

ВАКЦИНА ПРОТИВ ЭМФИЗЕМАТОЗНОГО КАРБУНКУЛА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА, ИЗГОТОВЛЕННАЯ ИЗ МЕСТНОГО ЭПИЗООТИЧЕСКОГО ШТАММА И ЕЁ ИММУНОГЕННОСТЬ.

Салимова Д.И., Салимов И.Х.

Научно-исследовательский институт ветеринарии, Самарканд. Узбекистан

Аннотация: Выделены местные эпизоотические штаммы возбудителя *Cl. Chauvoei*, из павших от эмфизематозного карбункула. Изучены культурально-морфологические и биологические свойства выделенных штаммов. Из них отобран высокопатогенный штамм возбудителя, из которого изготовлена ГОА формолвакцина против эмфизематозного карбункула животных. Изучена иммуногенность и продолжительность иммунитета данной вакцины в опытах на морских свинках и овцах и получены положительные результаты.

Ключевые слова: Эмфизематозный карбункул, крупный рогатый скот, клинические признаки, патологический материал, отек, хромота, возбудитель, Китт-Тароции, культура, морская свинка, *Cl. Chauvoei*, микроскопия.

VACCINE AGAINST EMPHYSEMATOUS CARBUNCLUS OF CATTLE MADE FROM LOCAL EPIZOOTIC STRAIN AND ITS IMMUNOGENICITY.

Salimova D.I., Salimov I.Kh.

Scientific Research Institute of Veterinary

Annotation: Local epizootic strains of the causative agent *Cl. Chauvoei*, from those who fell from emphysematous carbuncle. The cultural-morphological and biological properties of the isolated strains were studied. A highly pathogenic strain of the pathogen was selected from them, from which the GOA formol vaccine against emphysematous carbuncle of animals was made. The immunogenicity and duration of immunity of this vaccine were studied in experiments on guinea pigs and sheep, and positive results were obtained.

Key words: Emphysematous carbuncle, cattle, clinical signs, pathological material, edema, lameness, pathogen, Kitt-Tarotia, culture, guinea pig, *Cl. Chauvoei*, microscopy.

MALOLIK EPIZOOT SHTAMINTDAN TAYYORLANGAN QORAMOLLARNING EMFIZEMATUS KARBUNKLUSIGA QARSHI VAKSINA VA UNING IMMUNOGENLIGI

Salimova D.I., Salimov I.X.

Veterinariya ilmiy tadqiqot instituti

Annotatsiya: Qo'zg'atuvchining mahalliy epizootik shtamlari *Cl. Chauvoei*, amfizematik karbunkuldan tushganlardan hisoblanadi. Izolyatsiya qilingan shtamlarning madaniy-morfologik va biologik xususiyatlari o'rganildi. Ulardan patogenning yuqori patogenli shtammi tanlab olindi, undan hayvonlarning

emfizematoz karbunkuliga qarshi GOA formol vaksinasi tayyorlangan. Gvineya cho'chqalari va qo'ylarda o'tkazilgan tajribalarda ushbu vaksinaning immunogenligi va immunitetining davomiyligi o'rganildi va ijobiy natijalarga erishildi.

Kalit so'zlar: *Emfizematoz karbunkul, qoramol, klinik belgilar, patologik material, shish, oqsoqlik, patogen, Kitt-Tarotia, kultura, dengiz cho'chqasi, Cl. Chauvoei, mikroskop.*

Введение. Обеспечение населения мясом, молоком, шкурой и другими продуктами животноводства является основной проблемой сегодняшнего дня. Для решения этой проблемы необходимо увеличить поголовье скота, добиться повышения их продуктивности. Существует ряд негативных факторов, без предотвращения которых очень сложно достичь намеренных целей в увеличении поголовья скота и повышения их продуктивности. Среди заболеваний сельскохозяйственных животных, вызываемых патогенными анаэробами, эмфизематозный карбункул рогатого скота, обусловленный спорообразующими бациллами *Cl. chauvoei* заслуживает особого внимания. Инфекционные заболевания создают не только серьезную помеху в увеличение поголовья скота, но и приводят к их падежу. Эмфизематозный карбункул (Эмкар) крупного рогатого скота относится к заболеваниям, которые наносят сельскому хозяйству огромный экономический ущерб. Ущерб складывается из падежа больных животных, вынужденной вакцинации в случае возникновения заболевания в неблагополучных хозяйствах, а также затраты на сжигание трупов, дезинфекцию местности, где содержалось больное животное.

Данное заболевание встречается во всех частях света, где широко развит животноводство в том числе и в Узбекистане. Возбудитель болезни *Cl.chauvoei*, строгий анаэроб, грамположительная, подвижная палочка, в организме животного выделяет агг्रेसины. В трупах и во внешней среде возбудитель образует споры. Споры неопределенно длительное время сохраняют жизнеспособность в почве, что служит причиной стационарного неблагополучия ферм, скотного двора и пастбищ. Поэтому, очаги эмкара долгое время сохраняются в природе и невозможно их уничтожения. К заболеванию восприимчивы крупный и мелкий рогатый скот[1,2,3].

Эмфизематозный карбункул остро протекающее инфекционное заболевание, которое чаще встречается среди животных от трехмесячного возраста до четырех лет средней и выше средней упитанности. Если учесть, что заболевание продолжается 1-2 дня после появления первых клинических признаков, лечение болезни не дает желаемого эффекта. Основа меры борьбы с данным заболеванием, это профилактика. Для профилактики заболевания необходимо вакцинировать весь восприимчивое поголовье скота против эмфизематозного карбункула[1,3,4].

До настоящего времени в Узбекистане не производится биопрепарат против эмфизематозного карбункула животных. Для предупреждения заболевания каждый год в Республику из Российской Федерации закупается в среднем 4 миллион доз (8 тонн) вакцины. Потребность нашего государства к этой вакцине намного больше, так как в стране насчитывается около 12 миллионов поголовья крупного и свыше 21 миллионов мелкого рогатого скота. Спрос к этой вакцине год за годом увеличивается.

Все это предопределило цель – выделить местные эпизоотические штаммы возбудителя эмфизематозного карбункула крупного рогатого скота *Cl.chauvoei* и на его основе изготовит вакцину против эмфизематозного карбункула. Тем самым, обеспечит животноводство страны эффективной вакциной против эмфизематозного карбункула, изготовленного из местного эпизоотического штамма возбудителя.

Материал и методы исследований. Для выделения возбудителя болезни в лабораторию были привезены пробы крови от животных, содержащихся вместе с больными и павшими животными, а также пробы патологического материала (сердце с кровью, печень, почки, мышечная ткань из пораженного участка) взятых от павших животных.

В лаборатории их исследовали общим принятым бактериологическим методом, в котором были использованы мясопептонный бульон (МПБ), мясопептонный агар (МПА), мясопептонный печеночный бульон – среда Кит-Тароцци (МППБ), глюкозно-кровяной агар. В целях выделения возбудителя эмкара из проб крови от животных, содержащихся вместе с павшим животным и патологического материала взятых от павших животных произвели посевы на питательные среды МППБ под вазелиновое масло. Из проб крови, пораженного участка мышц и внутренних органов посев производили напрямую. Патологический материал от павших животных исследовали общим принятым бактериологическим методом. Для роста посевного материала их инкубировали в термостате при температуре 37,0-37,5 °С. Через сутки обнаружили помутнение питательной среды и газообразование на поверхности среды. Из ростовой культуры на предметном стекле готовили мазки, окрашивали их по Граму и просматривали иммерсионной системе микроскопа. Изучали культурально – морфологические и биологические свойства выделенных возбудителей эмкара.

Из выделенных штаммов был отобран высоко патогенный штамм Т-04, из которого была изготовлена концентрированная ГОА формолвакцина против эмфизематозного карбункула крупного рогатого скота. Для изготовления вакцины использовали штамм *Cl.chauvoei* Т-04, МППБ, формалин, гидроокись алюминия, агар-агар, двунормальный раствор едкого натра. Для определения иммуногенности вакцины использовали морских свинок с весом 350-450 г., а для определения продолжительности иммунитета использовали годовалых каракульских овец средней и вышесредней упитанности. Опыты проводились в титражнике НИИВ, соблюдая все меры септики и асептики.

Собственные исследования. В результате бактериологических исследований проб крови от животных, содержащихся вместе с павшими животными и патологического материала взятых от павших животных, были выделены грамположительные, прямые толстые палочки с закругленными концами, располагающиеся поодиночке и попарно. В мазках «висячая капля» определили, что палочки очень подвижны, и они имеют перитрихи. Для определения патогенности выделенного возбудителя суточную культуру ввели двум морским свинкам в дозе 0,5 мл в мышцу живота. Через 36-48 часов морские свинки пали с проявлением клинических признаков эмфизематозного карбункула. При патологоанатомическом вскрытии павших морских свинок

наблюдали идентичную патологическую картину как при эмфизематозном карбункуле. Из мышц пораженного участка и внутренних органов павших морских свинок реизолировали возбудителя эмфизематозного карбункула *Cl.chauvoei*.

Для изготовления вакцины отобрали высокопатогенный местный штамм *Cl.chauvoei* T-04, из которого сделали посеы в 1 литровые колбы с питательной средой Китт-Тароцци и инкубировали в термостате при температуре 37,0-37,5 °С в течение 36 часов. После помутнения питательных сред и газообразования на их поверхности, культуру освобождали от кусочков печени, и в него добавили 0,4 % химически чистого формалина, содержащего 36 % формальдегида.

Формализированную культуру выдерживали при температуре 38,0-39,0 °С в течение 3-х суток, перемешивая 2-3 раза в день. Через трое суток в формализированную культуру добавили 3 %-ный раствор стерильной гидроокиси алюминия в количестве 15 %. После тщательного перемешивания вакцину оставляли при комнатной температуре – 18-22 °С в течение 2-3 суток до полного просветления надосадочной жидкости.

Прозрачную верхнюю часть в количестве 2/3 общего объема вакцины отсасывали при помощи сифона и к оставшемуся осадку добавляли 0,1% стерильного расплавленного агар-агара подогретой до 37 °С. рН вакцины доводили до 7,4 двунормальным раствором едкого натра.

После тщательного перемешивания, вакцину разливали во флаконы, закрывали резиновыми пробками и обкатывали алюминиевыми колпачками.

Иммуногенности вакцины проверяли путем однократной подкожной вакцинацией в область брюшных мышц 10 морским свинкам массой 350-450 г в дозе 0,4 мл. Через 18 суток после вакцинации, 10 вакцинированным морским свинкам и 10 морским свинкам контрольной группы вводили внутримышечно суточной культурой высокопатогенного местного штамма *Cl.chauvoei* X-04 в дозе 20 ЛД₅₀, заранее определенной для морской свинки.

В результате проведенных исследований из 10 вакцинированных морских свинок 9 выжили в течение 5 суток, а в контрольной группе из 10 не вакцинированных морских свинок все пали и не одна не выжила до указанного времени. Результаты полученных данных указывает о высокой иммуногенности этой вакцины, изготовленного из местного эпизоотического штамма.

Для определения продолжительности иммунитета вакцины провели опыт на 8 головах овец, которые были разделены по четыре голов на две: 1-опытная и 2-контрольная группы.

Овец опытной группы иммунизировали нами разработанной ГОА формолвакциной, изготовленной из штамма *Cl.chauvoei* T-04. Вакцину вводили внутримышечно в дозе 2 мл в внутреннюю бесшерстную сторону бедра. Овцы обеих групп находились под постоянным наблюдением. Условия содержания и кормления у животных обеих групп была одинаково. Спустя 6 месяцев после вакцинации овец обеих групп заражали суточной культурой *Cl. chauvoei* X-04 в дозе ЛД₁₀₀, заранее определенного для овец. Культуру ввели во внутреннюю бесшерстную сторону бедра.

За овцами установили постоянное наблюдение в течение 30 суток. Проводили клиническое обследование зараженных животных. У овец опытной группы через 8 часов после заражения определили повышение температуры тела на 0,4-0,7 °С, частота пульса составила 80-90 ударов и дыхания 30-40 раза в минуту. Общее состояние животных было немного угнетенное, аппетит слабый. Такое состояние у них продолжалось в течение 24-36 часов и после этого времени состояние улучшилось и клинические показатели были равны к физиологическим нормам и оно держалась до окончания опытов. В течение наблюдательного срока среди овец опытной группы, клинические признаки эмфизематозного карбункула не наблюдалось и они оставались здоровыми.

В контрольной группе через 8-10 часов после заражения появились первые клинические признаки болезни. Клинические признаки у овец этой группы проявлялись и протекали одинаково. У них отмечали признаки хромоты, передвигались с трудом, малоподвижны, стараются не наступать конечность, в которую ввели возбудителя болезни. Прием корма слабый. Температура тела повышена от 40 до 40,8 °С, частота пульса составила 100-120 ударов в минуту и количество дыхательных движений – 40-50 раз в минуту. На вторые сутки опыта у овец контрольной группы наблюдали хромоту, они почти без движения, стоят на одном месте. Аппетит отсутствует, на внешние раздражения отвечают слабо. Температура тела повышена 40,6-41,3 °С. Частота пульса составила 130-140 ударов и число дыханий 60-70 раз в минуту. К вечеру из контрольной группы у одной овцы состояние резко ухудшилось, температура постепенно спадала и к утру третьего дня опыта она пала. Проявляя, такие же клинические признаки на третье и четвертые сутки пали и остальные зараженные овцы контрольной группы.

При комиссионном патологоанатомическом исследовании павших овец от заражения возбудителем эмфизематозного карбункула определили, что патологоанатомические изменения специфичны эмфизематозному карбункулу крупного рогатого скота. В течение комиссионных исследований был определен идентичность патологоанатомических изменений у всех павших овец этой группы.

Для реизоляции возбудителя эмфизематозного карбункула, брали кусочки от внутренних органов (сердце, печень, почки, пораженная мышца) вскрытых овец. В результате бактериологических исследований из проб на среде Кит-Тароции были выделены грамположительные, прямые толстые палочки с закругленными концами, располагающиеся поодиночке и попарно. Эти палочки были морфологически идентичны с возбудителем болезни *Cl. chauvoei*, с которыми производили заражение овец.

Заключение. Таким образом, исходя из проведенных исследований и комиссионных опытов, «Концентрированная ГОА формолвакцина против эмфизематозного карбункула крупного рогатого скота», изготовленной из местного эпизоотического штамма *Cl. chauvoei* Т-04, является высоко иммуногенной вакциной, которая уверенно предохраняет животных от заболевания, при экспериментальном заражении в течение 6 месяцев (срок наблюдения).

Список использованной литературы:

1. Беляев Н.Е., Пронин И.А. и др. Напряженность и продолжительность иммунитета после комбинированной вакцинации крупного рогатого скота против ящура и эмкара: Актуальные проблемы ветеринарной вирусологии, 1987. –С. 87-89.
2. Кириллов Л.В. Предупреждение инфекционных болезней анаэробной этиологии// Ветеринария, 2001.- №1. –С. 16-19.
3. Кириллов Л.В., Сторожев Л.И., Каган Ф.И., Ургуев К.Р., Соловьев Л.Б. Получение и испытание живой вакцины против эмфизематозного карбункула из аттенуированного штамма Cl.Chauvoui 8/14: Проблемы ветеринарной иммунологии, 1985. –С. 101-105.
4. Сторожев Л.И. Влияние сроков и хранения на иммуногенные свойства живой концентрированной ГОА вакцины против эмфизематозного карбункула: Контроль и стандартизация сроков специфической профилактики и диагностики инфекционных болезней животных. 1984. –С. 69-70.
5. Ургуев К.Р. Клостридиозы животных: М.: Россельхозиздат, 1987. -183 с.
6. Ургуев К.Р., Кириллов Л.В., Сторожев Л.И. Живая концентрированная вакцина против эмфизематозного карбункула //Ветеринария -1985. -№7. –С 33.
7. Sotoodehnia A., Arabi I. Neutralization of excess formalin by sodium metabisulfite in combined anthrax and clostridial vaccine // Arch. Inst. Razi, 1988. –Т. 38/39. –Р. 89-91.
8. Waldmann K.H. Klinik und Diagnostik portiner Clostridien in fertionen // Pract. Tierarzt, 1995.-Ig, 76,5. –N –Р. 56-59.