2. Амосова, Л.А. Анализ этиологии сальмонеллеза и пастереллеза крупного рогатого скота в РБ / Л. А. Амосова // Экология и инновации: материалы VII Международной научно-практической конференции. (г. Витебск, 22-23 мая 2008 года). - Витебск, 2008. - С. 10-11
3. Ананчиков, М.А. Особенности микробиоценоза организма поросят и телят хозяйств Беларуси / М. А. Ананчиков, В. В. Черняк // Ветеринарная наука - производству: научные труды. - Минск, 2005. - Вып. 37. - С. 6-11.
4. Добрина, М.А. Нужен постоянный контроль сальмонеллеза / М. Добрина // Животноводство России. - 2011. - №3. - С. 11-12
5. Землянская, Н.И. Вакцинация телят против сальмонеллеза на фоне применения иммуномодулирующих препаратов / Н. И. Землянская, З. А. Литвинова // Аграрная наука. - 2008. - №12. - С. 25-27.
6. Лагун, Н.В. Этиологическая структура сальмонеллеза телят / Н. В. Лагун // Материалы конференции "Современные технологии сельскохозяйственного производства": XI международная научно-практическая конференция / Министерство сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь, Учреждение образования "Гродненский государственный аграрный университет". - Гродно, 2008. - С. 272-273.

УДК 619: 616.98-085.37:636

КОНСТРУИРОВАНИЕ ВАКЦИНЫ «ТРИХОВАК-СТИМУЛ-1» ПРОТИВ ТРИХОФИТИИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

В.А. Лазовский

УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»,
г. Витебск, Республика Беларусь

(Поступила в редакцию 08.05.2012 г.)

Аннотация. *В статье представлены данные по конструированию отечественной вакцины «Триховак-Стимул-1» против трихофитии крупного рогатого скота. Приведены результаты определения иммуногенности, реактогенности биопрепарата.*

Summary. *The article features the data on developing a domestic vaccine Trichovak-Stimul-1against bovine trichophitosis and the result of immnogenicity and refctivity studying.*

Введение. Основным резервом роста производства продуктов животноводства является максимальное снижение заболеваемости и гибели животных, в том числе от инфекционных болезней [1].

Для дальнейшего развития животноводства республики Постановлением Совета Министров Республики Беларусь была разработана Государственная программа развития производства ветеринарных препаратов и инструментов, основной целью, которой является развитие производства ветеринарных препаратов для обеспечения животноводства республики в объеме не менее 70% от их потребности [6].

Среди инфекционных болезней молодняка крупного рогатого скота, наносящих значительный экономический ущерб животноводству, важное значение имеет трихофития [2, 5].

Энзоотичность трихофитии крупного рогатого скота связана в первую очередь с биологическими особенностями трихофитонов, их способностью длительное время сохраняться на различных объектах внешней среды.

В последние годы у животных часто отмечается снижение иммунной реактивности организма, что ведет к ослаблению иммунного ответа при вакцинации и созданию иммунитета недостаточной напряженности [3]. Это связано со снижением иммунологической реактивности организма, обусловленное нарушением кормления, ветеринарно-санитарных и зоогигиенических норм содержания животных, прогрессирующими иммунодефицитами и сопутствующими заболеваниями.

Для специфической профилактики в Республике Беларусь применяют вакцины отечественного и зарубежного производства, импортируемых за валюту из других стран, однако высокая их коммерческая стоимость и, в ряде случаев, низкая иммуногенность обуславливает необходимость изготовления отечественного более дешевого биопрепарата. Несмотря на широкое применение живых вакцин ЛТФ-130, живой сухой вакцины против трихофитии, вакцины «Трихостав» в последнее время участились случаи заболевания крупного рогатого скота трихофитией [6].

Повышение иммунобиологической активности биопрепаратов должно быть обеспечено путем введения в состав вакцины нескольких антигенных штаммов возбудителя и использовании при проведении специфической профилактики иммуностимуляторов.

Целью наших исследований явилось получить живую сухую вакцину против трихофитии крупного рогатого скота и растворитель с иммуностимулятором к ней.

Материалы и методы исследований. Экспериментальная работа по конструированию живой сухой вакцины против трихофитии крупного рогатого скота «Триховак-Стимул-1» проводилась в условиях ЧУП «Витебская биофабрика», ЦНИЛ, клиники и лаборатории кафедры эпизоотология УО «Витебская ордена «Знак почета» государственная академия ветеринарной медицины».

Для конструирования живой сухой вакцины против трихофитии крупного рогатого скота «Триховак-Стимул-1» использованы производственные вакцинные штаммы Trichophyton verrucosum ТФ-130Л ВГНКИ и Trichophyton verrucosum 11183, полученные из ВГНКИ ветпрепаратов, ВНИИЭВ им. Я.Р. Коваленко.

Первый опыт проведен с целью приготовления опытного образца живой сухой вакцины против трихофитии крупного рогатого скота «Триховак-Стимул-1» с растворителем согласно Техническим условиям РБ 390123511. 030 – 2005.

Для конструирования опытного образца биопрепарата использовали аттенуированные штаммы Trichophyton verrucosum ТФ-130Л ВГНКИ и Trichophyton verrucosum 11183.

Методы контроля качества вакцины включали в себя: 1) определение внешнего вида, цвета, наличия видимых механических включений, прочности укупоривания и правильности маркировки флаконов (для этого все флаконы с вакциной просматривали визуально); 2) определение растворимости (для испытания использовали 5 флаконов из выборки, в которые добавляли стерильный растворитель из расчета 1 $см^3$ на одну дозу вакцины); 3) определение массовой доли влаги в вакцине проводили согласно ГОСТ 24061-89; 4) определение контаминации вакцины посторонними микроорганизмами (для испытания использовали 5 флаконов вакцины, ресуспендированные в растворителе из расчета 1 доза вакцины в 5 $см^3$; посевы проводили из каждого флакона с вакциной в объеме 0,2 $см^3$ в пробирки с МПБ, МПА, агаром Чапека, сусло-агаре, средой Кита-Тароцци и по 2 $см^3$ во флаконы с МПБ и средой Кита-Тароцци. Посевы инкубировали на агаре Чапека и сусло-агаре при температуре 26-28^{0}С в течение 10 суток; 5) определение количества микроконидий проводили путем подсчета их в растворенной вакцине при помощи камеры Горяева и микроскопа; 6) определение количеств жизнеспособных микроконидий (для этого производили разведение вакцины от 10^{-1} до 10^{-6} и высевали на сусло-агар, посевы вакцины инкубировали в термостате при температуре 26-28^{0}С в течение 8-9 суток и проводили визуальный подсчет количества колоний); 7) определение безвредности осуществляли путем введения вакцины 10 белым мышам массой 20-22 г, вакцину вводили подкожно по 0,1 $см^3$, клиническое наблюдение за животными проводили в течение 10 суток.

Второй опыт проводили с целью определения иммуногенности вакцины. Иммуногенную активность определяли на 6 телятах 30-50 дневного возраста, ранее не иммунизированных и не болевших трихофитией. Вакцину растворяли из расчета 1 доза в 5 $см^3$ растворителя и вводили внутримышечно в область ягодичных мышц двукратно с интервалом 10 дней в объеме 5 $см^3$ на инъекцию. Спустя 30 дней после второй инъекции шесть опытных и три контрольных теленка заражали 20-30-суточной вирулентной культурой Trichophyton verrucosum 153, втирая ее гомогеннат в скарифицированный участок кожи в средней трети в дозе 5 х 10^5 микроконидий на 1 $см^2$ кожи.

Третий опыт проводили с целью определения реактогенности изготовленного биопрепарата опытной серии.

О реактогенности применяемой вакцины судили по общему состоянию животных, аппетиту, температуре тела, воспалительной реакции на месте введения биопрепарата.

Для проведения опыта было сформировано две группы телят, подобранных по принципу аналогов, по 5 животных в каждой в возрасте 30-40 дней.

Телятам опытной группы вводили испытываемую вакцину согласно наставлению по применению, животным контрольной группы – внутримышечно в дозе 1 $см^3$ стерильный физиологический раствор.

Результаты исследований и их обсуждение. В результате проведенной работы было установлено, что для приготовления сусло-агара необходимо использовать пивное неохмеленное сусло с кислотностью 1,6-2,4 градуса по Тернеру. Сусло подвергали стерилизации в автоклаве в течение 40 минут при температуре 117–118^{0}С и давлении пара 0,07-0,08 Мра (0,7-0,8 $кг/см^2$). Простерилизованное пивное сусло хранили не более 30 суток при температуре не выше 15^{0}С. Пивное сусло разводили питьевой водой (ГОСТ 2874-82) до содержания 7-8^0 углеводов по Баллингу, заливали в варочный котел, 4% водным раствором едкой щелочи (NaoH) устанавливали pH в пределах 7,0-7,9, добавляли 2,5-3,0 агар-агара микробиологического, кипятили до полного растворения агара, фильтровали через капроновое сито № 27-29 и разливали в стерильную посуду – матрацы по 250-300 $см^3$ и в пробирки по 7 $см^3$. Матрацы и пробирки закрывали ватно-марлевыми пробками и стерилизовали автоклавированием 40 мин при температуре 117-118^{0}С 0,07-0,08 Мра (0,7-0,8 $кгс/см^2$). После стерилизации pH должен быть в пределах 6,3-6,8. Матрацы и пробирки с сусло-агаром после стерилизации укладывали на стеллажи в помещения с температурой 26-28^{0}С для остывания, а 5-6 матрацев помещали в термальную комнату при температуре 37-38^{0}С на 2-3 суток для контроля стерильности. После тщательного просматривания матрацев и пробирок с застывшим сусло-агаром, они были использованы для засева культур грибов.

Полученные из ВГНКИ ветпрепаратов культуры производственных штаммов трихофитонов были проверены комиссионно на культурально-морфологические свойства, после чего их использовали для изготовления опытной серии вакцины.

При высеве лиофильно высушенной культуры из ампулы для полного восстановления ее энергии роста требуется три пересева. Ампулу вскрывали над пламенем горелки, пастеровской пипеткой вносили в нее стерильный разбавитель (3-4 $см^3$) до полного ресуспендирования куль-

туры. Полученную взвесь переносили во флакон 25 $см^3$ стерильного разбавителя с pH 6,4-7,0. Суспензию грибной культуры выдерживали в течение 30 мин при комнатной температуре, затем по 5-7 $см^3$ высевали на 4-5 матрацев со скошенным сусло-агаром (300 $см^3$ в каждом матраце) и ставили для выращивания в термостат при 26-28^{0}С на 11-15 суток. Периодически культуру просматривали на наличие посторонней микрофлоры. Для получения второй и последующих генераций рассев культуры делали через 11-15 суток после макроскопического исследования культуры. Третью генерацию культуры использовали как производственную и для последующих рабочих расплодок, предварительно проверив ее на отсутствие контаминации посторонней микрофлоры.

В качестве основ разбавителя использовали стерильный физиологический раствор, бульон Хоттингера или двухкомпонентную среду из гидролизатов белков крови животных. К стерильной основе добавляли до 10-50 мг% сульфата магния, 2-4% препарата БСТ-1 (1% раствор) и 1-2% стерильной сыворотки крови.

Для получения посевного материала 11-15 суточную культуру Trichophyton verrucosum ТФ-130Л и Trichophyton verrucosum 11183, выращенную на сусло-агаре, смывали стерильным разбавителем из расчета 15 $см^3$ на каждый матрац. Полученную грибную суспензию набирали пипеткой Мора или вставляли в сифон в матрац и засевали новые матрацы с сусло-агаром (5-7 $см^3$ суспензии на один матрац), тщательно распределяли ее на поверхности питательной среды. На каждом матраце указывали дату засева, № матраца, с какого ведется пересев и № данного производственного матраца.

Засеянные матрацы ставили в термостат в горизонтальном положении агаровым слоем вверх и выдерживали при температуре 26-18^{0}С. Выращивание культур проводили в течение 11-15 суток. Заметный рост на сусло-агаре появляются на 3-5 сутки инкубации. Культура должна покрывать всю поверхность сусло-агара.

В процессе выращивания матрацы с культурами Trichophyton verrucosum ТФ-130Л и Trichophyton verrucosum 11183 просматривали, начиная со вторых суток, через каждые двое суток на наличие посторонней микрофлоры.

Для размола грибной массы использовали гомогенизаторы (миксеры), обеспечивающие стерильность гомогенизации. В течение всего времени загрузки измельчения и выгрузки биомассы мы поддерживали температуру не выше 30^{0}С.

Опытный образец живой сухой вакцины «Триховак-Стимул-1» против трихофитии крупного рогатого скота изготавливался на УП «Витебская биофабрика» в соответствии с разработанной нами НД.

Выращенные монокультуры трихофитонов смешивали в соотношении 1:1. Поливалентную культуру трихофитонов объединяли защитной средой в равных объемах. Вакцину перед сублимацией расфасовывали по 2,5; 5 и 10 $см^3$ в стерильные стеклянные флаконы вместимостью 5, 10 и 20 $см^3$ соответственно по 10, 20 и 40 доз по действующему НД, замораживали при температуре минус 50-60^{0}С и подвергали лиофильной сушке.

Опытная серия живой сухой вакцины «Триховак-Стимул-1» против трихофитии крупного рогатого скота подвергалась контролю согласно требованиям ТУ РБ 390123511.030 – 2005. При этом определялись: внешний вид, цвет биопрепарата, наличие механических примесей и других посторонних включений, растворимость и массовая доля влаги, контаминация вакцины посторонними микроорганизмами, количество микроконидий, количество жизнеспособных микроконидий, безвредность и иммуногенную активность биопрепарата.

В качестве растворителя нами использован изотонический раствор натрия хлорида для ветеринарных целей, содержащий иммуномодулятор Сальмопул.

Сальмопул представляет собой стерильную светло-желтого цвета опалесцирующую жидкость, содержащую полисахаридно-пептидную фракцию, полученную из биомассы сальмонеллезных бактерий серогруппы $Д_1$. Препарат стимулирует: неспецифическую и специфическую гуморальную иммунную защиту – лизоцимную, бактерицидную активность сыворотки крови, образование иммуноглобулинов, особенно классов G и A, усиливает лейкопоэз, фагоцитарную активность микро- и макрофагов, образование Т- и В-лимфоцитов.

При визуальном осмотре опытная серии живой сухой вакцины «Триховак-Стимул-1» против трихофитии крупного рогатого скота установлено, что флаконы с биопрепаратом без трещин, прочно укупорены резиновыми пробками и металлическими колпачками. Содержащаяся в них сухая биомасса в виде таблетки беловатого или светло-кремового цвета. Вакцина без механических примесей и других посторонних включений. Массовая доля влаги в вакцине составляла от 1,0 до 3,5%.

При определении растворимости биопрепарата установлено, что сухая фракция препарата при добавлении растворителя превращается в гомогенную взвесь за 2-2,5 минуты.

Анализ стерильности опытной серии живой сухой вакцины «Триховак-Стимул-1» против трихофитии крупного рогатого скота с растворителем проводили в соответствии с ГОСТ 28085-·89 «Препараты биологические. Методы бактериологического контроля стерильности».

Метод заключается в определении роста бактериальной и грибковой микрофлоры в посевах из образцов вакцины на питательных средах.

Для определения контаминации биопрепарата посторонними микроорганизмами 5 флаконов с вакциной ресуспендировали в растворителе, из расчета 1 доза биопрепарата в 5 $см^3$ растворителя. Посевы проводили на питательные среды (МПА, МПБ, агар Чапека, сусло-агар, среда Сабуро, среда Кита-Тароцци). В посевах из вакцины на МПА, МПБ и среду Кита-Тароцци в течение 10 суток рост микроорганизмов отсутствовал.

На средах Сабуро, Чапека и сусло-агаре наблюдался рост грибной микрофлоры Trichophyton verrucosum ТФ-130Л и Trichophyton verrucosum 11183. Рост посторонних микроорганизмов отсутствовал.

Подсчет количества микроконидий проводили в растворенной вакцине при помощи камеры Горяева и микроскопа. В результате исследования установлено, что в одной дозе вакцины содержится от 7,5 до 15 млн. микроконидий. Количество жизнеспособных микроконидий проводили путем посева разведенной вакцины на сусло-агар, инкубировании в термостате при температуре 26-28 ^{0}С в течение 8-9 суток и визуального подсчета количества колоний. В одной дозе вакцины содержится от 5 до 15 млн. жизнеспособных микроконидий.

Метод определения безвредности основан на изучении общей и местной реакции у белых мышей и морских свинок после подкожного введения 10 белым мышам по 0,1 $см^3$ и внутримышечного введения 6 морским свинкам по 0,5 $см^3$ разведенной вакцины. Наблюдение за животными проводили в течение 10 суток. За время наблюдения лабораторные животные остались живыми при удовлетворительном общем состоянии. Это свидетельствует о том, что вакцина безвредна для белых мышей и морских свинок.

В результате определения иммуногенности вакцины у телят, зараженных вирулентной культурой Trichophyton verrucosum 153, учет результатов проводили спустя 35 суток. Из шести иммунизированных телят ни у одного из животных клинических признаков трихофитии не отмечали. Вся контрольная группа телят не подвергавшаяся иммунизации имела типичную клиническую картину заболевания, которую подтвердили микроскопические исследования соскобов с пораженных участков кожи, проведенные в лаборатории.

В результате проведенных исследований по определению реактогенности биопрепарата было установлено, что внутримышечное введение живой сухой вакцины «Триховак-Стимул-1» телятам опытной группы в дозе 5 $см^3$ вызывало у них незначительное повышение температуры тела. В течение первого дня после иммунизации температура

тела повысилась на 0,24 ^{0}С. На второй день опыта температура повысилась на 0,58 ^{0}С и составила 39,56 ^{0}С (P<0,001). Достоверное увеличение ее также было зарегистрировано на третий день после вакцинации и составило 39,3 ^{0}С (P<0,001). В течение последующих дней температура тела иммунизированных животных нормализовалась и составила 39,18 ^{0}С на четвертый день и 39,04 ^{0}С на пятый день после вакцинации.

На месте введения биопрепарата образовывался небольшой отек, который в течение двух суток рассасывался. Общее состояние телят опытной группы было удовлетворительное, снижение аппетита не наблюдалось, животные охотно принимали корм и воду. Через 10-15 дней после второго введения вакцины на месте инъекции образовывались локализированные поверхностные корочки диаметром 15-20 мм, которые на 20-25 день самопроизвольно отторгались.

Отклонений со стороны функций сердечно-сосудистой системы, органов дыхания и других систем не отмечалось, это свидетельствует о том, что изготовленная нами живая сухая вакцина «Триховак-Стимул-1» против трихофитии крупного рогатого скота является безвредным и ареактогенным биологическим препаратом.

У животных контрольной группы, которым вводили физиологический раствор, температура тела оставалась в пределах физиологической нормы, общее состояние не изменялось. Отклонений со стороны работы пищеварительной, сердечно-сосудистой системы и органов дыхания выявлено не было.

В результате проведенных исследований было установлено, что у телят опытных групп парентерально вакцинированных против трихофитии общее состояние организма было удовлетворительным за весь период проведения опыта. У отдельных животных отмечалось незначительное повышение температуры тела на 0,3 °С-0,6 °С, что является допустим показателем. В первые и последующие дни после вакцинации у телят видимых клинических изменений выявлено не было, они охотно принимали корм, воду и оставались подвижными.

Заключение. Опытные серии живой сухой вакцины «Триховак-Стимул-1» против трихофитии крупного рогатого скота, приготовленные нами в условиях УП «Витебская биофабрика», являются стерильными, безвредными и иммуногенными.

Применение живой сухой вакцины «Триховак-Стимул-1» против трихофитии крупного рогатого скота вызывало незначительное повышение температуры тела у иммунизированных животных, которая восстанавливалась на четвертый день проведения опытной работы. Удовлетворительное общее состояние организма свидетельствует о том, что изготовленный биопрепарат является ареактогенным.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аксенов, А.М. Задачи ветеринарной медицины в стабильном развитии животноводства республики / А.М. Аксенов // Современные вопросы патологии сельскохозяйственных животных: метериалы междунар. науч. – практ. конф., Минск, 23-24 октября 2003 года. – Минск, 2003. – С. 3-6.
2. Алешкевич, В.Н. К вопросу о трихофитии крупного рогатого скота // В. Н. Алешкевич, В. С. Прудников, Н. И. Лабусова // Ученые записки ВГАВМ. – 2000. - Т. 36. - Ч. 1. - С 6-7.
3. Апатенко, В.М. Иммунодефицит у животных / В.М. Апатенко // Ветеринария.- 1992. - № 5.- С. 29-31.
4. Микробиология и иммунология / А.А. Солонеко, А.А. Гласкович, П.А. Гласкович, П.А. Красочко.- Мн.: НПОО «ПИОН», 2002. - 248 с.
5. Петрович, С.В. Микозы животных.– М.: Россельхозиздат, 1989.–37 с.
6. Разработка средств специфической профилактики инфекционных болезней животных / В.В. Максимович, В.В. Зайцев, Г.Э. Дремач [и др.] // Ветеринарная наука - производству: научные труды / Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского НАН Беларуси; ред. А.П. Лысенко. - Минск, 2005. – Вып. 38: Материалы Международной научно-практической конференции " Актуальные проблемы ветеринарной медицины в условиях современного животноводства ", посвященной 75-летию ИЭВ им. С.Н. Вышелесского и 100-летию со дня рождения Р.С. Чеботарева. - С.359-361.

УДК: 619:618.13-002636.2

ГИСТОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ВЫМЕНИ КОРОВ ПРИ СУБКЛИНИЧЕСКОМ МАСТИТЕ

В.В. Малашко, А.В. Башура

УО «Гродненский государственный аграрный университет»,
г. Гродно, Республика Беларусь

(Поступила в редакцию 12.06.2012 г.)

Аннотация. *Мастит является превалирующим заболеванием молочных коров в тех странах, где разводят этот вид домашних животных. Именно субклинический мастит представляет большую опасность молочному скотоводству. Он может поражать от 9,4% до 13,7% паренхимы вымени без каких-либо выраженных клинических признаков, что может привести к огромным затратам и убыткам. В работе изложены результаты изучения гистоструктуры молочной железы коров при субклиническом мастите.*

Summary. *Mastitis is a prevailing disease of milkcows in the countries where they are bred. It is mostlysubclinical mastitis that threatens dairy cattle. It can affect from 9,4 to 13,7 per cent of udder parenchyma without any apparent clinical signs, which can lead to huge expenditures and losses. The paper represents the examination results of bovine mammary gland histological structure in subclinical mastitis.*

Введение. Современное молочное животноводство требует повышения продуктивных качеств коров, что подразумевает получение большого количества молока в течение длительного времени. Из органов, определяющих молочную продуктивность животных, первооче-