DOI <http://dx.doi.org/10.18551/rjoas.2016-05.13>

**РАЗРАБОТКА ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ЭМФИЗЕМАТОЗНОГО КАРБУНКУЛА
КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА**

DEVELOPMENT OF A VACCINE AGAINST BLACKLEG OF CATTLE

Капустин А.В., научный сотрудник

Kapustin A.V., Researcher

**Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной
ветеринарии имени Я.Р. Коваленко, Москва, Россия**

All-Russian Research Institute of Experimental Veterinary Medicine

named after Y.R. Kovalenko, Moscow, Russia

E-mail: kapustin_andrei@mail.ru

АННОТАЦИЯ

Специфическая профилактика эмфизематозного карбункула крупного рогатого скота в Российской Федерации на протяжении нескольких десятилетий осуществляется с использованием «Вакцины против эмфизематозного карбункула крупного рогатого скота и овец концентрированной инактивированной». Препарат вызывает напряжённый иммунитет к *Clostridium chauvoei* продолжительностью не менее 6 месяцев после однократного введения, что является достаточным практически на всей территории страны, так как в стойловый период, длящийся 6-7 месяцев, болезнь практически не проявляется. За весь срок существования препарата на него не было каких-либо нареканий. Однако в настоящее время в связи с развитием интенсивного скотоводства, появлением новых высоко продуктивных пород крупного рогатого скота и завозом на территорию новых болезней, актуальным становится использование для иммунизации ассоциированных вакцин в том числе и против эмфизематозного карбункула. Поскольку на рынке отсутствовали отечественные ассоциированные вакцины против анаэробных болезней крупного рогатого скота, была поставлена задача разработать ассоциированную вакцину против наиболее актуальных клостридиозов скота, в том числе эмфизематозного карбункула, и провести было сравнительное изучение иммуногенной активности компонента *Clostridium chauvoei* в ассоциированной вакцине и моновакцины против эмкара.

ABSTRACT

Specific prevention of cattle blackleg in the Russian Federation for decades is implementing using «Vaccine against the blackleg in cattle and sheep concentrated inactivated». The drug causes intense immunity against *Clostridium chauvoei* lasting at least 6 months after a single injection, which is sufficient in practically all regions of the country, because in the stall period, which lasts 6-7 months, the disease is almost not occur. Over the entire period of existence the drug does not caused any complaints. However, currently in connection with the development of intensive cattle breeding, the emergence of new highly productive breeds of cattle and importation into the territory of new diseases, the use for immunization of associated vaccines including vaccines against blackleg becomes actual. Insofar as on the market there were no domestic associated vaccines against the anaerobic diseases of cattle, our task was to develop an associated vaccine against the most actual *Clostridium* infections of cattle, including blackleg, and to carry out a comparative study of the immunogenic activity of *Clostridium chauvoei* component in associated vaccine and mono vaccine against blackleg.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА

Эмфизематозный карбункул, восприимчивость к эмфизематозному карбункулу, *Clostridium chauvoei*, характеристика возбудителя, болезни крупного рогатого скота, факторы патогенности, ассоциированная вакцина, клинические проявления, иммуногенность, специфическая эффективность, заражающая доза.

KEY WORDS

Blackleg, susceptibility to blackleg, *Clostridium chauvoei*, characteristics of the pathogen, cattle diseases, factors of pathogenicity, associated vaccine, clinical manifestations, immunogenicity, specific effectiveness, infecting dose.

Эмфизематозный карбункул - острая неконтагиозная болезнь крупного рогатого скота энзоотически возникающая в неблагополучных областях, обычно во время пастбищного периода. Проявляется в основном тяжелым очаговым поражением мускулатуры в виде крепитирующих некрозов и серозно-геморрагическая инфильтрации смежной с ними подкожной клетчатки. Болеет крупный и мелкий рогатый скот в основном до 3-летнего возраста [2,4].

Возбудитель болезни - *Clostridium chauvoei*, строгий анаэроб, представляющий собой полиморфные споросодержащие палочки [3]. В молодых, активно растущих культурах, а также в патологическом материале, микроорганизм имеет вид прямых палочек с закругленными концами, размером 0,5-0,7х2-8 мк, и окрашивается грамположительно. При дальнейшем культивировании клетки становятся грамотрицательными, а за счет образующихся спор приобретают веретено- или лимоннообразные формы. Споры длительно сохраняются в почве, представляя опасность для заражения восприимчивых животных [2,3].

Эмфизематозный карбункул является незаразным заболеванием. В основном инфицирование происходит оральным путем через поврежденные оболочки пищеварительного тракта, реже через открытые раневые поверхности. Также доказанным считается перенос возбудителя слепнями. После проникновения через слизистые, возбудитель переносится кровью и локализуется в мышечной ткани, где начинает размножаться, выделяя газ, токсины и агрессивные вещества.

Прорастающие из спор вегетативные формы клостридий в мышечной ткани продуцируют токсины и агрессивные вещества, а также очень активно выделяют газ. Под их действием происходят дистония кровеносных сосудов, мукоидное набухание, увеличение проницаемости стенок капилляров и развитие отека в межмышечной ткани. Экзотоксины и споры распространяются с отеком жидкостью и экссудатом в другие органы и ткани, усиление интоксикации организма животных обуславливает возникновение дистрофических процессов в миокарде, легких, печени, почках и других органах. Причина смерти животных становится паралич миокарда.

Инкубационный период при эмкаре длится от 2 до 5 дней, болезнь протекает остро с повышением температуры до 41 °С и выше. В течение 48 часов в различных участках тела (чаще в мышцах ягодичной и бедренной групп, шеи, подчелюстного пространства) образуются болезненные, плотные, горячие припухлости, при надавливании на которые четко различимы звуки крепитации. По мере развития патологического процесса отеки становятся холодными и безболезненными. Болезнь сопровождается хромотой, угнетением, гипотонией преджелудков, отмечают также гипертермию, отказ от корма, прекращение жвачки, одышку, тахикардию (1, 2, 5, 6).

Характерным признаком болезни является сильное вздутие трупа в связи с интенсивным газообразованием в пораженных мышцах, окружающей их соединительнотканной клетчатке и в кишечнике, и выделение пенистой кровянистой жидкости из естественных отверстий. Специфические поражения обнаруживают в наиболее мощных и часто травмируемых мышцах: в области бедер, крупа, поясницы и плеча. Мышечная ткань и межмышечные прослойки, смежные с некротическими очагами, инфильтрированы серозным экссудатом с пузырьками газов, при разрезе на месте поражения выделяется кровянистая пенистая жидкость от которой исходит запах прогорклого масла. Кожа пораженного участка напряжена, истончена, серо-синеватого цвета, иногда некротизирована. Шерсть легко снимается. Регионарные лимфатические узлы в состоянии серозно-геморрагического лимфаденита.

Характерным для эмфизематозного карбункула признаком является переполненный желчный пузырь, который в 5-10 раз больше нормы.

Диагноз ставится на основании лабораторных бактериологических исследований патологического материала с учетом комплекса эпизоотических, клинических и патологоанатомических данных болезни. Особое значение при подтверждении диагноза имеет постановка биопробы на морских свинках, которые должны погибнуть в течение 24-72 часов после введения материала с характерными клиническим признаками (серозно-геморрагический выпот на коже в месте введения, мышцы влажные, темно-красного цвета, увеличен желчный пузырь, при этом кишечник без изменений) (3). Лабораторная диагностика складывается из бактериологического исследования биологического материала. Идентификация и дифференциации происходит путем изучения культуральных, морфологических и биохимических особенностей. В настоящее время идентификация в значительной мере облегчена использованием диагностических тест-систем и ПЦР-диагностики.

Профилактика болезни. Для профилактики эмфизематозного карбункула в Российской Федерации используют «Вакцину против эмфизематозного карбункула крупного рогатого скота и овец концентрированную инактивированную», производство которой было предложено в 1931 году С.М. Муромцевым, а затем усовершенствовано Ф.И. Каган и А.И. Колесовой в 1957 году. До настоящего времени никаких изменений в технологию изготовления и способ применения вакцины не вносилось. Однако в настоящее время в связи с развитием интенсивного скотоводства, появлением новых высоко продуктивных пород крупного рогатого скота и завозом на территорию новых болезней, актуальным становится использование для иммунизации ассоциированных вакцин, в том числе и против эмфизематозного карбункула.

При разработке ассоциированной вакцины против наиболее актуальных клостридиозов крупного рогатого скота и овец возникла необходимость изучения обоснованности дозы компонента *Clostridium chauvoei* в вакцине, степень напряженности иммунитета и его продолжительность при однократном и двукратном введении.

Рисунок 1 – Характерное вздутие пораженного участка тела [6]

Рисунок 2 – Различия между здоровым и пораженным *Clostridium chauvoei* мышцами [6]

Рисунок 3 – Цвет мышц пораженного участка при эмфизематозном карбункуле (черная нога) [5]

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В процессе выполнения работы были использованы: вакцина против клостридиозов овец и крупного рогатого скота ассоциированная инактивированная экспериментальной серии №2, вакцина против эмфизематозного карбункула крупного рогатого скота и овец серии №8, морские свинки массой 300-350 г, пробирки микробиологические, чашки Петри, анаэроостат, газогенераторные пакты для анаэробов, питательные среды Китта-Тароцци, Шедлера, Сабуро, МПА, МПБ, шприцы, 10% раствор хлористого кальция, заражающая культура *Clostridium chauvoei*, штамм R₁₅.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Для проведения опыта по изучению иммуногенной активности компонента *Clostridium chauvoei* экспериментальной ассоциированной вакцины против клостридиозов по были сформированы 3 группы морских свинок по 75 голов в каждой.

Первую группу свинок вакцинировали экспериментальной ассоциированной вакциной двукратно с интервалом 28 дней в объеме 1,0 мл, в котором доза компонента *Clostridium chauvoei* составляла 0,3 мл; вторую группы животных иммунизировали «Вакциной против эмфизематозного карбункула крупного рогатого скота и овец концентрированной инактивированной», изготовленной одной из биофабрик РФ, в рекомендованной дозе 0,4 мл однократно в соответствии с требованиями научной документации по проверке иммуногенности; животные третьей группы служили отрицательным контролем, которым вводили физиологический раствор в количестве 0,5 мл.

Для определения напряженности иммунитета, образующегося после введения препаратов, морских свинок заражали предварительно подтитрованной дозой вирулентного штамма *Clostridium chauvoei* R₁₅ в дозе 20 Ld₅₀. Первое заражение проведено через 14 дней после повторной вакцинации морских свинок ассоциированной вакциной и через 30 дней после вакцинации моновакциной. Одновременно с опытными проводили заражение 5 контрольных морских свинок. Заражающую культуру вирулентного для морских свинок штамма *Clostridium chauvoei* R₁₅ в дозе 20 D_{1m} вводили внутримышечно в объеме 0,1 мл с добавлением 0,2 мл 10% раствора хлористого кальция. Учет результатов проводили через 5 суток. Результаты опыта представлены в табл. 1.

Как видно из представленных в таблице данных, обе вакцины обеспечивают через 14 дней 100% защиту иммунизированных морских свинок от заражения вирулентным штаммом возбудителя эмфизематозного карбункула при 100% гибели контрольных животных, что позволяет считать обоснованной заложенную в препарат дозу компонента.

Таблица 1 – Результаты контроля иммуногенной активности компонента *Clostridium chauvoei*

п/п	Группа животных	Доза	Количество зараженных животных	Количество выживших животных	Процент выживших животных
1	Вакцинированные моновакциной	0,4	5	5	100
2	Вакцинированные ассоциированной вакциной	1,0	5	5	100
3	Контрольные	-	5	0	0

Для изучения продолжительности иммунитета вакцинированных и контрольных животных содержали в тех же условиях на протяжении 13 месяцев. Через каждые 30 дней от каждой группы отбирали по 4 морских свинки и подвергали заражению по уже использованной схеме, отслеживая, таким образом, продолжительность индуцированного вакцинами иммунитета. Полученные результаты отражены в табл. 2.

Таблица 2 – Продолжительность иммунитета у вакцинированных морских свинок

п/п	Вакцина	Выживаемость иммунизированных и контрольных морских свинок при заражении культурой <i>Clostridium chauvoei</i> в течении года.												
		Срок, мес.												
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
1	Моновакцина	5/5	5/5	4/5	5/5	5/5	4/5	4/5	2/5	1/5	-	-	-	-
2	Ассоциированная	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	4/5	4/5	4/5	1/5
3	Контрольная группа	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5

Как видно из представленных в таблице 2 данных, ассоциированная вакцина индуцирует у вакцинированных морских свинок напряженный иммунитет, позволяющий выдерживать заражение вирулентной культурой в дозе 20 Ld_{50} . При этом выживаемость иммунизированных животных на протяжении первых девяти месяцев составляла 100%, затем снизилась до 80%. В соответствии с ГОСТ №32731-2014 «Вакцина против эмфизематозного карбункула крупного рогатого скота и овец», выживаемость морских свинок после заражения не должна быть ниже 80%. Через 12 месяцев после проведенной вакцинации напряженность иммунитета стала ослабевать, что выявлялось в гибели практически всех животных в группе. Проведенное параллельно исследование продолжительности иммунитета после однократного введения вакцины показало, что защита продолжается около 6-7 месяцев. После получения дважды через 7 и 8 месяцев отрицательных результатов выживаемости, опыт было решено прекратить.

Полученные результаты позволяют считать обоснованным заложенную в препарат дозу компонента *Clostridium chauvoei* 0,3 мл, а также установить продолжительность иммунитета против эмфизематозного карбункула, вызываемого ассоциированной вакциной при двукратном введении – 12 мес.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные опыты по изучению эффективности специфической профилактики эмфизематозного карбункула путем иммунизации вакциной против клостридиозов животных ассоциированной инактивированной, показали, что двукратное введение препарат позволяет не только получить напряженный иммунитет у лабораторных животных, но и добиться существенного увеличения его продолжительности с 7 до 12 месяцев. Результаты анализа применения вакцин позволяют рекомендовать «Вакцину против клостридиозов крупного рогатого скота и овец поливалентная инактивированная» для профилактической иммунизации животных против эмфизематозного карбункула.

БИБЛИОГРАФИЯ

1. Жаров, А.В. Патологическая анатомия животных / А.В. Жаров. – Москва: «КолосС», 2006. – С. 445-450.
2. Кириллов Л.В. Инфекционные болезни животных / Справочник, под редакцией Осидзе Д.Ф. Москва, 1987 г., стр. 220- 222.
3. Скородумов Д.И. Микробиологическая диагностика бактериальных болезней животных / Скородумов Д.И., В.В. Субботин, М.А. Сидоров, Т.С. Костенко, Справочник, Москва, 2005 г., стр. 344- 346.
4. Соловьев Л.Б., Изучение сухой споровой культуры *Clostridium chauvoei* для проверки иммуногенной активности вакцины против эмфизематозного карбункула. Диссертация на соискание ученой степени кандидата вет наук. М., 1970 г. с. 173
5. David T.Bechtol D.V.M./ Cattle Disease Guide/ 2001 Palo duro consultation Research – Feedlot, p. 56.
6. Roger W Blower / Color Atlas of diseases and disorders of cattle/ second edition. USA, Columbia Missoure, 2003, pp. 204-206.
7. Основы ветеринарии / Беляков И.М., Василевич Ф.И. // Москва, 2004.
8. Паразитология и инвазионные болезни сельскохозяйственных животных / Василевич Ф.И., Акбаев М.Ш., Росийцева А.Р. // Москва, 1992.
9. Практикум по диагностике инвазионных болезней животных / Василевич Ф.И., Акбаев М.Ш. // Москва, 1994.