

УДК 619.616.993.192.615.

ВАКЦИНА ПРОТИВ ТЕЙЛЕРИОЗА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА.

Гойибназаров К.Х. - младший научный сотрудник.

Каримова Н.У. - старший научный сотрудник.,

Гафуров А.Г. - доктор ветеринарных наук, профессор.

Узбекский Научно-исследовательский институт ветеринарии

<https://doi.org/10.5281/zenodo.15636306>

Аннотация: От заражённого тейлериезом животного получено патологический материал-паренхиматозные лимфатические узлы. Лимфатические узлы отделены от паренхимы, измельчены и ацетиализированы. Путём культивирования шизогональной стадии тейлерий на искусственных питательных средах получено вакцинный материал. Изучено реактогенные и иммуногенные свойства на экспериментальных и производственных условиях. При этом установлены отсутствие реактогенности и продолжительность иммуногенности в течении 6 месяцев.

Ключевые слова: Тейлериез, шизогональные стадии тейлерий, лимфа узлы, ацессолизации, питательные среды, культивирование, реактогенность, иммуногенность.

VACCINE AGAINST BOVINE THEILERIOSIS.

Abstract: Pathological material - parenchymatous lymph nodes - was obtained from an animal infected with theileriosis. The lymph nodes were separated from the parenchyma, crushed and acetylated. Vaccine material was obtained by culturing the schizogonic stage of theileria on artificial nutrient media. Reactogenic and immunogenic properties were studied under experimental and industrial conditions. The absence of reactogenicity and the duration of immunogenicity for 6 months were established.

Keywords: Theileriosis, schizogonal stages of theileria, lymph nodes, acessolization, nutrient media, cultivation, reactogenicity, immunogenicity.

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы. Во всех регионах Республики Узбекистан широко распространены пироплазмидозы (тейлериез, пироплазмоз, бабезиоз) крупного рогатого скота, которые наносят огромный ущерб развитию животноводства.

Тейлериез занимает значительный удельный вес в объёме структуры заболеваемости крупного рогатого скота пироплазмидозами. Экономический ущерб исходит из падежа животных, потери продуктивности и расходов на ветеринарно-санитарные мероприятия.

Исходя из этого играют важную роль, меры направленные на снижение потерь в животноводстве от тейлериеза крупного рогатого скота. Рядом авторов разработаны методы культивирования шизогональной стадии тейлерий in vitro (Теур –Черноморен, 1945; Рипано с соавторами 1965-1975; В.Т.Заблоцкий 1969-1975) на искусственных питательных средах. Предложенная Н.И.Степановой, В.Т.Заблоцким, З.П.Мутузкиной (1985) культуральная противотейлериезная вакцина ВИЭВ обеспечивает устойчивость к тейлериезу, однако является реактогенной, так как среди привитых животных наблюдаются поствакцинальные осложнения от 5 до 12%. Больные животные трудно излечиваются, большинство их погибает. Поэтому совершенствование культуральной вакцины против тейлериеза методом культивирования шизонтов тейлерий на искусственных питательных средах и внедрение его в ветеринарную практику является актуальной проблемой.

Цель исследования. Разработать вакцины против тейлериоза крупного рогатого скота и изучить реактогенные и иммуногенные свойства в экспериментальных и производственных условиях.

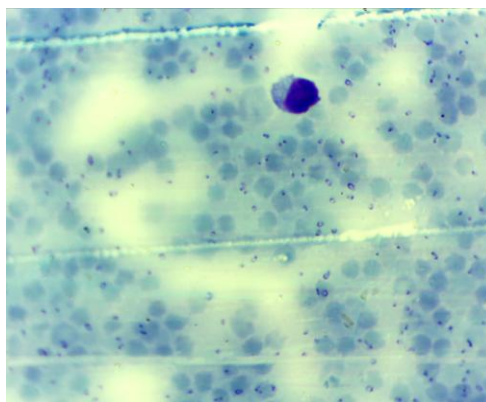
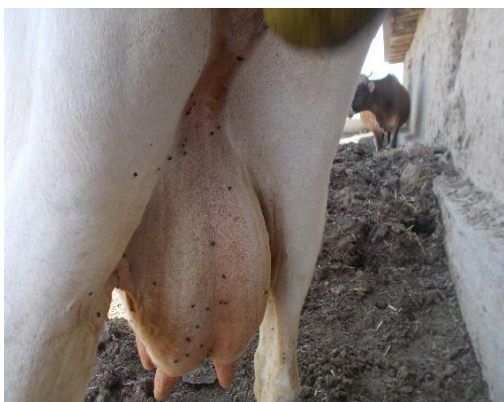
Задача.

1. Выделение возбудителя тейлериоза-*Th.annulata* путём подсадки инвазированных клещей *H.anatolicum* на подопытных животных.
2. Получение патологического материала от инвазированного тейлериозом животного (паренхиматозные лимфатические узлы), выделение шизогональной стадии *Th.annulata*.
3. Выращивание шизогональной стадии *Th.annulata* на искусственно питательных средах, получение вакцинного материала, зарегистрировать в качестве вакцины, а также криоконсервировать на жидком азоте.
4. Изучить реактогенных и иммуногенных свойств вакцины на подопытных животных в экспериментальных условиях.
5. Испытание профилактических свойств вакцины против тейлериоза крупного рогатого скота на производственных условиях.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

С целью получения производственного штамма тейлерий *Th.annulata* проведены сбор нимф клещей *H.anatolicum* от естественно заклещёванных животных из неблагополучных по тейлериозу хозяйств кишлака Мугол Булунгурского района, откуда ранее при приготовлении вакцины выделяли слабовирулентный штамм тейлериоза. Клещей культивировали в лабораторных условиях в термостате для оптимальной для их жизни температуре (+27-28⁰C). При этом на 14 день культивирования клещи перелинялись и приобрели активную фазу.

Для получения вакцинного материала одного клинически здорового животного в возрасте 10-11 месяцев, средней упитанности, свободных от тейлерий, заразили путём подсадки инвазированных клещей *H.anatolicum* в стадии имаго. Общее число клещей на одного животного составило 40 экземпляров (20 самок, 20 самцов (фото-1). За заражёнными животными вели наблюдение ежедневно, измеряли температуры тела, брали мазки крови из периферических сосудов и исследовали на обнаружение возбудителей (1-2-фото).



1-2-рис. Заклещёванность клещами *H.anatolicum* в стадии имаго и поражение эритроцитов тейлериями.

На 3-4 дни при повышении температуры тела до 41⁰C, проявление клинических признаков тейлериоза и обнаружения мазках крови до 60% поражение эритроцитов тейлериями и гранатных тел шизонтов в пунктах лимфатических узлов животного,

обескровили в асептических условиях, извлекли лимфатические узлы. Затем над пламенем факеля эти лимфатические узлы перенесли в стерильную широкогорлую колбу с охлаждённым до 20 градусов с раствором Ацессоля с антибиотиком сефтриаксон, в условиях стерильности (боксе). В условиях стерильности поверхности (соединительная ткань) лимфатических узлов пломбировали, затем паренхиму измельчали ножницами на кусочки величиной по 1,0 мм. После этого измельчённую ткань перенесли в колбу для трипсинизации (ёмкость 0,5 л) К измельчённой ткани добавляли подогретый до 35 градусов раствор Ацессоля в соотношение 1:10, 3-4 (3-4 фото).



3-4-рис. Сбор лимфатических узлов и подготовка к ацессолизации.

Ацессолизацию проводили дробно, по 20 минут до истощения ткани. После цикла колбу снимали, давали осесть крупным кусочкам ткани, Ацессол со взвешанным в нём клетками сливали в стерильный флакон, а в колбу добавляли свежую порцию подогретого до 36 градусов ацессоля. Отдельные порции ацессолизированных клеток собирали в колбу приёмник, содержащий 3% сыворотки крупного рогатого скота и помещали в холодильник. Объединённую взвес клеток центрифугировали 10 минут при 1500 об/минут, над осадочную жидкость удаляли, а осадок ресуспендировали в среде Игла без сыворотки.

Для выращивания клеток применяли среду Игла, в которую добавляли 15% сыворотку крупного рогатого скота, глютамин из расчёта 300 мг на 500 мл среды, а также 100 ед/ сефтриаксон. Использовали сыворотку крупного рогатого скота без консерванта. В культуральные матрасы ёмкостью 150 мл по 100 мл взвеси клеток. Матрасы плотно закрывали плотными ватными пробками и переносили в термостат при 37 градусов. На 5-6 сутки в результате активного роста клеток наблюдали закисление питательной среды с 7,7 до 6,8, что сопровождалось переходом цвета среды из красного в жёлтый.

В это время проводили частичную замену питательной среды. Для этого 1/3-1/4 часть объёма культуральной жидкости со взвешанными в ней клетками сливали и центрифугировали 10 минут при 1500 об/мин., а клетки ресуспендировали свежей питательной среде, внесённой в центрифужные стаканы до первоначального объёма, и переносили в те же культуральные сосуды продолжая инкубацию и частичную замену питательной среды через каждые 5-6 суток. Растущие на стекле флаконов клетки были представлены фибробластоподобными клетками большим количеством округлых лимфоидных клеток. К пересеву первичных культур приступили спустя 24 дня от начало культивирования при накоплении суспензии 300-400 тыс лимфоидных клеток в 1 мл.

К испытанию реактогенных и иммуногенных свойств культуральных шизонтов тейлерий приступили спустя 42 и 72 суток сначала культивирования, культуральную жидкость со взвешанными в ней клетками, для снятия культуральных клеток прикреплённых в стенках матраса вносили 30 мл подогретую до 37 градусов раствора

Ацессоля. Снятые клетки переносили в ёмкость, содержащую культуральную жидкость, что являлось вакцинным материаломю.



5-6-рис. Клинические исследование подопытных животных, взятие крови для гематологических исследований.

Изучении реактогенных свойств противотейлериезной вакцины проводили на двух группах животных в каждой по 6 голов в возрасте 9-10 месячного возраста, третья группа являлась контрольным. Животным 1 группы вводили культуральную массу (противотейлериезную вакцину) в дозе по 1 мл (300000 микробных тел) снятой через 42 дня после пассажа, а вторую группу также иммунизировали в той же дозе что и в первой культуральной массой снятой с культуру через 72 дня, контрольных животных не иммунизировали. У вакцинированных животных проводили ежедневные клинические, паразитологические и гематологические исследование в течении 30 дней.

В результате проведённых исследований установлено, что в течении 30 дней исследования общее состояние животных не изменилось, нервной и в системе кровообращения отклонение от физиологических показателей не наблюдали, приём пищи и пищеварение была на прежнем уровне.

На 22-23 дни после вакцинации температура тела у многих подопытных животных 1-2-группы повысились температура тела от 39,8 до 40,1 градусов по Цельсию, в мазках взятых из периферической крови обнаруживали поражённости эритроцитов 0,1-0,2% тейлериями (1-таблица), у контрольных животных подобных явлений не наблюдали. При гематологическом исследовании не наблюдали изменений от физиологической нормы, не снизилась уровень гемоглобина. Таким образом, у вакцинированных животных противотейлериезной вакциной различного периода культивирования не наблюдалась ухудшение состояния, температурного колебания и паразитемии в крови, а также не влияла на гемопоэз. Следовательно отсутствовало реактогенности.

Изучение иммуногенных свойств культуральной массы в различные периоды культивирования противотейлериезной вакцины изучали на тех же группах животных, что и по изучении реактогенности вакцины. Для этого через 6 месяцев после вакцинации животных всех групп включая и контрольных заразили штаммом хранившейся в криобанке в дозе по 20 мл., подкожно.

В течении 35 дней проводили клинические исследование и брали мазки из периферической крови для микроскопических исследований. На 19-20 дни заражения у

контрольных животных повысились температура тела до 40 градусов по цельсии, в мазках периферической крови обнаруживали до 20 % поражённости эритроцитов тейлериями. В опытных 1-2 группах животных в период наблюдения не проявлялась клинические признаки тейлерииоза и паразитемии в крови.

Следовательно, в результате изучения иммуногенных свойств противотейлерииозной вакцины установили продолжительности иммунитета в течении 6 месяцев(срок исследования).

Изучение иммуногенных свойств противотейлерииозной вакцины в производственных условиях проводили в неблагополучном хозяйстве по тейлерииозу крупного рогатого скота на фермерском хозяйстве “Дустбай чорва” Китабского района Кашкадарьинской области на 120 взрослого и на 55 голов 2-6 месячного возраста.

Подопытным животным 1-2 группы вводили вакцину в дозе по 1 мл (300000 микробных тел), подкожно. Контрольным животным в количестве 40 голов вакцину не вводили.

Опытные и контрольные животные содержались в одиночных условиях, в течении летного времени совместно с местными работниками ветеринарной службы регулярно проводили наблюдение за состоянием животных и при необходимости проводили клинический осмотр и паразитологические исследования (1-таблица).

В результате проведённых исследований установили, что из числа контрольных животных в летний период года тейлерииозом заболели 3 головы (7,5%) проявив клинические признаки тейлерииоза и паразитарной реакции, в то время из числа опытных животных в течении летного времени года больные тейлерииозом животные не выявились.



7-рис. Вакцинация телят против тейлерииоза.

Таким образом, срок профилактической эффективности противотейлерииозной вакцины составила 6 месяцев (срок исследования).

1-таблица. Изучении иммуногенных свойств противотейлерииозной вакцины в производственных условиях.

Группа	Число голов	Способ вакцинации	Результаты клинических и паразитологических исследований
1	120 гол взрослого поголовья	В дозе по 1мл., подкожно	В течении летнего периода больные животные тейлерииозом не выявились
2	55 гол.2-6 месячного возраста	/*/	В течении летнего периода больные животные тейлерииозом не выявились

3	40 гол. Контроль	-	В течении летнего времени года выявились 3 головы (7,5%) больные тейлериозом животные
---	------------------	---	---

Внедрение впервые разработанной противотейлериозной вакцины проводили по разрешению Комитета по развитию ветеринарии и животноводства при министерстве Сельского хозяйства Республики Узбекистан за № 02/16-70 от 02.02.2024 г. в фермерском хозяйстве “Дўстбой чорва” Китабского района Кашкадарьинской области на 180 голов взрослого поголовья и 35 голов малодняка, “Чукурсой шаббодаси” Шахрисабзского района на 130 головах, “Истикбол” Карманинского района Навоийской области на 180 голов взрослого поголовья и 40 голов малодняка, “Сохибкор” Ш.Рашидовского района Джизакской области на 170 голов взрослого поголовья и 55 голов малодняка путём введения вакцины (культуральную массу)снятой через 42 дня после пассажа, по 1 мл, подкожно (8-фото).

Совместно с местными ветеринарными специалистами наблюдали за состоянием подопытных животных, при необходимости измеряли температуры тела, брали мазки крови и проводили паразитологические исследование, при этом учитовали общее состояние слизистых оболочек, лимфатических узлов и т.п.

В результате проведённых исследований на фермерском хозяйстве Сохибкор заболело 2 головы тейлериозом из числа взрослых животных и в фермерском хозяйстве Истикбол 3 головы проявив клинические признаки тейлериоза и паразитемии в крови. Из числа вакцинированных животных в фермерском хозяйстве “Дўстбой чорва” и “Чукурсой шаббодаси” Шахрисабзского района в летний период года тейлериозом не заболело (2-таблица). Эффективность от применения составила 99,9%



8-фото. Дустбой чорва ф.х., вакцинация против тейлериоза

Следовательно, в результате проведённых исследований по внедрению вакцины в ветеринарную практику получили 99% эффекта (2-табл.).

2-таблица. Результаты внедрения противотейлериозной вакцины в производству.

Хозяйства	Кол голов	По возрастам	Способ вакцинации	Результаты клинического и паразитологического обследования.	Фрукты %
Дустбой ф.х.	215	180 голов взрослого поголовья	Вакцинировали путём	Тейлериозом не заболели	100

		35 голов молодняк	введение по 1 мл, подкожно		
“Чукурсой шаббодаси”. ф.х. Шахрисабзск ого района	130	90 голов взрослого поголовья	/*/*	Тейлериозом не заболели	100
		40 голов молодняк			
Истикбол ф.х.	220	180 гол взрослого поголовья.	/*/*	Из числс взрослых животных 3 головы заболели тейлериозом	99,93
		40 голов молодняк			
Сохибкор ф.х.	225	190 голов взрослого поголовья	/*/*	Из числа взрослых животных 2 головы заболели тейлериозом	99,9
		35 молодняк			

ВЫВОДЫ

Таким образом, в результате проведённых исследований освоены культивирования клеток шизонтов тейлерий и получены вакцинный материал и в результате изучения реактогенных и иммуногенных свойств вакцины установлены отсутствие реактогенности и срок продолжительности иммунитета до 6 месяцев.

Исползованные литературы:

1. Степанова Н.И., Заблочный В.Т., Мутузкина З.П. /Иммунопрофилактика тейлериоза крупного рогатого скота /ж.Ветеринарии 1987-№3.-с.69-70.
2. Тохов Ю.М. Фенология иксодовых клещей рода Дермасентор в сентралном Предкавказе / Ю.М.Тохов, С.Н.Лусук, Ю.В.Дяченко // Паразитология. - 2013. - Т. 47. - № 6. - С. 437-447.
3. Тохов Ю.М. Иксодовые клещи - резервуар возбудителей инфекционных и инвазионных болезней на территории Ставропольского края / Ю.М.Тохов, И.В.Чумакова, С.Н.Лусук и др. // Вестник Ветеринарии. - 2013. - № 2 (65). - С. 19-21.
4. Шабдарбаева Г.С., Балгимбаева А.И. Иксодофауна и исследования по зараженности иксодид кровепаразитами//Материалы международной научно-практической конференции «Высшая школа и аграрная наука – селскому хозяйству», посвященной 100-летию со дня рождения Садыкова Б.Х., 90-летию Федосеева В.С., 75-летию Абдилманова У.А., 21-24 мая 2009. Семей, 2009. С. 203-208.
5. Гоибназаров К.Х. Криоконсервация возбудителя тейлериоза крупного рогатого скота в Узбекистане //Современные достижения в решении Актуальных проблем Агропромышленного комплекса / Материалы международной научно-практической конференции, посвящённой 100-летию Института экспериментальной ветеринарии им С.Н.Вышелесского Минск,15-16 сентября 2022 г.-С.309-311.