЖИВОТНЫХ**

**16.00.03 – Ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология,
микотоксикология и иммунология**

**АВТОРЕФЕРАТ ДИССЕРТАЦИИ ДОКТОРА ФИЛОСОФИИ (PhD)
ПО ВЕТЕРИНАРНЫМ НАУКАМ**

Самарканд – 2024

Тема диссертации доктора философии (PhD) зарегистрирована в Высшей аттестационной комиссии при Министерстве высшего образования, науки и инноваций Республики Узбекистан за номером №B2023.3.PhD/V98.

Диссертация доктора философии (PhD) выполнена в Научно-исследовательском институте ветеринарии.

Автореферат диссертации доктора философии (PhD) на трёх языках (узбекский, русский, английский (резюме)) размещен на веб-странице Научного совета (www.viti.uz) и в информационно-образовательном портале «ZiyoNet» (www.ziynet.uz)

Научный руководитель:	Рузимуродов Мухиддин Ахрорович кандидат ветеринарных наук, профессор
Официальные оппоненты:	Хамдамов Хабибуло Аблокулович доктор ветеринарных наук, профессор Маматова Замира Баратовна кандидат ветеринарных наук, доцент
Ведущая организация:	Ташкентский Государственный Аграрный университет

Защита состоится «___» _____2024 г. в ___ часов на заседании научного совета PhD.06/29.10.2021.V.139.01 при Научно-исследовательском институте ветеринарии, по адресу: 141500. Тайлякский район Чорогбон СМК. Новый Тайляк 1, дом 67.Тел.:(99866) 666-56-30; Fax;+(99866) 666-56-76 e-mail: nivi@vetgov.uz).

С диссертацией можно ознакомиться в информационно-ресурсном центре Научно-исследовательского института ветеринарии (зарегистрирована за №___). (Адрес: 141500. Тайлякский район Чорогбон СМК. Новый Тайляк 1, дом 67.Тел.:(99866) 666-56-30; Fax;+(99866) 666-56-76 e-mail: nivi@vetgov.uz).

Автореферат разослан «___» _____ 2024 года.

(протокол рассылки № ___ от _____ 2024 г.).

Б.А.Элмуродов

Председатель научного совета по присуждению учёных степеней, доктор ветеринарных наук, профессор

С.Ф.Пулотов

Учёный секретарь научного совета по присуждению учёных степеней, доктор философии (PhD) по ветеринарным наукам, старший научный сотрудник

Г.Х.Мамадуллаев

Председатель научного семинара при научном совете по присуждению учёных степеней, доктор ветеринарных наук, старший научный сотрудник

ВВЕДЕНИЕ (Аннотация диссертации доктора (PhD) философии)

Актуальность и востребованность темы диссертации. На сегодняшний день эпизоотическая и эпидемиологическая ситуация по бруцеллезу в мире достаточно острая и обстановка в этом отношении остается достаточно сложной. Тенденция обострения эпизоотической ситуации наблюдается во всех странах Центральной Азии. В мире существуют две основные системы (программы) борьбы с бруцеллезом. В одной системе используют вакцинацию и диагностику и в рамках этой программы эффективность зачастую очень низка. «В другой системе вакцинация полностью запрещена и используются только методы диагностики (чаще серологические) и эта программа считается более эффективной, поскольку позволяет полностью искоренить бруцеллез на определенных территориях страны»¹. Однако для реализации этих программ необходимо полностью охватить диагностическими тестами все поголовье скота в стране.

На сегодняшний день производство ветеринарных препаратов, в том числе вакцин, средств диагностики и реагентов в Узбекистане не покрывает текущие потребности. В стране имеется около 145 центров и более 265 лабораторий ветеринарно-санитарной экспертизы, занимающихся диагностикой болезней животных. Данные лаборатории и центры не обеспечиваются должным образом реагентами и диагностическими средствами. Почти все диагностические средства и реагенты закупаются в России, Европе и других странах за счет огромных бюджетных средств.

Настоящая диссертация выполнена в соответствии с Указом Президента Республики Узбекистан № УП-60 от 28 января 2022 года «О стратегии развития Нового Узбекистана на 2022-2026 годы»², а также: Постановлениями Президента Республики Узбекистан от 25 ноября 2020 года № PQ-4899 «О комплексных мерах по развитию биотехнологий и совершенствованию системы обеспечения биологической безопасности страны»³, и Кабинета Министров Республики Узбекистан № 564 от 23 июля 2018 года «О мерах по дальнейшему развитию производства ветеринарных лекарственных средств»⁴. Исследования проведенные в настоящей диссертации являются в определенной степени решением задач поставленных в данных указах и постановлениях.

Соответствие исследований приоритетным направлением развития науки и технологий Республики. Данные исследования выполнены в соответствии с приоритетным направлением развития науки и технологий в республике V. «Сельское хозяйство, биотехнология, экология и охрана окружающей среды».

Степень изученности проблемы. Как и во всем мире, в Узбекистане выявление бруцеллеза у животных проводится комплексно.

Сегодня в научных трудах зарубежных учёных С.Н.Вишелеского,

¹ Игнатов П.Е. Некоторые аспекты патогенности бруцелл. – Новочеркасск. – 1994. – С. 66–74.

² Указ Президента РУз. от 28 января 2022 года № УП-60.

³ LEX.UZ <https://lex.uz>. Постановление Президента РУз. от 25 ноября 2020 года № PQ-4899.

⁴ LEX.UZ <https://lex.uz>. Постановление Кабинета Министров РУз. от 23 июля 2018 года №564.

П.Ф.Здравовского, П.А.Вершиловой, К.П.Студенцова, П.С.Уласевича, П.А.Триленко, С.Н.Невского, К.В.Шумилова, О.Д.Склярова, Дж.Алтона, Николетти, Райта, Семпла, Смита, Альберга, Ж.Годфруа, М.Лейпке, Я.Бласко и других, узбекских исследователей В.К.Гринко, М.А.Абиджанова, Р.Г.Яраева, М.С.Мирзаева, Х.С.Салимова, Х.А.Хамдамова, М.А.Рузимуродова, А.Д.Улугмурадова и других в достаточной форме освещены вопросы эпизоотологии, патогенеза, диагностики, иммунитета, и специфической профилактики бруцеллеза.

В настоящее время весь комплекс существующих методов профилактики бруцеллёза внедрен в Узбекистане. Однако, реализация в полном объёме этого комплекса остаётся проблематичной в виду отсутствия в Республике международных стандартных реагентов (сывороток, комплемента, гемолизина) используемых при серодиагностике, а также для контроля методов. Данные стандартные реагенты в незначительных количествах завозятся из-за рубежа, на что тратятся немалые средства.

В НИИВ в 2007-2023 гг были разработаны и внедрены в практическую ветеринарию основные бруцеллезные антигены для РБП, РА, РСК, РДСК, КР, однако компоненты используемые в этих методах такие как, комплемент, гемолизин, стандартные положительные (P/z) и отрицательные (N/z) сыворотки необходимые для постановки этих тестов разработаны не были. Отсутствие комплемента, гемолизина, P/z и N/z, не позволяли осуществлять весь комплекс диагностических исследований на бруцеллёз, в соответствии с рекомендациями МЭБ и национальными требованиями, предусмотренными при контроле данной зоонозной инфекции.

Поэтому основные научные исследования диссертации были направлены на разработку и налаживание отечественного производства реагентов: комплемента, гемолизина, стандартных P/z и N/z на основе местных производственных штаммов и сырья с целью использования их при серодиагностике бруцеллёза с помощью РБП, РА, РСК, РДСК, КР и ИФА.

Связь темы диссертации с тематическим планом работ научного учреждения, где выполнена диссертация. Диссертационные исследования выполнялись в соответствии с научно-тематическими планами лаборатории бруцеллёза НИИВ (2018-2023), в рамках прикладного проекта №BV-A-QX-2018-19 «Разработка новой вакцины против бруцеллеза на основе местных штаммов для специфической профилактики бруцеллеза животных» (2018 г. - 2020 г), проекта по коммерциализации (Договор №215/14 от 29 июня 2022-2023 г.) «Разработка единого бруцеллезного антигена для РА, РСК и цветного антигена (КР) для кольцевой реакции с молоком» заключённого в соответствии с решением Научно-технического совета (№23 от 31 мая 2022 г.) и приказа министра (№ 196 от 14 июня 2022 г) Министерства инновационного развития Республики Узбекистан, в рамках Международного проекта «Развитие цепочки добавленной стоимости молочной отрасли» (2019-2021 гг).

Целью исследования является сравнительный анализ эпизоотической и эпидемиологической ситуации по бруцеллезу животных, наносящего

большой ущерб животноводству и здоровью человека, а также разработка, производство, внедрение отечественных диагностических средств и реагентов в ветеринарную практику.

Задачи исследования:

-изучить эпизоотическое состояние по бруцеллёзу сельскохозяйственных животных в фермерских хозяйствах и частных подворьях Джизакской, Самаркандской и Ташкентской областях с использованием отечественных диагностических средств;

-изучить культуральные, морфологические, биохимические, агглютиногенные и другие свойства селекционированных штаммов *B.abortus* 104MUZ VI-биотип, *B.melitensis* Rev-1UZ, I-биотип, референс культур *B.abortus* 544 I-биотип (Англия, Вейбридж) и *B.melitensis* Новочеркасск-102 (Россия) на соответствие паспортным данными с целью отбора наиболее перспективного для производства стандартных диагностических сывороток;

- разработка и стандартизация технологии изготовления отечественного гемолизина, комплемента, диагностических сывороток крови (реагентов) используемых при диагностике бруцеллеза животных;

- разработка параметров лиофилизации комплемента и диагностических сывороток (реагентов) для РБП, РА, РСК и испытание их активности, специфичности и стабильности в лабораторных условиях;

- разработка технологии производства отечественного гемолизина, комплемента, диагностических сывороток, изготовление экспериментальных серий и испытание активности и специфичности этих реагентов в лабораторных и производственных условиях.

Объектом исследования являлся материал полученный в результате патологоанатомических, серологических и аллергических исследований крупного и мелкого рогатого скота, собак принадлежащих фермерским животноводческим хозяйствам, личных подворьям Джизакской, Самаркандской и Ташкентской областей и лабораторных животных принадлежащих НИИВ.

Предметом исследования служили, сыворотки крови морских свинок кроликов, крупного рогатого скота, овец и коз, внутренние органы, вакцинные, референтные штаммы бруцелл, бруцеллезные диагностикумы, питательные среды.

Методы исследования. Используются эпизоотологические, клинические, бактериологические, серологические, биохимические, биотехнологические приёмы и методы исследований.

Научная новизна исследований заключается в следующем:

Впервые в животноводческих хозяйствах Джизакской, Ташкентской и Самаркандской областях проведён анализ эпизоотического состояния по бруцеллёзу с использованием отечественных диагностических средств и реагентов и дана сравнительная их характеристика.

Впервые в Узбекистане на основе трансфера технологий разработаны отечественные диагностические средства и реагенты для РБП, РА, РСК и РДСК - стандартные положительные и отрицательные сыворотки, наборы

для ИФА, изучены их активность и специфичность, а также разработаны схемы иммунизации животных и параметры лиофилизации.

В результате сравнительного изучения видов и штаммов бруцелл различной вирулентности установлено, что наиболее высокими агглютиногенными и низкими вирулентными свойствами обладает отечественный штамм *V.abortus* 104MUZ биотип-VI, в связи, с чем данный штамм был рекомендован и использован в качестве производственного штамма для изготовления стандартных диагностических сывороток.

Внедрение отечественных диагностических сывороток (P/z и N/z), гемолизина и комплемента позволили расширить комплекс серодиагностики, сделав возможным использования наряду с РБП ещё и дополнительно РА и РСК, что способствуют большему в два раза выявлению больных бруцеллёзом животных среди крупного и мелкого рогатого скота в частности показатели положительно реагирующих животных составляли 0,39% и 0,44% соответственно по сравнению с официальными данными 0,19% и 0,21% соответственно.

Практические результаты исследования заключаются в следующем:

В Ташкентской, Самаркандской и Джизакской областях на основе ретроспективного анализа и собственных исследований определена реальная эпизоотическая ситуация по бруцеллёзу с использованием отечественных диагностических средств и реагентов и дана оценка по уровню заболеваемости в отдельных хозяйствах, рекомендованы мероприятия по оптимизации мер борьбы с заболеванием;

на отечественный производственный штамм *V.abortus* 104MUZ VI-биотипа получен Патент на полезную модель Агентства интеллектуальной собственности Республики Узбекистан (№ FAP 02009 от 29.06.2022 г.), который впервые внедрен в качестве производственного штамма;

разработана схема гипериммунизации крупного рогатого скота для изготовления стандартных диагностических бруцеллёзных сывороток на основе отечественного штамма *V.abortus* 104MUZ, биотип-VI;

разработана технология изготовления гемолизина, комплемента и диагностических сывороток крови, используемых при диагностике бруцеллёза животных, разработаны и внедрены параметры лиофилизации с целью их стандартизации;

разработаны и внедрены регламент производства отечественных стандартных диагностических сывороток (P/z, N/z), гемолизина, комплемента и наборов реагентов для ИФА, Стандарты предприятия (Ts) и инструкции по применению указанных диагностических средств и реагентов.

Достоверность полученных результатов исследований. Достоверность результатов исследований основана на том, что в проведенных исследованиях использовались рекомендованные FAO/ВОЗ методы работы с культурами бруцелл, первичной обработки данных и их научного анализа, соответствие полученных теоретических результатов экспериментальным данным, результаты исследований подтверждены обширным научным анализом зарубежного и отечественного опыта, который

базируется на утвержденных научно-технических документах, результаты исследований внедрены и используются на практике.

Научная и практическая значимость результатов исследования.

Научная значимость результатов исследований заключается в том, что в результате сравнительного изучения биологических особенностей культур бруцелл, совершенствования приёмов биотехнологического производства препаратов, использовании отечественного штамма для производства средств диагностики, разработке и внедрения параметров лиофилизации для стандартизации и стабилизации реагентов оказывающих значительное влияние на качество диагностики путём снижения диагностических ошибок при серодиагностике бруцеллёза, применения эталонных штаммов, внедрение новых методов биотехнологии в ветеринарную науку, создания отечественных импортозамещающих диагностических средств и реагентов.

Практическая значимость результатов исследований заключается в создании отечественных стандартных диагностических сывороток, гемолизина, комплемента и наборов для ИФА на основе впервые применённого в республике отечественного слабовирулентного штамма *V.abortus* 104MUZ, локализации производства диагностических средств, разработки регламентов по изготовлению и контролю реагентов и инструкций по их применению, рекомендованных и внедрённых в ветеринарную практику.

Внедрение результатов исследования.

Созданный впервые в Узбекистане набор «Бруцеллез IgG-ИФА» зарегистрирован Государственным комитетом ветеринарии и развития животноводства 28 июля 2022 года под регистрационным номером ВП-001333-22. При участии ученых Самаркандского государственного университета ветеринарной медицины, животноводства и биотехнологии разработаны и внедрены в практику методическое пособие «Методика диагностики бруцеллёза животных с использованием ИФА» (Управление развития ветеринарии и животноводства при Министерстве сельского хозяйства Республики Узбекистан № 02/23-180 от 18 марта 2024 года), которое используется студентами вузов и ветеринарными специалистами при диагностике бруцеллёза животных на практике.

Разработано и внедрено в практику «Руководство по уходу за скотом и проведению ветеринарно-санитарных мероприятий в фермерских хозяйствах» (Решение Комитета ветеринарии и развития животноводства при Министерстве сельского хозяйства Республики Узбекистан от 18.03.2024 г. №02/23-180), что способствует проведению профилактических мероприятий на бруцеллез в фермерских хозяйствах и личных подворьях.

Разработка, внедрение гемолизина, комплемента и диагностических сывороток, а также организация их производства в Республике - наряду с РБП и РА позволяет применять в лабораторной практике дополнительно и РСК предназначенного для выявления хронических форм бруцеллёза, а также РДСК для диагностики инфекционного эпидидимита баранов вызываемого *V.ovis*. В результате это способствует расширению спектра диагностических исследований бруцеллёза животных, предотвращает его распространение,

обеспечивает безопасность продуктов животноводства (молока, молочных продуктов, мяса и мясопродуктов), а также предохраняет людей от этой инфекции значительно снижая риск заражения.

В процессе выполнения данной диссертационной работы в лаборатории бруцеллеза НИИВ изготовлено и передано Госкомветеринарии РУз 80 комплектов диагностических контрольных сывороток, используемых при серодиагностике бруцеллеза животных, на сумму 100,0 млн. сумов. На основе трансфера технологии внедрены Регламент производства (РП), Технические стандарты и инструкция по применению на основе которых выпущено 110 наборов для иммуноферментного анализа «Бруцеллез IgG-ИФА», которые внедрены в диагностические центры Республики на сумму 440,0 млн. сумов.

Апробация результатов исследования. Результаты диссертационных исследований обсуждались на методических и научных советах НИИВ в 2020-2023 годах. Все проведенные научные эксперименты были одобрены режимной комиссией института в 2020-2023 годах соответствующими документами. Результаты научных исследований обсуждались на 10 научно-практических конференциях, в том числе 5 международных и 5 республиканского значения.

Публикация результатов исследования. Всего по теме диссертации опубликована 21 научная работа, 5 в научных изданиях, рекомендованных к публикации результатов докторских диссертаций ВАК Республики Узбекистан, в том числе 3 в зарубежных и 2 республиканских журналах, 5 международных и в 5 республиканских научных журналах опубликованных в материалах конференций. По полученным результатам опубликованы 2 инструкции, 2 руководства и получен 1 патент на полезную модель.

Структура и объём диссертации. Диссертация состоит из введения, четырех глав, заключения, практических рекомендаций, списка использованной литературы и приложений. Объем диссертации составляет 116 страниц.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

В части «**Введение**» диссертации раскрывается актуальность и обоснована необходимость темы исследования, соответствие темы приоритетным направлениям развития науки и техники республики, делается обзор зарубежных научных исследований по теме. диссертация, состояние исследования проблемы, научно-исследовательское учреждение, в котором выполнена диссертация, связь с планами научно-исследовательской работы, цель исследования, задачи исследования, объект исследования, предмет исследования, методы исследования, научная новизна. Представлены практические результаты исследования, достоверность результатов исследования, научная и практическая значимость результатов исследования, внедрение результатов исследования, информация об утверждении результатов исследования, опубликованные работы, структура диссертации.

В первой главе диссертации, озаглавленной «Обзор литературы», даны

описание бруцеллеза, уровень изученности заболевания на сегодняшний день, эпизоотология (эпидемиология) и уровень его распространения в мире, сравнительные характеристики вакцин против бруцеллеза и проблемы в связи с их использованием, представлены сведения о специальной профилактике бруцеллеза и серологической диагностике заболевания и их анализ.

Сегодня диагностика бруцеллеза в ветеринарии осуществляется на основе комплексных эпизоотологических, клинических, патологоанатомических, серологических и бактериологических методов исследования и аллергопробы.

Как и во всем мире, основным и наиболее надежным из вышеперечисленных методов, применяемых в Узбекистане, является серологическая диагностика, проводимая при жизни животного. Методы получения гемолизина и комплемента, необходимых для реакции связывания комплемента (РСК), которая является одной из основных реакций в серологии, анализ эпизоотологической ситуации по бруцеллезу среди людей, описания вакцин против этого заболевания и проблемы, связанные с их применением предоставляют обширную информацию о данном заболевании.

Во второй главе диссертации под названием **«Собственные исследования»** описаны материалы и методы исследования.

По объекту, предмету и объему исследований для приготовления диагностических средств в собственных исследованиях были использованы следующие культуры бруцелл, различающиеся по видам и вирулентности, а именно *B.abortus* 104MUZ, в настоящее время используемая в Узбекистане для приготовления антигенов для РБП, РА, РСК. и кольцевой реакция (КР) с молоком, *B.melitensis* Rev-1 рекомендован в мире для приготовления вакцины против бруцеллеза овец и коз, а на сегодняшний день штамм *B.melitensis* Rev-1UZ национализирован в нашей Республике и рекомендован в качестве эталонного штамма для изготовления вакцин. В качестве контроля были выбраны культуры *B.abortus* 544 (референс, Вейбридж, Англия) и *B.melitensis* «Новочеркасск-102» (ВГНКИ, РФ). Эти 4 штамма были получены из «Уникальной коллекции микроорганизмов» лаборатории бруцеллеза НИИВ.

С целью определения эпизоотической ситуации по бруцеллезу в Самаркандской, Джизакской и Ташкентской областях в 2020-2023 годах проведены научные исследования в 20 хозяйствах, специализирующихся на животноводстве. Всего в областных диагностических центрах и в лаборатории бруцеллеза института исследовано 11455 сывороток крови из этих хозяйств и лабораторных животных с помощью РБП, РА, РСК, ИФА.

Проведение и регистрация результатов серологических реакций проводилось с использованием «Научно-обоснованной системы диагностики бруцеллеза животных» (утверждена Научно-техническим советом Госкомветеринарии Республики Узбекистан протокол № 19 от 12 декабря 2018 года). и «Методического пособия» Утвержденного Учёным Советом

СамИВМ, протокол № 11 от 03.07.2020»).

В третьей главе диссертации «Анализ эпизоотической и эпидемической ситуации по бруцеллезу среди скота в республике» проведен анализ эпизоотически-эпидемической ситуации по бруцеллёзу среди скота в республике находящихся в фермерских хозяйствах и частных подворьях на территориях Самаркандской, Джизакской и Кашкадарьинской областях.

По данным официальной статистики, в 2018 году среди населения официально зарегистрировано 858 случаев первичного бруцеллёза, а уровень заболеваемости составил 1,6 на 100 000 населения. В 2017 году этот показатель составил 844 случая, а уровень заболеваемости – 2,7. К концу 2022 года было зарегистрировано более 1100 человек, зараженных первичным бруцеллезом.

Сезонная заболеваемость бруцеллезом среди населения в основном следующая: 10,0% (111 случаев) в январе-марте, 54,0% (597 случаев) в апреле-августе, 13,5% (150 случаев) в сентябре-декабре и преимущественно напрямую связана с окотной компанией ($R > 0,05$).

Из-за нехватки диагностических средств и реагентов в ветеринарных лабораториях, отсутствия программы идентификации животных, мониторинга миграции скота и других проблем, недостаточного внедрения в ветеринарных лабораториях современных методов диагностики, таких как ИФА и ПЦР, не позволяет устранить бруцеллез среди животных, как источник заражения человека и принимать достаточные меры против эпизоотий данного заболевания.

Сравнительные результаты серомониторинга, проводимого государственными диагностическими центрами республики за последние пять лет, и данные собственных исследований представлены в таблице 1.

Таблица 1

Средние показатели результатов серомониторинга бруцеллеза животных по республике за 2021-2023 гг.

Вид животного	Общее поголовье скота в республике (млн. голов)	Исследовано (количество голов)				Выявлено положительная реакция (количество голов)						Реагирующие животные в %	
		Диагностич. центры		НИИВ		Диагностич. центры	НИИВ (голов)					Диаг. центры	НИИВ
		млн гол.	%	тыс. гол.	%		РБП, ИФА.	РБП	РА	РСК	КР		
Крупный рогатый скот	14,1	4,3	30,5	8,2	0,06	439	83	83	83	0	62	0,02	1,01
Овцы и козы	24,1	2,3	9,5	5,1	0,02	681	93	93	93	0	104	0,04	2,04

Примечание: РБП – розбенгал проба, РА – реакция агглютинации, РСК – реакция связывания комплемента, КР – кольцевая реакция с молоком, ИФА – иммуноферментный анализ.

Как видно из информации, представленной в таблице, при обследовании на бруцеллез специалисты диагностических центров в основном используют тесты Розбенгала и для подтверждения ИФА. С помощью этих анализов ежегодно выявляют в среднем 439 голов крупного и 681 голов мелкого рогатого скота, больных бруцеллезом.

В итоге, согласно статистическим данным, в Узбекистане ежегодным серологическим исследованиям на бруцеллез в течение последних 3-х лет (2021-2023гг.) подвергается примерно 4,3 млн. голов крупного и 2,2 млн. голов мелкого рогатого скота, что составляет в среднем всего 35,0% и 10,4% соответственно от общего поголовья, при этом количество положительно реагирующих бруцеллезных животных составляет порядка 439 голов КРС и 681 голов МРС или 0,02% и 0,04% соответственно.

По данным управления ветеринарии и развития животноводства Самаркандской области, на конец 2023 года в области насчитывается около 1 млн. 390 тыс. 843 голов крупного рогатого скота и 1 млн. 963 тыс. 726 голов овец и коз. В 2019-2023 годах 2 млн. 57 тысяч 512 голов овец было вакцинировано против бруцеллеза вакциной из штамма *B. melitensis* Rev-1. Результаты исследования остаточного иммунного фона вакцинированных животных отделами ветеринарии и развития животноводства Самаркандской и Джизакской областей представлены на диаграмме 1.

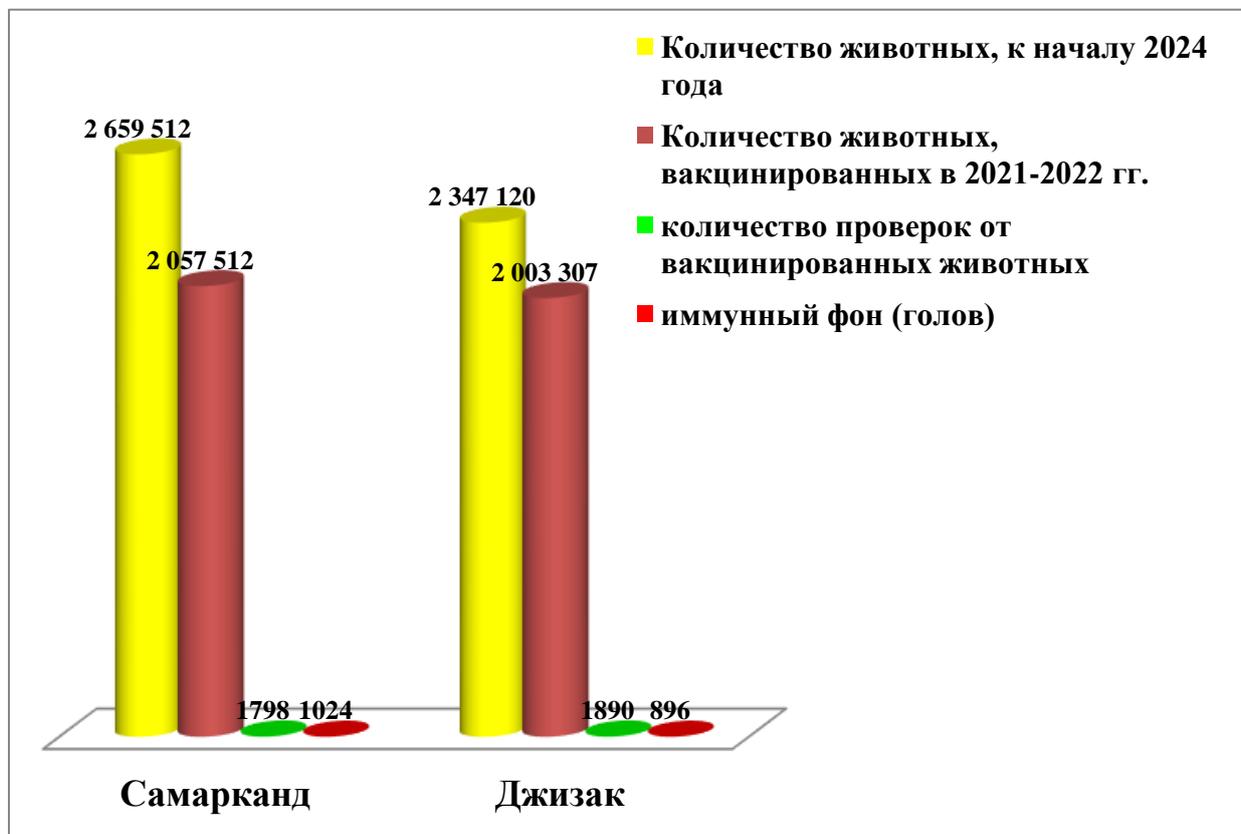


Диаграмма 1. Анализ остаточного иммунного фона мелкого рогатого скота в Самаркандской и Джизакской областях в 2021-2022 годах.

Четвертая глава диссертации под названием «Создание отечественных диагностических средств для выявления бруцеллеза животных» содержит результаты изучения культуральных, морфологических, биохимических, агглютиногенных и других свойств селекционированных, производственных и эталонных штаммов с целью создания диагностических сывороток и критериев их стандартизации, разработки и стандартизации технологических приёмов изготовления гемолизина и комплемента, а также определения параметров лиофилизации. Описаны лабораторные и производственные испытания, отечественных реагентов опытных серий диагностических сывороток, комплемента и гемолизина, экономическая эффективность специальных средств (антигена и контрольных сывороток) используемых при диагностике бруцеллеза.

В качестве производителей использовали 5 голов крупного рогатого скота для получения контрольных диагностических бруцеллезных сывороток, из них 3 телки использовали для получения нативной положительной сыворотки (P/z) и 2 быка - для получения нативной-отрицательной сыворотки (N/z).

В опыте 3 телки и 2 быка массой 250-300 кг предварительно были проверены на наличие антител против бруцеллеза серологическими методами, такими как РБП, РА и РСК, и после получения отрицательных результатов 3 телкам было проведено инъекции. Трём телкам первоначально было введено 5 мл 5% раствора прогестерона. После введения прогестерона на 7-е сутки всем трем телкам подкожно в одну треть области шеи вводили 80 млрд м.т. штамма *B.abortus* 104MUZ м.т. в виде инактивированной двухсуточной агаровой культуры в дозе 4 мл.

Через 8 дней после иммунизации у всех трех телок РБП была резко положительной, но титры антител в РА были незначительными а именно, 100 МЕ/мл у первой и второй телок и 200 МЕ/мл у третьей телки. Активность сыворотки перепроверяли трижды. Через 15 дней после первого введения гормонального препарата одновременно с повторным введением 2,5% прогестерона в дозе 5 мл вводили инактивированную двухсуточную агаровую культуру штамма *B.abortus* 104MUZ в той же дозе, что и ранее. (80 млрд м.т.) т.е. была проведена гипериммунизация.

В результате на 22-24-й день после первой иммунизации и через 7 дней после второй гипериммунизации (100 млрд.м.т.) титры антител у всех телок резко возросли, достигая 1:1400 МЕ/мл у первой, 1:1600 МЕ/мл и выше у второй и 1:1800 МЕ/мл у третьей. Средние показатели титров в РСК составили при этом 40 МЕ/мл. РБП была при этом резко положительной и вызывала 100% агглютинацию.

В итоге, гипериммунизацией нетелей (в течение 25-30 дней), путем двукратного введения 2,5%-прогестерона в дозе 5 мл и последующим двукратным заражением штаммом *B.abortus* 104MUZ в дозах 80 млрд. и 100 млрд. м.т. соответственно, достигнуто резкое увеличение титров агглютинина с 1:1400 до 1:1800, а в РСК средние показатели составили 40 МЕ/мл.

При контрольных испытаниях на стерильность положительных и отрицательных сывороток местного производства установлено, что все культуры были стерильны, в течение 10-12 дней на питательных средах МПА, МПБ, Китта-Тароцци, а также на тиогликолевой среде в течение 8 дней не наблюдалось роста микрофлоры.

Полученные экспериментальные образцы сывороток предназначались также для бактериологических исследований для типирования культур бруцелл. Типирование бруцелл на активность и специфичность проводили классическим методом на предметных стеклах и пробирочном РА в разведении 1:25. Всего в эксперименте было использовано 30 штаммов бруцелл различной видовой и вирулентной принадлежности.

Средняя площадь поверхности одной петли составляла порядка 2 мм в которой содержалось $\sum X=1,5-2,0$ млрд м.т. двухсуточной агаровой культуры. Культуры каждого штамма помещали на предметное стекло и добавляли каплю диагностической сыворотки в количестве 0,3 мл. Время наблюдения составляло 1-3 минуты.

Результаты изучения чувствительности и специфичности изготовленных сывороток бактериологическими методами представлены в таблице 2.

Таблица 2

Результаты бактериологического исследования, проведенного с целью типирования культур бруцелл с местными диагностическими сыворотками.

№ п/п	Название штаммов бруцелл	Количество исследований	Результаты исследований РА в пластинках/пробирках		
			STS antibrucella-abortus	P/z Тестируемая сыворотка	N/z тестируемая сыворотка
Контрольные (referens) штаммы					
1	<i>B. abortus</i> 544	3	+	+	-
2	<i>B. melitensis</i> <i>Novocherkassk</i> 102	3	+	+	-
3	<i>B. suis</i> 1330	3	+	+	-
Производственные вакцинные штаммы					
4	<i>B. abortus</i> 104MUZ	3	+	+	-
5	<i>B. melitensis</i> Rev-1	3	+	+	-
6	<i>B. abortus</i> 19	3	+	+	-
Эпизоотические штаммы					
7	<i>B. abortus</i>	36	+	+	-
8	<i>B. melitensis</i>	36	+	+	-
ВСЕГО		90	+	+	-

Примечание: STS – сыворотка международного стандарта; P/z - сыворотка положительная; N/z – сыворотка отрицательная.

Для изготовления гемолизина 30 кроликам вводили по схеме, следующие дозы: внутривенно 0,25, 0,5, 0,75 мл и под кожу 1,0,-1,25 мл. 50%-ную суспензии эритроцитов барана с интервалом в 2 дня через 7 дней

после последней инъекции отбирали сыворотку крови из сердца тотальным методом и использовали ее для элиминации комплемента кролика. Инактивацию проводили при +58, +60°C в течение 30 минут. После этого полученную гемолитическую сыворотку консервировали стерильным глицерином в соотношении 1:1 и разливали по флаконам по 100 см³.

Для получения комплемента использовали 50 здоровых морских свинок массой 400-450 грамм, у которых стерильно брали кровь из сердца и оставляли на один час при комнатной температуре, а затем, после отделения сыворотки ее переносили в стерильную колбу и разливали по 2 мл во флаконы.

С целью контроля полученного гемолизина и комплемента производили посеы в объеме 0,3 мл гемолизина и комплемента в пробирки содержащие 5-7 мл питательной сред МПА, МПБ, МППБ под вазелиновым маслом и наблюдали за стерильностью посевов в течение 10 дней. При этом роста микрофлоры не отмечалось.

Предварительно все питательные среды, в которых культивировали гемолизин и комплемент, инкубировали в термостате с рабочим режимом +37°C и подтверждали их стерильность.

Результаты контроля представлены в таблице 3.

Таблица 3.

Результаты проверки качества гемолизина и комплементов, в гемсистеме приготовленных в лабораторных условиях.

Реагенты	Стерильность	Контроль гемолизин 1:100)		
		Безвредность гемолитической сыворотки	Безвредность комплемента	Резистентность эритроцитов
Гемолизин	Стерил	0,5	-	-
Комплемент (1:20)	Стерил	-	0,5	-
Физиологический расвор		1,5	1,5	2,0
Эритроциты барана (2,5%-ный суспензия в растворе Алсивера)		0,5	0,5	0,5

Примечание: Штатив с пробирками встряхивали и выдерживали в водяной бане при температуре +37+38°C в течение 10 минут. Результаты реакции учитывали визуально при комнатном свете.

В таблице 4 представлены результаты титрования комплемента в гемолитической системе, полученную от 50 морских свинок в лаборатории бруцеллеза НИИВ, в сравнении с реагентом-аналогом российского производства.

Из данных, представленных в таблице 6, видно, что наименьшее количество комплемента в разведении 1:20 вызывало полный гемолиз эритроцитов в водяной бане при температуре +37+38°C в течение 10 минут, т.е. в гемолитической системе все сравниваемые титры комплемента составляли 0,08 и не различались.

Таблица 4.

Результаты сравнительного титрования комплементов «НИИВ» и «Щелковского биофабрики» в гемолитической системе.

Компоненты	Номера пробирок									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Комплемент НИИВ, РУз (1:20)	0,02	0,04	0,06	0,08	0,10	0,12	0,14	0,16	0,18	0,20
Комплемент «Щелково», РФ (1:20)	0,02	0,04	0,06	0,08	0,10	0,12	0,14	0,16	0,18	0,20
Физиологический раствор	0,18	0,16	0,14	0,12	0,10	0,08	0,06	0,04	0,02	-
Двойной титр гемолизина	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
2,5-ная суспензия эритроцитов барана	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Физиологический раствор	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
Водяная баня при температуре +37+38°C в течение 10 минут										
Минимальное допустимое значение	QG	QG	QG	TG	TG	TG	TG	TG	TG	TG
Комплемент НИИВ, РУз (1:20)	QG	QG	QG	TG	TG	TG	TG	TG	TG	TG
Комплемент «Щелково», РФ (1:20)	QG	QG	QG	TG	TG	TG	TG	TG	TG	TG

В производственных условиях для получения тотальных диагностических сывороток на бруцеллез использовали 5 голов крупного рогатого скота, принадлежащих ООО «BIOAGROVET». Из 5 голов крупного рогатого скота 3 использовали для получения нативной положительной сыворотки (P/z), а 2 головы для получения нативной отрицательной сыворотки (N/z).

Обе сыворотки являются эталонными стандартами и рекомендованы для подтверждения специфичности бруцеллезных антигенов, контроля точности постановки серологических методов и тестирования (РБП, РА, РСК, РДСК, ИФА, КР и др.), а также предназначены для использования в бактериологических исследованиях для предварительного подтверждения выделенных эпизоотических культур бруцелл. Контроль стерильности полученных положительных и отрицательных сывороток осуществляли с использованием МПА, МПБ Тиогликолевой среды и среды Китта-Тароцци

по ГОСТ 28085 (ГФ XI часть 2, стр. 187-192). Технологическая схема производства диагностических сывороток состоит из следующих этапов: исследование вакцинного штамма *B.abortus* 104MUZ на соответствие паспортным данным и приготовление иммунизирующих доз, подготовку продуктивных животных к вакцинации, т.е. 5 голов крупного рогатого скота, предварительно проверяли на наличие титров антител против бруцеллеза в РБП, РА и РСК.

После этого 3 головам крупного рогатого скота вводили по 5 мл 2,5% раствора прогестерона. После введения прогестерона через 7, 15 и 30 дней подкожно в область одной третьей части шеи вводили инактивированную суспензию двухсуточной агаровой культуры производственного штамма *B.abortus* 104MUZ. в дозе 5 мл содержащую 80 млрд м.т. Через 20 дней после последней гипериммунизации (100 млрд м.т.) проводили исследование крови с целью определения уровня антител в РА. После получения удовлетворительных результатов контроля полученную сыворотку разливали во флаконы емкостью 10 см³. В каждый флакон добавляли по 2,5 мл сыворотки. Полученные таким образом диагностические сыворотки лиофилизировали в лабораторной установке «Alfa 1-2 LD plus», принадлежащей лаборатории бруцеллеза НИИВ. Разработка параметров лиофилизации осуществлялась по температуре нагрева продуктов (T⁰C), температуре замораживания продуктов (сублимационной заморозки T⁰) и времени их выдержки.

Процесс лиофилизации включает в себя два основных этапа: - замораживание, при котором сыворотки во флаконах, помещенных в кассеты, помещали в низкотемпературную камеру с диапазоном температур от минус 25 до минус 60⁰C. При этом температуру замерзания постепенно снижали при атмосферном давлении сначала до минус 25⁰C, затем до минус 40⁰C в течение 15 минут. В ходе отработки параметров разработаны четыре температурных режима: первый - от начальной температуры до 0⁰C, второй - от 0⁰C до минус 5⁰C. Далее происходит «разворот температуры» к криоскопической температуре, то есть третий период - превращение воды в фазовый лед, а четвертый определяется температурным периодом - затвердевание смеси льда и жидкости. В то же время нам было важно определить четвертый критический шаг, поскольку необходимо точно знать временные рамки, в течение которых происходит полное затвердевание.

Второй этап лиофилизации заключался в сублимационной сушке, при которой флаконы с замороженной сывороткой быстро переносили в сушильную камеру, герметизировали и включали вакуумный насос для удаления паров влаги из замороженной в вакууме пробы. Период сублимационной сушки также делится на два периода. В первый период время сушки фиксировали при отрицательных температурах, а во второй период время сушки определяли при положительных температурах. Определение этих периодов было необходимо для определения времени удаления свободной и связанной влаги.

На первом этапе заморозки реагенты заливали в стерильные флаконы

объемом 10 см³ по 2,5 мл сыворотки P/z, N/z и комплемента, которые были пронумерованы в специальных индивидуальных кассетах и помещены в морозильную камеру при низкой температуре минус 30⁰С. При таком режиме замораживания диагностических реагентов разворот температуры составил 3 часа, то есть, зафиксированы полные изменения кристаллической решетки всех испытуемых препаратов. После замораживания все кассеты с реагентами помещались на отдельные полки вакуумной камеры лиофилизационного аппарата «Alfa 1-2 LD plus», к которой подключался вакуумный насос аппарата, который также и подключался к морозильной камере. В этот период температура в камере составляла минус 24⁰С. В итоге, экспериментально установлено, что при лиофилизации отечественных реагентов эвтектическая зона должна находиться в диапазоне температур от -7⁰С до -20⁰С, а при сублимации самая высокая температура в эвтектической зоне должна составлять Тэв +3,6⁰С, самая низкая Тэв +28,7⁰С, при этом оптимальное давление должно быть в пределах 0,053-0,055 миллибар.

Для определения эффективности и специфичности экспериментальной серии отечественного гемолизина и комплементов, созданных для РСК, были использованы сыворотки крови, привезенные из разных хозяйств с различной эпизоотической обстановкой по бруцеллезу из Джизакской и Самаркандской областей. Целью данных исследований была дать оценку эффективности и специфичности реагентов, производимых в лаборатории бруцеллеза НИИВ, с использованием единых бруцеллезных антигенов для РА, РСК (РДСК) производённых различными производителями. Результаты сравнительной оценки качества отечественных реагентов представлены на диаграмме 2.

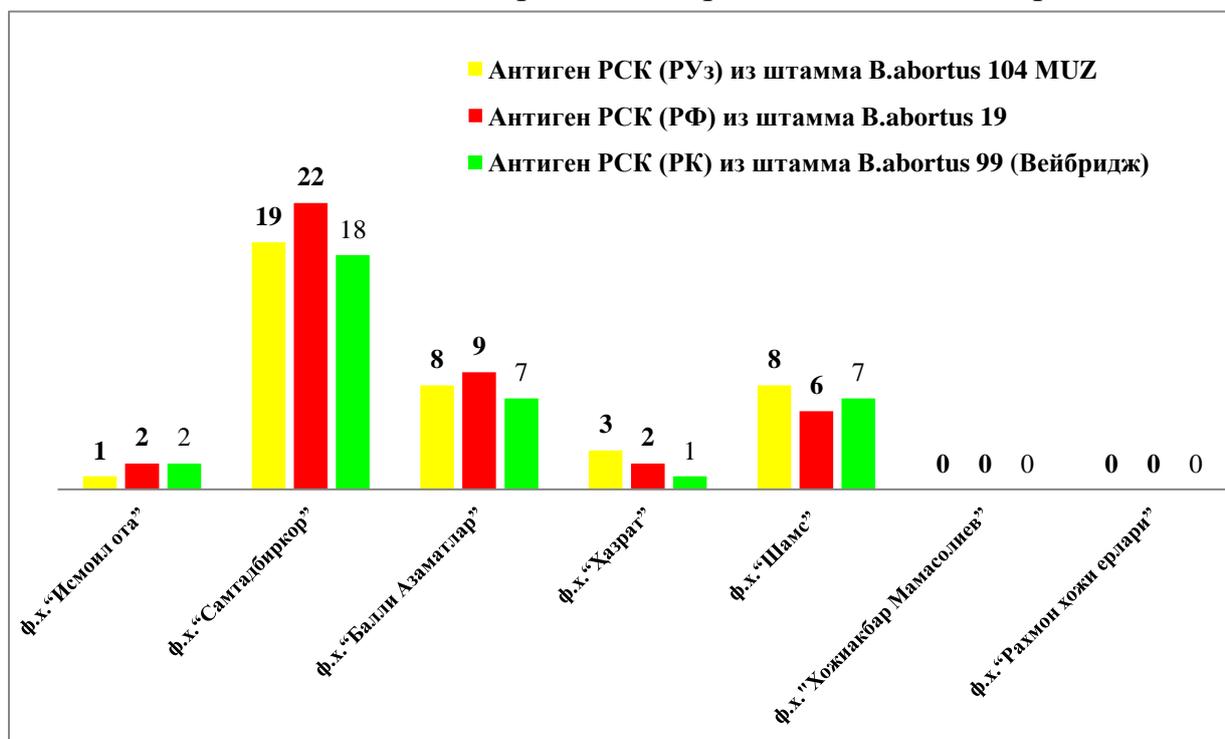


Диаграмма 2. Сравнительная оценка эффективности и специфичности комплемента и гемолизина, являющихся отечественными реагентами, с сыворотками крови сельскохозяйственных животных Самаркандской

области с различным эпизоотическим статусом по бруцеллезу в РСК.

Поскольку в предыдущих исследованиях по титрованию гемолизина и комплемента в гемолитической системе в РСК в качестве контроля были использованы коммерческие комплемент и гемолизин Российского и Казахского производства, то было принято решение также использовать аналоги этих препаратов которые производятся в этих странах, в частности, на Щелковской биофабрике РФ и НПО «Антиген» Республики Казахстан с использованием единого бруцеллезного антигена для РА, РСК (РДСК) отечественного производства. В итоге, результатами комиссионных лабораторных и производственных испытаний с применением производственных сывороток крови крупного и мелкого рогатого скота из хозяйств с различной эпизоотической ситуацией по бруцеллёзу доказано, что отечественные реагенты гемолизин и комплемент, обладают высокой активностью и специфичностью в РСК и выявляют максимальное количество комплементсвязывающих антител.

Результаты оценки экономической эффективности производства отечественных реагентов указывает на следующее, если в настоящее время цена сыворотки крови, используемой при диагностике бруцеллеза, в Российской Федерации составляет 2 000 рублей (2 840 000 сум), а в Республике Казахстан цена аналогичной сыворотки, составляет 1 600 рублей (2 272 000 сум), то стоимость сыворотки крови, приготовленной для диагностики бруцеллеза в Узбекистане составляет 1 250 000 сумов.

Таким образом, установлено, что местная сыворотка крови в 1,82 раза дешевле, чем «Сыворотка крови, изготовленная для диагностики бруцеллеза» в Республике Казахстан, и в 2,27 раза дешевле, чем «Сыворотка крови, изготовленная для диагностики бруцеллеза» в Российской Федерации.

ВЫВОДЫ

1. Согласно статистическим данным, в Узбекистане ежегодным исследованиям на бруцеллёз в течение последних 3-х лет подвергается примерно 4,3 млн голов крупного и 2,2 млн голов мелкого рогатого скота, что составляет в среднем всего 35,0% и 10,4% соответственно от общего поголовья, при этом количество положительно реагирующих бруцеллезных животных составляет порядка 439 голов КРС и 681 голов МРС или 0,02% и 0,04% соответственно.

2. Установлено, что в Самаркандской, Джизакской, Кашкадарьинской, Навоийской и Бухарской областях наибольшее количество положительно реагирующего бруцеллезного скота регистрируется с апреля по август и составил 54,0% (597 случаев), в сентябре-декабре - около 13,5% (150 случаев) и наименьший показатель - 10,0% (111 случаев) отмечается в январе и феврале.

3. Комплексными серологическими и бактериологическими исследованиями с использованием отечественных диагностикумов и реагентов установлена высокая эффективность узбекских аналогов антигенов и реагентов (P/z и N/z), использованных как при выявлении, так и контроле

серологических тестов (так, активность и специфичность для РБП, РА составили до 100%, а по ИФА - до 91%).

4. Внедрение отечественных диагностических сывороток (P/z и N/z), гемолизина и комплемента позволили расширить комплекс серодиагностики, сделав возможным использования наряду с РБП ещё и дополнительно РА и РСК, что способствуют двукратно большему выявлению больных животных и эти показатели составляют у крупного и мелкого рогатого скота 0,39% и 0,44% соответственно.

5. Гипериммунизацией нетелей (в течение 25-30 дней), путем двукратного введения 2,5%-прогестерона в дозе 5 мл и последующим двукратным заражением штаммом *B.abortus* 104MUZ в дозах 80 млрд. и 100 млрд. м.т. соответственно, достигнуто резкое увеличение титров агглютинина с 1:1400 до 1:1800, а в РСК средние показатели составили 40 МЕ/мл.

6. Установлено, что оптимальные температурные параметры при лиофилизации отечественных диагностических сывороток (P/z, N/z) и комплемента находятся на уровнях: верхний предел T^0 - 24⁰С и нижний предел T^0 - 3,7⁰С.

7. Экспериментально установлено, что при лиофилизации отечественных реагентов эвтектическая зона должна находиться в диапазоне температур от -7⁰С до -20⁰С, а при сублимации самая высокая температура в эвтектической зоне должна составлять $T_{эв}$ +3,6⁰С, самая низкая $T_{эв}$ +28,7⁰С, при этом оптимальное давление должно быть в пределах 0,053-0,055 миллибар.

8. Установлено, что после определения параметров обратного осмоса (давления) с целью предотвращения избыточной влаги в морозильной камере при диапазоне температур от -52⁰С до -54⁰С, полный цикл сублимационной сушки бруцеллезных сывороток и комплемента происходит в течение 31 часа.

9. Результаты титрования гемолизина собственного производства показали, что по активности (титр 1:1500 и 1:1750) и специфичности отечественные экспериментальные образцы гемолизина не уступают коммерческому аналогу российского производства (титром 1:1500 и 1:1750), что доказывает возможность промышленного производства данного реагента из местного сырья у нас в республике.

10. Результатами комиссионных лабораторных и производственных испытаний с применением производственных сывороток крови крупного и мелкого рогатого скота из хозяйств с различной эпизоотической ситуацией по бруцеллёзу доказаны, что отечественные реагенты гемолизин и комплемент, обладают высокой активностью и специфичностью в РСК и выявляют максимальное количество комплементсвязывающих антител.

11. Установлено, что разработанные путем технологического трансфера диагностические наборы «Бруцеллез IgG-ИФА», предназначенные для выявления бруцеллезных иммуноглобулинов класса «G», обладают высокой чувствительностью и специфичностью, поскольку при исследовании 1010 образцов сыворотки крови КРС в ИФА было выявлено на 56 голов

больше реагирующих животных, по сравнению с РА.

**SCIENTIFIC COUNCIL PhD 06/29.10.2021.V.139.01 ON AWARD OF
SCIENTIFIC DEGREES AT THE VETERINARY SCIENTIFIC
RESEARCH INSTITUTE**

VETERINARY SCIENTIFIC-RESEARCH INSTITUTE

For official use only
#_____copy

SAIDOV AKMALJON AKRAMOVICH

**IMPROVEMENT OF DIAGNOSTIC TOOLS FOR BRUCELLOSIS IN
ANIMALS**

**16.00.03 - Veterinary microbiology, virology, epizootology, mycology, mycotoxicology and
immunology**

**THE ABSTRACT DISSERTATION OF THE DOCTOR OF PHILOSOPHY (PhD)
ON VETERINARY SCIENCE**

Samarkand – 2024

The topic of the Doctor of Philosophy (PhD) dissertation was registered by the Supreme Attestation Commission at the Ministry of higher education, science and innovations of the Republic of Uzbekistan under the number B2023.3.PhD/V98.

The doctoral dissertation (PhD) carried out at the Veterinary Research Institute.

The Abstract of the dissertation in three languages (Uzbek, Russian, and English (resume)) is placed at web page to address (www.viti.uz) and an information-educational portal «ZiyoNet» at the address (www.ziynet.uz).

Scientific Supervisor: **Ruzimurodov Mukhiddin Akhrorovich**
candidate of veterinary sciences, professor

Official opponents: **Khamdamov Khabibulo Ablokulovich**
doctor of veterinary sciences, professor
Mamatova Zamira Baratovna
candidate of veterinary sciences, associate professor

Leading organization: **Tashkent State Agrarian University**

The defense will take place on "____" _____2024 at ___00 o'clock at a meeting of the Scientific Council PhD.06 / 10.29.2021.V.139.01 at the Scientific-research institute of Veterinary (Address: Taylyak district Chorogbon SMK, Tailyak 1, house 67. Tel.: (99866) 666-56-30; Fax; +(99866) 666-56-76 e-mail: nivi@vetgov.uz).

This doctoral dissertation can be found at the Information Resource Center at the Scientific-research institute of Veterinary (registered under No. (Address: Taylyak district Chorogbon SMK, Tailyak 1, house 67. Tel.: (99866) 666-56-30; Fax; + (99866) 666-56-76 e-mail: nivi@vetgov.uz).

The abstract of the dissertation was sent on "____" _____2024.
(distribution protocol No. _____ dated _____ 2024).

B.A.Elmurodov

Chairman of the Scientific Council for awarding academic degrees, Doctor of Veterinary Sciences, Professor

F.S.Pulotov

Scientific Secretary of the Scientific Council for awarding academic degrees, Doctor of Philosophy (PhD) in Veterinary Sciences, Senior Researcher

G.H.Mamadullayev

Chairman of the Scientific Seminar under the Scientific Council for awarding academic degrees, Doctor of Veterinary Sciences, Senior Researcher

INTRODUCTION (Abstract of Doctor of Philosophy (PhD) dissertation)

The aim of the study was to analyze the epizootic and epidemic situation of widespread animal brucellosis, which causes great harm to livestock farming and human health, to create, produce and implement new, local diagnostic tools into practice.

The object of the study was the use of research materials on large and small cattle, dogs, laboratory animals, pathological, serological and allergic in livestock farms, private subsidiary plots and farms of the Jizzakh, Samarkand and Tashkent regions.

The scientific novelty of the research is as follows:

For the first time, the epizootic state of brucellosis in livestock farms of the Jizzakh, Tashkent and Samarkand regions was analyzed, their comparative characteristics were given based on the use of local diagnostic tools and reagents.

For the first time in Uzbekistan, local reagents for RBP, RA, RSK and RDSK - standard positive and negative sera, an ELISA set were developed on the basis of technology transfer, their specificity and activity were studied, as well as immunization schemes and their lyophilization. Parameters were developed. As a result of a comparative study of *Brucella* species and strains of varying virulence, it was established that the local *B. abortus* 104MUZ biotype VI has the highest agglutinogenic and lowest virulent properties, and therefore this strain was used as a production strain in standard diagnostic sera selected for preparation and production.

Implementation of research results.

Implementation of research results. In order to diagnose brucellosis in animals in Uzbekistan, taking into account the international recommendations of the OIE, the "Scientifically based SYSTEM for diagnosing brucellosis in animals" (approved by the State Committee for the Development of Veterinary Medicine and Livestock Development of the Republic of Uzbekistan on December 12, 2018) was developed and implemented.

Based on the implementation of the results of scientific research to improve the serological diagnosis of brucellosis in animals:

The Brucellosis IgG-ELISA kit, created for the first time in Uzbekistan, was registered by the State Committee for Veterinary Medicine and Livestock Development on July 28, 2022 under registration number VP-001333-22. In addition, with the participation of scientists from the Samarkand State University of Veterinary Medicine, Animal Husbandry and Biotechnology, a methodological manual "Methodology for diagnosing animal brucellosis using ELISA" was developed and put into practice (Department for the Development of Veterinary Medicine and Animal Husbandry under the Ministry of Health). Agriculture of the Republic of Uzbekistan No. 02 / 23-180 dated March 18, 2024 of the Ministry of Finance). As a result, this made it possible to improve the diagnostics of animal brucellosis in practice for university students and veterinary specialists;

A "Guide to Livestock Care and Veterinary and Sanitary Measures in Farms" was developed and put into practice (Decision of the Committee for the Development of Veterinary Medicine and Animal Husbandry under the Ministry of

Agriculture of the Republic of Uzbekistan dated March 18, 2024 No. 02 / 23-180). As a result, this served as a prevention of brucellosis in the personal farms of livestock breeders and residents. Development of hemolysin, complement reagents and diagnostic serums and organization of their production in the republic - along with RBP and RSK diagnostics of brucellosis caused by the RSK strain and *B. ovis*, or brucellosis causing infectious epididymitis of rams, to identify chronic forms of brucellosis allows the introduction of RDSK is used for laboratory practice. As a result, this will expand the range of diagnostic studies of animal brucellosis and prevent its spread, ensure the safety of livestock products (milk, dairy products, meat and meat products) obtained from animals, and protect people from this infection. significantly reduces the risk of infection.

Within the framework of this dissertation, 80 sets of diagnostic control blood serums used in serodiagnosis of animal brucellosis were manufactured in the brucellosis laboratory of the Research Institute of Veterinary Medicine and transferred to the Committee for the Development of Veterinary Medicine and Animal Husbandry for the amount of 100.0 million soums. In addition, based on the transfer, the Production Regulations (PR), Technical Standard and Instructions for Use were introduced, and 110 sets of "Brucellosis IgG-ELISA" were released. These ELISA kits were introduced in diagnostic centers of the republic for the amount of 418.0 million soums.

The structure and scope of the dissertation. Structure and volume of the dissertation. The dissertation consists of an introduction, four chapters, a conclusion, practical recommendations, a list of references and appendices. The volume of the dissertation is 116 pages.

ЭЪЛОН ҚИЛИНГАН ИШЛАР РЎЙХАТИ
СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ
LIST OF PUBLISHED WOKS

I бўлим (I часть; I part)

1. Saidov A.A., Ruzimurodov M.A., Sattorov O'.Q., Ulug'muradov A.D. Chorvachilik yo'nalishidagi fermer xo'jaliklarida hayvonlarning brutsellyoz kasalligiga qarshi kurash va profilaktika chora-tadbirlari. // «Agro ilm» jurnali, № 6 (63), 2019, Б.-60-62. (16.00.00; №1).

2. Саидов А.А. Разработка отечественного гемолизина для реакции связывания комплемента в лабораторных условиях. // «Veterinariya meditsinasi» журнали. Тошкент, 2021. №11. -Б.13-14. (16.00.00; №4).

3. Саидов А.А., Мухтаров Ф.Н., Улуғмуратов А.Д., Қуватов Б.Х. ЧИстория диагностики бруцеллеза сельскохозяйственных животных. // International Interdisciplinary Research Journal. World of Science. Development & Science & Education. April, 2023, Volume-6, Issue-5. - P. 99-102.

4. Саидов А.А., Рuzимуродов М.А., Абдалимов С.Х., Каюмов Э.А. Результаты испытания отечественных наборов ИФА для диагностики бруцеллёза животных. // Образование наука и инновационные идие в мире. Международный научный электронный журнал №14 част-2, феврал 2023 г - С.73-78.

5. Saidov A.A., Ulugmuradov A.D. Local Hemolysin and Complement Results Of Laboratory Testing for the Diagnostic of Animal Brucellosis. // World Journal of Agriculture and Urbanization Volume: 02 | No: 8 | Aug - 2023 | ISSN: 2835-2866. <https://wjau.academicjournal.io/index.php/wjau>.

6. Saidov A.A., Ruzimurodov M.A., Ulugmuradov A.D. Mayda shoxli mollarning brusellyoz kasalligiga qarshi vaksina tayyorlashda qo'llaniladigan Brucella abortus 104-M-UZ varianti, biotip – 6 shtammi. FAP 02009. O'zbekiston Respublikasi Adliya vazirligi. Foydali model Ratenti // Toshkent, 2022. Rasmiy axborotnoma.

II бўлим (II часть; II part)

7. Saidov A.A., Ulugmuradov A.D., Ruzimurodov M.A. Hayvonlarning brutsellyoz kasalligi to'g'risida ma'lumotlar. // «Состояние разработки и производства биологических и ветеринарных препаратов и возможности расширения их локализации» Мат. меж. науч. прак. конф. Самарканд. 2020 г. - С. 180-184.

8. Саидов А.А., Улуғмуратов А.Д., Бутаева И.М., Исматова Р.А. Методика постановки ИФА согласно протокола лабораторного диагностического теста Brucellosis Serum Indirect Multi-species. // «Состояние разработки и производства биологических и ветеринарных препаратов и возможности расширения их локализации» Мат. меж. науч. прак. конф. Самарканд. 2020 г. - С. 101-106.

9. Saidov A.A., Ruzimurodov M.A. Ulugmuradov A.D. Improvement of

allergic diagnostics of animals under the conditions of Uzbekistan. // Scopus: IOP Conference Series: Earth and Environmental Science 548 (2020) 022073 doi:10. - P.1-4.

10. Саидов А.А., Каюмов Э.А. Значение Иммуноферментного анализа (ИФА) при диагностике инфекционных болезней животных и безопасности пищевой продукции. // Наука и инновация» Материалы Международный научный онлайн конференция. Ташкент, 26 ноября 2020 г. -С.528-530.

11. Саидов А.А. Роль иммуноферментного анализа ИФА при диагностике бруцеллёза сельскохозяйственных животных. // “НАУКА И ИННОВАЦИЯ” Материалы Международной научной онлайн конференции. Ташкент, 26 ноября 2020 г. - С.530-533.

12. Саидов А. К вопросу получения отечественного гемолизина для реакции связывания комплемента. // Сборник статей по материалам Международной научной экологической конференции, посвященной 100-летию КубГАУ 29-31 март 2022 г. - С.286-289.

13. Саидов А.А., Мамадуллаев Г.Х., Ахмадалиева Л.Х. Препараты для диагностики и профилактики смешанных инфекций. // Сборник статей по материалам Международной научной экологической конференции, посвященной 100-летию КубГАУ 29-31 март 2022 г. - С.55-56.

14. Саидов А.А., Рузимуродов М.А., Абдалимов С.Х. Разработка реагентов для иммуноферментного анализа ELISA используемых при диагностике бруцеллёза и других инфекционных болезней. // Перспективы развития ветеринарной науки её роль в обеспечении пищевой безопасности. 8-9 сентябрь 2022 г. -С.183-186.

15. Саидов А.А., Рузимуродов М.А., Улугмуродов А.Д., Куватов Б.Х., Жалилов Ж.Х. Препараты для диагностики бруцеллеза в Узбекистане. // Материалы меж.науч.практ.конференции посвящ. 100-летию Института экспериментальной ветеринарии им. С.Н.Вышелесского. Р.Беларусь, Минск. 15-16 сентября. 2022 г. - С. 62-64.

16. Saidov A.A., Ruzimurodov M.A., Ulug‘muradov A.D., Kuvatov B.X., Muxtarov F.N. O‘zbekistonda qishloq xo‘jalik hayvonlari brutsellyozining diagnostika vositalarini takomillashtirish. // Models and methods for increasing the efficiency of innovative research. International scientific-online conference – ISOC. www.interonconf.com. ISBN 978-955-3605-86-4. GERMANY. Berlin 11 may 2023 y.- P. 25-33

17. Саидов А.А., Рузимуродов М.А., Улугмуродов А.Д. Единый бруцеллезный антиген для РА, РСК и РДСК и способ его получения. // “Cho‘l chorvachiligi, ekologiyasi, yaylov agrofitosenozlarini yaratis‘hning dolzarb muammolari” Respublika ilmiy-amaliy konferensiya materallari. Samarqand 2023 yil- b.329.333.

18. Саидов А.А., Оккиев С.С., Рузимуродов М.А., Улугмуродов А.Д. Инструкция по применению комплемента гемолитической сыворотки для РСК. // Государственный научный центр по контролю качества и оборота ветеринарных лекарственных средств и кормовых добавок. Ташкент 2023 г.

19. Саидов А.А., Оккиев С.С., Рузимуродов М.А., Улугмуродов А.Д.

Инструкция по применению компонента сухого для серологических реакций. // Государственный научный центр по контролю качества и оборота ветеринарных лекарственных средств и кормовых добавок. Ташкент 2023 г.

20. Саидов А.А., Давлатов Р.Б., Улугмурадов А.Д., Бутаева И.М. Методы диагностики бруцеллеза животных с использованием ИФА. // Методическое пособие: Разработано с СамВМИ. Самарканд, 2020 г. -С.48.

21. Саидов А.А., Рўзимуродов М.А., Исаев Ж.М., Улуғмурадов А.Д., Абдалимов С.Ҳ. Хўжаликларда қорамолларни парваришлаш ва уларда олиб бориладиган ветеринария-санитария тадбирлар бўйича Қўлланма. // Ўзбекистон Республикаси ВЧРДҚ томонидан 31.05.2021 йилда тасдиқланган, Самарқанд. 2021. -Б.-49.