

УДК 619.616.636

DOI 10.58649/1694-8033-2024-1(117)-273-278

РУСАЛОВСКАЯ А.П., ЮСУПОВ Т.Т., ДЖАПАРАЛИЕВ Н.Т.

Ж. Баласагын атындагы КУУ

РУСАЛОВСКАЯ А.П.¹, ЮСУПОВ Т.Т., ДЖАПАРАЛИЕВ Н.Т.³

КНУ им. Ж.Баласагына

RUSALOVSKAIA A.P., YUSUPOV T.T., DZHAPARALIEV N.T.

KNU J.Balasagyn

ORCID 0009-0007-6243-7485¹

SPIN-код: 6788-1003, ORCID 0009-0002-8833-6643³

БРАДЗОТКО, ЗАЛАЛДУУ ШИШИККЕ, КОЙЛОРДУН ЭНТЕРОТОКСЕМИЯСЫНА
ЖАНА КОЗУЛАРДЫН ДИЗЕНТЕРИЯСЫНА КАРШЫ ВАКЦИНА ЖАСООНУН
ТЕХНОЛОГИЯЛЫК ПРОЦЕССИ

**ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ПРОЦЕСС ИЗГОТОВЛЕНИЯ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ
БРАДСИТИСА, ЗЛОКАЧЕСТВЕННОГО ОТЕКА, ЭНТЕРОТОКСЕМИИ
ОВЕЦ И ДИЗЕНТЕРИИ ЯГНЯТ**

TECHNOLOGICAL PROCESS FOR MANUFACTURING A VACCINE AGAINST
BRADYSITIS, MALIGNANT EDEMA, SHEEP ENTEROTOXEMIA
AND LAMB DYSENTERY

Кыскача мүнөздөмө: Илимий макалада брадзоттун козгогучтарына, залалдуу шишикке, койлордун энтеротоксемиясына жана козулардын дизентериясына каршы вакцина жасоонун технологиялык процесси каралат. Эксперименттин жүрүшүндө вакцинаны даярдоонун бардык стадиялары каралды: идиштерди стерилизациялоо, азыктандыруучу чөйрөнү даярдоо жана чөйрөнүн химиялык көрсөткүчтөрүн тандоо, вакцинаны куютаңгактоо, маркалоо, анын ичинде коендордо вакцинанын сапатына (тазалыгына, зыянсыздыгына жана иммуногендүүлүгүнө) текшерүү жүргүзүлдү. Изилдөөнүн жыйынтыгы макалада берилген.

Аннотация: В научной статье рассматривается технологический процесс изготовления вакцины против возбудителей брадзот, злокачественного отека, энтеротоксемии овец и дизентерии ягнят. В ходе эксперимента были рассмотрены все стадии изготовления вакцины: стерилизация посуды, приготовление питательной среды и подбор химических показателей среды, розлив вакцины, упаковка, маркировка, в том числе была проведена проверка вакцины на качество (чистота, безвредность и иммуногенность). Результаты исследований представлены в статье.

Abstract: The scientific article discusses the technological process of manufacturing a vaccine against the causative agents of bradzot, malignant edema, enterotoxemia of sheep and dysentery of lambs. During the experiment, all stages of vaccine manufacture were considered: sterilization of dishes, preparation of a nutrient medium and selection of chemical parameters of the medium, filling of the vaccine, packaging, labeling, including testing of the vaccine for quality

(purity, harmlessness and immunogenicity) on rabbits. The research results are presented in the article.

Негизги сөздөр: вакцина; бразот; залалдуу шишик; кой энтеротоксемиясы; козулардын дизентериясы.

Ключевые слова: вакцина; бразот; злокачественный отек; энтеротоксемия овец; дизентерия ягнят.

Keywords: vaccine; bradzet; malignant edema; enterotoxemia of sheep; dysentery of lambs.

Вакцинация играет очень важную роль в поддержании здоровья всех сельскохозяйственных животных, так как она является надежным способом профилактики различных инфекционных заболеваний. Соблюдение всех мероприятий ведет к выращиванию здорового поголовья скота. Вакцинация же в свою очередь сводит к минимуму риск заболевания животных [1].

Открытие метода вакцинации дало старт новой эре борьбы с болезнями. В состав прививочного материала входят убитые или сильно ослабленные микроорганизмы либо их компоненты (части). Они служат своеобразным муляжом, обучающим иммунную систему давать правильный ответ инфекционным атакам [2].

Бразот, злокачественный отек, энтеротоксемию овец и дизентерию ягнят вызывают клостридии. Клостридиоз – это группа заболеваний, вызываемых грамположительными спорообразующими анаэробными бактериями рода *Clostridium*. Этот род включает в себя более 180 видов патогенных и сапрофитных микроорганизмов, которые представляют особую угрозу как для животноводческих хозяйств, так и для птицефабрик. И тому есть несколько причин [3; 4; 5].

Первая причина, по которой клостридии представляют угрозу, – характер течения болезни. Она начинается стремительно и зачастую практически бессимптомно, быстро прогрессирует и нередко приводит к гибели животных еще до постановки диагноза. Другая причина – широкое распространение патогена в среде [6; 7, с.8; 8].

Клостридиозы овец – группа острых инфекционных заболеваний, поражающих овец всех возрастов независимо от пола и породы. Факторами передачи их возбудителей являются контаминированные ими почва, корма, подстилка, водоемы, а источниками инфекции – больные и бессимптомно инфицированные животные. Клостридиозы представляют серьезную проблему для овцеводческих хозяйств. Они наиболее широко распространены в южных регионах – Средней и Центральной Азии, Ближнем Востоке. Клостридиозы распространены и в Кыргызстане, они представляют собой угрозу для сельского хозяйства Кыргызской Республики и могут нести колоссальный ущерб [9; 10; 11].

Изготовление вакцины.

Для культивирования микроорганизмов использовали мясной перевар по Хоттингеру.

Перевар Хоттингера готовили из мяса 1 категории путем его триптического гидролиза. Разделявали поджелудочную железу КРС (отделяли от жира, сухожилий и фасций) и заливали в соотношении 1:2 кипящей водой. Перемешивали, охлаждали до 45 °С и добавляли панкреатин, подщелачивали раствором карбоната натрия до pH 7,8-8,0, плотно закрывали, выдерживали в термальной комнате, получали продукт гидролиза (перевар). Для культивирования штаммов *Clostridium septicum*, *Clostridium perfringens*, type B, C, D

используют мясopеченочную казеиновую среду, а для *Clostridium oedematiens* – кислотноказеиновую.

Приготовление питательной среды для культивирования производственных штаммов *Clostridium septicum*, *Clostridium perfringens* type B, C, D.

Для приготовления мясopеченочной казеиновой среды на 100 л казеинового гидролизата брали 50 л мясного и 50 л печеночного гидролизатов. Смесь подщелачивали 10%-м раствором *NaOH*, кипятили в течение 15-20 минут и фильтровали через ватно-марлевый фильтр.

Таблица 1. Химические показатели мясopеченочной казеиновой среды

Аминный азот, мг %	165 ± 10
Полипептиды, % не менее	4.0
Пептон, % не менее	3.5
Сухой остаток, % не менее	3.5
pH для <i>Clostridium perfringens</i> type B, C	8.0
pH для <i>Clostridium septicum</i>	7.8-8.0
pH для <i>Clostridium perfringens</i> type D	8.3-8.5

Питательную среду стерилизовали при температуре 118-120°C в течение 45-50 минут.

Приготовление кислотного гидролизата казеина: на 100 л водопроводной воды брали 6 кг казеина, 3 л концентрированной соляной кислоты. Смесь выдерживали при комнатной температуре в течение 10-18 часов.

Гидролиз вели при температуре 120°C (1.0 атм) в течение 1,5-2 часов. Затем гидролизат остужали до 38-40°C и подщелачивали 25%-м раствором *NaOH* до pH 3.8-4.0, нагревали до температуры 80-90°C, охлаждали и отстаивали не менее 15 часов. Надосадочную жидкость фильтровали через ватно-марлевый фильтр.

Таблица 2. Химические показатели кислотного гидролизата казеина

Аминный азот, мг %	250
Полипептиды, % не менее	6.5
Пептон, % не менее	5.5
Сухой остаток, % не менее	6.0
pH	3.8-4.0

Приготовление питательной среды для культивирования производственного штамма *Clostridium oedematiens*.

К разведенному кислотному гидролизату казеина добавляли 15-20% печеночного экстракта. Устанавливали pH 7.5-7.8 10%-м раствором *NaOH*, кипятили 15-20 минут, отстаивали в течение 2-3 часов и фильтровали через марлевый фильтр.

Таблица 3. Химические показатели кислотноказеиновой питательной среды

Аминный азот, мг %	165 ± 10
Полипептиды, % не менее	3.5
Пептон, % не менее	3.0

Сухой остаток, % не менее	3.5
pH для <i>Clostridium oedematiens</i>	7.5-7.8

После этого в бутылки с питательной средой вносили штаммы микроорганизмов *Clostridium septicum*, *Clostridium oedematiens*, *Clostridium perfringens*, type B, C, D. Их инактивировали формалином и осадили гидратом оксида алюминия. Далее культуру выдерживали до достижения оптимального роста и осуществляли розлив вакцины по флаконам.

Приготовление растворов H₂SO₄ и NaOH.

Для приготовления раствора H₂SO₄: 52,63 мл концентрированной серной кислоты доводили до 1000 мл дистиллированной водой в вытяжном шкафу. Флаконы с раствором кислоты стерилизовали в автоклаве

Для приготовления раствора NaOH (0,5 М): вносили 20 г NaOH на 1 л дистиллированной воды. Флаконы с раствором щелочи стерилизовали в автоклаве.

Стерилизация посуды. Стеклопосуду (флаконы) для розлива вакцины заворачивали в бумагу и стерилизовали сухим жаром в сухожаровом шкафу при температуре +160°C.

Проверка вакцин на качество (чистота, безвредность и иммуногенность).

Проверку вакцин на чистоту(стерильность) осуществляли во флаконах, их хранили при температуре +18, +20°C. Через 15 дней из флаконов первичного посева делали пересев на такие же среды. Ввели наблюдения за первичными и повторными посевами еще 5 дней. В ходе эксперимента выяснили, что вакцина стерильна.

Для изучения выработки иммунитета использовали 4 опытных и 2 контрольных кролика. Через 30 дней после двукратной вакцинации, животных заразили культурами вирулентных штаммов. Эффективность вакцинации оценивали по сохранности подопытных животных. Результаты показали, что контрольные животные пали после заражения их вирулентными штаммами, опытная же группа противостояла заражению (табл. 4).

Таблица 4. Результаты контроля иммуногенной активности вакцины против браздот, злокачественного отека, энтеротоксемии овец и дизентерии ягнят

№ п.п.	Группа	Выживаемость
1.	Контроль	–
2.	Контроль	–
3.	Опыт	+
4.	Опыт	+
5.	Опыт	+
6.	Опыт	+
7.	Опыт	+
8.	Опыт	+

Примечание: «–» – павшие кролики, «+» – выжившие кролики.

Лабораторные животные противостояли заражению, что свидетельствует об отрицательном влиянии биологических препаратов при введении.

В ходе работы был изучен комплексный способ иммунизации, представляющий вакцинацию лабораторных животных вакциной против браздот, злокачественного отека, энтеротоксемии овец и дизентерии ягнят.

Результаты исследований показали, что после двухкратной комплексной вакцинации против возбудителей браздот, злокачественного отека, энтеротоксемии овец и дизентерии ягнят у животных сформировался иммунитет, обеспечивающий защиту лабораторных животных от данных инфекций.

Розлив вакцины. Розлив вакцины проводили в стерильной комнате. Перед посевом поверхности стола для розлива вакцины обрабатывали 70%-м раствором этилового спирта. После этого на стол помещали спиртовую горелку, аппарат полуавтоматической закатки, металлические колпачки для флаконов, ножницы/пинцет, посуду, вату, перчатки, колбу со средой и флаконы. Приступив непосредственно к розливу, руки дезинфицировали спиртом. Розлив осуществлялся в стерильных условиях, каждый раз проводя флакон над горелкой, чтобы избежать контаминации. Далее флакон закрывали резиновым колпачком и обжимали с помощью аппарата полуавтоматической закатки.

Маркировка и упаковка. На готовые флаконы с вакциной наклеивали этикетки (рис. 1). После этого осуществляли складирование флаконов в коробки и их запечатывание (рис. 2). В каждую коробку обязательно помещали по несколько инструкций по применению.

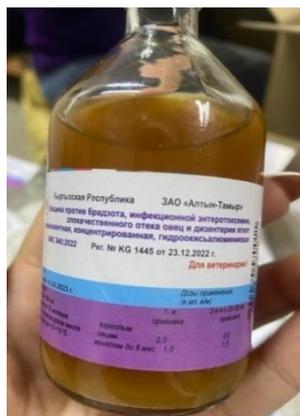


Рис. 1, 2. Маркировка и упаковка вакцины

Выводы. Вакцинопрофилактика занимает значительное место в борьбе с инфекционными болезнями. К вопросу вакцинации следует подходить очень серьезно, поскольку животные сельскохозяйственного назначения являются одними из главных производителей продуктов, которые мы употребляем в пищу.

В ходе эксперимента был изучен технологический процесс изготовления вакцины против возбудителей браздот, злокачественного отека, энтеротоксемии овец и дизентерии ягнят. Рассмотрены все стадии изготовления вакцины, а также проведена проверка вакцины на качество (чистота, безвредность и иммуногенность). Вакцина была произведена и выпущена на производстве ЗАО «Алтын-Тамыр».

Список использованной литературы

1. Вакцины, вакцинопрофилактика: учеб. пособие / В.Л. Мельников, Н.Н. Митрофанова. – Пенза: Изд-во ПГУ, 2015, 76 с.

2. Фармацевтическая биотехнология: Технология производства иммунобиологических препаратов: учеб. пособие / Ю.М. Краснопольский, М.И. Борщевская. – Харьков: НТУ «ХПИ», 2009, 352 с.
3. Иммунобиологические препараты для профилактики и лечения инфекционных заболеваний и коррекции дисбиocenозов: учебное пособие / Н.С. Хиштова. – Майкоп, 2007, 76 с.
4. Коляков Я.Е. Ветеринарная микробиология. – Москва: Гос.изд.сельхозлит, 1952, 487 с.
5. Ветеринарная микробиология / Под ред. проф. Е.В. Козловского, П.А. Емельяненко. – Москва: Колос, 1982, 304 с.
6. Болезни овец / Под ред. Ф.А. Терентьева, А.А. Маркова, М.Д. Польшковского. – Москва: Изд.-во сельхоз. литературы, журналов и плакатов, 1963, 520 с.
7. Инфекционные болезни овец / Р.А. Кадымов, А.А. Кунаков, В.А. Седов. – Москва: Агропромиздат, 1987, 302.
8. Анисимов В.С. Инфекционная энтеротоксемия овец. – Алма-Ата. – Изд.-во «Кайнар», 1972, 119 с.
9. Ургуев К.Р. Клостридиозы животных. – Москва: Россельхозиздат, 1987, 182 с.
10. Каган Ф.И., Кириллов Л.В. Специфическая профилактика клостридиозов животных. – Москва: Колос, 1976, 152 с.
11. Kovaleva E. Phage detection of pathogen microorganisms in agricultural ecosystems monitoring as part of sectoral foresight // International Journal of Rese (arch in Ayurveda and Pharmacy), 2016, 7(S2): 247-249.

